تقييم كفاءة بعض عوامل المكافحة الأحيائية البكتيرية ضد مسببات مرض تعفن جذور الفلفل *Capsicum annum* تحت ظروف الظلة الخشبية

احمد كاظم عبدالهادي　　　　نادية محمد موجد

جامعة الفرات الأوسط التقنية/ الكلية التقنية/ المسيب- قسم تقنيات المقاومة الأحيائية

الخلاصة :

تضمنت هذه الدراسة تقيم كفاءة وفاعلية ثلاث عوامل مكافحة أحيائية بكتيرية هي *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus subtilis* و *Azospirillum brasilense* في حماية نباتات الفلفل من الاصابة بمرض تعفن جذور الفلفل تحت ظروف الظلة الخشبية في الكلية التقنية / المسيب في محافظة بابل. أظهرت نتائج العزل من جذور نباتات الفلفل المصابة في جميع المناطق المدروسة الى ان المسبب الرئيسي للمرض هو الفطر *Rhizoctonia solani* تلاه الفطرين *Fusarium solani* و*Macrophomina phaseolina* ، وبينت نتائج اختبار المقدرة الأمراضية لعزلات الفطريات الممرضة باستخدام بذور الفجل الى أن جميع العزلات قد سببت خفضا في النسبة المئوية للانبات فتراوحت مابين (0-40)% قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت 100% وقد تفوقت العزلات الفطرية (RS6 و FS1 و MP8) في خفض النسبة المئوية للأنبات عن باقي العزلات اذ بلغت 0%، اما النسبة المئوية للتثبيط فبلغت 91.66% في حالة البكتريا *B. subtilis* والفطر*M. phaseolina* و86.93 % مع الفطر *R.solani* بينما بلغت 87.43% مع الفطر *F.solani* وبلغت النسبة المئوية للتثبيط 82.11 % في حالة البكتريا *Azot.chroococcum* والفطر*M. phaseolina* و76.44 % مع الفطر *R.solani* بينما بلغت 79.44% مع الفطر *F.solani* كذلك بلغت النسبة المئوية للتثبيط 74.77% في حالة البكتريا *Azos.brasilense* والفطر*M. phaseolina* و72.22 % مع الفطر *R.solani* بينما بلغت 82% مع الفطر *F.solani* كما وحققت المعاملات تحت ظروف الظلة الخشبية خفضا معنويا في النسبة المئوية لشدة الاصابة بالفطريات الممرضة المسببة للمرض بأستخدام عوامل المكافحة الأحيائية البكتيرية *Azot.chroococcum* و *B. subtilis* و *Azos.brasilense* وكانت معاملة تداخل البكتريا فيما بينها (Azos.b)+(B.S)+(Azot.ch) بوجود الفطريات الممرضة هي الاكفأ من بين جميع المعاملات في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* و *M. phaseolina* اذ بلغت 8.88 و2.84 و2.84% على التوالي قياسا" بمعاملة الفطريات الممرضة RS6 و FS1 و MP8 بمفردها اذ بلغت شدة الإصابة فيها هي 83، 80، 73 %على التوالي، مع زيادة معنوية في الأوزان الطرية والجافة واطوال المجموع الخضري والجذري لنباتات الفلفل، وكانت معاملة تداخل البكتريا فيما بينها (Azos.b)+(B.S)+(Azot.ch) افضل المعاملات ، حيث ان اضافة اكثر من نوع من عوامل المكافحة الاحيائية البكتيرية قد حققت زيادة معنوية في جميع معايير النمو.

الكلمات المفتاحية: *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus subtilis* و Capsicum annum و *Azospirillum brasilense*

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني

ISSN 2072-3875

Evaluation the efficacy of some bio-control agents with the bacteria against pathogens Pepper roots rot disease Capsicum annum under lathehouse conditions

Ahmad Kadhim Abdul–Hdi **Nadia Mohammed Mojed**

Abstract:

This study included to evoluation the efficiency and effecfiveness using three bio-control agents with the bacteria *Azotobacter chroococcum*; *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense* at protect pepper plants from infection disease pepper root rot under lathehouse conditions Al-Musaib Technical college in Babylon governate,the results of isolation from root infection pepper plants in all studied the areas that the main causative of the disease is *Rhizoctonia solani* fungus followed by tow fungi *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina* pathogenicity tests to all fungi using radish seeds that all fungi showed decreasing in the ratio of radish seeds growth between (0-40)% comparing with control treatment 100% and the fungi isolates M.P8,F,S1 and R.S6 Excelled in decreasing in the ratio of radish seeds growth with 0%, the ratio of inhibition with 91.66% in case *Bacillus subtilis* Bacteria and *Macrophomina phaseolina* fungus and 86.93% with *Rhizoctonia solani* fungus while it achieved 87.43% with *Fusarium solani* fungus. The ratio of inhibition 82.11% in case *Azotobacter chroococcum* Bacteria and *Macrophomina phaseolina* fungus and 76.44% with *Rhizoctonia solani* fungus while it achieved 79.44% with *Fusarium solani* fungus *Azospirillum brasilense* well reached the ratio of inhibition with 74.77% in case *Azotobacter chroococcum* and *Macrophomina phaseolina* fungus and 72.22% with *Rhizoctonia solani* fungus while it achieved 82% with *Fusarium solani* fungus. All treatment under lathehouse conditions decreasing caused in the ceverity of the infection the ritio pathogens fungal of the disease causing using biological control with the bacteria *Azotobacter chroococcum*; *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense* indicated the domination of interaction treatment of the bacteria(Azot.ch)+(B.S)+(Azos.b) with pathogens fungal inreducing the precent of infection tensity at R.S, F.S and M.P with (8.88,2.84,2.84)% respestively comparing control treatment at R.S, F.S and M.P with (83, 80, 73)% respectively with increasing plant growth and production comparing with pathogenic fungus treatment alone the interaction between of the bacteria at (Azot.ch)+(B.S)+(Azos.b) the treatment best where to type from more at biological control with the bacteria cause a significant increase in all the growth calibrated.

Key word: *Azotobacter chroococcum* ;*Bacillus subtilis* ; *Azospirillum brasilense* and Capsicum annum

1- المقدمة:

يعد نبات الفلفل الحلو (sweet pepper) *Capsicum annum L.* والذي يعود الى العائلة الباذنجانية Solanaceae من محاصيل الخضر المهمة في جميع انحاء العالم، ان الموطن الاصلي للفلفل هو امريكا الوسطى والجنوبية ومنهما انتشرت الى اسيا

ISSN 2072-3875

وأفريقيا وبلدان البحر الابيض المتوسط (الخفاجي والمختار، 1989 وO'sullivan، 2010). يتعرض نبات الفلفل للإصابة بالعديد من الأمراض، من بينها الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة وهي الأكثر أهمية وان العديد من الفطريات منها *Fusarium* spp.، *Rhizoctonia solani*، *Macrophomina phaseolina*، *Pythium* spp.، *Verticillium* spp.و *Sclerotinia* spp. تعد من اهم العوامل المحددة لإنتاج هذا المحصول في اغلب مناطق زراعته في العالم سواء كان في الحقول المفتوحة والزراعة المحمية، تحدث هذه الكائنات مجموعة كبيرة من الامراض ولعل اخطر هذه الامراض واكثرها انتشاراً هي امراض تعفن الجذور والذبول وموت البادرات (Ragab وأخرون، 2012). استخدمت المبيدات الكيميائية للحد من تأثير المسببات المرضية الفطرية وذلك بمعاملة التربة وأعطت فعالية عالية في الحد من تأثير هذه المسببات المرضية الا ان هذا الاتجاه لا ينسجم مع الستراتيجيات الحديثة في مقاومة الآفات الزراعية ومنها مسببات الأمراض النباتية المتمثلة باستخدام الوسائل والطرائق البديلة الأمنة للبيئة والتقليل من استعمال هذه المبيدات الكيميائية لتفادي الاضرار الناتجة عنها حيث عززت العوامل الأحيائية كحل عملي وأمين للسيطرة على الامراض وخاصة أمراض تعفن الجذور (Den Hond واخرون ، 2003 و Ganesan وأخرون، 2007). اتجهت جهود الباحثين في الآونة الاخيرة الى أستخدام البدائل مثل المقاومة الأحيائية Biological control في السيطرة على أمراض النبات حيث عرف التأثير الكبير والفعال لبعض الكائنات الحية الدقيقة كعوامل مكافحة أحيائية ضد المسببات الفطرية المسببة لأمراض تعفن الجذور سواء كانت فطرية او بكتيرية والتي من اهمها انواع من الفطريات هي *Trichoderma* و*Aspergillus* و*Penicillium* وانواع من البكتريا التي تسمى بكتريا الجذور المشجعة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria(PGPR) والتي تضم عدة اجناس من البكتريا منها *Pseudomonas* spp. و *Bacillus* spp. و *Azospirillum* spp. و *Azotobacter* spp. الممكن تواجدها طبيعيا في التربة حيث يمكن لهذه البكتريا ان تجهز النبات بعدد من العناصر المغذية أهمية كبيرة في الحصول على محاصيل زراعية عالية الإنتاج وخالية من الملوثات الكيميائية (Esiteken وأخرون ، 2009 و Naseri وMirzaei، 2010 و Sekar وKandavel ، 2010). بناء على ما تقدم ولأهمية مرض تعفن جذور الفلفل والخسائر المتسببة عنه فقد تضمنت الدراسة الاهداف التالية:-

1- عزل وتشخيص الفطريات المسببة لمرض تعفن جذور الفلفل في محافظة بابل واختبار مقدرتها الامراضيه.

