تاثير فعالية البكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas florescens* في تثبيط فعل الفطر *Macrophomina phaseolina* المسبب لمرض التعفن الفحمي على الفاصوليا

محمد احمد عمران عادل عبيد حسوني سيلان حسين صكر عهد عبد علي هادي
الكلية التقنية المسيب
Selan1957@yahoo.com

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى عزل الفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. المسبب لمرض التعفن الفحمي على الفاصوليا من حقول ناحية جبلة التابعة لمحافظة بابل وتشخيصه واختبار مقدرته الامراضية وتقييم كفاءة عاملي المكافحة الإحيائية بكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas florescens* في التأثير على نمو الفطر الممرض تحت الظروف المختبرية والظلة الخشبية . تبين من نتائج العزل و الفحص المجهري وجود الفطر *M. phaseolina*. في معظم العينات المختبرة . و كشفت نتائج الاختبار الأولي عن القدرة الامراضية لعزلة الفطر *M. phaseolina* باستخدام بذور الفجل اذ خفضت نسبة الانبات فيه الى 6% قياسا بمعاملة المقارنة بدون الفطر الممرض التي كانت نسبة الإنبات فيها 94 %, اظهرت نتائج اختبار المقدرة التضادية لتخافيف مختلفة(10^{-1} –10^{-10}) من عزلتي البكتريا *Bacillus subtilis* و البكتريا *Pseudomonas florescens* ضد نمو عزلة الفطر الممرض على الوسط ألزرعي PSA ، ان التخفيف10^{-1} للبكتريا *B. subtilis* يمتلك القدرة على تثبيط الفطر وبمقدار47.21% بينما في البكتريا *P. florescens* فقد وجد ان التخفيف10^{-6} ثبط الفطر بنسبه 100% قياسا بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفر. كما اظهرت النتائج فاعلية البكتريا *P. florescens* بتراكيز مختلفة في زيادة نسبة انبات بذور الفاصوليا تحت ظروف الظلة الخشبية و خفض نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن الساق الفحمي على الفاصوليا. اذ استطاعت البكتيريا *Pseudomonas florescens* خفض الإصابة بالفطر الممرض بمعدل 44.66% وأحدثت خفضاً معنوياً في شدة الإصابة إلى21.66%.مما ساهم في زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري لبادرات الفاصوليا.

الكلمات المفتاحية : *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Abstract

This study aimed to isolation of *Macrophomina phaseolina* (tassi) goid .fungus which cause Charcol rot disease on beans, from jbala district /Babylon governorate , diagnose ,pathogenicity ability test, and evaluate efficacy of two factors of biological control agents *Bacillus subtilis, Pseudomonas florescens* , its effect on pathogenic fungus under laboratory and lath house conditions. The results of isolation and Microscopic diagnose showed the presence of *M. phaseolina* fungus in almost samples of infected bean. the results of pathogenicity showed the ability of *M. phaseolina* to reduce the rate of Radish seeds germination which was 6% compared with control with out pathogen 94%, antagonist ability test of bacteria *B. subtilis* and *P. florescens* with different dilution rates(1^{-1}- 10^{-10}) against pathogenic fungus isolate on PSA medium the rate 10^{-1} for bacteria *B.subtilis* has ability to inhibit pathogenic fungus as 47.21%, while in bacteria *P. florescens* in rate 10^{-6} has ability to inhibit pathogenic fungus in 100% ratio compared with control. Which inhibition ratio was 0.0% The results showed that the *P. florescens* with different concentrations increased the bean seed germination under lath house condition, which was 90% and decrease the percentage ratio of bean charcoal rot disease incidence to 44.66% and severity to 21.66% . this increased wet and dry weight of bean seedlings.

Key words : *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

1 - المقدمة

تعد الفاصوليا (*Phaseolus vulgaris* L.) من أهم المحاصيل البقولية في العالم وتتركز زراعة الفاصوليا في العراق في المناطق الأروائية ولاسيما المنطقتين الوسطى والجنوبية وبعض أقسام المنطقة الشمالية (معيوف والفخري، 1982) وقد قدرت المساحة المزروعة بالمحصول لعام 2008 بـ 6700 دونم وكمية الإنتاج كانت 7900 طن (المجموعة الإحصائية السنوية، 2008). يصاب نبات الفاصوليا بالعديد من الأمراض ومن أهمها مرض التعفن الفحمي الذي يحدثه المسبب المرضي *Macrophomina phaseolina*

