تحسين فاعلية البكتريا المحفزة لنمو النبات (Rhizobacteria) والفطر *Glomus* في نيماتود العقد الجذرية (*Meloidogyne javanica*) و نمو نبات الطماطة في محافظة واسط .

معمر عبد الأمير كاظم محمد جبير حناوي *هادي مهدي عبود

جامعة واسط – كلية العلوم – قسم علوم الحياة
* وزارة العلوم والتكنولوجيا – دائرة البحوث الزراعية - قسم التقانات الاحيائية

Improvement the activities of plant growth-promoting rhizobacteria in root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and tomato plant growth in Wasit Province.

Muammar Abdul Amir Kadhim , Mohammed Jubair Hanawi , Hadi Mahdi Aboud*

University of Wasit / College of Science /Department of Biology
*Ministry of Science and Technology/ Directorate of Agriculture Research /Department of Biotechnology

Abstract

This study had been conducted to detect the existence and dispersal of bacteria in the agricultural area in Wasit province and the role of them in controlling root knote nematode .Two genera of bacteria *Azotobacter* and *Pseudomonas* were isolated from six locations in Wasit province which were Alsiwarah , Alnuamania , Alahrar , Alhay , Alkut and Algardhia with five isolates of *Azotobacter* and eight isolates of *Pseudomonas* .

The infectivity study of five *Azotobacter* isolates revealed that there is a significant differences between the isolates comparing with the control in reduction eggs hatching and the more effective isolates was *Azotobacter* sp1 (Az1) with inhibition percentage 95.05% followed by the isolate *Azotobacter* sp2 (Az2) 84.32%. while the study of eight *Pseudomonas* isolates revealed that the more effective isolates was *Ps eudomonas fluorescens*2 (Ps2)) with inhibition percentage 90.16% and the lowest percentage recorded in the case of the isolate *P. fluorescens*6 (Ps6) which was 55.76% .

The infectivity study of four selective bacterial isolates (Az1, Az2, Ps1 , Ps2) with the fungus *Glomus* against nematode revealed the highest percentage of reduction in root galling recorded when the tomato plants inoculated with the fungus and the two bacterial isolates(Az1) , (Ps2) and the number of galls were 3 galls/gm roots comparing with the control 10.6 galls/gm roots and the percentage of reduction 71.69 follwed by the treatment with the fungus and the two bacterial isolates(Az1) , (Ps1) 68.86 %. The result also revealed that the combination between *Glomus* and bacterial isolates induced plant growth and increased the criteria of growth parameters. The result also revealed *G lomus* alone achieved percentage of reduction in root galling recorded when47.16% and the number of galls were 5.6 galls/gm roots comparing with the control 10.6 galls/gm roots.

المستخلص

نفذت هذه الدراسة للتحري عن تواجد وانتشار انواع من البكتريا في الاراضي الزراعية لمحافظة واسط ودورها في مكافحة نيماتودا تعقد الجذور . تم عزل جنسين من البكتريا هما *Azotobacter* spp و *Pseudomonas* spp من ستة مواقع في محافظة واسط هي الصويرة ، النعمانية ، الأحرار ، الحي ، الكوت و الكارضية وبواقع خمس عزلات للبكتريا *Azotobacter* وثمان عزلات للبكتريا *Pseudomonas*.

أظهرت نتائج الدراسة فاعلية العزلات الخمسة المختبرة للبكتريا *Azotobacter* في تثبيط فقس البيوض وجود فروقات معنوية بين العزلات وقد تفوقت جميع العزلات على معاملة المقارنة (ماء مقطر معقم) ، وكانت العزلة (Az1) *Azotobacter* sp1 هي من أكثر عزلات البكتريا *Azotobacter* كفاءة في تثبيط فقس البيوض وبنسبة تثبيط 95.05% تليها في ذلك العزلة) *Azotobacter* sp2 (Az2 بنسبة 84.32% . بينما أظهرت نتائج دراسة فاعلية العزلات الثمان للبكتريا *Pseudomonas* تفوق العزلة (Ps2) *P. fluorescens*2 على بقية عزلات البكتريا *Pseudomonas* وبنسبة تثبيط (90.16%) وأقل نسبة تثبيط سجلت في حالة العزلة *P. fluorescens*6 (Ps6).

أظهرت نتائج دراسة فاعلية أربع عزلات بكتيرية منتخبة (Az1 ، Az2 ، Ps1، Ps2) مع الفطر *Glomus* ضد النيماتود أن أعلى نسبة اختزال في عدد العقد الجذرية كانت في حالة معاملة النباتات بالفطر *Glomus* مع العزلتين (Az1) *Azotobacter* sp1 و (Ps2) *P. fluorescence* أذ كان معدل عدد العقد الجذرية 3 عقدة / غم جذور مقارنة بمعاملة المقارنة 10.6 عقدة / غم جذور وبنسبة اختزال مقدارها 71.69% يليها في ذلك معاملة الفطر مع العزلتين Az1، و Ps1 وبنسبة اختزال 68.86% . كما أظهرت النتائج أن الفطر كان له دوراً تآزرياً مع العزلات البكتيرية في تحفيز نمو النبات وزيادة معايير نموه . كما أن الفطر لوحده حقق نسبة اختزال في عدد العقد الجذرية مقدارها 47.16 أذ كان معدل عدد العقد الجذرية (5.6عقدة / غم جذور) مقارنة بمعاملة المقارنة (10.6 عقدة / غم جذور).

المقدمة

تعد نيماتود العقد الجذرية من المتطفلات الداخلية الأجبارية التطفل والتي تسبب أضراراً أقتصادية للعديد من المحاصيل الزراعية في جميع انحاء العالم (1). أن النيماتود المتطفلة على النبات تسبب خسائر عامة للمحاصيل تقدر بحوالي 125 بليون دولار سنوياً في المناطق الاستوائية (2).

هنالك أربعة أنواع أساسية تابعة للجنس *Meloidogyne* قد تم تسجيلها على الطماطة هي *M. javanica, M.hapla , M. incognita , M. arenaria* الا أن النوع *M. incognita* هو الأكثر شيوعاً والأكثر ضرراً في العالم (3).

تعد مكافحة النيماتود المتطفلة على النبات من الأمور الصعبة التي يواجهها المختصون في هذا المجال وذلك لتنوع العوائل النباتية الحساسة لهذه المتطفلات ، وتعد طريقة المكافحة باستخدام المبيدات الكيمياوية هي من أكثر الطرق كفاءة في مكافحة هذه الديدان الثعبانية لكنها ذات تاثيرات جانبية كبيرة على الأنسان والبيئة أضافة الى التكاليف الباهضة التي تصرف في مكافحة هذه الديدان (4).

حاول الباحثون ايجاد طرق بديلة أمينة بيئياً وفعالة في نفس الوقت وكان من بين هذه البدائل استخدام البكتريا والفطريات في مكافحة الممرضات النباتية وقد تناولته العديد من الدراسات أذ ذكر Safiuddin وأخرون (5) أن استخدام البكتريا *Azotobacter chroococcum* والفطر *Trichoderma viride* أدى الى أختزال كبير في فقس بيوض النيماتود *Meloidogyne incognita* أضافة الى تحفيز نمو النبات واختزال الضرر الناجم عن النيماتود.

كما أن التآزر بين الفطر *Glomus* والبكتريا *Azotobacter* قد أثبت في دراسات كثيرة ومنها الدراسة التي أشارت الى ان معاملة النبات بخليط من فطريات المايكورايزا (*Glomus* و *Gigaspora*) والبكتريا *Azotobacter Chroococcum* أدى الى زيادة معنوية في ارتفاع النبات وطول الجذور وعدد الأفرع في النبات الواحد (6).