2- تقيم كفاءة البكتريا *Bacillus subtilis* و *Azotobacter chroococcum*و *Azospirillum* brasilense كعوامل مكافحة أحيائية ضد المسببات المرضية لمرض تعفن جذور الفلفل تحت ظروف الظلة الخشبية.

2- المواد وطرائق العمل :

2-1 المسح الحقلي لمرض تعفن جذور الفلفل في بعض مناطق محافظة بابل

اجريت عمليات المسح الحقلي في عدة مواقع لحقول زراعة نباتات الفلفل في محافظة بابل وشملت مناطق المسح 12 موقعاً من المحافظة وهي جبلة، مشروع المسيب ، ناحية القرية العصرية، النيل ، المحاويل ، أبي غرق ، السدة ، الطهمازية /مركز الحلة، الكفل ،القاسم ، الهاشمية والشوملي، فحصت النباتات المصابة والسليمة الواقعة ضمن تقاطع الأقطار لكل موقع وحسبت عدد النباتات المصابة على ضوء الإعراض الظاهرة على النباتات وحسبت النسبة المئوية للأصابة حسب المعادلة التالية:% للاصابة =(عدد النباتات المصابة / العدد الكلي للنباتات المفحوصة) × 100أخذت عينات من نباتات الفلفل المزروعة وبصورة عشوائية بقلع النباتات باحتراس ووضعها في أكياس بولي اثلين علمت وحفظت في الثلاجة لأجراء العزل.

2- 2عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نباتات الفلفل

جلبت نباتات الفلفل التي ظهرت عليها أعراض الإصابة إلى المختبر وأخذت قطع من الجذور وقواعد السيقان التي ظهرت عليها أعراض التعفن والتقرحات وغسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة وقطعت إلى أجزاء صغيرة بطول (0.5-1) سم وعقمت سطحياً بمـحلول

ISSN 2072-3875

هايبوكلورات الصوديوم (القاصر2 مل لكل8 مل ماء مقطر) لمدة 3 دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة 2 دقيقة ونشفت بورق الترشيح المعقم ونقلت بواسطة ملقط معقم وزرعت بواقع 4 قطع / طبق بتري حاو على 15-20 سم^3 من الوسط الزرعي اكر السكروز والبطاطا Potato Sucrose Agar (PSA) (200 غم بطاطا ،10 غم سكروز ،20 غم اكر، لتر ماء مقطر) المضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200 ملغم / لتر وذلك بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة (121 م^o وضغط 1.5 كغم/سم^2) لمدة 15 دقيقة، حضنت الأطباق في 25±1 م^o لمدة يومين وبعدها تم أجراء الفحص لنموات الفطريات الممرضة *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* والفطر *Macrophomina phaseolina* وتنقيتها بنقل قطع صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاوٍ على الوسط الزرعي PSA، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 25 $\pm$ 1 م ْلمدة 4 ايام بعدها تم حفظ العزلات في أنابيب اختبار حاوية على الوسط الزرعي (PSA) جرى تعقيمه بجهاز المؤصدة (121 م^o وضغط 1.5 كغم/سم^2) ولمدة 20 دقيقة، وضعت الأنابيب بصورة مائلة لحين التصلب، ولقحت الانابيب الحاوية على الوسط الزرعي باضافة قرص بقطر0.5 سم من عزلات الفطريات الممرضة *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* والفطر *Macrophomina phaseolina* ، وضعت انابيب الاختبار في الحاضنة عند درجة حرارة 25 $\pm$ 1 م ْ لمدة سبعة ايام بعدها نقلت الى الثلاجة عند درجة حرارة 4 م ْ، شخصت الفطريات من قبل الدكتور احمد كاظم عبد الهادي اعتمادا على الصفات التي ذكرها (Parameter وWhitney، 1970 و Lesile و Summerell، 2006).

3-2 أختبارات المقدرة الأمراضية

2-3-1اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* والفطر *M. phaseolina* باستعمال بذور الفجل

تم اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات (12عزلة من الفطر *R. solani* و 10 عزلات من الفطر *F. solani* و6 عزلات من الفطر *M. phasealina*) وذلك حسب طريقة Bolkan و Butler (1974). وباستعمال بذور الفجل المحلي، حيث تم تحضير أطباق بتري قطر9 سم حاوية على الوسط الزرعي الأكر والماء Water Agar (20 غم أكر ، 1 لتر ماء مقطر) المعقم بجهاز المؤصده (121 مْ و 1.5 كغم / سم^2 ولمدة 15 دقيقة) والمضاف اليه المضاد الحيوي Tetracycline وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الأطباق في مركزها بقرص قطر(0.5 سم) أخذ من حواف المستعمرات الفطرية الممرضة المنماة على الوسط الزرعي PSA بعمر5 أيام كل على انفراد من PSA ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 25 $\pm$ 1 مْ لمدة 3 أيام وبعد ذلك تم زراعة بذور فجل محلية معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورايد الصوديوم وضعت بصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة لكل طبق. أستعملت 4 أطباق لكل عزلة كمكررات بالأضافة الى معاملة المقارنة بدون فطر، حضنت الأطباق مرة أخرى على الدرجة الحرارية نفسها وأخذت النتائج بعد 7 أيام من الزراعة بحساب نسبة الإنبات حسب المعادلة الآتيـــة : النسبة المئوية للإنبات = عدد البذور النابتة / العدد الكلي للبذور× 100

2-3-2 تأثير عزلات الفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* والفطر *M. phaseolina* في نباتات الفلفل تحت ظروف الظلة الخشبية

انتخبت بعض العزلات متباينة الامراضية من الفطر *R.solani* عزلة R.S1 و R.S6 و R.S12 والفطر *F.solani* عزلة F.S1 و F.S5 و F.S10اضافة الى الفطر *M. phaseolina* عزلة MP5 وMP6 وMP8 وأضيف لقاح الفطر المحمل على بذور الدخن المحلي وبنسبة 1% (وزن / وزن) إلى ترب مزيجية معقمة بجهاز المؤصدة (121 مْ و 1.5 كغم / سم^2 ولمدة نصف ساعة) وأعيد تعقيمها تحت نفس الظروف في اليوم التالي والموزعة في أصص بلاستيكية سعة 2 كغم وبعد ثلاثة أيام من إضافة اللقاح الفطري إلى التربة زرعت الأصص بشتلات نباتات الفلفل صنف California wonder بعمر30 وبواقع ثلاث شتلات لكل أصيص ، كررت كل معاملة 4 مرات و تركت 4 مكررات من دون إضافة الفطر الممرض كمقارنة وضعت الاصص في الظلة الخشبية وسقيت كلما دعت الحاجة لذلك وبعد مرور 35 يوم ولحين ظهور اعراض المرض تم قلع النباتات وقدرت شدة الاصابة حسب الدليل المرضي المؤلف من خمسة درجات كالأتي: 0=

ISSN 2072-3875

مجموع جذري ابيض اللون لم تظهر عليه اصابة مع مجموع خضري جيد النمو .1= تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اقل 1% - 25%. 2= تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر - 50 25% .3= تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر50% - 75% . 4= تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر75%-100% .5= موت النبات بأكمله. وتم حساب النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة (Mckinney ، 1923) المذكورة في (جبر، 1996) وكما يلي:-

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

4-2 تهيئة عوامل المكافحة الأحيائية البكتيرية

أستعملت في هذه الدراسة ثلاث عوامل احيائية بكتيرية هي البكتريا *Bacillus subtilis* والتي تم عزلها من التربة بطريقة التخافيف وتنميتها على وسط Nutrient agar (N.A)وتشخيصها اعتمادا على صفاتها المظهرية والمجهرية والبايوكيميائية وحسب المصادر المعتمدة (Colle و أخرون، 1996 و Macfaddin، 2000 و Forbes و أخرون، 2007 و Lacey ،2012) وكذلك تم الحصول على ثلاث عزلات من البكتريا *Azotobacter chroococcus* (Azot1(حنطة) ، Azot2(طماطة) ، Azot3(باذنجان) والتي تم عزلها من التربة ايظا بطريقة التخافيف وتنميتها على وسط SMS و ثلاث عزلات من البكتريا *Azospirillum brasilense* (Azos1، Azos2، Azos3) والتي تم عزلها من جذور نباتات الحنطة وتم تنميتها على وسط (Nfb) وتشخيصها اعتمادا على صفاتها المظهرية والمجهرية والبايوكيميائية وحسب المصادر المعتمدة (Allen ، 1959 و Bremner ، 1965 و Black، 1965و Tarrand واخرون، 1978).

