تقييم كفاءة بعض انواع البكتريا المشجعة لنمو الجذور في مقاومة الفطر الممرض *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الطماطة

كاظم زغير خضير
مدرس / الكلية التقنية المسيب / جامعة الفرات الاوسط
k.alkaraawi@yahoo.com

الخلاصة :
اظهرت نتائج العزل والتشخيص من جذور نبات الطماطة المصابة بمرض تعفن جذور المتسبب عن الفطر *Fusarium solani*. وبينت النتائج ان عزلات البكتريا *Pseudomonas fluorecsens* و *Azospirillum irakense* و *Azotobacter chroococcum* ذات كفاءة تثبيطيه عالية ضد عزلة الفطر الممرض *F.solani* (F.s2) على الوسط الزرعي PDA**.** كما ان رواشح البكتريا بتركيز25 % و50% قد أديا إلى تثبيط الفطر الممرض في الوسط الصلب والسائل . و بينت نتائج تجربة الظلة الخشبية ان جميع المعاملات المستخدمة ادت الى خفض شدة الاصابة و بفروق معنوية مع معاملة المقارنة اذ اعطت البكتريا *P.fluorescens + A.irakense* و *P.fluorescens + A .chroococcum* و *A.irakense + A .chroococcum* اعلى تثبيط للفطر *F.solani* مما خفضت من شدة الاصابة الى 6.25 % قياسا بمعاملة المقارنة و التي بلغت فيها 87.00% واعطت هذه المعاملات ايضا افضل النتائج بالنسبة للطول و الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وعدد الازهار .
الكلمات المفتاحية: نبات الطماطة ، *Fusarium solani* ، بكتريا الجذور، المكافحة الاحيائية.

EVALUTION THE EFFICIENCY OF SOME PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA SPECIES IN CONTROL OF *FUSARUIM SOLANI* CAUSING AGENT OF TOMATO ROOT ROT

K. Z. Khadhair

ABSTRACT:
The results of isolation and identification tomato root showed that root hare brown color which resulted from *Fusaruim solani* fungus which was isolated from infected Tomato roots. The results of laboratory study showed *Pseudomonas fluorecsens* , *Azospirillum irakense* and *Azotobacter chroococcum* have high efficiency of inhibition against pathogen *F. solani* (F.s2) in PDA medium , The all bacterial exudates in concentrates 25, 50% wer inhibited growth of the pathogen in liquid and sold media . The result of lath house experiment appeared that all used treatments were significantly decrease Tomato Root Rot. Disease incidence and severity compared with control pathogen , the treatment *P .fluorescens +A.irakense* , *P .fluorescens + A. chroococcum* and *A.irakense + A .chroococcum* gave the highest inhibition of *F. solani* (F.s2) fungus which decreased the severity into 6.25% compared with contract Canley pathogen only which was 87.00% . These treatment had the

ISSN 2072-3875

best results in the length, wet and dry weights of foliage , roots groups and number of flowers .

Key words: tomato plant, *Fusarium solani*, Rhizobacteria, Biocontrol

المقدمة :

تعود الطماطة *Lycopersicon esculentum Mali* الى العائلة الباذنجانية Solanaceae (4). تصاب الطماطة بأمراض عديده في جميع مراحل النمو وتحت مختلف الظروف ويعتبر مرض العفن الفيوزارمي من اكثر امراض الطماطه انتشارا وضررا اذ تظهر الإصابة على البادرات والنباتات الكاملة مسببه عفنها أو موتها(9). إن المشاكل الناتجة عن استخدام المواد الكيميائية لمكافحة مسببات أمراض النبات مثل ظهور سلالات مقاومه لتأثير بعض المبيدات بالإضافة إلى التأثيرات البيئية دفعت العلماء لإيجاد طرق بديلة لمكافحة الإمراض النباتية ذات التأثير على مسببات الأمراض وفي الوقت نفسه تحد من الأضرار الناجمة عن استخدام المبيدات الكيميائية كما (16) ، لذا عرفت طريقة المكافحة الحيوية والتي تتضمن الطريقة التي يمكن بها خفض كثافة اللقاح الممرض أو كفاءة أجزاء الكائن الممرض أو الطفيلي سواء كان في الحالة النشطة (الفعالة) أم في حالة الكمون عن طريق واحد أو أكثر من الكائنات الحية الدقيقة بفعل الظروف الطبيعية في التربة عن طريق إدخال هذه الكائنات صناعيا إلى البيئة الطبيعية للكائنات الممرضة (1). لهذا ركزت معظم الدراسات على الكشف عن أحياء مضادة للمسببات المرضية لمقاومة المسبب الممرض، ومن هذه الاحياء استخدمت بكتريا *Peudomonas fluorescens* بسبب فاعليتها العالية في إنتاج العديد من المركبات المضادة مثل phenazines (25) وسيانيد الهيدروجين (27) وSiderophore و Peterines و Pyroles و Phloroglycinol (23) والبكتريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum irakense* التي هي من البكتريا المشجعة لنمو النبات PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ومعروف عن هذه البكتريا كفاءتها العالية في تثبيت النتروجين وقابليتها التضادية لمختلف المسببات المرضية (7)

لذا يهدف البحث الى عزل وتشخيص الفطر *F. solani* ومقاومته احيائيا باستخدام البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A .chroococcum* .

