تقييم كفاءة البكتريا *Azotobacter* sp. و*Azospirillium* sp. ضد مسبب مرض ذبول اللوبياء في محافظة بابل

د. احمد كاظم عبد الهادي *ايمان اسماعيل نعمت الاركوازي

جامعة الفرات الاوسط التقنية -الكلية التقنية المسيب

الملخص

اجريت هذه الدراسة بهدف مسح لمرض الذبول على اللوبياء في بعض حقول محافظة بابل للعام 2015-2016 مع تقييم كفاءة فعالية البكتريا *Azotobacter chroococcum* و*Azospirillum brasilense* في مكافحتها واجراء التكامل بينهما مختبريا و تحت ظروف الظلة الخشبية, بينت نتائج العزل والتشخيص بأن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* اكثر الفطريات ظهورا. بينت نتائج الاختبار الاولي للمقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F. oxysporum* باستخدام بذور الفجل ان معظم عزلات هذا الفطر منعت انبات البذور بالكامل قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها 100%. كما أوضحت النتائج تأثير العزلات الممرضة في نسبة انبات بذور اللوبياء حيث تراوحت نسبة الانبات بين 0.00-33.33% وشدة اصابة للبادرات 83.33-100% قياسا بمعاملة المقارنة والتي كانت نسبة الانبات فيها 100%. اوضحت نتائج اختبارات المقدرة التضادية لكل من البكتريا *Azotobacter chroococcum* والبكتريا*Azospirillum brasilense*, امتلاكها مقدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض *F. oxysporum* . أظهرت نتائج الظلة الخشبية أن المعاملات المستعمل بها العوامل الاحيائية البكتريا *Azotobacter chroococcum* و*Azospirillum brasilense* بمفردها او مجتمعة ادت الى رفع معنوي لمعايير النمو قياساً بمعاملة الفطر الممرض بمفرده, , وان طبيعة التأثيرات الايجابية ارتبط بزيادة الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وطول النبات وحجم الجذر.

الكلمات المفتاحية: *Fusarium oxysporum*، *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillum brasilense*، *Vigna unguiculata*.

EVALUATION THE EFFICIENCY OF BACTERIA *Azospirillium* sp& *Azotobacter* sp. FOR CONTROL THE CAUSAL AGENTS OF WILT DISEASE OF CAWPEA'S IN BABIL GOVERNORATE

Eman Ismaiel Neamat Al- * **Dr. Ahmad Kadhim Abdul–Hdi Arkawazy**

ABSTRACT

This study was conducted in order to survey of wilt disease of cowpea in some fields of Babil governorate in 2015-2016 and evaluating the efficiency of bacteria in the control and integration between them under laboratory and lath house conditions. The results of isolation and diagnosis showed the fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* was the most visible one as it appeared. The first test results of the pathogenicity of *F. oxysporum* studied using radish seeds showed that all tested isolates of pathogenic fungi above caused a significant reduction in the percentage of seeds germination Compared to control in which the percentage of germination was 100%.The results showed the effect of pathogenic isolates in germination ratio cowpea's seeds, Where the rate of germination ranging from 0.00-33.33% and severity of injury of seedling about 83.33-100% compared to the treatment of comparison, which was germination rate of 100% .The antagonism test of these bacteria showed that both bacteria *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* it had high antagonism against pathogenic fungi *F. oxysporum*,. In lath house experiment the results showed that all treatments with biological control agents bacteria *Azotobacter chroococcum* و*Azospirillum brasilense* alone or in combination causing a increasing plant growth compared with the treatment of pathogenic fungi alone, the positive influences was associated with increased fresh and dry weight of the vegetative and root groups and plant length and root diameter.

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

key words: *Fusarium oxysporum, Azotobacter chroococcum, Azospirillum brasilense , Vigna unguiculata*.

المقدمة

محصول اللوبياء *Vigna unguiculata* L. (walp) من محاصيل الخضر البقولية المهمة في العراق, التي تنتمي للعائلة البقولية Fabaceae, **[3]**. يعد مرض ذبول اللوبيا من الأمراض التي تسبب خسائر اقتصادية في المحصول وتتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*tracheiphilum*(smith) **[27,28]**. اتبعت في العقود الاخيرة المكافحة الاحيائية باستعمال بعض الاحياء المضادة التي تعمل على كبح الممرضات النباتية وكذلك تعمل في الوقت نفسه على زيادة الانتاج ومن ابرز هذه الاحياء مجموعة من البكتريا التي تسمى البكتريا المشجعة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) مثل بكتريا من جنس*Azotobacter* و *Azospirillium* **[19,18]**. هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لمرض ذبول اللوبياء واختبار مقدرتها الإمراضية في محافظة بابل و تقييم كفاءة البكتريا *Azotobacter chroococcum* و البكتريا *Azospirillium brasilense* كعوامل مكافحة احيائية ضد مسبب مرض ذبول اللوبياء تحت ظروف الظلة الخشبية في محافظة بابل.