واشارت الدراسات الى أن أضافة البكتريا او الفطريات مع خلاصة النبات الى التربة أدى الى اختزال كتل البيض وعدد البيض داخل الكتل والعقد الجذرية التي تكونها النيماتود *M. incognita* في جذور الطماطة بشكل كبير جداً وأشارت أيضاً الى دورهما في تحسين نمو النبات وزيادة طول النبات بالإضافة الى زيادة الوزن الطري والجاف (7 ، 8).
دراسات اخرى بينت ان لعملية التداخل بين فطريات المايكورايزا والبكتيريا (*Azotobacter* spp و *P. fluorescen*) دوراً تآزرياً مهماً في مكافحة نيماتود تعقد الجذور وتحسين نمو النبات وتطوره (9) .
نفذت هذه الدراسة لعزل وتشخيص بعض عوامل المكافحة الاحيائية من الاراضي الزراعية في محافظة واسط واستخدامها في مكافحة نيماتود العقد الجذرية.

المواد وطرائق العمل

جمع عينات التربة

تم جمع 24 عينة من تربة الرايزوسفير على عمق 15 – 20 سم من 6 مواقع في محافظة واسط وبواقع 4 عينات لكل موقع ، تم جمعها بأكياس من البولي أثيلين وتم حفظها في المختبر على درجة حرارة 4 º م بعد تعليمها من حيث الموقع وتاريخ الجمع (جدول 1). تم خلط عينات كل موقع خلطاً جيداً للحصول على عينة ثانوية . تم أخذ 100 غم منها وأضيف اليها 900 مل ماء مقطر للحصول على التركيز 10^{-1} ، جهزت سلسلة من التخافيف العشرية من خلال نقل 1 مل من الأصل الى 9 مل من الماء المقطر وبتكرار العملية تم الحصول على التخافيف من 10^{-1} - 10^{-6} .
أجري التحليل في مختبرات كلية العلوم/ جامعة واسط ومختبرات مركز التقانات الاحيائية / دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا.

جدول (1): تاريخ اخذ العينة و واقع جمعها

التسلسل	الموقع	تاريخ أخذ العينة
1	واسط / الصويرة	10/12/2013
2	واسط / النعمانية	12/12/2013
3	واسط / الأحرار	13/12/2013
4	واسط / الحي	16/12/2013
5	واسط / الكوت	18/12/2013
6	واسط /الكارضية	22/12/2013

عزل وتنمية البكتريا *Pseudomonas* spp

، تم أستخدم الوسط الزرعي King' B Medium لعزل البكتريا حيث تم أخذ 0.1 مل من التخافيف 10^{-3} و 10^{-6} من كل عينة ونشرة على سطح الوسط الزرعي الموجود في أطباق بتري سعة 9سم مع التحريك الرحوي . حضنت الأطباق على درجة حرارة 28 º م لمدة 48 ساعة

فحص المزارع النامية تحت الأشعة فوق البنفسجية (365 nm) ثم تم التقاط المستعمرات التي يظهر فيها لمعان أخضر وتنقيتها على الوسط بطريقة Streak plate method للحصول على مزارع نقية للبكتريا النامية لغرض التشخيص .

عزل وتنمية البكتريا *Azotobacter* spp

أستخدم الوسط الزرعي N Free Medium لعزل البكتريا حسب ما موصوف من قبل Harold وأخرون ،(1998) وتم التشخيص اعتمادا على الخصائص المجهرية والبيوكيميائية الموصوفة من قبل Harold و Grawlt (10) و Baron و Finegold (11) .

تحضير اللقاح البكتيري

تم تحضير اللقاح البكتيري للبكتريا *Pseudomonas fluorescens* من مزارع نقية على الوسط الخاص King'B Medium والبكتريا *Azotobacter* على الوسط N Free Medium حيث أجريت عملية الطرد المركزي للعالق الحاوي على الخلايا البكتيرية التي تم فصلها من مزارع بعمر 48 ساعة على درجة حرارة 28 º م ، ثم جمعت الخلايا البكتيرية بواسطة الماء المقطر المعقم وتم تحضير عالق بكتيري بتركيز (10^8cfu/ml) وتم استخدامه كلقاح بكتيري في التجارب .

تحضير لقاح الفطر *Glomus* sp

تم عزل الفطر *Glomus* sp من تربة الرايزوسفير لنباتات طماطة نامية بشكل جيد من أحدى مزارع الكارضية في محافظة واسط ، استخدمت طريقة المناخل الرطبة لعزل الابواغ (12) . لقحت جذور بادرات ذرة عمر 3 يوم بالبوغ المفرد وزارعتها في اصص بلاستيكية مجهزة بتربة معقمة . حضرت عدة بادرات بنفس الطريقة ووضعت في الظلة الخشبية مع المتابعة والسقي . تم تلويث 5 اصص سعة 1 كغم زرعت ببذور الذرة الصفراء بواقع 5 بذرة لكل اصيص وجرت متابعتها لمدة 60 يوم لتصبح جاهزة للاستخدام وقد استخدمت بواقع 5 غم (جذور مصابة) لكل اصيص . تم تشخيص عزلة الفطر بالاعتماد على الخصائص المورفولوجية لأبواغ الفطر (13) .

تحضير لقاح النيماتود

تم تحضير لقاح النيماتود من خلال تقطيع جذور نباتات طماطة مصابة بالنيماتود بعد غسلها لإزالة الأتربة منها الى قطع صغيرة وضعت في خلاط كهربائي وأضيف اليها 40 مل من الماء مع 10 مل من هايبوكلورات الصوديوم على السرعة القصوى ثم مرر الخليط على سلسة من المناخل أصغرها قياس 25 مايكرون . تم جمع البيض وغسله بتيار خفيف من الماء المقطر بواسطة Washing bottle لعدة دقائق ثم تم جمع البيوض في دورق صغير سعة 50 مل. تم عد بيوض النيماتود بواسطة شريحة خاصة لاستخراج معدل عدد البيوض في 1 مل وأستعمال التركيز المطلوب في التجربة (14).

تحضير بادرات الطماطة

تم الحصول على بادرات طماطة بعمر أسبوعين من مكاتب زراعية في محافظة واسط.

فاعلية البكتريا في تثبيط فقس بيض النيماتود *M. javanica*

تم تقييم فعالية ثمانية عزلات للبكتريا *Pseudomonas* وخمس عزلات للبكتريا *Azotobacter* في تثبيط فقس البيوض من خلال نشر 2 مل من عالق بيوض النيماتود (1000بيضة/مل) لكل عزلة من العزلات البكتيرية في طبق بتري قطر 5 سم ثم أضيف اليه 2 مل من العالق البكتيري تركيز(10^8 CFU) وحضنت على درجة حرارة 28 º م لمدة اسبوع . أستخدم الماء المقطر بدلاً من العالق البكتيري كمعاملة مقارنة . خصص لكل معاملة ثلاث مكررات تم حساب النسبة لمئوية للبيض الهالك (الغير فاقس) في جميع المعاملات بعد ثلاثة أيام .

تأثير عزلات بكتيرية منتخبة والفطر *Glomus* في نيماتود العقد الجذرية ومعايير نمو نباتات الطماطة

نفذت هذه التجربة من خلال تجهيز تربة مزيجية معقمة في اصص بلاستيكية سعة 2 كغم تربة (2 : 1 تربة مزيجية الى بتموس) ، لقحت الأصص بالبكتريا بواقع 2 مل من العالق البكتري تركيز (108cfu/ml) أضيف اللقاح الفطري بواقع 5 غرام جذور مصابة حاوية على الفطر لكل أصيص ثم لقحت بـ 3 مل من العالق المائي لبيوض النيماتود (1000/ مل) ثم زرعت الأصص ببادرات الطماطة عمر اسبوعين وخصص لكل معاملة 3 أصص بلاستيكية وكانت المعاملات كالآتي :-

تربة بدون معاملة للمقارنة.
تربة معاملة بالنيماتود فقط.
تربة معاملة بالفطر *Glomus* فقط.
تربة معاملة بالنيماتود + *Glomus* .
تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا *Azotobacter* sp1 (Az1) + *Glomus* .
تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا (Az2) *Azotobacter* sp2 + *Glomus* .
تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا *P. fluorescens*1 (Ps1) + *Glomus* .
تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا *P. fluorescens*2 (Ps2) + *Glomus* .
تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا (Az1) + بكتريا (Ps1) + *Glomus* .
تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا (Az1) + بكتريا (Ps2) + *Glomus* .

تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا (Az2) + بكتريا (Ps1) + . *Glomus*
تربة معاملة بالنيماتود + بكتريا (Az2) + بكتريا (Ps2) + . *Glomus*

جرت متابعة للنباتات وتم قياس معدل عدد العقد الجذرية والنسبة المئوية لاختزالها وعدد البيوض في غرام واحد من الجذور ومعامل التكاثر كما تم قياس طول النبات والجذر أضافة الى معدل الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري. تم أحتساب معامل التكاثر Reproductive Factor كما يلي :

$$\text{معامل التكاثر} = \frac{\text{العدد الكلي للبيوض في النهاية}}{\text{العدد الكلي للبيوض في البداية}} = \frac{\text{(عدد البيض في غم واحد)(وزن الجذر)}}{3000}$$

التحليل الاحصائي

تم التحليل الأحصائي باستعمال البرنامج الاحصائي SPSS النسخة 20 في تحليل البيانات لدراسة تأثير المعاملات المختلفة وقورنت الفروق المعنوية بين النسب او المعدلات المدروسة باختبار اقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمالية 0,05 $P\leq$.

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

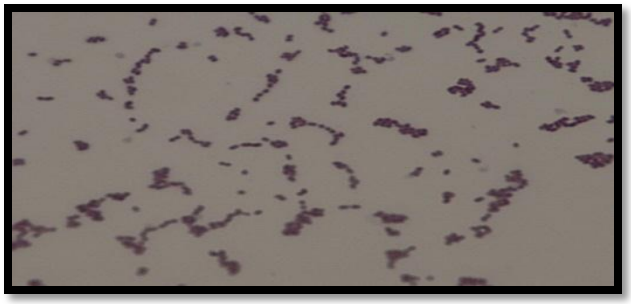
عزل البكتريا *Pseudomonas* spp

أظهرت نتائج التحري عن البكتريا *Pseudomonas* spp في تربة الرايزوسفير في محافظة واسط وللمواقع المدروسة جدول (4) ان جميع المواقع (الصويرة ، النعمانية ، الأحرار ، الحي ، الكوت ، الكارضية) اظهرت تواجد لهذه البكتريا وقد تم الحصول على ثمانية عزلات للبكتريا المذكورة من تلك المواقع وبواقع عزلة واحدة لكل موقع عدى الصويرة والكارضية بواقع عزلتين جدول (2).

جدول (2): عزلات البكتيريا *Pseudomonas* والمواقع التي عزلت منها

التسلسل	رمز العزلة	الموقع	تاريخ أخذ العينة	نتيجة التشخيص
1	Ps 1 Ps 2	واسط / الصويره	10/12/2013	*Pseudomonas* sp 1 *Pseudomonas* sp 2
2	Ps 3	واسط / النعمانية	12/12/2013	*Pseudomonas* sp3
3	Ps 4	واسط / الأحرار	13/12/2013	*Pseudomonas* sp 4
4	Ps 5	واسط / الحي	16/12/2013	*Pseudomonas* sp 5
5	Ps 6	واسط / الكوت	18/12/2013	*Pseudomonas* sp 6
6	Ps 7 Ps 8	واسط /الكارضية	22/12/2013	*Pseudomonas* sp 7 *Pseudomonas* sp 8

استنادا الى الفحوصات المختبرية التي اشارت الى كون البكتريا متحركة وسالبة لصبغة غرام اضافة الى ان نموها على الوسط King' B Medium أظهر لمعان اخضر كما أن نتائج الفحوصات البيوكيمياوية ومنها كاشف الاوكسيديز(Oxidase reagent) و كاشف الكاتليز (Catalase reagent) كانت موجبة فأن العزلات تصنف على ان جميعها كانت *Pseudomonas fluorescens* شكل (1).



شكل (1): مستعمرة البكتريا *Pseudomonas*

أن عزل البكتريا *Pseudomonas* من الحقول الزراعية في محافظة واسط هو مؤشر على خصوبة هذه الاراضي الزراعية لما لهذه البكتريا من أثر في تسهيل امتصاص المواد الغذائية وتحفيز نمو النبات أضافة الى كبحها لنشاط العديد من المسببات المرضية من خلال أنتاج العديد من المواد الأيضية والمضادات الحياتية المضادة لمثل هذه المسببات المرضية ناهيك عن دورها في تثبيت عنصر النتروجين الذي يعد من العوامل الأساسية التي تحدد نوعية الأنظمة الزراعية.
تتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي تشير الى أنتشار هذه البكتريا في الأراضي الزراعية إذ تمكن Ghafil1 و Hassan (15) من عزل 35 عزلة لهذه البكتريا من 70 عينة تم جمعها من ثلاث محافظات هي بغداد وبابل وواسط وذكر أن معظمها لها القابلية على أنتاج انزيم الـ lipase .
كما أشارت دراسة أخرى الى دور هذه البكتريا في أنتاج مركب سيانيد الهيدروجين HCN وهو عبارة عن مواد أيضية طيارة ثبت أن لها دور كبير في تثبيط نشاط نيماتود العقد الجذرية *Meloidogyne javanica* على التبغ (16) .
دراسة مشابهة أخرى أشارت الى دور هذه البكتريا في معالجة مشكلة نقص الحديد في بعض الأراضي الزراعية وخاصة القاعدية منها من خلال أنتاج مركبات ذات وزن جزيئي قليل تدعى Siderophores لها دور كبير في تسهيل جاهزية عنصر الحديد للنبات (17) .

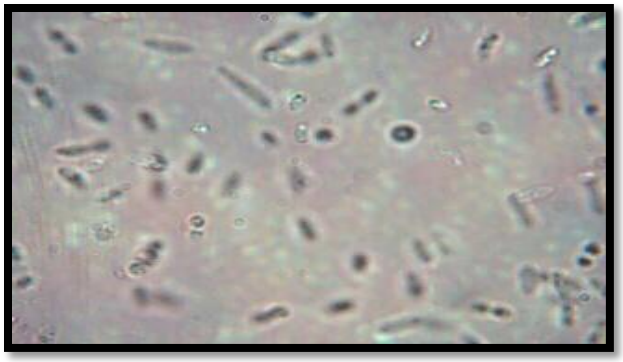
عزل البكتريا *Azotobacter* spp

أظهرت نتائج التحري عن البكتريا *Azotobacter* spp في تربة الرايزوسفير للمواقع المدروسة جدول (3) ان جميع المواقع (الصويرة ، النعمانية ، الأحرار ، الكوت ، الكارضية) اظهرت تواجد للبكتريا وقد تم الحصول على خمسة عزلات للبكتريا من تلك المواقع بواقع عزلة واحدة لكل موقع عدى موقع قضاء الحي فلم يلاحظ وجود للبكتريا في هذا الموقع.

جدول (3): عزلات البكتيريا *Azotobacter* spp والمواقع التي عزلت منها

التسلسل	رمز العزلة	الموقع	تاريخ أخذ العينة	نتيجة التشخيص
1	Az 1	واسط / الصويره	10/12/2013	*Azotobacter* sp1
2	Az 2	واسط / النعمانية	12/12/2013	*Azotobacter* sp2
3	Az 3	واسط / الأحرار	13/12/2013	*Azotobacter* sp3
4	-	واسط / الحي	16/12/2013	-
5	Az 4	واسط / الكوت	18/12/2013	*Azotobacter* sp4
6	Az 5	واسط /الكارضية	22/12/2013	*Azotobacter* sp5

وقد صنفت جميع العزلات على أنها *Azotobacter* بناءاً على ما أظهرته المواصفات الزرعية والفحص المجهري من وجود مزارع بيضاء ناعمة هلامية على الوسط N Free Medium أضافة الى إيجابية الاختبارات البيوكيماوية شكل(2).