الذي يعتبر واحداً من أكثر الفطريات المحمولة بالبذور والتربة ضرراً آذ يهاجم من العوائل النباتية ويصيب مدى واسع من المحاصيل البقولية (Dickson، 1956 و Smith و Gravil 1997). وتظهر اعراض الاصابة بالفطر *M. phaseolina* على نبات الفاصوليا بهيئة تقرح غائر اسود اللون ربما يتطور على قاعدة الساق وتؤدي الإصابة إلى موت النبات أو كسر الساق عند التقرح، أما في حالة النباتات الأكبر عمراً فان المرض يحدث تقرحاً واصفراراً وأحياناً موت النبات، ويمكن للفطر الممرض ان يكوَن كلا الطورين السكليروشي و البكني في الأنسجة المصابة والتي تظهر بشكل بقع داكنة أو سوداء فحمية لذلك يسمى المرض عادة بالتعفن الفحمي Charcoal Rot (Waller،1997). استعملت طرائق عدة لمكافحة أمراض موت بادرات وتعفن جذور الفاصوليا ومنها استعمال المكافحة الكيميائية والزراعية (Fall، واخرون،2001 و Brisaواخرون ،2007 و Small، 2009) كما استعملت الأصناف المقاومة (Otsyula واخرون،2003 و Olsen واخرون، 2010 و Nzungize واخرون، 2011) والمستخلصات النباتية (Ahmed واخرون، 2009). وقد رافق الاستعمال المكثف لبعض هذه الطرائق ومنها الكيميائية تأثيرات سلبية في البيئة، وصحة الانسان، وقتلها الاحياء غير المستهدفة (Brent، 1995 وBost ، 2006 و Lorenz، 2009) ونتيجة لذلك بدأ التفكير في البدائل التي من أبرزها استعمال الكائنات الحية الدقيقة في برامج المكافحة الإحيائية لإخماد مجتمعات المسببات المرضية وزيادة الإنتاج كماً ونوعاً . في السنوات الاخيرة ,شدة البكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas florescens* انتباه الباحثين وذلك لانتاجهما الانزيمات ,المضادات الحيوية والمواد الكيمياوية (Metabolites), كلا البكتريا تتواجد وبكثرة في ماء الري والتربة وخاصة في محيط الجذور (Bossis ، 2000 و Lugtemberg 1999) وانتاجهما مدى واسع من المضادات الحيوية (Alippi وMonaco .1994 و Keel، ١٩٩٧ و Vanloanو Vanstrein، 1999 , 2003.Haas) وهي احد علامات المقاومة الحيوية الواعدة لامراض النبات الطفيلية (1995.Thomashow) , واستخدم كلا البكتريا في مكافحة العديد من الأمراض من ضمنها البكتريا *Pseudomonas florescens* على الفطر *Macrophomina phaseolina* على زهرة الشمس (فياض. 2000)كما وبينت الباحثة الرفاعي (2004)ان البكتريا *Pseudomonas florescens* لها القابلية على تحسين نمو الحنطة وزيادة عدد التفرعات , ان عملية المقاومة الناجحة تعتمد بصورة اكيدة على طريقة استخدام وإضافة المقاوم الحيوي(Lurnsden، 1995و 1998,Green) إن المكافحة الإحيائية تعد طريقة آمنة لاتسبب تلوثاً للبيئة ولاتخل بالموازنة الطبيعية للأحياء كما تفعل المبيدات وتعد طريقة متخصصة في تأثيرها في مسببات أمراض النبات (Agrios، 1997) .. ولأهمية هذه المرض وقلة الدراسات التشخيصية وللبحث عن طرائق مقاومة تنسجم مع التوجهات الحديثة في العالم في التقليل من استعمال الكيمياويات في الزراعة صممت هذه الدراسة الهادفة إلى:-

١- عزل الفطر من النباتات المصابة، وتشخيصها، وأختبار مقدرتها الامراضية.

٢- محاولة مقاومة المرض باستعمال البكتريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas florescens*.

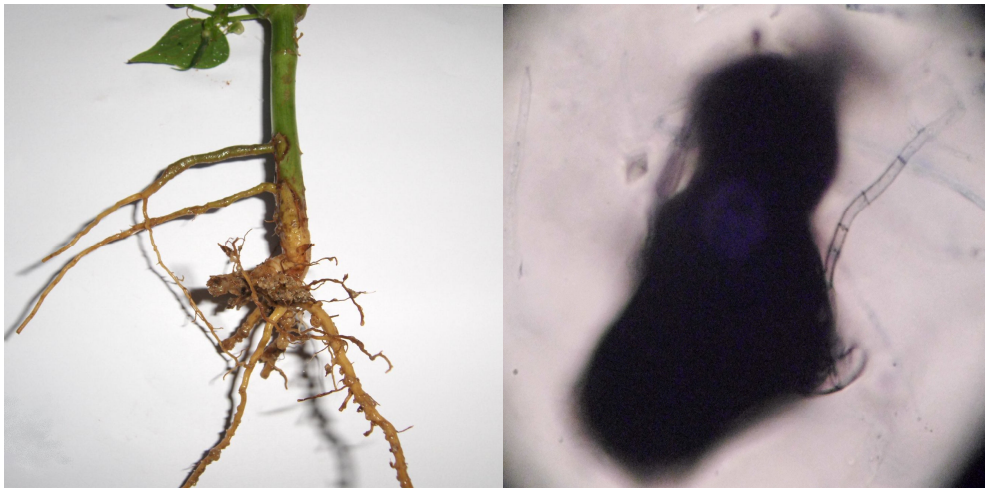
3- المواد وطرائق العمل :-

3-1العزل والتشخيص:-

عزل الفطر *Macrophomina phaseolina*:-

عزل الفطر (*Macrophomina phaseolina*)من حقول فاصوليا مصابة (في ناحية أجبلة) التابعة لمحافظة بابل بأخذ أجزاء من الجذور وقواعد السيقان التي ظهرت عليها أعراض التعفن والتقرحات (شكل