المواد وطرائق العمل

المسح الحقلي:

أجري مسح لمرض ذبول اللوبياء للموسم الزراعي 2015- 2016 في 8 حقول مختلفة في محافظة بابل(جدول1), حيث تم اخذ العينات عشوائيا بطريقة تقاطع الاقطار، وحسبت النسبة المئوية للإصابة على ضوء الاعراض الظاهرة على النباتات, حفظت العينات في الثلاجة تحت درجة حرارة 4°م لحين عزل الفطريات المرافقة للجذور من كل عينة في اليوم التالي. وحسبت النسبة المئوية للإصابة :-

$$\% \text{ للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة}} \times 100$$

عـــزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نباتات اللوبياء المصابة:-

عزلت وشخصت الفطريات المرافقة للجذور وذلك حسب طريقة**[25]**, نقيت على الوسط الزرعي PDA حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±1 م° لمدة 4 ايام وشخص الفطر *F. oxysporum* من قبل الدكتور احمد كاظم عبد الهادي في مختبر الدراسات العليا-الكلية التقنية المسيب اعتمادا على الصفات المظهرية والمجهرية باتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة**[20,14,26,24]**, حفظت العزلات في انابيب اختبار حاوية على الوسط الزرعي (PDA) المائل ووضعت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 مْ لإجراء الدراسات اللاحقة عليها. وحسبت النسبة المئوية لظهور الفطر كما يلي:-

$$\% \text{ لظهور الفطر} = \frac{\text{عدد قطع الجذور التي ظهر فيها الفطر في الاطباق}}{\text{العدد الكلي للقطع المستعملة في العينة}} \times 100$$

تحضير لقاح الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* :

تم تحضير لقاح عزلة الفطر الممرض *F. oxysporum*وحسب طريقة **[12]** ، باستعمال الدوارق وحضنت في درجة حرارة 25±1 مْ لمدة 15 يوما مع رج الدوارق كل 2-3 ايام لضمان التهوية وتوزيع اللقاح الفطري داخل الدورق على جميع البذور وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *Fusarium oxysporum*:

الكشف عن العزلات الممرضة باستعمال بـــذور الفجل:

تم اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F. oxysporum*(8عزلات) وكما ذكر في (جدول1)، و حســـسب طريقة **[11]**، مع استعمال ثلاث مكررات علاوة على معاملة المقارنة (من دون اضافة الفطر الممرض)، وضعت الاطباق في حاضنة بدرجة حرارة 25±1 م° ثم اخذت النتائج بعد 7 ايام وذلك بحساب النسبة المئوية للإنبات وحسب المعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

جدول(1)عزلات الفطر الممرض *F. oxysporum* التي تم اختبار مقدرتها الأمراضية باستعمال بذور الفجل.

Table(1)Isolates of pathogenic fungi *F. oxysporum* has been tested pathogenicity using radish seeds

Isolate code رمز العزلة	Location الموقع	Isolate code رمز العزلة	Location الموقع
F.o5	ناحية النيل	F.o1	ناحية جبلة
F.o6	قضاء المحاويل	F.o2	قضاء المسيب
F.o7	ناحية القاسم	F.o3	القرية العصرية (الحصوة)
F.o8	ناحية الكفل	F.o4	ناحية ابي غرق

اختبار تأثير بعض عزلات الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* في انبات بذور اللوبياء:

نفذت هذه التجربة في الظلة الخشبية التابعة الى الكلية التقنية / المسيب باستعمال التصميم العشوائي التام(C.R.D.), اذ انتخبت عزلات الفطر الممرض *F. oxysporum* (*F.o*1 و*F.o*3 و*F.o*8) التي حققت اعلى نسبة تثبيط في انبات بذور الفجل وتم تحميلها على بذور الدخن كما في الفقرة اعلاه, زرعت بذور لوبياء محلية بعد تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم(1%)في اكياس بلاستيكية بعد تعقيم التربة وأضيف لقاح الفطر الممرض بمقدار 1% (وزن/ وزن) المحمل على بذور الدخن، وبواقع ثلاث مكررات مع ترك معاملة من دون اضافة الفطر الممرض ، بعدها زرعت الاكياس ببذور اللوبياء الصنف المحلي, وبمعدل خمس بذور لكل كيس, سقيت الاكياس بعد الزراعة ، و باكتمال انبات بذور معاملة المقارنة حسبت النسبة المئوية للإنبات بعد 8أيام من الزراعة. ولحين ظهور اعراض المرض تم قلع النباتات وحسبت شدة الاصابة حسب الدليل المرضي المؤلف من خمس درجات كالاتي:**0**=الجذور سليمة.**1**=تلون الجذور الثانوية بلون بني فاتح بنسبة 25%.**2**=تلون الجذور الثانوية وجزء من الجذر الرئيسي بنسبة أكثر من 25-50%.**3**=تلون المجموع الجذري دون قاعدة الساق بنسبة اكثر من 50%.**4**=تلون المجموع الجذري وقاعدة الساق بنسبة اكثر من 75%.**5**= موت النبات بأكمله.وتم حساب النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة**[22]**:

$$\text{شدة الاصابة} = \frac{(\text{عدد النباتات من الدرجة 0}\times 0) + \ldots\ldots + (\text{عدد النباتات من الدرجة 5}\times 5)}{\text{مجموع النباتات المفحوصة} \times \text{اعلى درجة اصابة}} \times 100$$

واستناداً إلى نتائج هذه التجربة تم اختيار اشد العزلات إمراضيه في تنفيذ التجارب اللاحقة .

تحضير عالق البكتريا(*Az*) *Azotobacter chroococcum* والبكتريا *Azospirillum brasilense*(*As*)

نميت البكتريا(*Az*)و(*As*) التي تم الحصول عليها من مختبر الدراسات العليا-الكلية التقنية المسيب (المعزولة من حقول مزرعة نباتات الحنطة والطماطة والمشخصة سابقا)على وسط التنشيط السائل Nutrient broth وبعد تعقيمه بالمؤصدة لقح من مزرعة حديثة عمرها يوم واحد لهذه البكتريا باستعمال الناقل وحضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة على درجة 30°م ولمدة 3-5 أيام ولغرض الحصول على كمية اكبر من العالق البكتيري لغرض استعماله في تجارب الظلة الخشبية والحقل تم تهيئة دوارق مخروطية سعة 50 مل تحتوي على 100 مل من وسط التنشيط السائل وبعد تعقيمها بالمؤصدة لقح كل منها عن طريق اضافة 1 مل من المزرعة السائلة المجهزة ، وحضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة لحين الاستعمال **[5].**

حساب الكثافة العددية للبكتريا

اتبعت طريقة عد المستعمرات في الأطباق The (Plate Count Technique) لحساب العدد الكلي للبكتريا(*Az*) *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense*(*As*) حضرت التخافيف 10^{-1}الى 10^{-10} ونميت على الوسط Nutrient Broth Agar مع تحريك الطبق حركة رحوية ،حضنت

الاطباق بدرجة حرارة 28±1°م ولمدة 1-3 أيام, تم حساب عدد الخلايا البكتيرية**[1]** كالاتي:

عدد البكتريا /مل من العينة الأصلية =عدد المستعمرات في الطبق × مقلوب تخفيف العينة

المقدرة التضادية للبكتريا(*Az*) *Azotobacter chroococcum* والبكتريا *Azospirillum brasilense*(*As*) ضد الفطر الممرض *F. oxysporum* (F.o-8)المسبب لمرض ذبول اللوبياء.

اختبرت المقدرة التضادية للبكتريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* ضد الفطر الممرض *F. oxysporum* على الوسط الزرعي PDA (الخالي من المضاد الحيوي), بإضافة1مل من عالق كل عزلة من العزلات البكتيرية عمر 5 أيام مع تحريكه حركة رحوية لتوزيع اللقاح بصورة متجانسة قبل اضافة لقاح الفطر الممرض في مركزة, تم اختبار الاطباق الحاوية على البكتريا بالفطر الممرض وذلك بأخذ قرص قطر 0.5 سم من حافة المستعمرة الفطرية النامية بواسطة ثاقب فليني ووضعت في مركز الطبق بمعدل ثلاثة مكررات لكل جنس مع ترك ثلاث مكررات للمقارنة من دون عالق بكتيري , حضنت الاطباق عند درجة الحرارة 25±1°م لمدة 7 أيام**[17],** لحين وصول مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق بعد ذلك تم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفق المعادلة التالية:-

$$\%\text{للتثبيط} = \frac{\text{نمو الفطر في معاملة المقارنة} - \text{النمو في المعاملة}}{\text{نمو الفطر في معاملة المقارنة}} \times 100$$

تحديد التخافيف الفعالة من عوالق البكتريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* ضد الفطر الممرض