شكل (2): مستعمرة البكتريا *Azotobacter*

البكتريا *Azotobacter* هي الأخرى يعد أنتشارها في أراضي محافظة واسط مؤشر أخر على خصوبة الأراضي الزراعية في محافظة واسط ولهذه البكتريا أيضاً دور في تحسين خصائص التربة وبالتالي تحسين

نمو النبات وزيادة الإنتاجية حيث اشارت الدراسات الى أن هذه البكتريا تنتج الحامض Indol acetic acid (IAA) الذي يلعب دور في تحفيز أنبات البذور ويسرع نمو الجذور ويزيد من الكتلة الحيوية للجذور (18).

ان أنتشار بكتريا الـ *Azotobacter* في الترب الزراعية العراقية ودورها في مكافحة الممرضات قد ذكر في دراسات كثيرة (19 ، 20).

سجل أن البكتريا *Azotobacter chroococcum* A4 لها دور كبير في زيادة جاهزية الفسفور في التربة وأنتاج مركبات الـ Siderophores و قادرة على أنتاج الأنزيم ACC deaminase الذي يلعب دور كبير في تحطيم المركب 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) وبالتالي أنعاش النظام الجذري وتحسين نموه (21) .

عزل وتشخيص الفطر *Glomus* sp

تم تشخيص عزلة الفطر *Glomus* على أنها *Glomus mosseae* بالاعتماد على الخصائص المظهرية وشكل السبورات والمفاتيح الموصوفة من قبل Sharma وأخرون (13).

فعالية العزلات البكتيرية في تثبيط فقس بيوض النيماتود *M. javanica*

فعالية عزلات البكتيريا *Azotobacter* في تثبيط فقس بيوض النيماتود *M. javanica*

أظهرت نتائج دراسة فعالية العزلات الخمسة المختبرة للبكتريا *Azotobacter* في تثبيط فقس البيوض (جدول 4) وجود فروقات معنوية بين العزلات وقد تفوقت جميع العزلات معنوياً على معاملة المقارنة (ماء مقطر معقم) ، وكانت العزلة *Azotobacter* sp1 (Az1) هي من أكثر العزلات كفاءة في تثبيط فقس البيوض أذ كانت نسبة التثبيط 95.09% يليها في ذلك العزلة *Azotobacter* sp2 (Az2) والتي كانت عندها نسبة التثبيط 84.32%. أقل نسبة تثبيط للبيوض كانت في معاملة العزلة *Azotobacter* sp5 (Az5) وكانت 51.81 والتي تفوقت أيضاً معنوياً على معاملة المقارنة (15.79%) .

جدول (4): فعالية عزلات البكتيريا *Azotobacter* في تثبيط فقس بيوض النيماتود *M. javanica*

العزلات البكتيرية	معدل نسبة القتل %
Azotobacter sp1 (Az1)	95.09
Azotobacter sp2 (Az2)	84.32
Azotobacter sp3 (Az3)	77.16
Azotobacter sp4 (Az4)	70.00
Azotobacter sp5 (Az5)	51.81
Control	15.79
LSD 0.05	11.16

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

أن كفاءة البكتريا Azotobacter في تثبيط فقس البيوض قد يعود الى دور المواد الأيضية والأنزيمات التي تنتجها هذه البكتريا والتي لعبت دوراً أساسياً في قتل البيوض أو أحداث خلل في عملية الفقس وبالتالي تثبيط هذه العملية أذ أشارت العديد من الدراسات الى ان هذه البكتريا لها القدرة على أنتاج سيل من المواد الأيضية والأنزيمات والمضادات الحياتية التي تلعب دور كبير في التأثير على فقس البيض والنيماتود والمسببات المرضية الاخرى (22 ، 23) .

كانت النتائج متوافقة مع ما أشارت اليه أحدى الدراسات والتي أشارت الى أن البكتريا Azotobacter chroococcum ذات فعالية عالية في تثبيط فقس البيض في نيماتود العقد الجذرية M. incognita وان التأثير على البيوض كان أكبر مقارنة

بكتل البيض (24). كما ذكر Safiuddin وأخرون (8) أن أستخدام البكتريا *Azotobacter chroococcum* والفطر *Trichoderma viride* أدى الى أختزال كبير في فقس بيوض النيماتود *Meloidogyne incognita* أضافة الى تحفيز نمو النبات واختزال الضرر الناجم عن النيماتود.

أن التباين بين العزلات أو السلالات البكتيرية في التأثير على النيماتود قد ذكر في أكثر من دراسة مشابهة لما أوجدته هذه الدراسة أذ أشارت دراسة لتقييم فاعلية ثمانية سلالات من البكتريا *Azotobacter chroococcum* ضد نيماتود الحويصلات الى تباين السلالات فيما بينها في اختزال عدد الحويصلات التي تكونها النيماتود وأن النسبة المئوية للاختزال كانت محصورة بين 10% و 59.5% (25).

فعالية عزلات البكتيريا *Pseudomonas* في تثبيط فقس بيض النيماتود *M. javanica*

أظهرت نتائج دراسة فاعلية 8 عزلات للبكتريا ***Pseudomonas*** في تثبيط فقس البيوض لنيماتود العقد الجذرية *M.javanica* (جدول 5) وجود فروقات معنوية بين العزلات وقد تفوقت جميع العزلات على معاملة المقارنة وقد كانت العزلة *P. fluorescens* (Ps2) هي من أكثر العزلات كفاءة في تثبيط فقس البيوض وقد تفوقت معنوياً على جميع العزلات باستثناء العزلة Ps1 أذ كانت نسبة التثبيط في العزلة (Ps2) 90.16% يليها في ذلك العزلة *P. fluorescens* (Ps1) حيث كانت نسبة التثبيط عندها 82.76% في حين سجلت أقل نسبة تثبيط في حالة المعاملة *P. fluorescens* (Ps6) وكانت 55.76% ، أما في معاملة المقارنة فقد كانت نسبة عدم فقس البيوض 15.79% . أظهرت النتائج عدم وجود فارق معنوي بين العزلة (*P. fluorescens* Ps4) والعزلة (*P. fluorescens* Ps5) حيث كانت نسبة التثبيط عندهما 64.79% ، 64.91% على التوالي.

جدول (5) :فعالية عزلات البكتيريا Pseudomonas في تثبيط فقس بيوض النيماتود *M. javanica*

العزلات البكتيرية	معدل نسبة التثبيط %
P. fluorescens (Ps1)	82.76
P. fluorescens (Ps2)	90.16
P. fluorescens (Ps3)	72.32
P. fluorescens (Ps4)	64.79
P. fluorescens (Ps5)	64.91
P. fluorescens (Ps6)	55.76
P. fluorescens (Ps7)	78.07
P. fluorescens (Ps8)	77.32
Control	15.79
LSD 0.05	10.67

***كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات**

أن البكتريا *P. fluorescens* هي من أكثر أنواع البكتريا شيوعاً في منطقة الرايزوسفير وتلعب دور كبير في التداخل بين الكائنات الحية في التربة من خلال انتاجها للعديد من المركبات والأيضييات ذات التأثير المضاد للأحياء الموجودة في تلك البيئة فيهي تنتج مركبات ذات تأثير مضاد للفطريات (26) ومركبات ذات تأثير مضاد للبكتريا (27) ومركبات ذات تأثير مضاد للديدان الثعبانية (28) ، لذا فأن مثل هذه البكتريا التي تمتلك هذا المدى الواسع من التأثير المضاد لابد وأن يكون لها دور كبير في تثبيط فقس بيوض النيماتود وقد سجل هذا التأثير من قبل الكثير من الباحثين حيث ذكر Negar وأخرون (29) أن البكتريا *Pseudomonas fluorescence* قد ثبطت فقس بيض النيماتود *M. javanica* بنسبة 100% .