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص:-

جلبت نباتات الطماطة التي ظهرت عليها اعراض الاصابة من بعض حقول محافظة بابل الى مختبر قسم المقاومة الاحيائية في كلية تقنية المسيب / جامعة الفرات الاوسط وتم تشخيص العزلات بعد ظهور النمو الفطري على الوسط الزرعي (PDA) وفحصت تحت القوى الصغرى للمجهر المركب وشخص الفطر من قبل الاستاذ الدكتور مجيد متعب ديوان اعتماداً على المفاتيح التصنيفية المعتمدة (7)

تقيم تأثير المقدرة الامراضية للعزلات الممرضة للفطر *F. solani* في شدة الاصابة لنباتات الطماطة تحت ظروف الظلة الخشبية :-

نفذت هذه التجربة باستعمال خمسة عزلات للفطر *F. solani* لتقدير قدرتها الامراضية على نباتات الطماطة بعمر 14 يوم نميت العزلات على بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* حسب طريقة Dewan (10) ثم استخدمت تربة مزيجيه معقمة بجهاز المؤصدة (Autoclave) تحت ضغط 15 باوند / انج ^{2} ودرجة حرارة 121 مْ لمدة ساعة وزعت التربة في أصص بلاستيكية سعة 1 كغم وتم زراعتها بشتلات الطماطة صنف سوبر ريجينا وبواقع نبات واحد في كل أصيص وبعد 14 يوم من زراعتها تم تلويث تربة الأصص بلقاح عزلات الفطر الممرض *F. solani* المحملة على بذور(*F.*s5, *F.*s4, *F.*s3 *F.*s2, *F.*s1) الدخن بنسبة 1% وزن /وزن سقيت الأصص باحتراس حسب الحاجة وتم وضعها في الظلة الخشبية وبعد 30 يوم من التلويث بلقاح الفطر الممرض قدرت النسبة المئوية لشدة الإصابة وفق الدليل المرضي الاتي :- 0 = المجموع الجذري سليم +مجموع خضري جيد النمو.1 = 1 – 25% من المجموع الجذري ذات لون بني + اصفرار الأوراق 25% من مساحتها.2 = 26– 50% من المجموع الجذري ذات لون بني غامق+ اصفرار الاوراق 50% من مساحتها .3 = 51– 75% من المجموع الجذري ذات لون بني غامق + اصفرار

ISSN 2072-3875

الأوراق 75% من مساحتها. 4 = 76 –100%من المجموع الجذري ذات لون بني غامق+ اصفرار الأوراق 100% من مساحتها. وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب معادلة (14) وعلى الآتي :

$$\text{\% لشدة الإصابة} = \frac{(\text{عدد النباتات في الدرجة } 0\times0) + ... + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 4\times4)}{\text{عدد النباتات المفحوصة} \times 4} \times 100$$

وتم اختيار العزلة (F.S2) لأنها اعطت اعلى شدة اصابة.

تحضير عالق البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum*

تم الحصول على عزلة البكتريا من خلال عزلها من التربة سابقا والموجودة في مختبر الدراسات العليا _امراض نبات في الكلية التقنية المسيب حيث جرى اكثارها على وسط Nutrient broth في دوارق زجاجية سعة 500مل المعقمة في جهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121م° لمدة 15دقيقة ،بعد ذلك جرى تلقيح الوسط بكل من البكتريا المراد تحضيرها بأخذ مسحة بواسطة لوب معقم من النمو البكتيري النامي على الوسط Nutrient agar وتم مزج مكونات الدوارق جيدا وحضنت بدرجة حرارة 32 ±3 مْ لمدة 3-4 ايام .

تحضير التركيز الفعال من لقاح البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* المثبط لنمو الفطر *F. solani* (F.S2) .

حضرت سلسلة من التخافيف (10^{-1}.......10^{-8}) بعدها جرى تلقيح اطباق حاوية على P.D.A (من دون اضافة مضاد حيوي) بأخذ 1 مل / طبق من كل تخفيف من عالق البكتيريا *A.irakense* بواسطة ماصة معقمة ووضع على طبق الP.D.A بعدها وضع في مركزها قرص بقطر 0.5 سم من حواف مستعمرة عزلة الفطر(F.S2) المنماة على وسط P.D.Aبعمر خمسة ايام وبواقع اربعة اطباق لكل تخفيف وتركت اربعة اطباق للفطر من دون تلقيح بالبكتريا حضنت الاطباق بدرجة حرارة 28م° لحين وصول الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق ،بعدها تم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري على وفق معادلة(16) الاتية :-

$$\text{\% للتثبيط} = \left(1 - \frac{\text{النمو الفطري في معاملة البكتريا}}{\text{النمو الفطري في معاملة المقارنة}}\right) \times 100$$

كذلك استخدمت نفس الطريقة في البكتريا *A.chroococcum* و *P. fluorescens* .

تحضير الراشح البكتيري للبكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum*.

بعد تحضر عالق البكتريا كما في تجربة السابقة رشحت بعدها المزارع البكتيرية باستعمال ورق ترشيح نوع(Whatman No1) وباستعمال قمع بخنر وبمساعدة جهاز التفريغ الهوائي بعدها وضعت هذه الرواشح في فلاسكات معقمة ونظيفة وحفظت في الثلاجة على درجة حرارة 4° م لحين الاستعمال في الاختبارات الأخرى .

اختبار تأثير اضافة رواشح البكتريا البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* بتركيز 25% و 50% الى اطباق بتري حاوية على الفطر الممرض *F.solani* (F.S2) المنمى على الوسط الزرعي PDA.

