تقويم كفاءة البكتريا *Azotobacter vinelandii* وبعض المركبات الكيميائية في مكافحة مرض التعفن الفحمي في اللوبياء المتسبب عن الفطر Macrophomina phaseolina تحت الظروف المختبرية والحقلية

محسن عبد علي محسن الموسوي كامل سلمان جبر

الملخص

هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص مسبب مرض جذور وقواعد سيقان اللوبياء في بعض محافظات المنطقة الوسطى من العراق واختبار المقدرة الامراضية لعزلاته وتقويم كفاءة البكتريا **Azotobacter vinelandii** (**Av1**) وبعض المركبات الكيميائية ضده تحت الظروف المختبرية والحقلية .أظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر ***Macrophomina phaseolina*** في العينات التي جمعت من المحافظات (كربلاء ، بابل ، وبغداد) وبنسبة وجود تراوحت بين **17.50 – 35.00** % وشخص الى مستوى الجنس والنوع من خلال الصفات المزرعية والمظهرية. كما اوضحت النتائج ان عزلة الفطر**MP** المختبرة على بذور اللوبياء تفوقت اذ احدثت خفضاً في انبات بذور اللوبياء **30** % قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها **90%** واشارت نتائج عزل بكتريا الـ ***Azotobacter*** من التربة الحصول على ثلاث عزلات من النوع ***A. vinelandii*** وشخصت اعتماداً على الصفات المزرعية والكيمو احيائية.واوضحت النتائج ان العزلات البكتيرية سببت خفضاً معنوياً في معدل نمو الفطر الممرض ***M.phaseolina*** واحدثت نسبة تثبيط **81.66 – 86.52** %. كما اظهرت نتائج تجربة تقويم فعالية البيون والبكتريا ***A.vinelandii***في السيطرة على الفطر ***M.phaseolina***تحت الظروف الحقلية أعطتالمعاملات جميعها زيادة في النسبة المئوية للإنبات وانخفاض في نسبة وشدة المرض وزيادة في حاصل النبات تراوحت نسبة الانبات في معاملات عوامل المكافحة جميعها **61.46 – 94.79** % وتفوقت البكتريا **AV1** بمفردها على باقي المعاملات ،إذ سجلت نسبة مئوية للإنبات بلغت **94.79** % واقل نسبة للإصابة وشدتها التي كانت **0.00** % قياساً بمعاملة الفطر الممرض بمفرده الذي اعطى **12.5** % نسبة انبات و**100**% **85.00**% وشدة اصابة على التعاقب . وبلغ معدل وزن الحاصل في معاملة **AV1** بمفردها**674.44**غم/نبات قياسا بمقدار **17.1**غم/نبات في معاملة الفطر الممرض بمفرده.

المقدمة

يعد محصول اللوبياء. **Vigna *unguiculata L.)* Walp)** احد أهم المحاصيل البقولية الملائمة للاستهلاك البشري في العالم لاسيما في البلدان النامية،إذ يوفر مصدراً بروتينياً رخيصاً للمجتمعات المدنية والريفية الفقيرة، فضلاً عن إمكان استعمال مخلفاتها علفاً للحيوانات واستعمال المحصول لزيادة محتوى النيتروجين في التربة (**62**). تتعرض نباتات اللوبياء العديد من الامراض التي تؤدي الى خفض الحاصل (**57**) وتعد امراض موت البادرات وتعفن الجذور والسيقان في مقدمتها (**30**). تسبب هذه الأمراض العديد من الفطريات الشرسة القاطنة في التربة ومنها الفطر***M. phaseolina*** الذي يعد من فطريات التربة الواسع الانتشار وهو فطر اختياري التطفل وله مدى عائلي واسع ،إذ يصيب اكثر من **500** عائل نباتي (**47**، **66**)، ويصيب جذور مختلف المحاصيل الزراعية ويسبب مرض التعفن الفحمي لها منها فول الصويا، والفاصوليا العادية ، والذرة الصفراء و البيضاء ، والقطن ، والسمسم ، وفستق الحقل ، واللوبياء (**10**، **13**، **25**، **26**، **36**) وهو من اكثر المسببات المرضية المهددة لانتاج محصول اللوبياء في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (**22**، **25**)، ان امراض موت البادرات التي تسببها الفطريات القاطنة بالتربة هي من الامراض

كلية الزراعة– جامعة بغداد، بغداد، العراق.