1) وغسلت الجذور تحت ماء جار لمدة 30 دقيقة لإزالة جميع العوالق والشوائب المتواجدة على سطح الجذور وبعد ذلك قطعت الجذور إلى قطع صغيره بطول 5 – 10 ملم وعقمت سطحياً بغمرها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1 % ولمدة 3 دقائق بعدها غسلت الجذور بالماء المقطر المعقم ووضعت على ورق ترشيح معقم لغرض إزالة الماء الزائد ثم نقلت بوساطة ملقط معقم إلى طبق بتري ٩سم حاوية على 15 – 20 سم٣ من الوسط ألزرعي Potato Sucrose Agar(PSA) شخص الفطر لمستوى الجنس والنوع بعد ظهور النموات الفطرية من قبل (الدكتور عهد عبد علي) اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها كما في (الشكل2) وباستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Ellis، 1971)



-١- -٢-

شكل1.الاجسام الحجرية التي يكونها المسبب المرضي.

شكل2. أعراض الإصابة بمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصولية

تم الحصول على عزلة البكتريا *Bacillus subtilis* من قسم علوم الحياة جامعة بابل والبكتريا *Pseudomonas florescens* من مختبر الأمراض التابع لوزارة العلوم والتكنولوجية.

3-2 اختبار المقدرة المراضية :-

3-2-1 الكشف عن القدرة الامراضية للفطر الممرض باستعمال بذورالفجل:-

تم اختبار المقدرة الامراضية لعزلة الفطر التي تم الحصول عليها من خلال عملية العزل ، وقد أتبعت الطريقة التي وضعها Bolkan وButler (1974) إذ تم تحضير أطباق بتري قطر٩سم حاوية على الوسط ألزرعي الاكار والماء(Water Agar) وبعد ذلك تم زراعة بذور الفجل المحلية والمعقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1%وبصورة دائرية قرب حواف الطبق وبمعدل 25 بذرة لكل طبق استعملت 4 أطباق كمكررات بالإضافة إلى معاملة المقارنة من دون فطر ممرض وحضنت الإطباق على نفس الدرجة الحرارية وأخذت النتائج بعد 7 أيام من الزراعة بحساب نسبة الإنبات حسب المعادلة الآتية:

النسبة المئوية للإنبات = عدد البذور النابتة / العدد الكلي للبذور ×100

3-3اختبارات المقدرة التضادية:-

3-3-1اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *Bacillus subtilis* و البكتريا *Pseudomonas florescens* ضد عزلة الفطر الممرض على الوسط ألزرعي PSA:-

3-3-1-1 تحديد التركيز الفعال من اللقاح البكتيري *B . subtilis* و البكتريا *P. florescens* في التاثير على نمو الفطر الممرض Macrophomina phaseolina **على الوسط الزرعي PSA.**

تم تحضير سلسلة من تخفيفات لقاح البكتريا *B . subtilis* و *P. florescens* كلا على حدا من التركيز(10^{-1} –10^{-10}) وذلك باخذ ١ مل من لقاح البكتريا المنماة على الوسط الزرعي السائل Nutrient Broth بوساطة محقنة طبية و نقل الى أنبوبة الاختبار الحاوية على ٩ مل من الماء المقطر المعقم وبعد إجراء التخافيف من (10^{-1} – 10^{-10}) تم تحضير 84طبق بتري قطر9سم الذي يحتوي على الوسط PSA لقح 40 طبقا باللقاح البكتيري*B . subtilis* و 40 طبقا من لقاح البكتيريا *P. florescens* بمعدل 4 أطباق لكل تخفيف حيث اتبعت طريقة حسون (2005) عند اضافة اللقاح البكتيري بشكل 4 بقع على أبعاد متساوية من محيط دائرة قطرها4سم حرك الطبق بعد ذلك حركة رحوية تمر من مركز الطبق الملقح بقرص قطرها 5 ملم مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر الممرض *M. phaseolina* المنماة على الوسط PSA بعمر 4أيام وتركت 4أطباق من دون تلقيح بالعالق البكتيري وأُضيف لها الماء المقطر المعقم للمقارنة وحضنت الأطباق في الحاضنة تحت درجة 25 ± 2 ولمدة 4أيام وبعدها حسب مقدار التثبيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر ومقارنتها بمستعمرة الفطر النامية في معاملة المقارنة وقد حدد أعلى تخفيف مثبط للفطر كان 10^{-1} للبكتريا *B . subtilis* و10^{-6} للبكتريا*P. florescens* وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفقا للمعادلة الاتية:

% لتثبيط النمو الفطري = [1 - [النمو الفطري في معاملة البكتريا / النمو الفطري في معاملة المقارنة]]×100 (Montealeger واخرون ٢٠٠٣)

3-3-1-2 حساب الكثافة العددية للـ *P. florescens*

اتبعت طريقة عد المستعمرات المباشر في الأطباق المزروعة (The Plate Count Technique) لحساب العدد الكلي للبكتريا *P. florescens* ، حضرت مجموعة التخافيف 10^{-1} – 10^{-8} بنقل 1 مل من المزرعة البكتيرية المنماة على وسط التنشيط السائل وبعمر 3 أيام إلى سلسلة أنابيب ماء مقطر معقم باستعمال ماصة ميكانيكية (مايكروبايبيت) معقمة. نقل ١مل ابتداءً من التخفيف الرابع إلى طبق بتري حاوي على الوسط Nutrient Agar مع تحريك الطبق بلطف حركة رحوية حضنت الاطباق في درجة حرارة 25±1م° لمدة 3 أيام، ثم حسب عدد الخلايا البكتيرية كالآتي: عدد البكتيريا/ مل من العينة الأصلية=عدد المستعمرات في الطبق × مقلوب تخفيف العينة (الحديثي، 1983), وبناءاً على ذلك تكون الكثافة العددية المستعملة هي 9 x 10^8 (وحدة تكوين مستعمرة مل$^{-1}$) .

2-3-3 تقييم عامل المقاومة الإحيائية(البكتريا *Pseudomonas florescens*) بتراكيز في نسبة انبات البذور:-

نفذت التجربة في الظلة الخشبية العائدة إلى الكلية التقنية المسيب بتاريخ 2012/3/8 , تم تحميل الفطر الممرض *Macrophomina phaseolina* والتي اثبت قدرتة الامراضية العالية في اختبار(3-2-1) فقد تم تنمية العزلة الممرضة على بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* بعد ان تم تهيئة دوارق زجاجية سعة 500 سم^3 ووضع في كل واحد منها 100 غم من البذور وأضيف إليها 300 سم^3 ماء ونقعت لمدة 6 ساعات ثم سكب الماء الفائض وعقمت بالمؤصد تحت درجة 121 م^o و ضغط 1.5 كغم / سم^2 لمدة 15 دقيقة ثم لقح كل دورق ب 3 أقراص بقطر 5 ملم اخذ من قرب حواف مزارع العزلات المنماة على الوسط ألزرعي PSA بعمر 7 أيام بعدها حضنت الدوارق تحت درجة حرارة 25 ± 2م^o لمدة 14 يوما مع الرج كل 2 - 3أيام ولمدة 10 دقائق لضمان التهوية وتوزيع لقاح الفطر على البذور .1989) (Dewan . نفذت التجربة باستعمال أصص أبلاستيكية معقمة قطر(12.5سم)وسعة 1 كغم تربة مزيجية مكونة من 2 رمل :1 بتموس حيث عقمت التربة بالمؤصدة مرة واحدة وكذلك عقم البتماوس بالمؤصدة مرتين وتم اضافة لقاح الفطر الى التربة بنسبة 1 % وزن /وزن من بذور الدخن المعقمة الحاملة للفطر أما معاملة المقارنة فقد أضيفة إلى تربتها بذور دخن معقمة خالية من الفطر . خلطة اللقاح الفطري بالتربة بعدها رطبة التربة وتركت لعدة ساعات قبل الزراعة. تم إضافة اللقاح البكتيري *P.florescens* إلى التربة مباشرة بمقدار (5-10-15-20مل)من تركيز 9 x 10^8(وحدة تكوين مستعمرة مل$^{-1}$) وغطي بطبقة خفيفة من التربة زرعت التربة بعشرة بذور فاصوليا صنف(continer) الهولندي معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 1% ، كررت كل معاملة 3 مرات أما معاملة المقارنة فقد أضيفة إلى تربتها الوسط الغذائي دون بكتريا سقيت الأصص باحتراس ووضعت داخل بيت ابلاستيكي صغير في داخل الضلة الخشبية ، حسبت نسبة الإنبات لحين اكتمال إنبات بذور معاملة المقارنة بعد 15 يوم, كما حسبت نسبة وشدة الإصابة بعد مرور 30 يوم من الزراعة للمعاملات التي ظهرت فيها بادرات وكما يأتي:

$$\text{النسبة المئوية للأصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة}} \times 100$$

حسبت شدة الإصابة للمجموع الجذري وفق الدليل المرضي المكون من 5 درجات و حسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة Mckinney (1923) كما تم حساب الوزن الطري والجاف للنباتات.