أضيفت رواشح للبكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* الى الوسط PDA قبل تصلبه بنسبة 25% و50 % مع مراعاة تعديل نسبة الاكار قبل التعقيم. صبت الأوساط الحاوية على الرواشح في أطباق بتري معقمة (قطر9سم) وبثلاث مكررات كل معاملة ، لقحت الأوساط بعد تصلبها بأقراص قطر كل منها 0.5 سم من الوسط الغذائي .P.D.A النامي عليه الفطر الممرض (F.S2) بعمر سبع أيام في مركز كل

ISSN 2072-3875

طبق. تركت 3 أطباق أضيف لها ماء مقطر فقط للمقارنة ، وضعت الأطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±3 مْ لمدة سبعة أيام. تم قياس النمو القطري بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز القرص بعد وصول نمو الفطر في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق ، حسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفق معادلة (16) المذكورة في الفقرات السابقة .

تأثير تراكيز رواشح البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* في تثبيط نمو الفطر الممرض *F.solani* (F.S2) في وسط سائل البطاطا P.D.B .

حضرت رواشح للبكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* بتركيز 100% اخذ تركيزين من الراشح 25% و50% على التوالي لغرض معرفه مدى تأثير تركيز رواشح البكتريا في تثبيط نمو الفطر الممرض على الوسط السائل P.D.B .حضرت دوارق حجم 250 مل حاوية على 150 مل و100 مل على التوالي وسط غذائي معقم.P.D.B المحضر (200 غم بطاطا و10 غم سكروز مع 1 لتر ماء مقطر معقم) كملت هذه الاوساط من رواشح البكتريا الثلاثة السابقة الى 200 مل لقحت الدوارق بثلاثة أقراص قطر كل منها 0.5 سم من الفطر (F.S2) المعزول والنامي على الوسط الغذائي.P.D.A كلا" على انفراد مع اخذ معامله المقارنة بدون اضافه رواشح فطريه اي الفطر الممرض بمفرده فقط وكررت كل معامله ثلاث مرات لكل نوع من انواع البكتريا، حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±3 مْ لمدة 21 يوما اخذين بالحسبان رج الدوارق كل 3 أيام ، وبعد انتهاء فترة التحضين تم ترشيح مزارع الفطريات وذلك من خلال قمع بخنر وتم اخذ الجزء الذي يحتوي على الخيوط والابواغ الفطرية ولكل تركيز ولكل معاملة من معاملات البكتريا .

تقييم كفاءة البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *chroococcum.A* في حماية نباتات الطماطة بعمر 40 يوماً من الاصابة بالفطر الممرض *F.Solani* (F.S2) المسبب لمرض تعفن جذور الطماطة تحت ظروف الظلة الخشبية .

أجري هذا الاختبار في الظلة الخشبية التابعة الى الكلية التقنية /المسيب باستعمال أصص بلاستيكية بقطر 20 سم وارتفاع 15 سم وسعة 2.5 كغم تربة مزيجية ، وضع في كل أصص 2 كغم تربة معقمة بالمؤصدة تحت درجة 121 ْم و ضغط 1.5 كغم / سم^2 لمدة ساعة وأعيد التعقيم في اليوم التالي لمدة ساعة أيضاً ، تركت التربة لمدة 7 أيام ثم وزعت بالأصص و زرعت بشتلات الطماطة صنف سوبر ريجينا زرعت الشتلات في الأصيص بتاريخ 2016/3/9 بعمر 14 يوماً وتم البدء بإجراء المعاملات بتاريخ 2016/3/15 و بواقع شتلة واحدة لكل أصص وبأربعة مكررات للمعاملة الواحدة ، تضمنت التجربة المعاملات التالية :-

1-المقارنة (نبات بدون اي اضافات).2- *A. chroococcum* -3 *A.irakense* - 4 *P. fluorescens* 5- *A. chroococcum* + *F.solani* 6– *A.irakense* + *F.solani* 7– *P. fluorescens*+ *F.solani* 8– Beltanol + *F.solani* 9- *A. chrooccuocm*+ *A.irakense* 10– *A. chrooccuocm* + *P. fluorescens* 11– *A.irakense*+ *P. fluorescens* 12– *A. chrooccuocm*+ *A.irakense* + *F.solani* 13– *A. chrooccuocm*+ *P. fluorescens* + *F.solani* 14- *A.irakense*+ *P. fluorescens* + *F.solani* 15- راشح *A.chroococcum* 16- راشح *A.irakense* 17- راشح *P. fluorescens* 18- راشح *A.chroococcum* + *F.solani* 19 - راشح *A.irakense* + *F.solani* 20 - راشح *P. fluorescens* + *F.solani* 21- الفطر *F.solani* بمفرده.

اضيف لقاح كل من البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A. chrooccuocm* ورواشحها بمعدل (15) مل من عالق البكتريا من التركيز 6.9 x 10^6 ، 8.5 ×10^8 و 5 ×10^8 (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي قبل أسبوع من إضافة لقاح الفطر الممرض *F.solani* (F.S2) بنسبة 1% وزن/ وزن المحمل على بذور الدخن للمعاملات التي تحتاج اضافة الفطر ما عدا معاملة المقارنة ومعاملة البكتريا بدون الفطر واضيف المبيد الكيميائي (Beltanol) بتركيز(1مل/لتر)بمعدل 25مل/مكرر(من محلول المبيد المخفف) بعد يوم من اضافة لقاح الفطر الممرض سجلت النتائج بعد مرور 40 يوم من الزراعة في اصص البلاستيكية. كما حسبت شدة الإصابة لتقيم درجة تعفن الجذور حسب الدليل المرضي المذكور في اختبار

ISSN 2072-3875

المقدرة الامراضية للعزلات الممرضة وحسب معادلة (14) تم اخذ النتائج بتاريخ 2016/4/20 ومعايير النمو المتمثلة بالوزن الطري والجاف واطوال النباتات للمجموعين الجذري والخضري وعدد الازهار .