5-2 أختبارات المقدرة التضادية للبكتريا:

1-5-2 تحديد التركيز الفعال من عوالق البكتيريا (B.S) *Bacillus subtilis*، *Azotobacter chroococcus* (Azot.ch) (Azot1، Azot2 ، Azot3) و *Azospirillum brasilense* (Azos.b) (Azos1، Azos2 ، Azos3) المثبطة لنمو الفطريات الممرضة *R.solani* (R.S6) *F.solani* (F.S1) و*M.phaseolina* (M.P8):-

لتحديد التركيز الفعال من عوامل المكافحة الاحيائية البكتيرية اجريت هذه التجربة لكل بكتريا على حدة ضد عزلات الفطريات الممرضة (RS6 و FS1 وMP8) حيث حضرت عشرة أنابيب اختبار تحوي كل أنبوبة 9مل ماء مقطر معقم ، اخذ 1مل من عالق البكتريا وأضيف إلى الأنبوبة الأولى بواسطة ماصة دقيقة و رجت الانبوبة رجة خفيفة لغرض مزج مكوناتها، وأضيف إلى الأنبوبة الثانية ومزجت المكونات جيداً، وكررت العملية على باقي أنابيب الاختبار للحصول على سلسلة من التخافيف (10^{-1}- 10^{-10}). بعدها جرى تلقيح أطباق حاوية على PSA (من دون إضافة مضاد حيوي) بأخذ 1مل / طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري بواسطة الماصة الدقيقة ولكي يصل اللقاح الى كل الجهات حركت الاطباق حركة رحوية دائرية و من ثم لقحت الاطباق في وسطها بقرص قطر 0.5 سم اخذ من حواف مستعمرة الفطريات الممرضة (RS6 وFS1 وMP8) المنماة على وسط PSA بعمر 7 أيام وبواقع أربعة أطباق لكل تخفيف، وتركت أربعة أطباق للفطر من دون تلقيح بالبكتريا للمقارنة . حضنت الأطباق في الحاضنة تحت درجة 25 ± 2 ولمدة 7 أيام وبعدها حسب مقدار التثبيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر ومقارنتها بمستعمرة الفطر النامية في معاملة المقارنة وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفقا للمعادلة الاتية:

ISSN 2072-3875

النمو الفطري في معاملة البكتريا

% لتثبيط النمو الفطري = [1 - (———————————)] × 100

النمو الفطري في معاملة المقارنة

(Montealeger وزملاؤه 2003) .

2-5-2 حساب الكثافة العددية للبكتيريا *Bacillus subtilis* و*Azotobacter chroococcum* و*Azospirillum brasilense*

بعد الحصول على اقل تخفيف مثبط من العالق البكتيري ضد الفطريات الممرضة (R.S6 وF.S1 وM.P8) للأنواع البكتيرية الثلاثة والذي كان 10^{-5} للبكتريا *B.subtilis* (B.S) و10^{-7} لكل من البكتريا *Azot. chroococcum* (*Azot.* ch2) و *Azos. brasilense* (Azos.b3) حضرت أربعة أطباق بتري قطر 9 سم حاوية على الوسط الزرعي N.A المعقم لكل نوع بكتيري ثم لقحت الأطباق بالعالق البكتيري من التخفيف المثبط للفطر وذلك باضافة 1 مل / طبق ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 1 لمدة 48 ساعة، بعدها حسبت عدد المستعمرات في كل طبق واستخرج المعدل ثم ضرب في مقلوب التخفيف الفعال المثبط للفطريات الممرضة الثلاثة (الحديثي ، 1983). وبناء" على ذلك تكون الكثافة العددية المستعملة لهذه العوامل الاحيائية البكتيرية هي ما يأتي:

نوع البكتريا	التخفيف	عدد البكتريا(وحدة تكوين مستعمرة/ مل)
Bacillus subtilis	10^{-5}	6×10^{6}
(Azot.ch2) *Azotobacter chroococcum*	10^{-7}	5.6×10^{8}
(Azos.b3) *Azospirillum brasilense*	10^{-7}	4.5×10^{8}

6-2 تقيم كفاءة البكتريا البكتريا *Bacillus subtilis* و*Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* في حماية نباتات الفلفل من الاصابة بالفطريات الممرضة *R. solani* و *F. solani* و *M. phaseolina* المسببة لمرض تعفن جذور الفلفل تحت ظروف الظلة الخشبية:

نفذت هذه التجربة بتاريخ 3/3/ 2016 في الكلية التقنية / المسيب حيث تم استخدام تربة مزيجية معقمة بجهاز المؤصدة وزع التربة في اصص بلاستيكية سعة 2كغم وتم زراعتها بشتلات الفلفل صنف California wonder وسقيت النباتات كلما دعت الحاجة وتضمنت التجربة المعاملات الآتية: 1- الفطر *R. solani* (RS6)-2البكتريا *Azot. chroococcum* (*Azot.ch2*)-3 البكتريا *B. subtilis* (B.S)-4 البكتريا *Azos. brasilense* (Azos.b3) 5- البكتريا (Azot.ch2) + (B.S)6-البكتريا (Azot.ch2) + (Azos.b3)7-البكتريا (Azos.b3) + (B.S)-8 البكتريا (Azot.ch2) +(B.S)+(Azos.b3)-9 الفطر RS6 + البكتريا (Azot.ch2)10- الفطر RS6 +البكتريا (B.S)11-الفطر RS6 +البكتريا (Azos.b3) 12-الفطر RS6 + البكتريا (Azot.ch2) + البكتريا(B.S)13-الفطر RS6 + البكتريا (Azot.ch2)+ البكتريا(Azos.b3)14-الفطر RS6 + البكتريا (Azos.b3) + البكتريا(B.S)15-الفطر R.S6 + البكتريا(Azot.ch2) + البكتريا(B.S)+ البكتريا(Azos.b3) 16-الفطرRS6 +المبيد(Beltanol) 17-المقارنه (بدون اضافة اي فطر) - تكـرر المـعاملات السابقة مع الفطريات الممرضة *F. solani* (FS1) و *M. phaseolina* (MP8) . كررت كل معاملة اربعة مرات حيث اعتمد في هذه التجربة التصميم العشوائي التام، أضيف لقاح كل فطر محملاً على بذور الدخن المحلي بنسبة 1% وزن/ وزن (Dewan ، 1989)، واضيف المبيد Beltanol في المعاملات الخاصه به بتركيز 1مل/ لتر مع ماء السقي (مطلوب ، 2007 والبياتي، 2010). اما بالنسبة لعالق البكتريا *B. subtilis* وعالق البكتريا *Azos. brasilense* و*Azot. chroococcum* فقد أضيف الى التربة بمعدل 10مل/ أصيص (تركيز 6×10^{6} و 4.5×10^{8} و5.6×10^{8} وحدة تكوين مستعمرة/ مل) على التوالي بعد زراعة الشتلات مباشرة. أما معاملة المقارنة (بدون فطر ممرض) فقد تم إضافة بذور دخن معقمة فقط ، أما باقي المعاملات

ISSN 2072-3875

الأخرى فقد تم إتباع نفس الخطوات لكن من دون إضافة لقاح الفطر الممرض أخذت النتائج بعد 40 يوماً من إجراء التجربة وتم حساب النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب الدليل المرضي (المذكور بالفقرة 2-3-2) كذلك حساب الوزن الطري والجاف والطول للمجموع الخضري والجذري لكل معاملة.

3- النتائج والمناقشة :

3-1 المسح الحقلي

أظهرت النتائج (جدول 1) وجود وانتشار مرض تعفن جذور الفلفل في جميع مناطق المسح في محافظة بابل وبنسب إصابة تراوحت مابين 15-32% وكانت اعلى إصابة في عينات منطقة جبلة واقل إصابة في ناحية القرية العصرية والتي بلغت 13 % و ويعزى سبب انتشار المرض بهذه النسبة إلى زراعة محصول الفلفل بصورة متكررة او لزراعة محاصيل اخرى تعود للعائلة الباذنجانية في نفس الحقول أدى ذلك إلى تراكم لقاح الفطريات الممرضة خاصة الأجسام الحجرية Sclerotia التي تبقى في التربة لمدة طويلة، وملائمة الظروف البيئية خاصة ارتفاع درجات الحرارة (EL-Mougy واخرون، 2011). وقد يكون السبب هو الاختلاف في العمليات الزراعية وفي نوع وطريقة إضافة الأسمدة. اذ ان كل هذه العوامل هي مؤثرة في النبات وجعلتها أكثر حساسية للاستجابة للممرضات النباتية. أما انخفاض نسبة الإصابة في موقع القرية العصرية ربما يعود إلى زراعة نبات الفلفل لأول مرة في هذه الحقول التي شملها المسح.