استعملت عشرة انابيب اختبار تحوي كل انبوبة على 9 مل ماء مقطر معقم للعوالق البكتيرية *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense*, ثم اخذ 1 مل من كل من عالق البكتريا المنماة على وسط N.b لكل منهما بواسطة ماصة معقمة ونقلت الى انبوبة اختبار حاوية على 9 مل من الماء المقطر المعقم ليتكون التخفيف 10^{-1}, و تم نقل 1 مل من تخفيف 10^{-1} الى الانبوب الثاني ونقل 1 مل من الانبوبة الثانية الى الانبوبة الثالثة وهكذا كررت العملية على باقي الانابيب للحصول على سلسلة من التخافيف, بعدها جرى تلقيح الاطباق الحاوية على الوسط الزرعي PDA بأخذ1مل/طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري وحرك الطبق حركة رحوية بسيطة لتوزيع اللقاح البكتيري وتم اخذ قرص من حافة المستعمرة الفطرية للفطر الممرض *F. oxysporum* (F.o-8) المنماة على الوسط الزرعي PDA بعمر7 ايام كل على انفراد وبمعدل 3 اطباق لكل تخفيف وتركت 3 اطباق من الفطر الممرض للمقارنة من دون تلقيح بالبكتريا وحضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة 25 ±1°م حتى وصول النمو في معاملة المقارنة الى حافة الطبق وبعدها حسبت نسبة التثبيط كما متبع في الفقرة أعلاه واعتمادا على النتائج حدد اقل تخفيف مثبط للفطر الممرض هو التخفيف 10^{-7} للبكتريا *Azotobacter chroococcum* والتخفيف 10^{-6} للبكتريا *Azospirillum brasilense* .

تقييم كفاءة البكتريا *Azotobacter chroococcum*و البكتريا *Azospirillum brasilense* والتكامل بينها والمبيد الكيميائي Beltanol في حماية نباتات اللوبياء من الاصابة بمرض الذبول تحت ظروف الظلة الخشبية:

اجريت التجربة في الظلة الخشبية التابعة للكلية التقنية/المسيب بتاريخ 2017/4/1 باستعمال اكياس بلاستيكية سعة 3 كغم وضعت فيها تربة مزيجية معقمة، اضيف عالق البكتريا(Az) *Azotobacter chroococcum* و*Azospirillum brasilense* (As)الى التربة بحسب طريقة **[30]** وذلك قبل اضافة الفطر الممرض بثلاثة ايام، أما المبيد Beltanol فأضيف ضمن المعاملة المذكورة له بتركيز 1 مل/ لتر حسب توصيات الشركة المنتجة له بعد يوم واحد من اضافة الفطر الممرض الذي اضيف بنسبة 1% (وزن/وزن) وتركت معاملة المقارنة بدون اي اضافة **[6,8,5].** أما معاملات التجربة فهي كما يلي :

1- الفطر *F. oxysporum* (*F.o* 8) بمفرده.**2-** البكتريا *Azotobacter chroococcum* (Az)بمفردها.**3-** البكتريا *Azospirillum brasilense* (As)بمفردها. **5-** الفطر*F.o* + البكتريا Az.**6-** الفطر*F.o* +البكتريا As.**7-** الفطر*F.o* + المبيدBeltanol.**8-**البكتريا Az +البكتريا As**.9-** مقارنة (نبات فقط بدون اية اضافة).

زرعت بذور اللوبيا المحلية المعقمة سطحيا في الاكياس (غير معاملة بالمبيدات الفطرية)، بواقع 5 بذور/ اصيص. وتمت متابعة التجربة وسقيها كلما دعت الحاجة. أخذت النتائج بعد مرور شهرين بقلع 3 نباتات عشوائيا من كل مكرر لحساب النسبة المئوية للإصابة وشدتها بالفطر الممرض*F.oxysporum* ومعايير النمو للنبات.

تصميم وتحليل التجارب

نفذت التجارب المختبرية وتجربة الظلة الخشبية حسب التصميم العشوائي الكامل Complete-

Randomized-Design (C.R.D.) ، أما التجربة الحقلية فقد صممت حسب تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randomized-Complete-Block-Design (R.C.B.D.) وتم مقارنة المتوسطات باستعمال أقل فرق معنوي Least-Significant-Differentation (L.S.D.) وتحت مستوى احتمال 0.05 **[2]**.

النتائج والمناقشة

المسح الحقلي

بينت النتائج(جدول2) انتشار مرض ذبول نباتات اللوبياء في حقول زراعة نباتات اللوبياء في محافظة بابل ، وبنسب اصابة متباينة تراوحت بين 30-80%, اذ كانت اعلى نسبة اصابة في الحقول التابعة لمناطق جبلة و الحصوة والكفل اذ تراوح معدل النسبة المئوية للإصابة 70,70,80% على التوالي، وقد يعود سبب التباين الى تداخل بعض العوامل منها عدم الاهتمام بالعمليات الزراعية خاصة عمليات العزق والتعشيب التي تؤدي الى تجريح الجذور مما يهيئها لغزو الفطريات الممرضة **[16]**.