التحليل الاحصائي :-

نفذت التجارب المختبرية وتجارب الظلة الخشبية وفقا للتصميم العشوائي الكامل(C.R.D) وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (L.S.D=0.05). وباستعمال برنامج SAS (20) في التحليل الاحصائي للتجارب .

النتائج والمناقشة :

عزل وتشخيص الفطر *F. solani*

اظهرت نتائج العزل من جذور نبات الطماطة التي ظهرت عليها اعراض المرض المتمثلة بالتلون البني للجذور وتعفن جزء من الجذر او بأكمله الناتج عن الفطر *F. solani* ومن كل حقول البدعة ، المحاويل ، القاسم ، الطهمازية ،المسيب والنيل والتي تقع ضمن محافظة بابل (جدول 1) وتمثلت صفات هذا الفطر في مستعمراته التي عزلت من جميع المناطق بتكوين غزل فطري ابيض اللون واظهر الفحص المجهري تكوين الفطر ثلاثة انواع من الابواغ، ابواغ كونيدية صغيرة Micro conidia اهليليجية الشكل وابواغ كونيدية كبيرة Macro conidia مغزلية غير متماثلة متغايرة في ابعادها والنوع الثالث من الابواغ هو الابواغ الكلاميدية Chlamydospore التي تنتج مفردة او بشكل ازواج في فروع جانبية صغيرة او وسط الغزل الفطري وباتباع المفاتيح التصنيفية الواردة في (7) و (22) .

تقيم تأثير المقدرة الامراضية للعزلات الممرضة للفطر *F.solani* في شدة الاصابة لنباتات الطماطة تحت ظروف الظلة الخشبية :-

أظهرت النتائج جدول(1) ان جميع عزلات الفطر الممرض *F.solani* كانت ممرضة وبفروق معنوية عالية عن معاملة المقارنة (من دون فطر ممرض) والتي كانت شدة الإصابة فيها صفر ، وكانت شدة الإصابة في نباتات الطماطة قد تراوحت من 50% -83 % وقد تباينت العزلات فيما بينها في تأثيرها في شدة اصابة نباتات الطماطة اذ تفوقت العزلتين *F*.s2 و *R*.s5على جميع العزلات المختبرة وأحدثت شدة إصابة بلغت 83% و 66 % لكل منها. وذكر Nelson واخرون (17) ان الفطر *F.solani* يفرز عدداً من السموم منها Fusarbin وJavanicin وP-Lyptid والتي لها دور مهم في إمراضيه الفطر وتأثيرها في الانبات.

الكثافة العددية للبكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* : اشارت النتائج ان الكثافة العددية للبكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* كانت 6.9×10^6 ، 8.5×10^8 و 5×10^8 (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي.

جدول (1)يمثل المقدرة الامراضية للعزلات الممرضة للفطر*F.solani* في شدة الإصابة لنباتات الطماطة .

Table (1) the pathogenicity of *F.solani* isolates and its effect on disease severity of tomato plant under lath house conditions.

ت	منطقة الجمع	العزلة	النسبة (%) لشدة الاصابة
1	البدعة /المحاويل / بابل	*Fs1*	58
2	القاسم / بابل	*Fs*2	83
3	الطهمازية/ بابل	*Fs3*	58
4	المسيب/ ابو الجاسم	*Fs4*	50
5	النيل / بابل	*Fs5*	66
6	المقارنة	المقارنة	00
7	0.05 L.S.D		31.16

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات

ISSN 2072-3875

اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* ضد عزلة الفطر *F.solani* (*F.s2*) على وسط PDA.

أظهرت نتائج هذه الدراسة (جدول 2) ان عزلة البكتريا *P.fluorecsens* ذاك كفاءة تثبيطيه عالية ضد عزلة الفطر الممرض *F.solani* (*F.s2*) بتركيز 6.9 $\times 10^{6}$ (وحدة تكوين مستعمرة/مل) اذ بلغت نسبة التثبيط 92.22% قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفراً . وهذا قد يرجع إلى التنافس الحاصل على بعض المغذيات بين الجراثيم البكتيرية والفطر أو قد يرجع إلى التشابه في نمط استغلال المغذيات بين الفطر والجراثيم البكتيرية ، وقد تعود القدرة التضادية للبكتريا لإنتاجها أنواع مختلفة من المضادات الحيوية مثل Phenzain-1-carboxylate ، أو إلى إنتاجها الإنزيمات المحللة لجدران الخلايا الفطرية مثل Chitinolytic enzyme و Catalase (6).كما ان استخدام البكتريا *A.irakense* وبتركيز 5.6 $\times 10^{5}$ (وحدة تكوين مستعمرة/مل) ادى الى تثبيط نمو عزلة الفطر *F.solani* (*F.s2*)على الوسط الزرعي PDA ، اذ بلغت نسبة التثبيط 86.29% قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفراً . ومن خلال نتائج الجدول (2) نلاحظ تأثير جراثيم البكتريا *A.irakense* في النمو الفطري وعدم تكوين الخيوط الفطرية داخل الوسط الزرعي ويعزى سبب ذلك الى انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين حيث ان وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (8).

جدول(2) اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *P.fluorescens* و *A .chroococcum* و*A.irakense* ضد عزلة الفطر *F.solani*(*F.s*2) على الوسط PDA .

Table(2) antagonistic ability of *P.fluorescens* , *A.chroococcum* , *A.irakense* against *F.solani* fungus (*F.s*2) on PDA medium .