جدول (1) النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن جذور نباتات الفلفل في بعض حقول محافظة بابل

التسلسل	الموقع	نسبة الاصابة %
1	ناحية جبلة	32
2	قضاء المسيب	20
3	ناحية القرية العصرية (الحصوة)	13
4	ناحية النيل	15
5	قضاء المحاويل	29
6	ناحية ابي غرق	25
7	ناحية السدة	22
8	مركز الحلة/الطهمازية	27
9	ناحية الكفل	16
10	ناحية القاسم	23
11	قضاء الهاشمية	18
12	ناحية الشوملي	20

3-2عزل الفطريات المرافقة لجذور نباتات الفلفل المصابة وتشخيصها

تم عزل وتشخيص عده أجناس من الفطريات المرافقة لجذور نباتات الفلفل المصابة بمرض تعفن الجذور . وقد تم تشخيص بعض الأجناس إلى مستوى النوع وكان أكثر أنواع الفطريات الممرضة تكراراً هو الفطر *R.solani* الذي تم عزله من جميع المناطق التي شملتها الدراسة فقد بلغت النسبة المئوية لظهوره 97% ويليه الفطر *F. solani* حيث تم عزله من عشرة مناطق وبلغت النسبة المئوية لظهوره 90%. وسجل الفطر *M. phaseolina* ظهوراً في ستة مناطق وبلغت النسبة المئوية لظهوره 88%. وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره كل من (العيساوي، 2006 و الحيدري ، 2007 و الخفاجي ، 2010 و Emmanual واخرون ، 2010)من ان الفطريات R.S و F.S و M.P تعد اهم المسببات المرضية لتعفن جذور الكثير من النباتات.

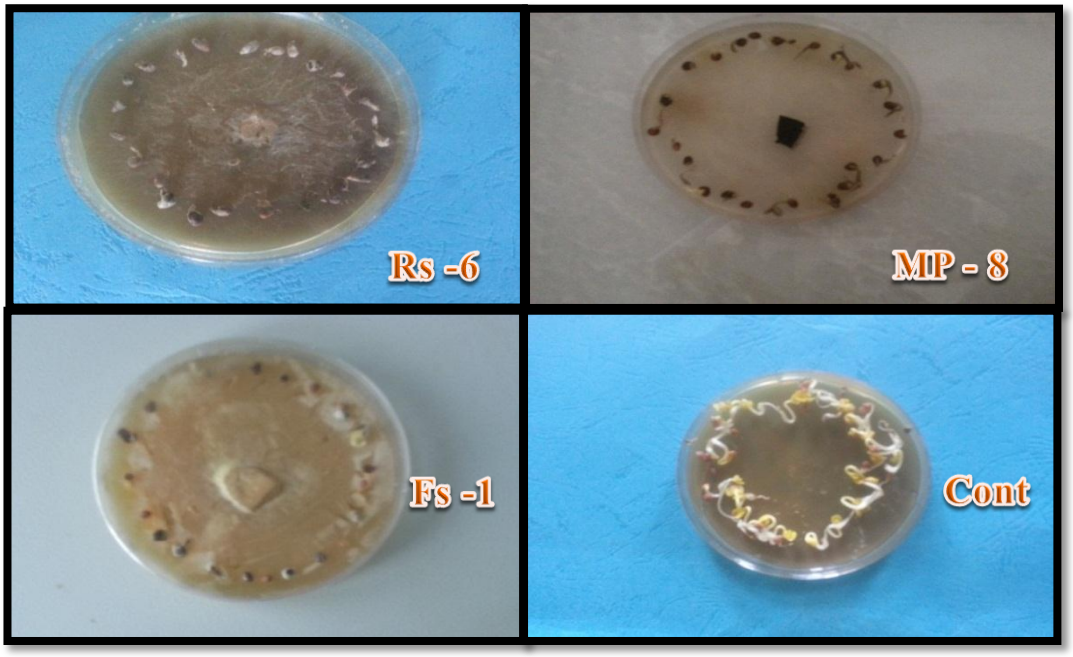
3-3 أختبارات المقدرة الأمراضية

3-3-1 اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* والفطر *M. phaseolina* باستعمال بذور الفجل

أظهرت نتائج الجدول (2) والصورة (1) ان العزلات الفطرية المختبرة أدت الى خفض معنوي في نسبة إنبات بذور الفجل إذ تراوحت النسبة مابين 0.00 - 40.5 % قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت نسبة الانبات

ISSN 2072-3875

فيها 100 % وقد تفوقت العزلات الفطرية (R.S6 وF.S1 وM.P8) في خفض النسب المئوية للانبات عن باقي العزلات إذ بلغ معدل النسبة المئوية للانبات فيها 0% . ان سبب فشل الانبات يعود الى قدرة هذه الفطريات الى افراز الانزيمات المحللة للسليوز والكايتين والبروتين والتي تسبب تعفن البذور او افراز المواد الايضية ذات التاثير السام واختلافها في مقدرتها على إفراز الانزيمات المحلله للبكتين لاسيما الأنزيم polygalacturonase إذ إن العزلات غير الممرضة تكون ذات فعالية واطئة في إنتاج هذا الانزيم او إفراز الانزيمات المحلله للكنين الموجود في جدار خلية العائل مثل Ligninase, Peroxidase وما لذلك من أهمية في أحداث الاصابة وانتشار سموم الفطر وأنزيماته في تلك الخلايا مما يؤدي الى فشل الانبات (Aboud وآخرون، 2001 وInoue واخرون، 2002 و وLozovaya واخرون، 2006). واثبت هذا الاختبار ان جميع العزلات كانت ممرضة إلا ان هنالك تباينا بنسبة تأثيرها في الإنبات حيث تراوحت النسبة المئوية للانبات بين 3.00 – 40.50% للفطر *R.solani* و 5.00 – 23.00% للفطر *F.solani* و 4-21% للفطر *M. phaseolina* وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (Naz واخرون، 2009 وAraini واخرون، 2012) في قدرة الفطر *Fusarium* spp. في التأثير على انبات بذور وتطور العديد من المحاصيل الاقتصادية المهمه. كما اشار (Manici واخرون، 2000) ان الفطر *F. solani* يفرز عددا من السموم منها Javanicin وFusarubin وPolypeptide التي تؤدي دورا مهما في امراضية الفطر. وقد يعزى سبب امراضية الفطر R.S الى افراز بعض المركبات السامة للنبات phytotoxin مثل Phenyl Acetic Acid (PAA) ومشتقاته الهيدروكسيلية مثل hyderoxy Para و-hyderoxy Beta والتي تسببت في قتل اجنة البذور(Demeyer وآخرون، 1988). هذه النتائج تتفق مع ماتوصلت اليه الجراح (2011) من قدرة الفطر الامراضية وخفضه للنسبة المئوية لأنبات بذور الفجل حيث يفرز الفطر انزيمات سليلوزيه وبكتينية من شأنها تحليل مكونات الخلايا وجدار البذور وقتل جنين البذرة وبالتالي موتها ومنعها من الانبات (Laemmlen ، 2001) اما بالنسبة للفطر *M. phaseolina* فيعود سبب تباين عزلاته في نسبة الانبات الى ان عزلات الفطر *M. phaseolina* تختلف في افرازاتها السمية والانزيمية التي تستخدمها ضمن اليات التطفل على عوائها (Mihail ، 1992 و Wrather واخرون، 1997).



صورة رقم (1) اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* والفطر *M. phaseolina* باستخدام بذور الفجل على الوسط الزرعي Water agar

ISSN 2072-3875

جدول (2) الكشف عن العزلات الممرضة للفطريات *R. solani* و *F. solani* و*M. phaseolina* بأستعمال بذور الفجل على الوسط الزرعي Water agar

العزلات	النسبة المئوية للانبات*%	العزلات	النسبة المئوية للانبات%	العزلات	النسبة المئوية للانبات%
R.S1	3	F.S1	0	MP1	15.00
R.S2	29.00	F.S2	15	___	___
R.S3	9	F.S3	23.00	___	___
R.S4	6	F.S4	12.00	MP4	17.00
R.S5	7	F.S5	6	MP5	10.00
R.S6	0	** ___	___	MP6	4.00
R.S7	23	___	___	___	___
R.S8	20	F.S8	9	MP8	0
R.S9	7	F.S9	13.00	MP9	21.00
R.S10	9	F.S10	5.00	___	___
R.S11	40.50	F.S11	13	___	___
R.S12	5	F.S12	10	___	___
المقارنة	100	المقارنة	100	المقارنة	100
L.S.D. عند مستوى 0.05	12.66	L.S.D. عند مستوى 0.05	3.54	L.S.D. عند مستوى 0.05	2.94

***كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات ، **يمثل عدم ظهور عزلة الفطر الممرض في المنطقة الرقم بجانب الرمز يمثل رقم العزلة. *M. phaseolina*=M.P ، *F. solani* = F.S ،*R. solani* = RS**

2-3-3 تاثير عزلات الفطريات الممرضة *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina* في نبات الفلفل تحت ظرف الظلة الخشبية

بينت نتائج الجدول (3) إلى إن جميع العزلات الفطرية المختبرة كانت ممرضة وبفروق معنوية كبيرة قياسا" بمعاملة المقارنة (من دون فطر ممرض) التي كانت شدة الاصابة فيها صفراً%. وحققت العزلات (R.S6 وF.S1 وM.P8) اعلى نسبة في شدة الاصابة إذ بلغت 83، 80.24، 74.16% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت شدة الاصابة فيها صفراً%، تلتها العزلات الاخرى (RS1 و RS12 وFS10 و FS5 وMP6 وMP5) والتي بلغت شدة الاصابة لكل منهم 82.66 و 78.49و 78.66 و 73.24و 74و % 68.33 على التوالي. جاءت هذه النتائج مؤكدة لتجربة (2006).