جدول(2) النسبة المئوية للاصابة بمرض ذبول اللوبياء التي شملها المسح لبعض الحقول في محافظة بابل للموسم الزراعي 2015-2016

with cowpea wilt disease in some fields in Babil Table(2) Percentage of infection province for the planting season2015-2016

Sample number رقم العينة	Location الموقع	Infection percentage(%) نسبة الإصابة(%)
1	ناحية جبلة	80
2	قضاء المسيب	40
3	القرية العصرية (الحصوة)	70
4	ناحية ابي غرق	30
5	ناحية النيل	40
6	قضاء المحاويل	30
7	ناحية القاسم	50
8	ناحية الكفل	70

عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نباتات اللوبياء المصابة

تم تشخيص 5 أجناس من الفطريات المرافقة للجذور وهي *Aspergillus* spp. , *Fusarium* spp.) *Mucor* spp. , *Penicillium* spp. , و *Alternaria* spp.)وكان الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* اكثر الفطريات ظهورا حيث سجلت وجودا في عينات المناطق التي شملها المسح وتمثلت صفات هذا الفطر في مستعمراته التي عزلت من جميع المناطق بانه يكون ثلاثة أنواع من الأبواغ اللاجنسية في التربة أو مزارعه هي: الكونيديات الصغيرة (Microconidia)، والكونيدات الكبيرة(Macroconidia)، والأبواغ الكلاميدية (Chlamydospores) **[9]**.

اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *Fusarium oxysporum* المعزولة من العينات:

يوضح الجدول(3) أن جميع العزلات حققت تبايناً في المقدرة الامراضية و احدثت جميع عزلات الفطر المختبرة خفضاً معنوياً بنسبة انبات بذور الفجل،إذ تفوقت العزلات Fo-,Fo-1 Fo-8,3 بمقدرتها الإمراضية على بقية العزلات والتي كانت واضحة في التأثير في خفض النسبة المئوية للإنبات التي كانت في معاملاتها 0% قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها 100%، و قد يعزى سبب اختلاف العزلات في تأثيرها على انبات بذور الفجل الى اختلاف مقدرتها

على انتاج المواد الايضية كالسموم والانزيمات المحللة للبكتين والسيليلوز في المراحل الاولى من الاصابة وهذه الانزيمات تؤدي دوراً في اختراق العائل، اما الاختلاف بين العزلات العائدة للنوع نفسه فربما يعزى سببه الى تغايرات وراثية بسبب اختلاف مناطق جمع العينات **[7، 4].**

جدول(3) الكشف عن العزلات الممرضة المرافقة لجذور اللوبياء المصابة باستعمال بذور الفجل على الوسط W.A.

Table.2. Detection of pathogenic isolates associated with cowpea roots infected using on W.A. radish seeds

Percentage of germination* نسبة الانبات*	Isolates العزلات	Percentage of germination* نسبة الانبات*	Isolates العزلات
3.00	F.o 6	0.00	F.o 1
4.00	F.o 7	2.67	F.o 2
0.00	F.o 8	0.00	F.o 3
100	Cont.	9.00	F.o 4
1.12	L.S.D عند مستوى 0.05	5.33	F.o 5

Fo = *Fusarium oxysporum*، العدد بجانب كل رمز يمثل رقم العزلة، *كل رقم في الجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات

أما تأثير بعض عزلات الفطر الممرض *F.oxysporum* في انبات بذور اللوبياء وبادراتها فبين الجدول (4) الى ان جميع العزلات المختبرة من الفطر *F.oxysporum* قد احدثت خفضا معنويا بنسبة انبات بذور اللوبياء, اذ بلغت النسبة المئوية للإنبات وشدة الاصابة في معاملة العزلة F.o8 0 و100%على التوالي بعد سبعة ايام من الزراعة قياسا بمعاملة المقارنة من دون اضافة الفطر الممرض والتي كانت نسبة الانبات وشدة الاصابة فيها 100و0%على التوالي, اما باقي العزلات من الفطر *F.oxysporum* فقد تفاوتت في نسبة انبات بذور اللوبياء بفروق معنوية بسيطة .

جدول(4) الكشف عن عزلات الفطر*F.oxysporum* الممرضة باستخدام بذور اللوبياء

Table(4) Detection of isolates of pathogenic fungi *F.oxysporum* using cowpea seeds

Severity of injury* شدة الإصابة*	Percentage of germination* نسبة الانبات*	Isolates العزلات
88.90	20.00	F.o 1
83.33	33.33	F.o 3
100	0.00	F.o 8
0.00	100	Cont.
0.68	1.81	L.S.D عند مستوى 0.05

Fo = *Fusarium oxysporum*، العدد بجانب كل رمز يمثل رقم العزلة، *كل رقم في الجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات

استنادا الى نتائج هذه التجربة تم انتخاب عزلة واحدة من الفطر *F.oxysporum* لاستعمالها في التجارب اللاحقة وهي F.o-8.