المعاملة	معدل نمو الفطر *F.solani* في الطبق (سم)	النسبة المئوية للتثبيط
P.fluorescens + F.solani	**0.7**	**92.22**
A .chroococcum + F.solani	**1.58**	**82.40**
A.irakense + F.solani	**1.23**	**86.29**
الفطر *F.solani* بمفرده	**9.00**	**0.00**
0.05 L.S.D	**0.28**	**3.20**

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات

كما ان استخدام البكتريا *A.chroococcum* وبتركيز 5 $\times 10^{8}$ (وحدة تكوين مستعمرة/مل) ادى الى تثبيط نمو عزلة الفطر *F.solani* (*F.s2*)على الوسط الزرعي PDA ، اذ بلغت نسبة التثبيط 82.40% قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفراً . قد يعزى الى مقدرة هذه البكتيريا على انتاج عدد من الانزيمات التي لها القدرة على تحليل جدران خلايا الفطر الممرض ومن هذه الانزيمات انزيم chitinase و laminarinase و glucanase وانتاج مضادات حيوية مثل pyoluteorin ، herbicolin ، phenazin فضلا عن انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين (HCN) حيث إن وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (13).

تأثير معاملات رواشح البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* بتركيزين 25 % و50% في تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض *F.solani* (*F.s2*) على الوسط الزرعي PDA .

يتضح من الجدول (3) إن كلا من تراكيز رواشح البكتريا25 % و50% قد أديا إلى خفض النسبة المئوية لتثبيط الفطر الممرض*F.solani* (*F.s2*) ولكل انواع رواشح البكتريا في وسطPDA ، إذ بلغت نسبة التثبيط لراشح البكتريا *P.fluorecsens* فيهما 74.07

ISSN 2072-3875

و89.81 % على التوالي، مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغت نسبة التثبيط فيها 0.00% . ويعود ذلك بسبب فاعليتها العالية على إنتاج العديد من المركبات المضادة مثل Phenazines (25) وسيانيد الهيدروجين (27) وPeterines و Pyroles و Phloroglycinol (23).أما في معاملة راشح البكتريا *A.irakense* بلغت نسبة التثبيط فيها لعزلة الفطر الممرض *F.solani* (F.s2) 72.21% و 79.62% على التوالي وبفروقات معنوية عالية عن معاملة المقارنة التي بلغت 0.00% . ويعود ذلك الى انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين حيث ان وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (8) .كما بينت النتائج ان معاملة التثبيط لراشح بكتريا *A.chroococcum* بلغت 68.51 و 79.62 % قياساً الى معاملة المقارنة التي بلغت نسبة التثبيط فيها 0.00% . وبينت التكريتي (3) ان تأثير هذه البكتريا *A chroococcum*. إلى إنتاج مواد أيضية ومركبات عضوية والاندول حامض الاستيك (IAA) والانزيمات وتضادها الحياتي واستنتجت أن كفاءتها كانت في مقدرتها على إنتاج الانزيمات المحللة للفطر، نستنتج من ذلك كلما زاد تركيز الراشح زادت القدرة التثبيطية للفطر الممرض .

جدول(3) اختبار المقدرة التضادية لرواشح البكتريا *P.fluorescens* و *A .chroococcum* و*A.irakense* ضد عزلة الفطر *F.solani*(*F.s2*) بتركيزين 25 % و50% على الوسط PDA .

Table(3) antagonistic ability of bacterial filtrates of *.fluorescens* , *A.chroococcum* , *A.irakense* against *F.solani* isolate (*F.s*2) in 25 and 50 concentrates on PDA medium

المعاملة الراشح	معدل نمو الفطر *F.solani* في الطبق (سم) بتركيز 25%	النسبة المئوية للتثبيط	معدل نمو الفطر *F.solani* في الطبق (سم) بتركيز 50%	النسبة المئوية للتثبيط
P.fl + F.s	**2.33**	**74.07**	**0.91**	**89.81**
A .ch +F.s	**2.83**	**68.51**	**1.83**	**79.62**
A.ir + F.s	**2.50**	**72.21**	**1.83**	**79.62**
***F.s* بمفرده**	**9.00**	**0.00**	**9.00**	**0.00**
0.05 L.S.D	**0.60**	**3.20**	**0.40**	**4.53**

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات.

تقدير النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *F.solani* (*F.s2*) من قبل رواشح البكتريا *P. fluorescens* و *A.irakense* و *A.chroococcum* على وسط الدكستروز السائل P.D.B قبل وبعد تجفيف الفطر .

يتضح من جدول(4) ان نتائج تجربة تثبيط نمو الفطر الممرض *F.solani* (*F.s2*) من قبل رواشح انواع البكتريا المستخدمة في التجربة في وسط البطاطا السائل وبتركيزين 25% و50 % تثبيط لنمو الفطر الممرض قبل وبعد التجفيف كانت عالية وبفروق معنوية فيما بينها وبين معاملة المقارنة اذ بلغت نسبة التثبيط لراشح البكتريا *P.fluorecsens* 68.7 ، 56.78 و 87.05 و 64.00% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت 0.00. أشار Handelsma و Stabb (12) أن بكتريا *P.fluorecsens* لها القدرة على تثبيط الممرضات النباتية من خلال امتلاكها آليات عديدة منها إنتاج المضادات الحيوية المختلفة والتي تؤثر في طيف واسع من الاحياء المجهرية كالفطريات والبكتريا مثل Oomycin Pyoluteorin و Phenazin وPyrrolntrin و carboxylic فضلاً عن diacetylpholuoroglucinol4-2 المركبات الايضية الثانوية و الانزيمات المحطمة للجدار الخلوي مثل Chitinase و Protease و Pectinase و Gluconase و Cellulytic enzymes و Chitinolytic enzymes كما اعطت معاملة راشح البكتريا *A .chroococcum* نسبة تثبيط عالية بلغت 64.00 و 40.73 و 71.25و 58.00% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت 0.00 ويعزى ذلك إن المضادات الحيوية المنتجة من هذه البكتريا يعد من