4- النتائج والمناقشة

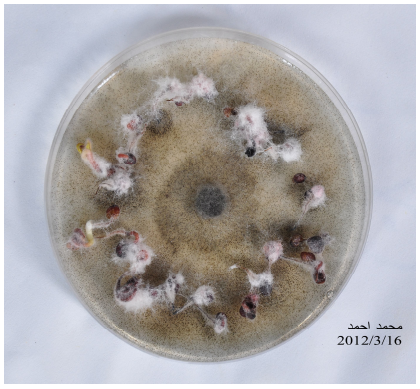
4-1اختبارات المقدرة الامراضية للفطر المعزولة من جذور نبات الفاصوليا على بذور الفجل .

أظهرت النتائج (الشكل 3) ان عزلة الفطر المختبرة أدت الى خفض معنوي في نسبة إنبات بذور الفجل إذ كانت النسبة 6.00% مقارنة لنسبة معامله المقارنة(بدون فطر) البالغة 94.00 % واثبت هذا الاختبار ان العزلة كانت ممرضة ويعزى سبب التأثير للعزلة الى مستوى إفرازات الفطر من المركبات الايضية الثانوية السامة التي تحدث قتلاً للأجنة والى المقدرة على انتاج الإنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز والتي تكون مسؤولة عن حدوث التعفن في البذور ومن ثم منعها من الإنبات والسموم التي تساعده في احداث الاصابة ومنها سم Asperlin و Isoasperlin و phomalactone و Phaseolinic acid و phomenon و phaseolinone (Dhar واخرون، 1982 و Sett واخرون، 2000).

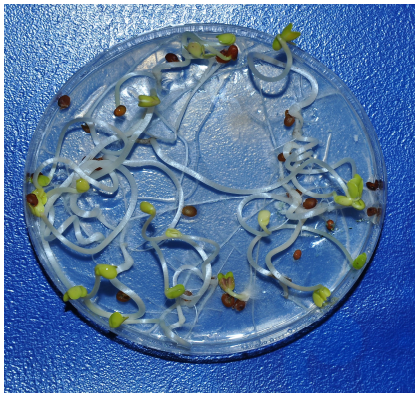
جدول(١) اختبار المقدرة الامراضية للفطر المعزول من جذور نباتات الفاصوليا على بذور الفجل .

التسلسل	المعاملة	% للإنبات
1	*Macrophomina phaseolina*	6.00
2	Control	94.00
	LSD 0.05	5.88

* كل رقم يمثل معدل اربعة مكررات



M. phaseolina+بذور الفجل



انبات بذور الفجل (المقارنة)

شكل (3) يوضح المقدرة الامراضية لعزلة الفطر *M. phaseolina* الممرض على بذور الفجل على وسطPSA.

2-4 اختبارات المقدرة التضادية:-

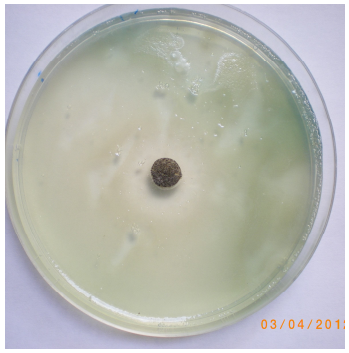
1-2-4 اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *Bacillus subtilis* و البكتريا *Pseudomonas florescens* ضد عزلة الفطر الممرض على الوسط ألزرعي PSA:-

أوضحت نتائج اختبار تضاد البكتريا *B.subtilis* والبكتريا *P. florescens* ضد عزلة الفطر الممرض *Macrophomina phaseolina* على الوسط الزرعي PSA (الجدول 2. والشكل4)يوضح نسبة تثبيط لنمو عزلة الفطر الممرض بلغت (100,47.21) %على التوالي بعد 3 أيام على الوسط الزرعي الرطب والذي تمنع توطيد الفطر الممرض وتعمل بكتريا *B.subtilis* على انتاج خمسة مضادات حيوية مثل subtiline و subtenolin و Bacitracin و Bacillin وBacilomycin وهذه المضادات تعمل على تثبيط نمو الفطر ,أو تعمل على افراز انزيم chitinase وglucanase β-1,3 مما يؤدي الى تحليل جدران خلايا الفطر الممرض (Alippi و Monaco. 1994،Vanloanو Vanstrein. 1999) اما البكتريا*P.florescens* تقوم بافراز مجموعة من المواد antifungal metabolites مثل pyoverdin او pseudobactin , وهذه المضادات تعمل على تثبيط نمو الفطر مما يؤدي الى تحليل جدران خلايا الفطر الممرض وافرازها لبعض المكونات المتطايرة (HCN) ومن خلال هذه النتائج يتضح لنا ان البكتريا *P. florescens* لها فعالية في تثبيط فعل الفطر *Macrophomina phaseolina* اكثر من البكتريا*B.subtilis* لذا سوف يتم اتخاذها كوسيلة مفضلة في مكافحة هذا المرض.