أشيرالى أن أنزيمات الـ Chitinases تلعب دور كبير في تثبيط فقس البيوض وتدميرها من خلال مهاجمة الكايتين الموجود في غلاف البيضة وأن البكتريا *Pseudomonas fluorescens* هي من البكتريا المنتجة للأنزيمات المحطمة للكايتين Chitinolytic Enzymes (30).

تتفق هذه النتائج مع ما أشار اليه Ansari وأخرون (31) من أن البكتريا *Pseudomonas striata* قد حققت نسبة تثبيط في بيوض النيماتود *M. javanica* مقدارها 95% .

وأشار Loper (32) الى أن البكتريا *Pseudomonas* sp تنتج مجموعة من المضادات الحيويه (Antibiotics) والتي تكون سامة لأغلب مسببات امراض الجذور ومنها على وجه الخصوص Extracellular Protease الذي يؤدي الى تثبيط فقس البيض . وبين Siddiqui وأخرون (16) أن تثبيط فقس بيوض النيماتود *M. javanica* المعاملة براشح البكتريا

Pseudomonas fluorescence يعزى الى تأثير مركبات سيانيد الهيدروجين (HCN) التي تنتج من قبل هذه البكتريا . أشارت دراسة مشابهة الى أن استخدام كل من البكتريا *Gluconacetobacter diazotrophicus* و البكتريا *Pseudomonas* sp والبكتريا *Azotobacter chroococcum* ضد النيماتود *Meloidogyne graminicola* أدى الى اختزال فقس البيوض وأعداد اليرقات أضافة الى اختزال النسبة المئوية للإصابة في نباتات الرز وكانت البكتريا *Pseudomonas*هي الأكثر كفاءة تليها في ذلك البكتريا *Azotobacter* وأشار الى أن الأحماض العضوية التي تنتجها هذه البكتريا تلعب دور كبير في عرقلة عملية الفقس وبالتالي تقليل كثافة الطور اليرقي الذي يهاجم النبات (33).

تاثير الفطر *Glomus* والعزلات البكتيرية المنتخبة في نيماتود العقد الجذرية *M. javanica*

أظهرت نتائج هذه الدراسة جدول (6) أن للفطر *Glomus* تأثير واضح على نيماتود العقد الجذرية سواء تم استخدامه على انفراد او مع العزلات البكتيرية المختبرة وقد تباينت المعاملات في التأثير على النيماتود من خلال التاثير على عدد العقد وعدد البيض المنتج لكنها تفوقت على معاملة المقارنة.

أعلى نسبة اختزال في عدد العقد الجذرية ضمن توليفات ثلاثية قد حققها الفطر كانت في حالة معاملة النباتات بالفطر *Glomus* مع العزلتين (Az1) *Azotobacter* sp1 و (Ps2) *P. fluorescence* أذ كان معدل عدد العقد الجذرية 3 عقدة / غم جذور مقارنة بمعاملة المقارنة 10.6 عقدة / غم جذور وبنسبة أختزال مقدارها 71.69% يليها في ذلك معاملة الفطر مع العزلتين Az1، و Ps1 وبنسبة اختزال 68.86% .

وفي حالة التوليفات الثنائية للفطر مع العزلات فقد حقق الفطر مع العزلة (Az1) *Azotobacter* sp1 أعلى نسبة اختزال مقدارها 62.26% أذ كان معدل عدد العقد الجذرية (4 عقدة / غم جذور) مقارنة بمعاملة المقارنة (10.6 عقدة / غم جذور) يليها في ذلك معاملة الفطر مع العزلة Ps2 *P. fluorescence* (4.6 عقدة / غم جذور) . كما أن الفطر لوحده حقق نسبة اختزال في عدد العقد الجذرية مقدارها 47.16 أذ كان معدل عدد العقد الجذرية (5.6عقدة / غم جذور) مقارنة بمعاملة المقارنة (10.6 عقدة / غم جذور).

جدول (6): تأثير الفطر*Glomus* والبكتريا *Pseudomonas* ، *Azotobacter* والتداخل بينهما في نيماتود العقد الجذرية *M. Javanica*

المعاملة	عدد العقد / غم جذور	% للاختزال	عدد البيض / غم جذور	RF
Ne فقط (Control)	10.6	-	3180	3.69
G + Ne	5.6	47.16	1684	2.45
Az1 + G + Ne	4.0	62.26	1204	2.14
Az2 + G + Ne	5.6	47.16	1588	1.61
Ps1 + G + Ne	6.6	37.73	1982	2.51
Ps2 + G + Ne	4.6	56.60	1378	1.35
Az1 Ps1 + G + Ne	3.3	68.86	986	1.72
Az1 Ps2 + G + Ne	3.0	71.69	904	1.55
Az2 Ps1 + G + Ne	5.0	52.83	1492	1.58
Az2 Ps2 + G + Ne	3.6	66.03	1076	1.27
LSD 0.05	**0.78**	**9.32**	**234.4**	**0.29**

*** كل رقم يمثل معدل لثلاث مكررات**

Ne = نيماتود ، G = الفطر *Glomus* ، Ps = *Pseudomonas* ، Az = *Azotobacter* ، RF = معامل التكاثر

أعلى معدل لعدد البيوض المنتجة من قبل النيماتود قد سجل في معاملة المقارنة (نيماتود فقط) وكان 3180 بيضة/غم جذور وأقل معدل لعدد البيض في حالة التوليفات الثنائية قد سجل في معاملة الفطر مع العزلة (Az1) وأقل معدل في حالة التوليفات الثلاثية قد سجل في معاملة الفطر مع العزلتين) (Az1 و (Ps2) وكان 904 بيضة/غم جذور.

أقل قيمة لمعامل التكاثر (RF) قد سجلت في معاملة الفطر مع العزلتين (Az2) و (Ps2) وكانت 1.27 يليها في ذلك معاملة الفطر مع العزلة (Ps2) وكانت 1.35 مقارنة بمعاملة المقارنة (3.69).

أظهرت النتائج دوراً كبيراً للفطر *Glomus* في أختزال عدد العقد الجذرية والبيوض التي تكونها النيماتود *M. Javanica* وهذا قد يعزى الى دور الفطر في أحداث تغيرات فسيولوجية وبايوكيميائية قد تحفز مقاومة النبات وتحفيزه أيضاً على أنتاج بعض المركبات كالفينولات (phenols) والفايتوالكسينات (phytoalexins) والتي قد يكون لهل تأثير مضاد للنيماتود

وبالتالي يقلل من فرصة إصابة الجذور وتقليل عدد العقد والبيوض أو أن الفطر يصبح منافس للنيماتود على مواقع إصابة الجذور واستعمارها وتقليل فرص النيماتود من أصابتها وقد تم اثبات هذا الدور في دراسات كثيرة ، أذ اشار Udo وأخرون (34) الى أن أضافة كل من الفطر *G. deserticola* والفطر *G. etunicatum* قد ثبط تكوين العقد الجذرية وإنتاج كتل البيض من قبل النيماتود *M. incognita* على محصول الطماطة وأشار الى دور هذه الفطريات في تحفيز النبات على أنتاج مواد مثل اللكنين والتي كان لها دور في كبح الإصابة بالنيماتود واختزال العقد الجذرية.

كما ذكر ان تلقيح بادرات الطماطة بالفطر *Glomus*, كان له دورا كبيرا في أختزال عدد وحجم العقد الجذرية بعد ما تمت اضافة لقاح الفطر للنبات قبل اضافة النيماتودا وأشار الى أن الدور الذي يلعبه الفطر *Glomus* في مكافحة النيماتودا يعتمد على دور الفطر في منافسة النيماتود على مواقع الاختراق والإصابة والتغذية والتي تم استغلالها مسبقاً من قبل الفطر (35).