ISSN 2072-3875

الاليات الأكثر قبولاً في السيطرة على المسببات المرضية حيث لها لقدرة على إنتاج أنواع عديدة من المركبات ومنها : Agrocin 84 و Agrocin 434 و 2 – 4 – diacetyl phoroglucinol و herbicolin و oomycin , phenazin و pyoluteorin و pyrrolnitrin . وأمكن إنتاج المضاد الحيوي Agrocin 84 بشكل تجاري (13) اما في معاملة راشح البكتريا *A.irakense* بلغت نسبة التثبيط فيها 62.20 ، 51.85 و 62.00 % على التوالي . وذلك بسبب انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين حيث ان وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (8).

جدول(4) اختبار المقدرة التضادية لرواشح البكتريا *P.fluorescens* و *A .chroococcum* و*A.irakense* ضد عزلة الفطر *F.solani*(*F.s*3) بتركيزين 25 % و50% على وسط سائل البطاطا في الدوارق الزجاجية قبل وبعد تجفيف الفطر .

Table(4) antagonistic ability of bacterial filtrates of *.fluorescens* , *A.chroococcum* , *A.irakense* against *F.solani* isolate (*F.s*2) in 25 and 50 concentrates on potato broth in flasks after and before drying the fungus .

المعاملة الراشح	معدل وزن الفطر *F.solani* (غم) بتركيز 25%		النسبة المئوية للتثبيط		معدل وزن الفطر *F.solani* (غم) بتركيز 50%		النسبة المئوية للتثبيط	
	قبل تجفيف	بعد تجفيف	قبل تجفيف	بعد تجفيف	قبل تجفيف	بعد تجفيف	قبل تجفيف	بعد تجفيف
P.fl + F.s	2.11	0.08	68.7	56.78	0.87	0.06	87.05	64.00
A .ch +F.s	2.56	0.16	64.00	40.73	1.76	0.10	71.25	58.00
A.ir + F.s	2.43	0.13	62.2	51.85	1.63	0.09	75.80	62.00
F.s بمفرده	6.76	0.27	00.00	00.00	6.75	0.27	00.00	00.00
0.05 L.S.D	1.32	0.039	12.55	22.95	0.499	0.40	10.74	24.60

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات

نتائج تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* و *A .chroococcum* و*A.irakense* في حماية نباتات الطماطة بعمر 40 يوماً من الاصابة بالفطر الممرض *F.Solani* المسبب لمرض تعفن جذور الطماطة تحت ظروف الظلة الخشبية .

بينت نتائج تجربة الظلة الخشبية الجدول (5)ان جميع المعاملات المستخدمة والتي تشمل عوامل المقاومة الحيوية *P.fluorescens* و *A .chroococcum* و*A.irakense* وكذلك معاملة اضافة اكثر من نوع من انواع البكتريا في اعطاء افضل النتائج في خفض شدة الاصابة بمرض ذبول الطماطة المتسبب عن الفطر الممرض *F.solani* و بفروق معنوية فيما بين المعاملات المستخدمة فان معاملة البكتريا *P.fluorescens* + *A.irakense* و*P. fluorescens* + *A .chroococcum* و *A.irakense* + *A .chroococcum* اعطت اعلى تثبيط للفطر *F.solani* مما خفضت من شدة الاصابة الى 6.25 % على التوالي ولكل المعاملات قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده و التي بلغت فيها 87.00% ويعود سبب تفوق معاملات التداخل في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض إلى أن استعمال التداخل ما بين عوامل المقاومة الأحيائية يحقق نتائج أفضل وذلك لأن كل مقاوم إحيائي ربما سيستعمل مختلف الميكانيكيات لمكافحة المسبب المرضي وباجتماع هذه الميكانيكيات من كلا عاملي المقاومة الأحيائية سيكون هناك كبح اكبر للمسبب المرضي وستكون النتائج أفضل فيما لو استخدم المقاوم الأحيائي بصورة منفردة (11). وان تفوق معاملات التداخل ما بين الأنواع

ISSN 2072-3875

البكتيـــــرية في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة ربما يعود إلى التأثير التعاوني (Synergistic effect) فيما بينها في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات (24) . كما ان معاملة البكتريا *P. fluorescens* بمفردها و *A .chroococcum* بمفردها خفضت من شدة الاصابة الى 18.75% لكلا المعاملتين قياسا بمعاملة المقارنة للفطر الممرض و خفضت معاملة البكتريا *A.irakense* بمفردها من شدة الاصابة الى 25.00 % قياسا بمعاملة المقارنة للفطر الممرض ويعزى سبب ذلك الى قدرة البكتريا على افراز الاوكسينات وأهمها(Indole (IAA) Acetic Acid) فضلاً عن افرازها لهرمونات نباتية مثل الجبرلينات والسايتوكاينين(19). وكذلك انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين حيث ان وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (8).كما اظهرت النتائج كفاءة المبيد الكيميائي Beltanol في خفض شدة الاصابة بالفطر الممرض اذ حققت خفضاً في شدة الاصابة مقدارها 0.00% قياسا الى معاملة المقارنة (الفطر الممرض بمفرده) والتي كانت شدة الاصابة فيها 87% وتتفق هذه النتيجة مع ما توصلت اليه الجبوري ، (2) في فعالية هذا المبيد في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور الباقلاء والتفاح والحمضيات ، ويعزى التأثير الفعال لهذا المبيد الكيميائي الى تكوين مركبات مخلبية مع النحاس في انسجة العائل وهذا يسهل مروره الى داخل خلايا الممرض وبعدها يتحرر ويؤدي الى قتل المسبب المرضي (15) .