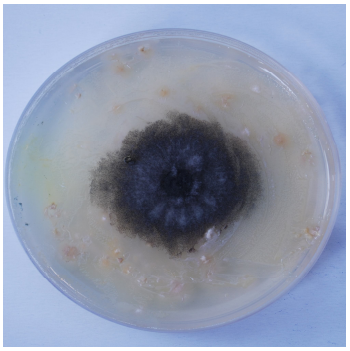
جدول(2) تقييم كفاءة البكتيريا *P. florescens* والبكتريا *B.subtilis* في تثبيط نمو عزلة الفطر *M. phaseolina* الممرضة على الوسط الزرعي PSA.

نوع المعاملة	التخافيف	نمو الفطر (سم)	نسبة التثبيط (%)
B.subtilis+ M.ph	10^{-1}	4.25	47.21
P. florescens +M.ph	10^{-6}	0.00	100
المقارنة	0	9.00	0.00
LSD 0.05		0.545	3.734

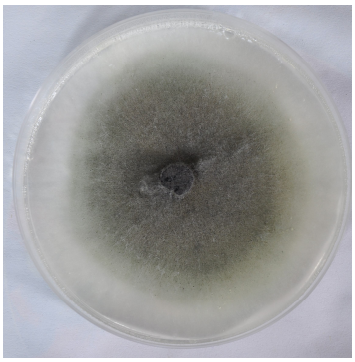
*كل رقم في الجدول يمثل معدل أربع مكررات



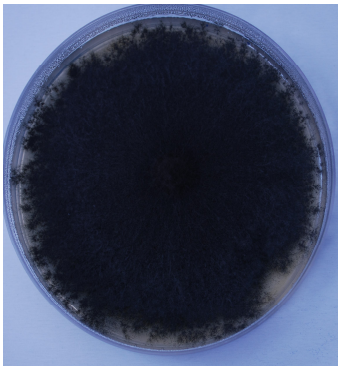
(1)



(2)



(3)



(4)

شكل (4) يوضح المقدرة التضادية للبكتريا*B.subtilis* و البكتريا *P.florescens* ضد عزلة الفطر الممرض على الوسط ألزرعي PSA. 1 -بكتريا*M.ph +P. florescens* 2 - بكتريا*M.ph+ B.subtilis* 3 - عزلة الفطر الممرض *M.ph* بعد3أيام 4- عزلة الفطر الممرض *M.ph* بعد7أيام .

4-2-2 تقييم عامل المقاومة الإحيائية(البكتريا *Pseudomonas florescens*) بتراكيز مختلفة في تقدير نسبة انبات

من الجدول (3) لوحظ ان لزيادة التركيز بالبكتريا *P.florescens* لمقاومة الفطر *M. phaseolina* كان واضحا بشكل كبير حيث كانت نسبة الانبات عنداضافة5مل (26.66%) اما عنداضافة 20مل (90.00%) من راشح البكتريااالى التربةهذا يعني ان زيادة تركيز البكتريا في التربة تعطي نتائج اكبر فقد

بينت النتائج ان هناك تدرج في الاعراض عند زيادة التركيز بالبكتريا نحو الانخفاض كلما زاد التركيز وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحث (عبد2010) و(الرفاعي 2004) و(Sneh 1996) حيث أشاروا إلى إن البكتريا يمكن إن يظهر تأثيرها بشكل اكبر كلما زادت نسبة تواجدها في التربة.

أن مقاومة المسبب المرضي الفطري من قبل البكتريا تعود الى اسباب مختلفة: المنافسة على الغذاء مع المسبب المرضي, أفراز مواد ضارة للمسبب المرضي, وحث النبات على مقاومة المسبب

(1983Cook) سلالات متعددة من البكتريا تنتج مركب معقد من الحديد complex iron binding يسمى siderophres يتكون من مادة (pyroverdimes) التي تساعد في مقاومة المرض بواسطة حرمان المسبب المرضي من الاستفادة من ايون الحديد بالبيئة (Heungens , 1996) .

جدول (3) تقييم عامل المقاومة الإحيائية(البكتريا *Pseudomonas florescens*) بتراكيز مختلفة في تقدير نسبة انبات

المعاملة	نسبة الانبات %
5 مل	**26.66**
10 مل	**60.00**
15 مل	**66.66**
20 مل	**90.00**
المقارنة (بدون بكتريا وفطر)	**93.33**
المقارنة (مع الفطر فقط)	**13.33**
المقارنة (مع البكتريا فقط)	**93.33**
LSD 0.05	12.2

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات

4-2-3 تأثير البكتريا *Pseudomonas florescens* في خفض نسبة وشدة الإصابة بمرض التعفن الفحمي لجذور الفاصوليا تحت ظروف الضلة الخشبية:-

أظهرت النتائج (جدول 4) و(الشكل 5) أن معاملة راشح البكتريا20مل مع الفطر أدت الى خفض النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن الساق الفحمي على الفاصوليا وشدتها. اذ استطاعت البكتيريا *Pseudomonas florescens* خفض الإصابة بالفطر الممرضة بمعدل 44.66% وأحدثت خفضاً معنوياً في شدة الإصابة إلى21.66%مقارنة بمعاملة المقارنة (الفطر الممرضة بمفرده) التي كانت نسبة الإصابة في معاملاتها عالية بلغت 100% والتي تميزت بظهور أعراض إصابة من تقرح الساق وتعفن الجذور على جميع النباتات وبشدة إصابة 73.33% وبأختلاف معنوي كبير بينها كما وأظهرت النتائج ان البكتريا المقاومة لم تعطي أي تأثير يذكر على النبات.