المقدرة المرضية لهذه العزلات على بذور الفجل في التجربة السابقة الفقرة (3-3-1). إن ظهور أعراض مرض تعفن الجذور ناجم عن مهاجمة الخيوط الفطرية للمسبب المرضي بالاختراق المباشر للنسيج وامتداد الخيوط الفطريـة بين خلايا قشرة الجذر وبداخلها في بعض الأحيان مسببةً بذلك تلون الأنسجة بلون بني ويحدث ذلك قبل وصول الخيوط الفطرية إليها، لأن الفطريات تفرز مواد سامة وأنزيمات محللة تعمل على تحلل أنسجة الجذور للنبات وتعفنها ومن ثم قلة امتصاص المواد الغذائية وقلة نموالنباتات (العيساوي، 2010). ويعزى السبب في إختلاف العزلات الى مقدرتها على إفراز الانزيمات المحللة للبكتين والسليلوز واللكنين والتي يمكن ان تؤدي دوراً في إختراق جذور النبات (Lozovaya واخرون،

ISSN 2072-3875

جدول (3) النسبة المئوية لشدة الاصابة بعزلات الفطريات *R. solani* و *F. solani* و *M. phaseolina* في نباتات الفلفل

رمز العزلة	النسبة المئوية لشدة الاصابة *
Rs1	**82.66**
Rs6	**83**
Rs12	**78.49**
Fs1	**80.24**
Fs5	**74**
Fs10	**78.66**
MP5	**68.33**
MP6	**73.24**
MP8	**74.16**
المقارنة	**0.00**
L.S.D عند مستوى 0.05	**5.27**

***كل رقم يمثل معدل اربعة مكررات، الرقم الموجود بجانب الرمز يمثل رقم العزلة**

3-3-3 اختبار المقدرة التضادية للبكتريا(B.S) *Bacillus subtilis* و(Azos.b3) *Azospirillum brasilense* (Azot.ch2) *Azotobacter chroococcus* ضد عزلات الفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* و*M.phaseolina* على الوسط الزرعي PSA

تشير نتائج الجدول (4) والصورة (2) ان للبكتريا(B.S وAzot.ch2 وAzos.b3) المختبرة تأثيرا معنويا في تثبيط الفطريات الممرضة المسببة لمرض تعفن جذور الفلفل مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفردة (دون اضافة عالق البكتريا) ويلاحظ ان للبكتريا *B.subtilis* تأثيرا عاليا في تثبيط نمو الفطريات الممرضة مقارنة مع معاملات البكتريا (Azot.ch) و(Azos.b) وقد ظهر اعلى تأثير لها في تثبيط نمو الفطر *M. phaseolina* اذ بلغت نسبة التثبيط 91.66% ، في حين لم يختلف تأثير البكتريا على الفطرين *F.solani* و*R.solani* معنويا اذ بلغت نسبة التثبيط 87.43 و86.93 %على التوالي. اما بالنسبة للبكتريا *Azot. chroococcum* فان تأثيرها على الفطريات الممرضة قد اختلف باختلاف عزلاتها، إذ حققت عزلة البكتريا Azot.ch2 اعلى تأثير في نمو الفطر *M. phaseolina* فكانت نسبة التثبيط 82.11%، في حين لم يختلف تأثير البكتريا على الفطرين *F.solani* و*R.solani* واللذين لم يختلفا معنويا عن بعضهما. وحققت العزلتان Azot.ch1 وAzot.ch3 تأثيرا واضحا في نمو الفطريات الممرضة فظهر اعلى تأثير لهما في نمو الفطر *F.solani* فكانت نسبة التثبيط 70.22 و75.22% على التوالي، في حين لم يختلف تأثير العزلات البكتيرية Azot.ch1 وAzot.ch3 على الفطرين *R.solani* و *M. phaseolina* معنويا فكانت نسبة التثبيط لهما 66.66 ، 67.44 % و 69.77 ، 69.88% على التوالي. اما تأثير البكتريا *Azos. brasilense* على الفطريات الممرضة كان اقل نسبيا وقد اختلف ايضا باختلاف عزلاتها، إذ حققت عزلة البكتريا Azos.b3 اعلى تأثير في نمو الفطر *F.solani* فكانت نسبة التثبيط 82%، في حين لم يختلف تأثير البكتريا على الفطرين *R.solani* و *M. phaseolina* معنويا فكانت نسبة التثبيط 72.22 و74.77 % على التوالي. بينما حققت العزلتان Azos.b1 و Azos.b2تأثيرا واضحا في نمو الفطريات الممرضة فظهر اعلى تأثير لهما في نمو الفطر *M. phaseolina* اذ بلغت نسبة التثبيط 70.88 و 72.22% على التوالي، في حين لم يختلف تأثير العزلات البكتيرية Azos.b1 وAzos.b2 على الفطرين *R.solani* و *F.solani* معنويا اذ بلغت نسبة التثبيط 64.22 و 60.55% ، 67.88 و 67.77 % على التوالي مقارنة مع معاملة الفطريات الممرضة بمفردها. ويرجع التأثير التثبيطي الى انتاجها العديد من المواد الايضية المضادة للفطريات الممرضة فمثلا البكتريا *B.subtilis* فأن ألية تأثيرها في المقاومة الأحيائية للفطريات المسببة

ISSN 2072-3875

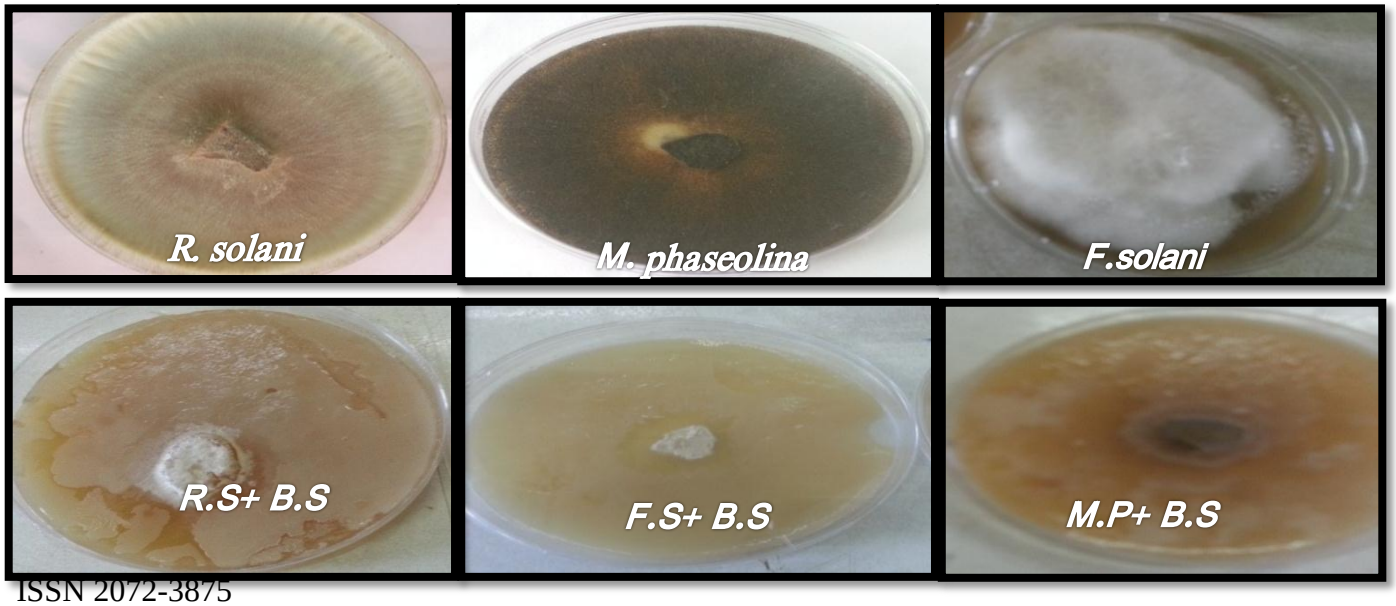
لأمراض النبات يكون عن طريق انتاج المضادات الحيوية التي تفرز خارج خلاياها مثل انزيم Hydrolase وهيدروكاربونات متطايرة وهي المسؤولة عن تثبيط نمو المسببات المرضية، ومن المعروف ان البكتريا *B.subtilis* تنتج اكثر من 66 نوع المضادات الحيوية معظمها ببتيدات ومن هذه المضادات subsporin، neocidin، eumycin ، bacillomycin، subtilin و mycosubtilin و bacilysinوغيرها(Hemalatha وShanthi، 2010 وAkhtar، 2010 وSorokulova، 2013). ذكر Alabouvette واخرون(2006) ان من أليات البكتريا *Bacillus* spp. في السيطرة على المسببات المرضية ، هو تنافسها مع الفطريات على مصادر الكاربون الذي هو احد عوامل تكوين وانبات الأبواغ ومن ثم تؤثر في نمو الفطر. اما ألية البكتريا *Azot. chroococcum* فيعزى الى قابليتها 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 علاوة على 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 (Glick وBashan ، 1997 و Hillel ، 2005)، وقد يعزى سبب المقدرة التثبيطية للبكتريا *Azos. brasilense* الى انتاجها لعدة مواد مضادة للفطريات الممرضة مثل Indole Acetic Acid (IAA)، علاوة على قدرة البكتريا على انتاج الأثلين والمضادات الحيوية وSiderophores التي لها فعل مضاد لعدد من المسببات الممرضة ، وانتاج انزيم Chitinase الذي يحلل الكايتين في جدران الخلايا الفطرية ، كما تنتج عدة مواد سامة تعمل على احداث تغيرات فسيولوجية في خلايا الفطريات مما يمنع نموها (El-Hamshary واخرون، 2010)، فضلا على قدرتها على انتاج العديد من محفزات النمو منها Auxin، Cytokinin، Gibberellins وانتاجها العديد من المركبات والانزيمات منها (carbohydrates، polyamines، aminoacids ، peptides، lectins enzymes) وغيرها من المركبات التي تمتلك قدرة تضادية عالية ضد العديد من الفطريات (Cassan واخرون، 2009 وRichardson واخرون، 2009 Bashan وDe-Bashan ، 2010 وMehnaz، 2015).