اما بالنسبة لمعايير النمو المدروسة لنباتات الطماطة فقد أشارت النتائج أن جميع المعاملات حققت زيادة معنوية في معايير النمو مثل طول المجموع الجذري والخضري والوزن الطري والجاف للمجموع الجذري والخضري و كذلك في عدد الازهار مقارنة بمعاملة الفطر الممرض *F. solani* بمفرده ولجميع المعاملات . فقد أظهرت معاملة البكتريا *P.fluorescens* و *A.irakense* معا بوجود الفطر الممرض أعلى قيمة في الطول و الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وعدد الازهار فقد بلغت46.25 و44.25 سم 21.62 و 6.86 و 18.23 و6.72 غم 12.50 زهرة على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده فقد بلغ معدل الطول و الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وعدد الازهار فيها24.50 و 23.00 سم 9.14 و2.71 و 10.90 و 2.53 غم 4.25 زهرة على التوالي . كما اعطت معاملة البكتريا *P. fluorescens* افضل النتائج بوجود الفطر اذ بلغ الطول و الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وعدد الازهار46.75 و 42.25 سم و 19.00 و5.75 و19.60 و5.81 غم و 10.50 زهرة وخفضت من شدة الاصابة اذ بلغت 18.75% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده ويعود سبب ذلك لبكتريا *P.fluorescens* القدرة على إنتاج مركبات Siderophore التي تعمل على جذب ايونات الحديد الموجودة في التربة وبذلك تعمل على حرمان المسببات المرضية من ايون الحديد (21) . كذلك تنتج البكتريا العديد من الأنزيمات المهمة مثل إنزيم Chitinase وإنزيم β) 18 -1 , 3 glucanase) . وتمتلك بكتريا *P.flourescens* القدرة على إنتاج هرمونات نباتية تعمل على تنظيم نمو النبات مثل هرمون auxin و gibblerellin و cytokinin (26 ، 19). كما اظهرت بقية المعاملات فروقات معنوية تتمثل بزيادة في طول والوزن بالنسبة للمجموع الجذري والخضري وبنسب مختلفة حسب نوع معاملة البكتريا مقارنة مع معاملة الفطر الممرض .

ISSN 2072-3875

جدول (5)يمثل كفاءة البكتريا *P. fluorescens* و*A.irakense* و*A.chroococcum* في حماية نباتات الطماطة بعمر 40 يوماً من الاصابة بالفطر الممرض *F.solani* المسبب لمرض تعفن جذور الطماطة تحت ظروف الظلة الخشبية .

Table(5) the efficiency of *P. fluorescens* , *A.chroococcum* , *A.irakense* bacteria in protect of tomatoes plants in 40 days age from infect by *F.solani* fungus causing agent tomato Root Rot disease under lath house conditions .

ت	المعاملة	شدة الاصابة	وزن المجموع الخضري غم)		وزن المجموع الخضري		الطول (سم)		عدد الازهار
			الطري	الجاف	الطري	الجاف	الساق	الجذر	
1	عامل مقارنة	0.00	16.12	4.27	13.31	4.55	39.00	36.00	6.75
2	*A. ch*	0.00	18.54	6.75	17.26	5.95	44.00	41.00	9.25
3	*A.ir*	0.00	18.10	6.64	15.30	5.45	43.30	43.25	8.00
4	*P. fl*	0.00	20.81	7.10	19.69	6.07	48.75	44.25	11.75
5	*A. ch+ F.s*	18.75	17.62	5.64	16.54	5.69	43.25	40.50	8.75
6	*A.ir+ F.s*	25.00	17.85	5.30	16.25	4.90	40.25	38.75	7.50
7	*P. fl+ F.s*	18.75	19.00	5.75	19.60	5.81	46.75	42.25	10.50
8	Beltanol + *F.s*	0.00	17.08	4.56	13.47	4.47	41.00	38.25	9.25
9	*A. ch+ A.ir*	0.00	22.46	7.25	18.55	6.39	43.25	43.75	10.50
10	*A. chr + P. fl*	0.00	18.37	7.75	19.19	6.74	46.25	43.75	12.00
11	*A.ir+ P. flu*	0.00	24.57	7.89	20.61	7.29	48.02	44.00	12.50
12	*A. ch+ A.ir + F.s*	6.25	19.58	6.52	16.17	6.30	42.25	42.25	9.50
13	*A. ch+ P. fl+ F.s*	6.25	17.76	6.15	17.57	6.55	44.25	41.50	10.00
14	*A.ir + P. fl+ F.s*	6.25	21.62	6.86	18.23	6.72	46.25	44.25	12.50
15	راشح *A.ch*	0.00	18.96	5.78	17.39	4.99	44.75	41.00	11.50
16	راشح *A.ir*	0.00	17.57	5.64	15.63	4.79	41.75	40.00	9.75
17	راشح *P. fl*	0.00	20.02	5.84	18.82	5.35	45.25	41.25	12.75
18	راشح *A.ch + F.s*	37.50	17.55	4.44	14.75	3.27	42.50	40.00	9.75
19	راشح *A.ir+ F.s*	31.25	17.42	4.25	16.08	3.00	41.75	39.50	7.50
20	راشح *P. fl + F.s*	25.00	19.74	5.04	16.95	5.50	44.00	42.25	11.50
21	*F.s*	87.00	9.14	2.71	10.90	2.53	24.50	23.00	4.25
22	L.S.D	9.95	4.94	0.96	2.88	1.16	7.59	3.72	4.96

كل رقم في الجدول يمثل معدل لأربعة مكررات

P. fluorescens* = *P. fl*، *A.chroococcum*= *A.ch* ، *A.irakense* = *A.ir* ، *F.solani* = *F.s

المصادر:

1 - ابو عرقوب ، محمود موسى . 2002 . المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة – مستحثة – حيوية) ودورها في امراض النبات. المكتبة الاكاديمية – القاهرة . الطبعة الأولى .