ادى عامل المقاومة الاحيائية *P.florescens* الى زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري لبادرات الفاصوليا حين بلغ معدل الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري

في معاملة *P.florescens* بوجود عزلة الفطر *Macrophomina phaseolina* الى (1.64 , 0.63 ، 0.26 , 0.16) غم على التوالي قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده الذي كان معدل الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري فيه (1.31 , 0.25 ، 0.18 , 0.06) غم على التوالي.

جدول4. تأثير البكتريا *Pseudomonas florescens* في خفض نسبة وشدة الإصابة بمرض التعفن الفحمي لجذور الفاصوليا تحت ظروف الضلة الخشبية:-

المعاملة	% للاصابة	شدةالاصابة (%)	الوزن الطري للمجموع (غم)		الوزن الجاف للمجموع (غم)	
			الخضري	الجذري	الخضري	الجذري
P. florescens +M.ph	**44.66**	**21.66**	**1.64**	**0.63**	**0.26**	**0.16**
المقارنة (مع الفطر فقط)	**100**	**73.33**	**1.31**	**0.25**	**0.18**	**0.06**
المقارنة (مع البكتريا فقط)	**0.00**	**0.00**	**1.52**	**0.72**	**0.23**	**0.18**
المقارنة (بدون بكتريا وفطر)	**0.00**	**0.00**	**2.00**	**0.51**	**0.30**	**0.14**
LSD 0.05	12.74	6.20	0.14	0.038	0.023	0.012

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .

شكل (5) تأثير البكتريا *Pseudomonas florescens* في خفض نسبة وشدة الإصابة بمرض التعفن الفحمي لجذور الفاصوليا تحت ظروف الضلة الخشبية.

5- الاستنتاجات

١- انتشار مرض تعفن الساق الفحمي على الفاصوليا المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* في مناطق عديدة من ناحية اجبلة ومنها (الرشايد,الهلالي,خربانة,الدليمي,الحيدري)

٣- امتلاك بكتيريا *Bacillus subtilis* و البكتريا *Pseudomonas florescens* مقدرة تضادية عالية ضد الفطر *M. phaseolina* وكان أكثرها تضادية هي البكتريا *P. florescens* في الوسط الزرعي PSA.

٤ - إن الزيادة في تركيز البكتريا *P. florescens* وفر حماية لنباتات الفاصوليا من الاصابة بالفطر الممرضة وزاد معايير نمو النبات تحت ظروف الضلة الخشبية.

المصادر العربية.

البياتي , أسراء موفق عبيد . 2010 . المكافحة البايلوجية والكيميائية للفطر *Fusrium solani* ألمرافقه لجذور الكمثري في محافظة بابل.رسالة ماجستير . كليةالعلوم .الجامعة المستنصرية.

المجموعة الاحصائية السنوية.٢٠٠٨. الجهاز المركزي للاحصاء. وزارة التخطيط.العراق.

الرفاعي , شيماء ابراهيم محمود ,فيصل محبس مدلول الطاهر , محمد جبر حناوي المياحي . "تاثير اللقاح البكتيري *Pseudomonas florescens* وموعدي زراعة في نمو وحاصل صنفين من الحنطة في منط البصرة " مجلة القادسية للعلوم الصرفة -9(1):38- 49, 2004.

جبر , كامل سلمان . 1996 . المعقد المرضي بين ديدان العقد الجذرية *Meloidogyne Jaranica* والفطر *Fusarium solani* ومكافحتها إحيائيا . اطروحة دكتوراه .

ديوان , مجيد متعب.١٩٧٧.تشخيص وتاثير العمليات الزراعية على مقاومة بعض مسببات *Rhizoctonia solani* Kuhn طروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد. امراض موت البادرات وتعفن جذور البنجر السكري .رسالة ماجستير .كلية الزراعة الأول). مترجم، مطبعة جامعة الموصل.

حسون , إبراهيم خليل . 2005 . المكافحة البايلوجية والكيميائية لمسبب تقرح ساق البطاطا كلية الزراعة . جامعة بغداد

معيوف، محمود احمد وعبد الله قاسم الفخري. ١٩٨٢. مدخل البقوليات في العراق. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.٢٨٥ ص. .جامعة بغداد

عبد ,احمد فاضل2010 المكافحة الحيوية للفطر *Macrophomina phaseolina* بواسطة لبكتريا *Pseudomonas florescens* في ظروف البيت الزجاجي) :مجلة التقني .البحوث التقنية المجلد 23.العدد (2).