المقدرة التضادية للبكتريا (As) *Azospirillum brasilense* و*Azotobacter chroococcum* (Az)ضد الفطر الممرض *F .oxysporum* (F.o-8)على الوسط الزرعي PDA :

بينت النتائج ان بكتريا *Azospirillum brasilense* و*Azotobacter chroococcum* كانت ذات فعالية عالية في الحد من نمو الفطر الممرض *F.oxysporum* (F.o-8), فكانت للبكتريا(Az) و(As) بتركيز 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة / مل المختبرة تأثيرا معنويا في تثبيط الفطر الممرض *F.oxysporum* (Fo-8) حيث بلغت 74.13و70.00% على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده (دون اضافة العالق البكتيري) والتي بلغت النسبة المئوية للتثبيط 0.00% ان قدرة البكتريا(Az) على تثبيط نمو الفطر الممرض يرجع الى قابليتها على انتاج عدد من الانزيمات التي لها القدرة على تحليل جدران خلايا الفطر الممرض، وانتاج عدد من المضادات الحيوية، علاوة على انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين (HCN)، ان التأثير الذي يسببه استعمال البكتريا (As) في تثبيط نمو الفطريات الممرضة للنبات قد يعود الى مقدرتها على انتاج مواد ايضية ومركبات عضوية و اندول حامض الخليك وبعض الانزيمات والمضادات الحيوية وغيرها فضلاً عن منافستها للممرضات على المكان والمواد الغذائية**[15 ، 10، 23].**

تقييم كفاءة البكتيريا(As) *A. brasilense* و(Az) *A. chroococcum* والمبيد الكيميائي Beltanol في حماية نباتات اللوبياء من الاصابة بمرض ذبول اللوبياء تحت ظروف الظلة الخشبية

اظهرت النتائج الجدول(5) ان استعمال جميع المعاملات في تجربة الظلة الخشبية ادت الى خفض النسبة المئوية للإصابة وشدتها بمرض ذبول اللوبياء, علاوة على ذلك استطاعت البكتريا (Az) *A. chroococcum*خفض نسبة وشدة الإصابة بالفطر الممرض *F. oxysporum* بمقدار53.44و46.66% على التوالي, فيما احدثت معاملة البكتريا(As) *A. brasilense* تأثيراً مقارباً في خفض نسبة وشدة الاصابة حيث احدثت خفضا معنويا بمقدار 50.22و44.33 %على التوالي قياسا بمعاملة النبات بالفطر الممرض *F. oxysporum* والتي كانت نسبة الاصابة فيها 100%، ويعود سبب تفوق معاملة التداخل في خفض النسبة المئوية لنسبة و شدة الإصابة بالفطر الممرض إلى أن استعمال عوامل المقاومة الأحيائية متداخلة يحقق نتائج أفضل وذلك لأن كل مقاوم إحيائي ربما سيستعمل ميكانيكيات مختلفة لمكافحة المسبب المرضي وباجتماع هذه الميكانيكيات من كل عوامل المقاومة الأحيائية سيكون هناك كبح اكبر للمسبب المرضي وستكون النتائج أفضل فيما لو استخدم المقاوم الأحيائي بصورة منفردة**[13].**

جدول(5) تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية و مبيد Beltanol في خفض نسبة و شدة الإصابة بالفطر الممرض *F.oxysporum* لنباتات اللوبياء تحت ظروف الظلة الخشبية.

Evaluation of the efficiency of some biochemical agents and Beltanol In (5)Table reducing the proportion and severity of infection with pathogenic fungi *F.oxysporum* of cowpea plant in lath house condition

Severity of injury(%)* شدة الإصابة(%)*	Infection percentage(%)* نسبة الإصابة(%)*	Treatments المعاملات
100	100	***F.o*-8**
0.00	0.00	***Az***
0.00	0.00	***As***
46.66	53.44	***Az* + *F.o*-8**
44.33	50.22	***As* + *F.o*-8**
5.62	12.50	***F.o*-8 + Beltanol**
0.00	0.00	***As* + *Az***
35.44	33.43	***As* + *Az* + *F.o*-8**
0.00	0.00	**Cont.**
1.92	1.14	**L.S.D عند مستوى 0.05**

Fo-8=*Fusarium oxysporum* ، **Az**= *Azotobacter chroococcum*,**As**=*Azospirillum brasilense,*