النتائج التى تم الحصول عليها كانت متوافقة مع ما اشار اليه Marro وأخرون (36) واللذين أشاروا الى أن الفطر *G. intraradices* كان له دور كبير في اختزال عدد العقد في جذور نباتات الطماطة بعد 60 من العدوى بالفطر أضافة الى اختزال عامل التكاثر (RF).

لوحظ من خلال هذه الدراسة ان هنالك تآزر بين العزلات البكتيرية والفطر في التأثير على النيماتود وان التأثير كان أكبر من تأثير كل منهما على انفراد وأن هذه الحقيقة قد تم أثباتها في دراسات كثيرة أذ اشارت أحدى الدراسات المشابهة لتقويم تأثير كل من الفطر *G. intraradices* والبكتريا *Pseudomonas straita* والبكتريا Rhizobium sp في المعقد المرضي الذي تسببه النيماتود *Meloidogyne incognita* والفطر *Macrophomina phaseolina* أن أفضل النتائج في مكافحة النيماتود قد تم الحصول عليها عندما تمت المعاملة بالفطر وكلا النوعين من البكتريا وأشار الى أن التوليفة الثلاثية تفوقت في التأثير على التوليفات الثنائية للفطر مع أي من النوعين من البكتريا (37). دراسة مشابهة اشارت الى الدور التآزري بين البكتريا وخلاصة النبات في مكافحة النيماتود *M. incognita* (8).

النتائج كانت متوافقة أيضاً مع ما أشار اليه Sharma و Sharma (38) أذ أشارا الى أن الفطر *Glomus intraradices* قد حقق نتائج جيدة في اختزال عدد العقد الجذرية التي تكونها النيماتود *M. incognita* في جذور نباتات الطماطة المعاملة بالفطر مقارنة بتلك الغير معاملة وأشارا أيضاً الى أختزال في عدد أكياس البيض والكثافة السكانية بشكل عام وتحسين نمو النبات وانه يمكن الاعتماد عليه كبديل أمن لاستخدام المبيدات الكيمياوية في مكافحة النيماتود.

تأثير الفطر*Glomus* والعزلات البكتيرية المنتخبة في معايير نمو نبات الطماطة

أظهرت النتائج جدول (7) أن الفطر *Glomus* أثر تأثيراً كبيراً في معايير النمو لنبات الطماطة مقارنة بمعاملة المقارنة . كما أظهرت النتائج أن الفطر كان له دوراً تآزرياً مع العزلات البكتيرية في تحفيز نمو النبات وزيادة معايير نموه (طول الساق والجذر والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري) ، ولوحظ أيضاً أن معاملة النبات بالنيماتود فقط (Control 2) قد اختزلت معايير نمو نبات الطماطة وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (Control 1).

فيما يخص طول الساق والجذر لنبات الطماطة أظهرت النتائج أن معاملة النباتات بالفطر لوحده حققت زيادة في طول الساق والجذر وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (control 2) أذ كانت القيم 18.2سم ، 15.9 سم على التوالي في حين كانت القيم عند معاملة المقارنة 8.9 سم ، 7.9 سم على التوالي ، وقد تفوقت معنوياً في صفة طول الساق على جميع المعاملات .

بينت النتائج أيضاً أن العزلات البكتيرية قد تباينت فيما بينها بالاستجابة للفطر في حالة التوليفات الثنائية. فقد حققت العزلة Az1 مع الفطر أعلى قيمة لطول الساق والجذر وكانت 14.9 سم ، 14.1سم على التوالي في حين سجلت العزلة Ps1 مع الفطر أقل القيم وكانت 11.7سم ، 12.2سم على التوالي .

كما أن التوليفات الثلاثية بين العزلات البكتيرية والفطر *Glomus* أظهرت نتائج متباينة ، فقد حققت توليفة الفطر مع العزلتين Az1 ، Ps2 أعلى القيم لطول الساق والجذر وكانت 16.3سم ، 17.1سم على التوالي في حين سجلت توليفة الفطر مع العزلتين Az2 ، Ps1 أقل القيم ومقدارها 12.8سم ، 13.3سم على التوالي ، ولم تسجل فروقات معنوية بين هذه المعاملات باستثناء المعاملة (Ne + G + Az2 Ps1) والتي انخفضت معنوياً عن بقية المعاملات.

وفيما يخص الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري فقد أظهرت النتائج ان الفطر لوحده حقق زيادة في الوزن الطري والجاف وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (control 2) أذ كانت القيم 11.8غم ، 1.3 غم على التوالي في حين كانت القيم عند معاملة المقارنة 5.8 غم ، 0.62 غم على التوالي .

وأظهرت النتائج أيضاً وجود تفاعل تآزري بين الفطر والعزلات البكتيرية المنتخبة تباينت درجاته بين القوي والضعيف في تأثيره على الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري ، ففي التوليفات الثنائية حققت العزلة Az1(*Azotobacter* sp1) مع الفطر *Glomus* أعلى القيم للصفتين وكانت 8.9غم ، 0.79غم على التوالي وتفوقت معنوياً على بقية المعاملات الثلاث في حين سجلت العزلة Az2 مع الفطر أقل القيم وكانت 5.1غم ، 0.49غم على التوالي.

أما في التوليفات الثلاثية فقد حققت معاملة الفطر مع العزلتين Az1 و Ps2 أعلى القيم للوزن الطري والجاف وكانت 9.6غم ، 0.84 غم على التوالي وقد تفوقت معنوياً على بقية المعاملات باستثناء المعاملة (Az1 Ps1 + G + Ne) في حين سجلت معاملة الفطر مع العزلتين Az2 و Ps1 أقل القيم وكانت

5.3غم ، 0.49غم للوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري على التوالي.
كما أن النتائج أوضحت أن الفطر والبكتريا أثرت على الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري جدول (7) وقد حققت معاملة الفطر *Glomus* لوحده أعلى القيم للصفتين وكانت 7.08غم ، 0.72 غم على التوالي وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (Control 2) التي سجلت 3.48غم ، 0.33غم على التوالي .
وأظهرت النتائج أيضاً أن التداخل بين الفطر والعزلات المنتخبة أثرت تأثيراً ايجابياً على وزن الجذور حيث حققت التوليفة الثنائية بين الفطر والعزلة البكتيرية Az1 أعلى القيم للوزن الطري والجاف للجذور وكانت 5.34غم ، 0.49غم على التوالي وتفوقت معنوياً على بقية العزلات الثلاث (Az2 ، Ps1 ، Ps2) مع الفطر في حين سجلت التوليفة الثنائية بين الفطر والعزلة البكتيرية Ps2 أقل القيم وكانت 2.94غم ، 0.26غم على التوالي .
وبينت النتائج أيضاً أن دمج أكثر من عزلة بكتيرية مع الفطر ضمن توليفة ثلاثية أيضاً أثر تأثيراً واضحاً على وزن الجذور حيث سجلت التوليفة بين الفطر والعزلتين Az1 وPs1 أعلى القيم للوزن الطري والجاف وكانت 5.22غم ، 0.49غم على التوالي في حين سجلت التوليفة بين الفطر والعزلتين Az2 وPs1 أقل القيم للوزن الطري والجاف وكانت 3.18غم ، 0.29غم على التوالي .