Ahmed, Z. M., S. Dawar and M. Tariq. 2009. Fungicidal potential of some local tree seeds for controlling root rot disease. Pak. J. Bot., 41(3): 1439-1444 Plata, 70: 91 – 95.

Bolkan , H.H and Butler , E.E. 1974. Studies on, Heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani* phytopathology . 64: 513-522.

Bossis,E,Lemanceau.P.,Latour,X,,Gardan, 2000 L'The taxonomy of Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas putida: current status and need for revision ' . Agronomie .20 (2000) 51-63..

Bost, S. 2006. Root Rot and seedling Disease of Bean and Peas. Plant Disease Extension, sp277-O. the Uni. Of Tennessee

Brent, K. J. 1995. Fungicide Resistance In crop pathogens: How can it be managed?. Published by GCPF, UK. 52pp.

Brisa, R., M.A. Fernando, G.S. Asuncion, M.R. Noemi, P.E. Arturo and M.D. Jose. 2007. The gene coding for a new transcription factor (*ftf1*) of *Fusarium oxysporum* is only expressed during infection of common bean. Fungal Genetics and Biol. 44: 864-876.

Dewan , M.M. 1989. Identify and frequency of occurrence of fungi in root of wheat and Rye grass and their effect on takeall and host growth . ph.d. thesis. Univ. West Australia, 210pp

Dickson, J. G. 1956. Diseases of Field crops. 2nd Ed. Mc Grow- Hill Book Co., London. 517pp.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute Kew , survey England .608 pp. exudates on fluorescent *Pseudomodad s*and fungi in solarized soil. Phytopathology 82 : 320 – 327.

Fall, A. L., P. F. Byrne, G. Jung, D. P. Coyne, M. A. Brick and H. F. Schwartz. 2001. Detection and Mapping of a Major Locus for Fusarium wilt Resistance in Common Bean. Crop Sci. 14:1484-1498.

Heungens , S ., Poppe , K ., J ., and Hofte , M . 1996 "Involvement of pyochelin a Buysen of tomato by pyoverdin in suppression of Pythium –induced damping –off *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK .2 ." Appl . Environ .Microbiol , 62 :865 -871 ..

Lugtenberg , B . J.J.and Dekkers ,L.C . 1999 'What makes Pseudomonas bacteria rhizosphere competent ? ' Environmental Microbiology1:9-13.

Lurnsden,R.D.lewis ,J.A., and fravel ,D.R., 1995 Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soilborene plant pathogens .In F.R.,Hall and J.W.,Barry ,eds.,Bioretional pest control agents .American Chemical society ,Washington ,D. C. 166-182pp.

McCollum,W. 1980. Producing Vegetable Crops.3th Ed. The Inter State Printers and Puplishers, Inc. USA. 607 pp.

Mckinney , H.H.1923 . Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosproium sativum* j. Agic. Research 26 : 195 - 217 .

Montealegre, J. R., R.Rodrigo ,P.M., Luz.H, Rodrigo,S.polyana .and B, Ximena. 2003. Selection of bioantagonstic bacteria to be used in biologicalcontrol of *Rhizoctonia solani* in tomato.J. Biotec. 6:115 –127.

Nzungize, J., P. Gepts, R. Buruchara, S. Buah, P. Ragama, J. P. Busogoro and J. P. Baudoin. 2011 b. Pathogenic and molecular characterization of *Pythium* species inducing root rot symptoms of common bean in Rwanda. African J. Microbiol. Res. 5(10):1169-118.

Olsen, M. M., R. Melis, J. Derera, M. Laing and R. A. Buruchara. 2010. Identification of Sources of resistance of *Fusarium* root rot among selected common bean lines in Uganda. J. of Animal and Plant Sci. 8 (3): 876-891.

Otsyula, R., P. Rubaihayo and R. Buruchara. 2003. Inheritance of Resistance to *Pythium* Root Rot in Bean (*Phaseaolus vulgaris*) genotypes.African Crop Science Conference Proceedings. 6: 295-298.

Pathak, V. N. 1974 . Laboratory manual of plant pathology . Oxford and IBH Publishing Co. NewDelhi , India . 212pp . phloroglueinol. J. United States Patent. 5 : 298 – 955. pp. 307 – 312.

Smith, G. S. and O. N. Cravil. 1997. Field Screening of Commerical and Experimental Soybean Cultivars for their reaction to *Macrophomina phaseolina*. Plant Dis. 81(4): 363-368.

Sparling, G. P. 1997. Soil microbial Biomass Activity and Nutrient of soil health lpankhuyst. C., Doube. B. M., Gupta, V. V. S. R. (Ed) pp. 97 by Biddleshtd. Guildtord and King's Lynn, UK.

Vanloan,L.C.,and E.A.Vanstrein.1999.The families of pathogenesis relatedproteins , their activities and comparative analysis of PR- 1 type proteins physiol .Mol. plant pathol . 55 : 85-97 .