*كل رقم يمثل معدل لثلاثة مكررات

يلاحظ من الجدول (6), ان المعاملات المستعمل بها عوامل المكافحة الاحيائية والمضافة الى التربة الملوثة بالمسببات الفطرية قد تسببت في زيادة معنوية في معايير النمو وتأتي في مقدمتها معاملة التكامل بين عوامل المقاومة الاحيائية والتي تتضمن البكتريا *A. chroococcum* مع *A. brasilense* قياسا بمعاملة الفطر المسبب لمرض ذبول اللوبياء والتي سببت خفضا معنويا واضحا في معايير النمو للنبات. ان اضافة العوامل الاحيائية والمبيد الكيميائي Beltanol مع الفطر الممرض عملت على خفض التأثير السلبي للفطر *F. oxysporum* (*F.o* 8) الممرض.

جدول(6) تقييم المعاملات الاحيائية و المبيد الكيميائي Beltanol في الوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري و معدل طول النبات و حجم الجذر لنبات اللوبياء تحت ظروف الظله الخشبية.

Table(6)Effect of some biological agents and chemical pesticide Beltanol in fresh and dry weight of the vegetative and root groups and plant length and root diameter of cowpea plant under lath house condition.

Root diameter(cm^3)* حجم الجذر(سم3)*	Plant length(cm)* طول النبات(سم)*	Dry weigh(gr.)* الوزن الجاف(غم)*		Fresh weigh(gr.)* الوزن الطري(غم)*		Treatments المعاملات
		Root الجذري	Vegetative الخضري	Root الجذري	Vegetative الخضري	
1.50	11.00	0.50	1.15	2.00	5.10	*F.o*-8
15.30	34.66	2.05	1.24	12.33	13.35	*Az*
15.34	34.61	2.00	1.26	11.80	12.40	*As*
10.00	27.69	1.58	0.89	10.31	8.83	*Az* + *F.o*-8
10.04	27.64	1.55	0.88	10.30	8.81	*As* + *F.o*-8
10.00	29.15	1.25	1.13	9.51	10.23	*F.o*-8 + Beltanol
18.13	36.71	2.77	1.86	14.07	14.60	*As* + *Az*
11.21	30.55	1.48	1.41	11.79	11.33	*As* + *Az* + *F.o*-8
11.67	34.00	1.33	1.51	12.00	10.13	Cont.
1.44	3.71	0.72	0.35	0.52	2.15	L.S.D عند مستوى 0.05

Fo-8=*Fusarium oxysporum* ، **Az**= *Azotobacter chroococcum*,**As**=*Azospirillum brasilense,*

* كل رقم يمثل معدل لثلاثة مكررات

المصادر

REFERENCES

1- الحديثي، هديل توفيق. (1983). الكتاب العملي في اساسيات علم البكتريا . مطبعة جامعة البصرة.112 ص.

2- الراوي ، خاشع محمود و عبد العزيز محمد خلف الله . (2000). تصميم و تحليل التجارب الزراعية .الطبعة الثانية. جامعة الموصل صفحه 360 .

3- ايشوا, كمال بنيامين, شوقي, منصور توما وصالح,حسين.(2002).تأثير مسافات الزراعة والسماد الفوسفاتي في صفات المحصول الكمي والنوعي لصنف اللوبياء المحلي. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية,18(1):25-24.

4- حسن, محمد صادق ,اسماعيل خليل السامرائي وعلي عباس كاظم .(2012).استحثاث المقاومة في نبات البطاطا ضد الفطر *Rhizoctonia solani* باستخدام البكتريا *Azotobacter chroococcum* والفطر *Trichoderma harzianum*.مجلة العلوم الزراعية العراقية(عدد خاص), 43(2): 1-8.

5- حسون، ابراهيم خليل .(2005). المكافحة البيولوجية والكيميائية لمسبب تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani* kuhn . اطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد .113 ص.

6- دايخ, عتاب خير الله.(2013). تأثير بعض المستخلصات النباتية و المكافحة الاحيائية للفطريات المرافقة لتدهور النخيل في محافظة ذي قار. رسالة ماجستير. الكلية التقنية المسيب.

7- **علوان, صباح لطيف و فراس, علي الركابي.(2010).**تأثير الفطر *Rhizoctonia solani* ورواشحه على انبات بذور ونمو بادرات الباميا ومكافحتها كيمياويا وحيويا. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية,2(1):1-6.

8- **مطلوب ، عهد عبد علي هادي . (2012) .** تحديد مسببات تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا وتقويم فعالية بعض عوامل المكافحة الاحيائية في مقاومتها . اطروحة دكتورا. كلية الزراعة . جامعة بغداد.

9- **Agrious,G.N.(2005).**Plant pathology .5th.E.D.,948pp.Acaddemic press,New York.