2 - الجبوري، حرية حسين شهاب. 2002. تأثير استخدام معيق النمو كلتار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على اصابة نباتات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور. رسالة ماجستير، كلية الزراعة-جامعة بغداد.

3 - التكريتي،عروبة خالد عباس.1990.التداخل بين البكتريا *Azotobacter chroococcum* والفطر *Fusarium oxysporum* في رواشح جذور ونبات الحنطة.رسالة ماجستر .كلية العلوم .جامعة بغداد.

ISSN 2072-3875

4- اسطيفان ، زهير عزيز وحازم عبد العزيز محمود. 1998. آفات الطماطة ، المكتبة الوطنية – العراق.
5 – ظاهر عبد الزهرة طه . 2001 . استجابة نباتات الذرة الصفراء (Zea mays L) للتلقيح ببعض انواع البكتريا الازوسبيرلم (Azospirillum) المعزولة محليا . اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة . جامعة بغداد . (119) صفحة .
6- Banasco, P. ; L. De. La. Fuente, , G. Gaultieri , F. Noya and A. Arias. 1998. Fluorescent Pseudomonas spp. as biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi. Soil Biol. Biochem., 10, 1317–1323.
7- Booth,C. 1977. *Fusarium* Laboratory Guide to the Identification of the major species common wealth mycological institute, Kew, surrey, England. 58 pp.
8- Da Luz, W.C. (1996): Rhizobacterias promotoras de crescimento deplantas e de bioprotecao. In: da Luz WC, Fernendes JMC, Prestes AM, Picinini EC (Eds). Revisao Annual de Patologia de Plantas., :1-49.
9- Decal , A. Garcia – Lepe , R. & Melgoreago , P. 2000 . Induced resistance by Penicillium oxalicum againsl Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici : Histological studies of infected and induced tomato stems . Phytopathology . 90:260 -268.
10 - Dewan, M. M. 1989. Identity and frequency of fungi in root of wheat and Ryegrass and their effect on take all and host growth . Ph. D. Thesis , Univ. , Wes. Australian 210 pp.
11- 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.
12 - Handelsman, J.; and E.V. stabb.1996. Biocontrol of soil borne plant pathogen. Plant cel, 8:1855-1859.
13- Hillel, D. 2005. Plant Growth Promoting Bacteria. Elsevier, Oxford, U. K.,:103-115.
14- Mckinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by Helminthosporum sativum. J. Agric. Research 26: 195 – 217.
15- Meister, R.T. 2000. Farm chemical Handbook. Listing for “Beltanol”. Willouhg by OH. Vol. 86. p.45.
16- Montealegre, J. R. ; R.Rodrigo ; P.M. Luz ; H. Rodrigo ; S. Polyana andB. Ximena.2003. Selection of bioantagonstic bacteria to be used inbiological control of *Rhizoctonia solani* in tomato.J. Biotec.6:115- 127.
17- Nelson, B. D. ; J. M. Hansen ; C. E. Windels and T. C. Helms. 1997. Reaction PF Soybean cultivars to isolates of *Fusarium solani* from the Red River valley. Plant Dis. 81 : 664 – 668 .
18- Nielson, M.N.; J.Soreensen; J.Fels; and H.C.Pdersen. 1998. Secondary metabolite and endochitinase dependent antagonism toward plant pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere . Applied and Environmental Microbiology 64: 3563-3569.

ISSN 2072-3875

19- Ryu, C.M.; M. A. Farag; C.H. Hu; M. S. Reddy; H.X. Wei; P.W. Pare; and J.W. Kloepper. 2003. Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci.,100 :4927-4932 USA.

20- SAS, Statistical Analysis System .2001.Institute Inc., cary, N.C.27512–8000,

21- Scher, F.M.; and R. Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and synthetic iron chelator on induction of soil suppresiveness to Fusarium wilt pathogens. Phytopathology. 72: 1567-1573.

22- Seifert, K. 1996. Fus Key *Fusarium* interactive Key Agriculture and Agri – Food Canada.

23- Shanahan, P.; D.J. O'Sullivan; P. Simpson; J. D. Glennon; and F. O'Gara. 1992. Isolation of 2,4-diacetylphloroglucinol from fluorescent pseudomonad and investigation of physiological parameter in flouncing its production. Appl. Environ. Microbial. 58: 353-358 (Abstract)

24 - Thilagavathi, R.; D. Saravanakumer; N. Ragupathi; and R. Samiyappan. 2007. A combination of biocontrol agents improves the management of dry root rot (*Macrophomina phaseolina*) in greengram. Phytopathology Mediterranea. 46(2). 157-167.

25 - Thomashow, L.S.; and D.M. Weller. 1988. Role of Phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescence* in biological control of *Gaeumannomyces gramnis* Var.*ttitici*. J. Bacterial . 170 :3499-3508.

26- Vessey, K.J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer . Plant and Soil, 255 : 571-586 .

27 - Voisard, C.; C. Kell; D. Hass; and G. Defago. 1989. Cyanide production by Pseudomonas fluorescence helps suppers black rot of tobacco under gnotobiotic conditions. EMBO J., 8: 351-358.

ISSN 2072-3875