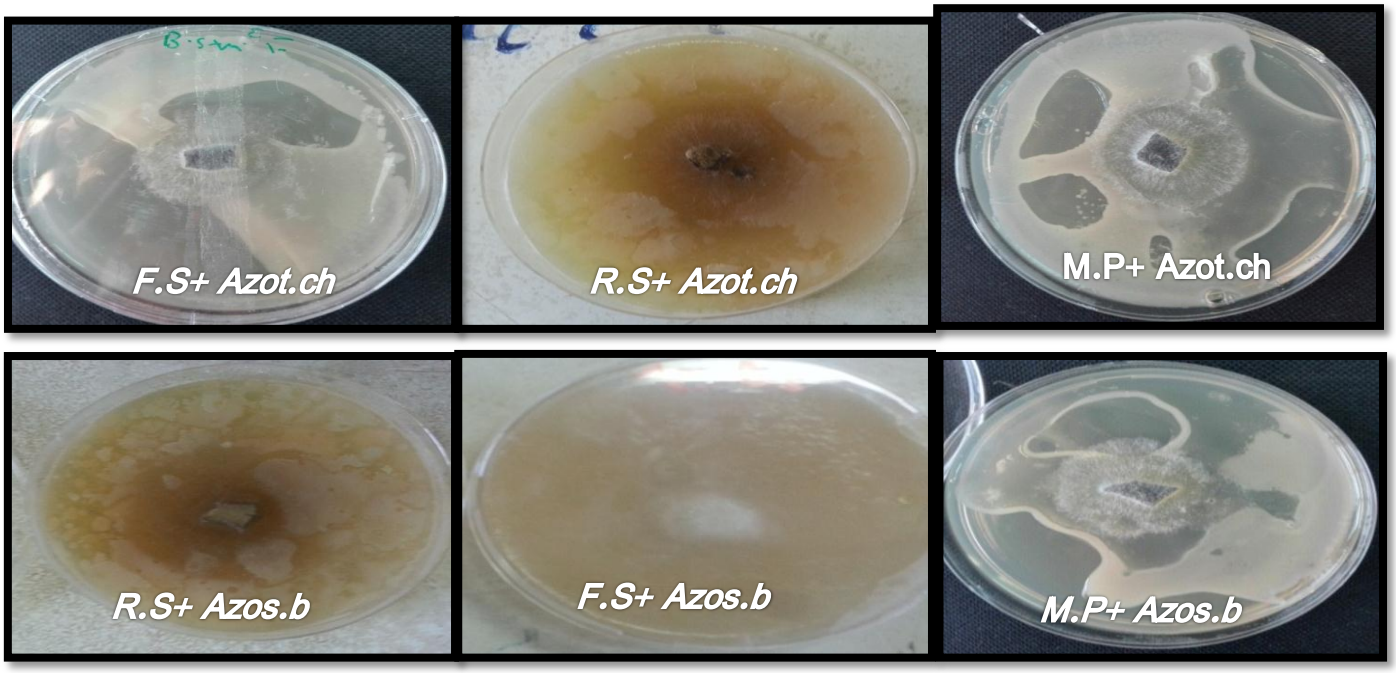
ISSN 2072-3875

جدول (4) اختبار المقدرة التضادية لعوامل المكافحة الأحيائية البكتيرية ضد عزلات الفطريات الممرضة *R.solani* و*F.solani* والفطر *M. phaseolina* والنسبة المئوية للتثبيط على الوسط الزرعي PSA

عزلات البكتريا	الفطريات الممرضة	قطر المستعمرة(سم)*	النسب المئوية للتثبيط %*
B. subtilis	*M. phaseolina*	1	91.66
	R. solani	1.18	86.93
	F. solani	1.25	87.43
	المقارنة	9	0.00
Azot. chroococcum (1)	*M. phaseolina*	2.93	67.44
	R. solani	3	66.66
	F. solani	2.68	70.22
	المقارنة	9	0.00
Azot. chroococcum (2)	*M. phaseolina*	1.61	82.11
	R. solani	2.12	76.44
	F. solani	1.85	79.44
	المقارنة	9	0.00
Azot. chroococcum (3)	*M. phaseolina*	2.71	69.88
	R. solani	2.72	69.77
	F. solani	2.23	75.22
	المقارنة	9	0.00
Azos. brasilense (1)	*M. phaseolina*	2.62	70.88
	R. solani	3.22	64.22
	F. solani	3.55	60.55
	المقارنة	9	0.00
Azos. brasilense (2)	*M. phaseolina*	2.50	72.22
	R. solani	2.89	67.88
	F. solani	2.90	67.77
	المقارنة	9	0.00
Azos. brasilense (3)	*M. phaseolina*	2.27	74.77
	R. solani	2.50	72.22
	F. solani	1.62	82
	المقارنة	9	0.00
L.S.D عند مستوى (0.05)		0	17.16

*كل رقم في الجدول يمثل معدل لاربع مكررات





صورة (2) اختبارات المقدرة التضادية لعوامل المكافحة الاحيائية البكتيرية ضد عزلات الفطريات الممرضة على الوسط الزرعي PSA

4-3 تقيم كفاءة البكتريا *Bacillus subtilis* (B.S) و *Azotobacter chroococcum*(Azot.ch) و *Azospirillum brasilense* (Azos.b) في حماية نباتات الفلفل من الاصابة بالفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* و *M. phaseolina* وبعض معايير النمو لنباتات الفلفل تحت ظروف الظلة الخشبية :

بينت نتائج هذه الدراسة أن جميع معاملات عوامل المكافحة الأحيائية البكتيرية *B. subtilis* و *Azot. chroococcum* و *Azos. brasilense* (Azot.ch وكذلك معاملة المبيد الفطري Beltanol أدت إلى خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة الأصابة بالفطريات الممرضة *R. solani* و *F. solani* و *M. phaseolina*وبنسب متباينة مقارنة بمعاملة الفطريات الممرضة بمفردها (جدول5)، وتفوقت معاملة تداخل البكتريا فيما بينها (Azos.b)+(B.S)+(Azot.ch) على بقية المعاملات فقد حققت اعلى تثبيط للفطريات الممرضة *R. solani* و *M. phaseolina F. solani* وخفضاً في شدة الاصابة مقدارها 8.88 و2.84 و2.84% على التوالي مقارنة مع النسبة المئوية لشدة الإصابة في معاملة الفطريات الممرضة بمفردها والتي بلغت 83% في معاملة الفطر*R. solani* وبلغت 80، 73 % في معاملتي الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina*على التوالي، وان تفوق معاملات التداخل ما بين الأنواع البكتيـــــــرية في خفض شدة الإصابة ربما يعود إلى التأثير التعاوني (Synergistic effect) فيما بينها في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات (Thilagavathi وآخرون ، 2007). وبينت النتائج (جدول5) ان جميع معاملات العوامل البكتيرية المستعملة بهدف مكافحة مسببات مرض تعفن جذور الفلفل حققت زيادة معنوية وبفروق معنوية في معايير النمو ممثلة في الوزن الطري والجاف والطول للمجموع الخضري والجذري لكل معاملة قياسا بمعاملة الفطريات الممرضة بمفردها، فقد اعطت معاملة التداخل مابين البكتريا(Azos.b+B.S+Azot.ch) بوجود الفطريات الممرضة الثلاثة اعلى قيم لمعاير النمولنباتات الفلفل. ويعزى سبب ذلك الى ان استخدام البكتريا (*Azotobacter chroococcum* و *Bacillius subtilis* و*Azospirillum brasilense*) تعمل على