10- **Ahmed ,B; S. Nigar ,N.Abdul Malik , Sh.Bashir ,J.Ali ,S.Yousaf ,J.A.Bangash and I.Jan .(2013).** Isolation and Characterization of Cellulolytic Nitrogen Fixing *Azotobacter* species from Wheat Rhizosphere of Khyber Pakhtunkhwa .World Applied Sciences Journal 27 (1):51-60.

11- **Bolkan, H. H., and Butler E. E.. (1974).** Studies on Heterokaryosis Virulence of *Rhizoctonia solani* . Phytopathology . 64: 513 – 522.

12- **Dewan, M. M.(1989).** Identify and frequency of occurence of fungi in roots of wheat and rye grass and their effect on take - all and host growth. Ph. D. Thesis Univ. Wes. Australia. 201 pp.

13- **Domenech, J.; M.S. Reddy; J.W. Klopper; B. Ramos; and J. Gutierrez-Manero.(2006).** Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chrysebacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne disease in pepper and tomato. Biocontrol. 51:245-258.

14- **Dugan, F.M.(2006).** The Identification Of Fungi An Illustrated Introduction With Keys, Glossary, And Guide To Literature. U.S. Department Of Agriculture. Agricultural Research Service Washington State University Pullman.176 pp.

15- **Hillel, D. (2005).** Plant Growth Promoting Bacteria. Elsevier, Oxford, U. K.,:103-115.

16- **Jensen, C. E. D., J. E. Kurle and J. A. Percich. (2002).** Integrated strategies to control Root Rot in Minnesota. Northarvest Bean GroweR.s Association-Dry Edible Beans. 3pp.

17- **Fatima, Z.; Saleemi, M.; Zia, M.; Sultan,T.; Aslam, M.; Rehman , R.U. and Chaudhary , M. F. (2009).** Antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. African J. of Biotech. 8: 219-225.

18- **Gomathinayagam, s., S. A. Persaud and M. Rekha. (2012).** Comparative Study Of Biological Agents, *Trichoderma harzianum* And *Trichoderma viride* For Controlling Brown Spot Disease In Rice. J. biopest, 5 (Supplementary): 28-32.

19- **Larkin, R.P. (2004).** Development Of Integrated Biological And Cultural Approaches For Control Of Powdery Scab And Other Soilborne Disease. USDA, ARS, New England Plant, Soil, And Water Lab Univer. Of Maine, Orone, ME O 44469 WWW–Maine Potatos. Com / Pdf / Potresgrant – 04.

20- **Leslie , J. F. and Summerell , B. A. (2006).** The Fusarium Laboratory Manual .

21- **Mahato, P., A. Badoni and J. S. Chauhan. (2009).** Effect of Azotobacter and Nitrogen on Seed Germination and Early Seedling Growth in Tomato. Researcher, 1(4): 62 – 65.

22- **Mckinney, H.H. (1923).** Influence of soil teM.pherature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporum sativum*. J. Agric. Research 26: 195 – 217.

23- Nia, E. (2015). Seed yield, some yield components and morphological traits of wheat as affected by *Azotobacter* and *Pseudomonas* bacteria inoculation. International Journal of Biosciences. 6(2): 1-5 p.

24- Parmeter, J. R. and H. S.Whitney. (1970). Taxinomy and nomenclature of the imperfect stage In: *Rhizoctonia solani* Biology and Pathology.(ed) J.R.Parmeter.University of California Barkely. Los Amgeless. 7-19 pp.

25- Pathak, V. N. (1974) . Laboratory manual of plant pathology . Oxford and IBH Publishing Co. NewDelhi , India . 212pp .

26- Pitt, J. I. (1988) . Alaboratory Guide to Common Penicillium Species- 2nd ed., N. S. W. : GSIRO Division of food Processing . North Ryde .

27-Pottorff,M.O.(2014). Genetic Mapping of *Fusarium oxysporium* f.sp *tracheiphilum* Race3 and Race4 , *Macrophomina phaseolina* Resistance and other traits in Cowpea (Vigna unguiculata[L.] Walp).The university of California.

28- Rodrigues, A.A.C., Bezerra Neto, E., and Coelho, R.S.B., (2006). Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* Em Caupi: Eficiência De Indutores Abióticos E Atividade Enzimática Elicitada. Braz. Phytopathol. 31, 492–499.

29- Sing, S.R. and Allen, D.J.(1978).pests diseases resistance and protection in *Vigna unguiculata*. Proc. Int. legume cont. kew.(in press).

30- Singh, B.; Kaur, R. and Singh, K. (2008). Characterization of Rhizobium strain isolated from the roots of Trigonella foenumgraecum (fenugreek). African Journal of Biotechnology. 7 (20):3671-3676.