المهددة لزراعة محصول اللوبياء في العديد من مناطق العالم (25) .تظهر الاصابة على النباتات بشكل تقرحات على الساق وبقع ولطخات غائرة على الاغصان وحامل النورة الزهرية والازهار وفي حالة الاصابة الشديدة تموت النباتات بسبب افراز الفطر للعديد من السموم منها **Phaseolinone** الذي له الاثر الكبير في الاداء الفسيولوجي للنبات ، ويمكن ان تستمر بادرات اللوبياء المصابة بالنمو والتطور من دون ظهور اية اعراض مرضية، في حين تظهر على النباتات البالغة اعراض اختزال حجم الاوراق والبذور مع ظهور اعراض الشيخوخة المبكرة (59). وتؤدي الاصابة الشديدة الى اصفرار الاوراق وموتها مع بقائها على النبات كما يمكن ان تؤدي الى تعفن القرنات والسيقان والجذور وتعطي لوناً رمادياً او فضياً نتيجة لتكوين الاجسام الحجرية التي تتحرر الى التربة بعد تحلل بقايا النبات (23، 32). ان امراض موت البادرات التي تسببها الفطريات القاطنة بالتربة هي من الامراض المهددة لزراعة محصول اللوبياء في العديد من مناطق العالم (25). استعملت المبيدات الفطرية لمكافحة امراض موت البادرات وتعفن الجذور والسيقان ولكنها تؤثر سلبياً في صحة الأنسان والبيئة، لذلك برزت الحاجة الى ايجاد بدائل اخرى لمكافحة امراض النبات ،فقد اثبتت بعض العوامل الاحيائية ومنها الانواع العائدة الى الجنس***Azotobacter*** فعالية في مكافحة العديد من فطريات التربة ومنها الفطر ***M.phaseolina*** والعديد من فطريات التربة الممرضة للنبات وذلك من خلال آليات مختلفة منها الفعالية التضادية ضد المسببات المرضية وتحفيز المقاومة الجهازية في العائل النباتي ضد تلك المسببات (28، 40، 55). كما اثبت منشط النمو **Acibenzolar-S-Methyl** فعالية في استحثاث المقاومة في النباتات ضد العديد من المسببات المرضية التي تصيب المجموع الخضري والجذري (54) ولأهمية اللوبياء بوصفة محصولاً بقولياً مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان في انتاجيته ولندرة الدراسات حوله في العراق فقد هدفت الدراسة إلى ما يأتي :

- عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان اللوبياء وتقويم القابلية الإمراضية.
- مقاومته باستعمال بعض العوامل الإحيائية تحت الظروف الحقلية .

المواد وطرائق البحث

عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان اللوبياء

اخذت أربع عينات من نباتات اللوبياء جمعت من حقول المحافظات(كربلاء وبابل والنجفوبغداد)ظهرت عليها اعراض المرض التي تمثلت باصفرار وجفاف الاوراق وخاصة السفلية (23، 32). قلعت النباتات المصابة وقطعت على ارتفاع 5 سم فوق منطقة التاج . غسلت جذوروقواعد سيقان النباتات المصابة وغسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة وقطعت إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5 سم وعقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (0.5% كلور حر) لمدة 3 دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة 2 دقيقة ونشفت بورق الترشيح المعقم ونقلت بواسطة ملقط معقم وزرعت بواقع 4 قطع نباتية في كل طبق بتري بقطر 9 سم تحتوي على الوسط الزرعي **Potato Dextrose Agar** (**PDA**) المضاف إليه المضاد الحيوي **Tetracycline** بتركيز 200ملغم / لتر وذلك بعد تعقيم الوسط بجهاز الموصدة عند درجة حرارة 121 مْ وضغط 1.5 كغم/سم2 ولمدة 15 دقيقة ، وبواقع 20 طبقاً لكل عينة ، تركت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25±1 مْ لمدة4 أيام ،بعدها فحصت الاطباق تحت القوة الصغرى للمجهر المركب وشخص الفطر الى مستوى الجنس بعدها تمت تنقيته بأخذ قطع صغيرة من اطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاو على الوسط الزرعي **PDA** وحضنت لمدة 4 ايام وشخص الفطر الى مستوى النوع اعتماداً على الصفات التي ذكرها كل من **Parmeter** و **Whitney** (52) المتضمنة لون المستعمرة الفطرية وطبيعة التفرع للغزل الفطري الحديث والمقدرة على تكوين الاجسام الحجرية **Sclerotia** .