جدول (7): تأثير الفطر*Glomus* والبكتريا *Pseudomonas* ، *Azotobacter* والتداخل بينهما في معايير نمو نبات الطماطة

المعاملة/معايير النمو	SL سم	RL سم	WWS غم	DWS غم	WWR غم	DWR غم
Control (1)	15.1	14.2	9	0.81	5.40	0.59
Nematode (control 2)	8.9	7.9	5.8	0.62	3.48	0.33
Glomus	18.2	15.9	11.8	1.30	7.08	0.72
G + Ne	12.9	10.2	7.3	0.69	4.38	0.43
Az1 + G + Ne	14.9	14.1	8.9	0.79	5.34	0.49
Az2 + G + Ne	12.1	13.0	5.1	0.49	3.06	0.29
Ps1 + G + Ne	11.7	12.2	5.8	0.60	3.48	0.29
Ps2 + G + Ne	13.2	13.2	5.9	0.63	2.94	0.26
Az1 Ps1 + G + Ne	15.2	16.1	8.8	0.83	5.22	0.49
Az1 Ps2 + G + Ne	16.3	17.1	9.6	0.84	5.16	0.47
Az2 Ps1 + G + Ne	12.8	13.3	5.3	0.49	3.18	0.29
Az2 Ps2 + G + Ne	15	15.8	5.9	0.51	3.54	0.30
LSD 0.05	**1.68**	**1.61**	**0.96**	**0.09**	**0.57**	**0.05**

كل رقم يمثل معدل لثلاث مكررات
SL = طول الساق ، RL = طول الجذر ، WWS = الوزن الطري للمجموع الخضري ، DWS = الوزن الجاف للمجموع الخضري ، WWR = الوزن الطري للمجموع الجذري ، DWR = الوزن الجاف للمجموع الجذري

أن زيادة معايير نمو النبات بسبب معاملته بالفطر *Glomus* قد يعزى الى أن هذا الفطر يوفر للنبات قدرا اضافيا من المواد الغذائية من خلال زيادة المساحة السطحية للامتصاص إضافة الى زيادة جاهزية بعض العناصر الغذائية التي لم تكن جاهزة للنبات قبل أضافة الفطر وبالتالي تحسين نمو النبات وزيادة معايير نموه ، كما أن للفطر دورا فعالا في تحسين امتصاص عنصر الفسفور من التربة بالإضافة الى المواد العضوية وهذا ما يؤكد دور الفطر في زيادة كمية المادة العضوية المتاحة للنبات في التربة (39).

أن التآزر بين الفطر *Glomus* والبكتريا *Azotobacter* قد أثبت في دراسات عديدة ومنها الدراسة التي أشارت الى ان معاملة النبات بخليط من فطريات المايكورايزا (*Glomus* و *Gigaspora*) والبكتريا *Azotobacter Chroococcum* أدى الى زيادة معنوية في ارتفاع النبات وطول الجذور وعدد الأفرع في النبات الواحد بالإضافة الى الوزن الجاف والوزن الطري لنباتات الـ (*Delonix regia*) مقارنة بتلك الغير معاملة وأشار الى أن تحفيز النمو يعزى الى أنتاج بعض المواد المحفزة للنمو مثل Gebberellins و Indol Acetic Acid والفيتامينات كما أن الهايفا الفطرية حول الجذور تساعد على الاحتفاظ بالرطوبة وتزيد من جاهزية العناصر الغذائية المفيدة (6).
ذكر Avis وأخرون (40) ان الفطر *Glomus* spp هو اكثر فطريات المايكورايزا التي تناولتها وانه لا يحسن فقط نمو النبات وانتاجيته من خلال تجهيز المغذيات وانما يؤدي دوراً

مهماً في حمايته من الأمراض التي تصيب المجموع الخضري والجذري ومن خلال الافرازات التي تفرز في منطقة الرايزوسفير والتنافس على مواقع التغذية وتحسين الحالة التغذوية للنبات وتحويرات تحصل في النظام الجذري و تفرعاته أضافة الى تغيير النظام البيئي وما يحصل فيه من نشاط ميكروبي وتداخلات بين الاحياء الدقيقة المضادة واستحثاث المقاومة في العائل.

أن فطريات المايكورايزا ودورها في تثبيط نشاط الممرضات قد تم استثمارها بعدة طرق فقد اشارت احدى الدراسات الى أن أضافة الفطر *Glomus fasciculatum* مع خلاصة النبات الى التربة أدى الى اختزال كتل البيض وعدد البيض داخل الكتل والعقد الجذرية التي تكونها النيماتود *M. incognita* في جذور الطماطة بشكل كبير جداً وأشارت أيضاً الى دور الفطر في تحسين نمو النبات وزيادة طول النبات بالإضافة الى زيادة الوزن الطري والجاف (7).

وفي دراسة مشابهة تم عزل 62 عزلة من البكتريا من سطح الابواغ العائدة لفطريات المايكورايزا واثبت ان هذه البكتريا ذات علاقة مع الابواغ التي اثبتت تضادها مع الديدان الثعبانية *M. incognita* وفطريات التربة الممرضة *Fusarium oxysporum* و *Pythium* spp على نباتات الطماطة ، ووجد ان التكامل ما بين هذه البكتريا والفطر *G. intraradices* حقق اعلى نسبة خفض في العقد الجذرية وانتاج كتل البيض للديدان الثعبانية أضافة الى اختزال نسبة الإصابة الفطرية على سيقان الطماطة (41).

اثبت Kannan وأخرون (42) ان تلقيح نبات الذرة الصفراء بفطريات المايكورايزا وانواع مختلفة من البكتريا المحفزة لنمو النبات قد عمل على تهيئة العناصر الغذائية الموجودة بالتربة من قبل الانزيمات الفعالة مثل الـ Phosphatase الحامضي والقاعدي و جزيئة Phospholipids fatty acid (PLFA) التي لها دوراً مهماً في نمو النبات و جاهزية العناصر والمقاومة الحيوية وتقليل الاجهاد في النبات.

المصـــــــادر

1-Williamson, V. M. and Hussey, R. S.(1996). Nematode pathogenesis and resistance in plants. Plant Cell 8, 1735–1745.

2-Chitwood, D. J. (2003). Research on plant parasitic nematode biology conduct by the United States department of agriculture, agriculture research service. Pest Manag. Sci. 59, 748–753.

3-Maqbool, M.A. ; Hashmi, S. and Ghaffar, A. (1988). Problem of root knot nematode in Pakistan and strategy for their control. In: Maqbool, M.A., Golden, A.M., Ghaffar, A., Krusberg, L.R. (Eds.),Advances in Plant Nematology. National Nematological Research Centre, University of Karachi, Karachi, Pakistan, pp. 229–240.

4-Rehman, A. U. ; Javed, N. ; Ahmed, R. and Shahid, M. (2009). Integration of bioproducts and Pasturia penetrans for the management of root knot nematodes over three crop cycles of tomatoes. Pak. J. Nemotol., 27 (2):325-336.

5-Safiuddin, S. S. ; Tiyagi, S. A. Rizvi, R. and Mahmood, I. (2014). Biological control of disease complex involving Meloidogyne incognita and Rhizoctonia solani on growth of okra through microbial inoculants . J. Microbiol. Biotech. Res. 4 (5):46-51.

6- Soliman, A.S. ; Morsy, E.M. and Massoud, O.N. (2015). Tolerance of bio-fertilized Delonix regia seedlings to irrigation intervals. Journal of Horticulture and Forestry 7 (3) : 73 – 83 .

7- Rizvi, R. ; Singh, G. ; Safiuddin, ; Ansari, R. A. ; Tiyagi, S. A. and Mahmood, I. (2015). Sustainable management of root-knot disease of tomato by neem cake and Glomus fasciculatum. Cogent Food & Agriculture 1 : 1-13.

8- El-Nagdi, W. M. A. and Youssef, M. M. A. (2015). Nematicidal effect of some aqueous extracts of botanicals and a commercial bacterial byproduct for biocontrolling root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infecting sugar beet. Scientia Agriculturae, 10 (2) **:** 55-58.

9- Verma, J. P. ; Yadav, J. ; Tiwari, K. N. ; Lavakush, S.V. and Singh,V. (2010) a. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop prodution. Int. J. of Agric. Res. 5: 954-983.