ISSN 2072-3875

تحسين نمو الجذور وتحسين عملية امتصاص الماء والعناصر والمغذيات من التربة مما يؤدي الى زيادة معنوية للاوزان الرطبة والجافة للمجموعين الخضري والجذري وكذلك محتوى النبات من عناصر الN وp وk (Sarafzadeh ، 2012). ان بكتريا PGPR لها التاثير في تحسين نمو ومواصفات النبات من خلال قدرة هذه البكتريا على تثبيت النتروجين وزيادة سرعة ذوبانية الفسفور وزيادة جاهزية الحديد وحث النبات على انتاج الهرمونات النباتية علاوة على توفير الحماية للنبات في منطقة Rhizosphere ضد الانواع الفطرية الممرضة من خلال انزيمات تعمل بالتضاد مع الفطريات ، الى جانب انه يمكن لهذه البكتريا ان تصنع IAA بعدة طرق في حال توافر الحامض الاميني التربتوفان خصوصا في *Bacillus subtilis* (Lugtenberg and Kamilova، 2009). حققت معاملة المبيد الكيميائي Beltanol خفض من شدة الاصابة بالفطريات الممرضة *R. solani* و *F. solani* و *M. phaseolina* لنبات الفلفل المعامل به اذ بلغت 18.33 و23.39 و13.33% على التوالي مقارنة مع معاملة الفطريات الممرضة بمفردها، مما انعكس ايجابيا" على معايير النمو لنباتات الفلفل، وهذا يعود كون المبيد الكيميائي هو من المبيدات الفعالة في السيطرة على الفطريات الموجودة بالتربة ولاسيما الفطر *F.solani* كونه مركب مخلبي مع النحاس مما يسهل مروره داخل الفطر ويؤدي الى قتلة وبالتالي حماية البذور والنباتات(Meister، 2000).

جدول (5) تقيم كفاءة البكتريا *Bacillus subtilis* و*Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* في حماية نباتات الفلفل من الاصابة بالفطريات الممرضة *R.solani* و *F.solani* و *M. phaseolina* وبعض معايير النمو لنباتات الفلفل تحت ظروف الظلة الخشبية

ت	المعاملات	% شدة الاصابة	اطوال النباتات(سم)		الوزن الطري(غم)		الوزن الجاف(غم)	
			خضري	جذري	خضري	جذري	خضري	جذري
.1	الفطر(R.S) بمفرده	83	14.22	6.59	13.44	4.78	4.23	1.27
.2	الفطر(F.S) بمفرده	80	14.69	6.98	13.19	5.08	4.70	1.51
.3	الفطر(M.P) بمفرده	72	16.04	7.80	14.29	5.08	5.57	2.14
.4	البكتريا (AT) بمفردها	0	34.62	13.43	35.22	15.46	13.68	6.59
.5	البكتريا (B) بمفردها	0	34.32	13.22	34.12	14.67	15.08	6.74
.6	البكتريا (AS) بمفردها	0	32.51	13.46	34.13	15.46	13.92	6.30
.7	البكتريا(AT)+(B)	0	42.45	15.58	44.54	19.21	21.57	9.40
.8	البكتريا(AT)+(AS)	0	41	14.87	42.24	18.32	20.82	9.53
.9	البكتريا(AS)+ (B)	0	42.57	14.37	45.20	18.30	21.65	9.40
.10	البكتريا(AT)+ (B)+ (AS)	0	51.46	17.53	58.40	24.14	24.63	11.70
.11	الفطر .R البكتريا(AT)	40	27.81	11.92	30.33	13.94	13.33	4.72
.12	الفطر .R البكتريا(B)	35	30.10	13.28	31.16	11.80	13.13	4.74
.13	الفطر .R+البكتريا(AS)	44	27.69	11.77	30.99	11.71	13.02	4.68
.14	الفطر .F البكتريا (AT)	38.75	28.36	12.51	30.54	13.24	13.63	5.30
.15	الفطر .F البكتريا (B)	28.30	30. 25	15.03	31.37	12.58	13.60	5.30
.16	الفطر .F+البكتريا (AS)	40	28.09	12.33	31.34	12.24	13.34	5.12
.17	الفطر M.P البكتريا(AT)	30	29.36	13.51	31.54	15.54	14.53	6.19

ISSN 2072-3875

18.	الفطر M.P لبكتريا(B)	23.75	31.30	14.08	33.57	13.53	14.50	6.42
19.	الفطر M.P+البكتريا(AS)	35	30.32	13.33	32.77	13.24	14.34	6.57
20.	الفطر .R+البكتريا(AT)+ (B)	24.39	36.80	12.90	36.19	16.77	15.33	6.31
21.	الفطر .R+البكتريا(AT)+ (AS)	22.00	36.15	13.28	34.19	15.78	15.04	6.07
22.	الفطر .R+البكتريا(AS)+ (B)	24.30	36.14	14.35	36.20	16.93	12.79	6.03
23.	الفطر .F+البكتريا (AT)+ (B)	18.33	36.33	13.29	37.20	17.28	15.71	6.79
24.	الفطر .F+البكتريا (AT)+ (AS)	23	35.58	13.58	35.24	16.22	15.46	6.40
25.	الفطر .F+البكتريا (AS)+ (B)	20	36.35	14.52	37.20	17.48	13.02	6.42
26.	الفطر M.P+البكتريا(AT)+ (B)	18.33	37.27	14.26	38.50	18.17	16.79	7.79
27.	الفطر M.P+البكتريا(AT)+ (AS)	23	37.58	14.46	32.44	17.32	16.71	9.93
28.	الفطر M.P+البكتريا(AS)+ (B)	23	37.40	15.41	38.53	18.43	13.92	7.45
29.	الفطر .R+البكتريا(AT)+(B)+ (AS)	8.88	33.89	15.32	49.21	21.17	18.79	8.84
30.	الفطر .F+البكتريا (AT)+ (B)+ (AS)	2.84	36.58	15.49	49.23	21.52	19.46	9.47
31.	الفطر M.P+البكتريا(AT)+ (B)+ (AS)	2.84	35.72	16.74	51.63	22.52	20.44	9.65
32.	الفطر.R+المبيد(Beltanol)	18.33	29.62	11.15	30.19	13.71	11.60	3.97
33.	الفطر.F+المبيد(Beltanol)	23.39	30.87	12.15	30.38	14.31	12.12	4.47
34.	الفطرM.P+المبيد(Beltanol)	13.33	31.94	12.60	31.71	14.78	12.83	4.70
35.	المقارنه (بدون اضافة اي فطر)	0	29.19	11.26	30.14	12.47	11.05	4.18
	L.S.D. عند مستوى 0.05	3.13	0.86	1.58	0.38	0.27	1.30	0.27

***كل رقم في الجدول يمثل معدل لاربعة مكررات**

المصادر:

البياتي ، أسراء موفق عبيد . 2010 . المكافحة البايلوجية والكيميائية للفطر *Fusrium solani* ألمرافقه لجذور الكمثري في محافظة بابل.رسالة ما جستير . كلية العلوم .الجامعة المستنصرية.

الجراح ، نبراس سالم احمد2011 . تأثير الخليط الحيوي EMI والمجال المغناطيسي في حماية نباتات الخيار من الاصابة بمسببات التعفن وسقوط البادرات ، اطروحة دكتوراه .كلية الزراعة – جامعة بغداد 138 . ص.

الحديثي ، هديل توفيق . (1983) . الكتاب العملي في أساسيات علم البكتريا . مطبعة جامعة البصرة . 112 صفحه .

الحيدري ، علي عاجل جاسم . 2007 .عزل وتشخيص بعض الفطريات المسببة لتعفن البذور وموت نباتات الباميا ومقاومتها بتقنيات مختلفة بالفطر *Trichoderma harzianum* Rifai . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الكوفة .

الخفاجي، مكي علوان وفيصل عبد الهادي المختار. (1989). انتاج الفاكهة والخضر . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد. بيت الحكمه. العراق.

الخفاجي ، محمد نعيثل راضي . 2010 . دراسة لمرض تعفن جذور الباميا Abelmoschus esculentus (L.) Moench المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* وعلاقته بديدان العقد الجذرية ومكافحته المتكاملة . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة البصرة .

العيساوي ، ذياب عبد الواحد فرحان. 2006 . عزل وتشخيص بعض الفطريات المرافقة لمرض موت بادرات وتعفن جذور الرقي ومقاومتها بالطرق الإحيائية والكيميائية . رسالة ماجستير . الكلية التقنية . المسيب .

العيساوي، جاسم محمود عبد فراس. 2010. المكافحة المتكاملة لمرض سقوط البادرات على الباذنجان المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani Kühn*

ISSN 2072-3875

. رسالة ماجستير. كلية الزراعة-جامعة بغداد.74ص.

جبر ، كامل سلمان. 1996. المقاومة الأحيائية للمعقد المرضي بين ديدان تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* والفطر *Fusarium solani* في الباذنجان . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .

مطلوب، عهد عبد علي هادي. 2007. تقويم طرائق المكافحة بالعوامل الإحيائية والمستخلصات النباتية لمرض تقرح ساق البطاطا المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn. رسالة ماجستير. الكلية التقنية المسيب. هيئة التعليم التقني.

Aboud, H. M.; S. A. Said ; H. N. Saleh and M. M. Dewan. 2001. Studies for isolate of *Thielavopsis paradoxa.* The Scientific Journal of Iraq Atomic Energy Commission. 3: 150-155.