اختبار القابلية الامراضية لعزلات الفطر M.phaseolina على نبات اللوبياء تحت ظروف البيت الزجاجي

اجريت هذه التجربة في البيت الزجاجي في كلية الزراعة – قسم وقاية النبات– جامعة بغداد تم تحضير اللقاح الفطري لعزلات الفطر *M.phaseolina* عزلة MK و MPو MPG بتلقيح اطباق بتري تحتوي على الوسط الزرعيPDA بوضع قطعة قطر5 ملم من مستعمرة الفطر المحفوظة في انابيب الاختبار حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25 ± 1 م لمدة 7 ايام نميت عزلات الفطر على بذور الدخن المحلي اضيف لقاح الفطر النامي على بذور الدخن المحلي الى تربة مزيجية معقمة بغاز بروميد المثيل ،بعدها وزعت في اصص سعة 1 كغم . اضيف لقاح كل عزلة من عزلات الفطر الى التربة بنسبة 1 % (وزن / وزن) وكررت كل معاملة اربع مرات مع معاملة المقارنة بعد إضافة اللقاح الفطري زرعت الاصص مباشرة ببذور اللوبياء صنف محلي المختبرة نسبة انباتها وبواقع 10 بذور في كل اصيص وتم حساب نسبة الانبات وشدة الاصابة التي احدثتها عزلات الفطر بعد أربعة اسابيع باستعمال الدليل المرضي التالي :– 0 = الجذور سليمة (لاتوجد اصابة) و1 = تلون الجذور الثانوية بلون بني فاتح و2 = تلون الجذور الثانوية بلون بني غامق مع اصابة الجذر الرئيسة وتلونه بلون بني فاتح و3 = تلون الجذور الثانوية والرئيسة بلون بني غامق مع اصابة قاعدة الساق وتلونها بلون بني،ولكن النبات مازال حيا و4 = موت النبات وحسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة Mckinneyكما حسبت النسبة المئوية للإنبات وحسب المعادلة التالية:–

عزل وتشخيص البكتريا Azotobacter من التربة

تم عزل بكتريا Azotobacter من خلال تحضير تخافيف لعينات التربة (بحدود 1 كغم) التي جمعت من تربة حقول الحنطة في المحافظتين (بغداد وكربلاء) من أعماق مختلفة من التربة تصل إلى 30سم وذلك بإضافة 10 غم من العينة الى 90 مل من الماء المقطرالمعقم في دوارق سعة 250 مل ومزجت جيداً واجريت تخافيف متسلسلة الى حد 10^{-6} واستعمل وسط Sucrose Mineral Salts(SMS) لتلقيح تخافيف التربة، ،إذ اخذ 1 مل من تخافيف التربة المحضرة لتلقيح انابيب اختبار تحتوي على 9 مل من الوسط SMS وبواقع 3 انابيب لكل تخفيف ، ثم حضنت الانابيب تحت درجة حرارة 28 م للمدة من 3–2 ايام وفحصت الانابيب بملاحظة الغشاء البني المتكون على السطح الذي يعد مؤشراً لنمو بكتريا الازوتوباكتر. ثم اخذ لقاح (بواسطة الابرة ذات العقدة معقمة) من الأنابيب التي اعطت مؤشراً للنمو ونشرت على سطح طبق بتري يحتوي على الوسط الصلب Sucrose Mineral Salts Agar وحضنت الاطباق على درجة حرارة 28±1 م° م للمدة من3–2 ايام ، ثم اعيد التخطيط لثلاث مرات متتالية وذلك لغرض الحصول على مستعمرات نقية من البكتريا . وتم تنشيط العزلات باستعمال الوسط الموصوف من قبل Thompson و Skerman (61). تم تشخيص البكتريا الى مستوى الجنس والنوع اعتماداً على الصفات المزرعية في الوسط SMS الصلب وكذلك خصائصها المجهرية بعد تصبيغها بصبغة كرام وايضا اجريت اختبارات كيموحيوية مثل النمو في 1% كلوريد الصوديوم و النمو في درجة حرارة 37 م واختبار النمو في وسط بيرك (Burk"s media) و اختبار استهلاك المصادر الكاربونية (كلوكوز،مالتوز،سكروز،نشأ) ومقدرة العزلات على تثبيت النتروجين الجوي بواسطة جهاز كلدال. حُضرت اوساط زرعية سائلة خالية من النتروجين (Base Medium77) الذي يتكون من الموادالتالية :–