10- Harold, J. B. and Grawlt, M. C.(1998). Microbiological applications laboratory manual in general microbiology. Seventh Edition.

11- Baron E. J. and Finegold, S. M. (1990). Bailey and Scotts's diagnostic microbiology, 8th Ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis.Baltimore. Philadelphia. Toronto. PP. 363-407.

12- Gerdemann, J. W. and Nicolson, T. H.(1963). Spores of mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46:235–244.

13- Sharma, S. ; Parkash, V. and Aggarwal, A. (2008) . Glomales: a monograph of *Glomus* spp. (*Glomaceae*) in the sunflower rhizosphere of haryana, india. Helia 31 (49) : 13-18.

14- Hussey, R. S. and Barker, K. R. (1973) . A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne spp*., including a new technique. Plant Disease Reporter. 57:1025–1028.

15-Ghafil, J. A. and Hassan, S. S. (2014). Effect of cultural conditions on lipase production *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iraqi soil. World Journal of Experimental Biosciences 2(1) : 13-18.

16 Siddiqui, I. A. ; Shaukat, S. S. ; Hussain, S. I. and Khan, A. (2006). Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. World J. Microb. Biot. 22, 641–650.

17-Boopathi, E. and Rao, K.S. (1999). A siderophore from *Pseudomonas putida* type A1: structural and biological characterization. BBA-Protein Struct. M. 1435, 30–40.

18- Ahmad, F.; Ahmad, I. and Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol. Res. 163, 173–181.

19- Nahia, A. A. ; Al-Baker, A.Y. and Hamza, H.M. (2005). Study the optimal cultural conditions for alginic acid production by local isolate of *Azotobacter vinelandii* using solid state fermentation . Iraqi J. Biotech. 4 (1) :51-75,

20- Hamdi, Y. A. ; Yousef, A. N. ; Al-Azawi, S. ; Al-Tai, A. and Al-Baquari, M. S. (1978). Distribution of certain non-symbiotic nitrogen fixing organisms in Iraqi soils. Ecological Bulletins 26 : 110 – 115.

21 - Wani, P.A. ; Khan, M.S. and Zaidi, A.(2007). Coinoculation of nitrogen-fixing and phosphate solubilizing bacteria to promote growth, yield and nutrient uptake in chickpea. Acta Agron. Hung. 55, 315–323.

22- Zahir, Z. A., Asghar, H. N., Akhtar, M. J. and Arshad, M. (2005). Precursor (L-tryptophan)- inoculum (Azotobacter) interaction for improving yields and nitrogen uptake of maize. J. Plant Nutr. 28, 805–817.

23-Rajaee, S. ; Alikham, H.A. and Raiesi , F. (2007). Eff ect of plant growth promoting potentials of *Azotobacter chroococcum* native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 11: 297.

24- Chahal, P.P.K. and Chahal, V.P.S. (1986). Effect of *Azoeobacter chroococcum* on the hatching of eggs mass and eggs of *Meloidogyne incognita*. Plant and Soil 95 : 289 – 291.

25- Bansal, R.K. ; Dahiya, R.S. ; Lakshminarayana, K. ;Suneja, S. ; Anand, R.C. and Narula, N. (1999). Effect of rhizospheric bacteria on plant growth of wheat infected with *Heterodera avenae.* Nematol. Medit. 27: 311 – 314.

26-Loper, J. E. and Gross, H.(2007). Genomic analysis of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. Eur. J. Plant Pathol. 119, 265–278.

27- Velusamy, P., Immanuel, J.E., Gnanamanickam, S.S., Thomashow, L. (2006). Biological control of rice bacterial blight by plant-associated bacteria producing 2,4-
diacetylphloroglucinol. Can. J. Microbiol. 52, 56–65.

28-Cronin, D. ; Moe¨ nne-Loccoz, Y.; Fenton, A.; Dunne, C. ; Dowling, D. N. and O'Gara, F. (1997). Role of 2,4-diacetylphloroglucinol in the interactions of the biocontrol pseudomonad strain F113 with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis". Appl. Environ. Microbiol*. 63, 1357–1361.

29- Negar, B. ; Masoud, A. and Ramin, H.(2014). Effects of *Pseudomonas fluorescens* strain UTPF5 on the mobility, mortality and hatching of root-knot

36- Marro, N. ; Lax, P. ;Cabello , M. ; Doucet, M. E. and Becerra, A. G.(2014). Use of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* as biological control agent of the nematode Nacobbus aberrans parasitizing tomato. Braz. arch. biol. technol. 57(5): 668 – 674.

37-Akhtar, M. S. and Siddiqui, Z. A. (2008). Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by *Glomus intraradices*, *Rhizobium* sp. and *Pseudomonas* straita. Crop Protection 27: 410–417.

38-Sharma, I.P. and Sharma, A. K. (2015). Application of arbuscular mycorrhiza for managing root-knot disease in tomato (Lycopersicon esculentum) under glass-house conditions in Pantnagar, India. African Journal of microbiology Research 9(7) : 463 – 468.

39- Heggo, A. M. ; Tawfik, A. E. ; Riad, F. W. and El-Shall, S. A. (1988). The role of VA mycorrhizae in reducing the incidence of crown gall and root-knot diseases on Almond. Food Science and Microbiology, 1: 234-241.

40-Avis, T. J. ; Gravel, V. ; Antoun, H. and Tewdd, R. J. . (2008). Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Soil Biol. and Biochem. 40:1733-1740.

41-Reimann, S. (2005). The interrelationships between *rhizobacteria* and *arbuscular mycorrhizal* fungi and their importance the integrated management of nematodes and soilborne plant pathogens. Dissertation, Rheinischen Friedric- Wilhelms Univ. Bonn. 98 pp.

42- Kannan, V. R. ; Suganya, S. ; Solomon, E. K. ; Balasubramanian, V. ; Ramesh, N. and Rajesh . P.(2011). Analysis of interaction between *arbuscular mycorrhizal* fungi and their helper bacteria by Milpa model. Res. Plant Biol., 1: 48-62.

nematode *Meloidogyne javanica.* Archives Of Phytopathology And Plant Protection 47(6): 744 – 755.

30-Yong, S. L. and Kil , Y. K. (2015) . Statistical optimization of medium components for chitinase production by Pseudomonas fluorescens strain HN1205: role of chitinase on egg hatching inhibition of root-knot nematode, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 29(3): 470-478**.**

31-Ansari, M. A. ; Rupela, O. P. ; Douaik, A. ; Gopalakrishnan, S. and Sharma, S. B. (2002). Effect of culture *filtrates of Pseudomonas striata, Trichoderma harzianum, T. viride and Aspergillus awamori on egg hatch of Meloidogyne javanica.* International Journal of Nematology, 12 (2). pp. 131-136.

32-Loper, J. E. (2005). J.E. Genomic Sequence of the Biological Control Agent *Pseudomonas Fluorescens* Pf-5. Methyl Bromide Alternatives and Emissions Research Conference Proceedings. 113-122.

33- Pankaj, K. ; Bansal, R.K. and Nandal, S. N.(2010). Biocontrol of *Meloidogyne Graminicola* using *Rhizobacteria* on rice seedlings. Nematol. medit. 38: 115-119

34-Udo, I. A. ; Uguru, M. I. ; Ogbuji, R. O. (2013). Pathogenicity of *Meloidogyne incognita* race 1 on tomato as influenced by different arbuscular mycorrhizal fungi and bioformulated *Paecilomyces lilacinus* in a dysteric cambisol soil. Journal of Plant Protection Research 53 (1) : *71* -78 .

35-Elsen, A. ; Beeterens, R.; Swennen, R. and De Waele, D. (2003). Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus and two plant parasitic nematodes on Musa genotypes differing in root morphology. Biology and Fertility of Soils Journal, 38(6): 367-376.