Akhtar, M.S.; Shakeel, U.; Siddiqui, Z.A. (2010). Biocontrol of fusarium wilt by *Bacillus pumilus, Pseudomonas alcaligenes and Rhizobium* sp. On *lentil. Tur. J. Biol*., 34, 1-7.

Alabouvette, C., C. Olivain and C. Steinberg 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. European Journal of Plant Pathology. 114: 329-341.

Allen, O. N. 1959. Experiments in soil bacteriology. J. Bacteriology. 27: 325-339.

Araini,A. R., M. Mithal, K.H. Wagan, S.N. Khuhro And M.I. Khaskheli.(2012). Incidence And Chemical Control Of Okra Leaf Spot Disease. Pak. J. Bot., 44(5): 1769-1774.

Bashan Y, De-Bashan LE (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. Adv Agron 108:77–136.

Black,1965. method of soil analysis part. 2. Publisher Madison

Wisconson U.S.A. pp. 1572.

Bolkan, H. A., and D. F. Bulter. 1974. Studies on heterokaryosis and virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology . 64:513-522.

Bremner, J. M. 1965. Total nitrogen In : "Methodes of soil analysis" , Black, C. A. Evans, D.P., Ensminger,L.E., White,J.L., Clark,F.E., Dinauer,R.C. (Ed) part 2, American Society of Agronomy. Inc. Bublisher Madison Wisconsin, USA.

Cassan F, Perring D, Sgroy V, Masciarelli O, Penna C and Luna V. (2009). Azospirillum brasilense Az39 and Brdyrhizobium japonicum E109, inoculated singly orin combination, promote seed germination early seedling growth in corn(ze mays L.) and soybean(Glycine max L.). Eur. J. Biol 45:28-35.

Collee, J. G. ; A. G. Fraser ; B. P. Marmion and A. Simmons. (1996). Practical medical microbiology, 14 th ed. Churchill Livingston, London.

Den Hond, F.; P. Groenewegen and N. M. Van Straalen .2003 .Qu- estions Around the Persistence of the Pesticide Problem. *In* : den Hond, F., Groenewegen P.and van Straalen N. M. (eds)Pesticides : Problems, Improvements, Alternatives. Chapter 1. Blackwell Science Ltd.

Demeyer, G. ; Bigirmana, J. ; Elad, Y. and Hoft, M. 1988. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* biocontrol of Botrytis cinerae. Eur. J. Plant Pathol. 104:279-286.

ISSN 2072-3875

Ganesan,S.,R.G. kuppusamy ,and R.Sekar.2007.Integrated management of stem rot disease (*Sclerotium rolfsii*) of groundnut (Arachis hypograea L.) usingRhizobium and *Trichoderma harzianum*(ITCC-4572).Turk J.Agric For ,31:103-108.

Glick, B. R. and Y. Bashan .1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of Phytopathogens. Biotechnol. Advances. 15:353-378.

Hemalath.a. S. and S. Shanthi .(2010). *In vitro* characterization of bacteriocin producing *Bacillus subtilis* from milk samples. African Journal of Microbiology Research 4(19): 2004-2010.

Hillel, D. 2005 .Bacteria Plant Growth Promotoning. Elsevier , Oxford, U.K. (1):103 -115.

Inoue, I., Namiki, F. and Tsuge, T. 2002. Plant colonization by vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* requires FOW1, ageneencoding amitochondrial protein .The Plant Cell, American Societyof Plant Biologists 14:1869-1883.

Lacey, L.A. (2012). Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Second Edition. Academic pressYakima, Washington, USA.pp484.

Laemmlen , F..2001 . Damping- off disease . Regents of the univ. of California , Division of agriculture and Natural Resources. Upp.

Leslie , J. F. and B . A . Summerell . 2006 . The *Fusarium* Laboratory manual. 388.pp.

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.

El-Hamshary, O. M., O. Gebally, Z. A. Abou-El-Khier, R. A. Arafa and Sh. A. Mousa. 2010. Enhancement of the chitinolytic properties of *Azospirillum* strain against plant pathogens via transformation. Journal of American Science. 6 (9): 169-176.

El-Mougy, N. S., M. D. I. H. Aly, E. I. Imbabi and M. M. Abdel-Kader. 2011. First Record of *Sclerotinia* Foliage Blight Disease on Pepper under Protected Cultivation System in Egypt. P roc. 12th Egyptian Phytopathological Society, 3-4. ARC, Cairo, Egypt.

Emmanual, Anthonia; Shahnaz Dawar; and M.Javed Zaki . 2010 . Effect Sida Pakistanicas . Abedin and Senna Holosericea Fresen on Growth and Root Rot Diseases of Okra and Mash Bean . Department of Botany . University of Karachi, Karachi-75270,Pakistan . 42(1): 391-400 .

Esitken, A., H. Yildiz, S. Ercisli, M. Donmez, M. Turan and A. Gunes. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. Scientia Horticulturae, 2009; 124(1): 62-66.

Forbes, B.A.; D.F. Sahm; and A.S. Weissfeld. (2007). Baily and Scott's Diagnosis Microbiology . 12th ed. , Mosby Elsevier company. USA.

ISSN 2072-3875

bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. Electroic J. Biotec, vol:6 No:2, 115-127.

Naseri, R. and Mirzaei, A. 2010. Response of Yield and Yield Components of Safflower (Carthamus tinctorius L.) To Seed Inoculation with Azotobacter and azospirillum and Different Nitrogen Levels under Dry Land Conditions. Am-Euras.J.Agri.&Environ.Sci., 9(4): 445-449.

Naz, I., H. Khan, A.Ali, M.Ahmad, A.hussain and M. Tahir.(2009). Effect Of Various Sowing Dates And Cultivars On The Management Of Okra Root Rot Under Natural Field Condtions. Sarhad J. Agric. Vol.25,2:252-260.

O'Sullivan, L.; Jiwan, M.A.; Daly, T.; O'Brien, N.M.; Aherne, S.A. Bioaccessibility, uptake, and transport of carotenoids from peppers (*Capsicum* spp.) using the coupled *in vitro* digestion and human intestinal caco-2 cell model. *J. Agric. Food Chem.* 2010, *58*, 5374–5379.

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.

Ragab MMM, Ashour AMA, Abdel-Kader MM, El-Mohamady R, Abdel-Aziz A (2012). In Vitro evaluation of some fungicides alternatives against Fusarium oxysporum the causal of wilt disease of pepper (*Capsicum annum*

Lozovaya, V. V., Lygin, O. V. Zernova, S., Li, J. M. wind Holm. and G. L. Hartman. 2006. Lignin degradation by *Fusarium solani* plant Dis. 9. 77 – 82.

Lugtenberg, B. and F. Kamilova .2009. Plant growth-promoting rhizobacteria. Annu Rev Microbiol 63:541–556.

Macfaddin, j.F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria . (3rd.ed) Williams and Willkins Compony . USA. 912pp.

Manici, L.M.; M. Kelderer; G. Erschbaume; F. Capato; V. Babini and Casera, C .2000. Replant problems in south Tyrol: role of fungi pathogens and microbial populations in conventional and organic apple orchards. Research Institute Manual of Systematic Bacteriology . The proteobacteria (2ed) .Springer . New York . PP 1108 .

Mckinney, H. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by Helminthosporum sativum. J. Agric. Research.26: 195– 217.

Mehnaz, S. (2015). Azospirillum: a biofertilizer for every crop. In: Arora NK(ed) plant microbes symbiosis: applied facets.

Meister, R. T. 2000. Farm chemical Handbook. Listing for " Beltanol ". Willouhg by OH. 86 : 45p.

Mihail, J. D. 1992. *Macrophomina*. PP 134-136 in: Methods for Research on Miller.Journal of Medicinal Plants,2:101-105.

Montealegre, J.R.; Reyes, R.; Perez, L.M.; Herrera, R.; Silva, P. and Besoain, X. (2003). Selection of bioantagonistic

ISSN 2072-3875

Spirillum lipoferum group with descriptions of a new genus , Azospirillum gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerink) comb. Nov. and *Azospirillum brasilense* sp. Nov. Can.J.Microbio. 24: 967-980.

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.

Wrather, J., A., Anderson, T, R., Arsyad, D. M., Gai, J., Ploper, L. D., Porta-Puglia , A., Ram, H. H. and Yorinori, J. T. 1997. Soybean disease lossestimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. Plant Dis. 81: 107–110.

L.). Int. J. Agric. Forestry, 2 (2): 70-77.

Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Plant Soil 321(1-2): 305-339.

Sarafzadeh, Shahram. 2012. Effects of PGPR on growth and nutrient uptake of tomato. International Journal of Advances in Engineering & Technology. Vol. 2, Issue 1, pp. 27-31.

Sekar, S and Kandavel D .2010. Interaction of plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants–new avenues for phytochemicals. J Phytol 2:91–100.

Sorokulova, I. (2013). Modern status and perspectives of Bacillus bacteria as probiotics. J Prob Health 1: 1-5.

Tarrand,J.J., Krieg,N.R. and Dobereiner,J. (1978). A taxanomic study of the

ISSN 2072-3875