المـادة	الكمية(غم . لتر–1)	المـادة	الكمية(غم.لتر–1)
K2HPO4	0.5	MnSO4.4H2O	0.02
MgSO4	0.2	FeCl3.6H2O	0.02

NaCl	0.2	H2O	1000مل

إذ وضع **50** مل من الوسط السائل في قناني سعة **250** مل واضيف لكل منها **1%** من محلول المانيتول ولقحت القناني باضافة **1**مل من المزرعة السائلة للعزلات المختلفة و حضنت مع الرج لمدة **21** يوماً في درجة حرارة **28± 1** مْ وقدرت كمية الامونيا المتكونة قي الوسط وذلك باخذ **10** مل منه وتقديره بجهاز كلدال **Kjeldahl** حسب **Bremner** (**13**) . وكما ذكرفي **Bergey's manual** (**17**) .

اختبار المقدرة التضادية لعزلات البكتيريا **vinelandii Azotobacter** ضد عزلات الفطر **M.phaseolina** الممرضة على الوسط الزرعي **PDA**

اختبرت القابلية التضادية لعزلات البكتريا ***A.vinelandii*** الثلاثة **AV1** و**AV2** و**AV3** ضد ***M.phaseolina*** عزلات الفطر الممرض **MK** و **MP**و **MPG** على الوسط الزرعي **PDA** نميت البكتريا على وسط تنشيط العزلات السائل، وبعد تعقيمها لقح كل منها باضافة **1** مل من المزرعة السائلة وللعزلات الثلاثة وذلك باستعمال ماصات معقمة. حضنت هذه الدوارق بالحاضنة في درجة حرارة **28± 1** م للمدة من **3-2** ايام، تم تحضير اطباق حاوية على الوسط **PDA** المعقم ولقحت الاطباق بالعزلات الثلاثة بأخذ **1** مل من وسط التنشيط بالماصات المعقمة واضافته الى الطبق مع تحريك الطبق حركة رحوية لتوزيع اللقاح البكتيري على الوسط وبواقع أربعة مكررات وبعدها لقحت الاطباق الحاوية على اللقاح البكتيري بالعزلات الفطرية، وذلك بوضع قرص بقطر **5** ملم من نموات الفطر على الوسط الزرعي بعدها حضنت الأطباق ولمدة **7** أيام وجرى بعدها قياس مقدار تثبيط نمو الفطريات وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر الممرض المنمى مع البكتريا وقياسه بمعاملة المقارنة (**41**) وحسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة التالية :

تقويم كفاءة البكتريا **Azotobacter vinelandii** في خفض اصابة نباتات اللوبياء بالفطر الممرض تحت الظروف الحقلية.

نفذت التجربة الحقلية في **28/3/2011** في أحد حقول كلية الزراعة – جامعة بغداد – ابوغريب باستخدام تصميم القطاعات الكاملة المعشاة **R.C.B.D**)) وبأربعة مكررات لكل معاملة وذلك بحراثة الارض وتسويتها وتقسيمها الى مروز بطول **3**م والمسافة بين مرز واخر **1** م وكل مرز يحتوي على ثمان جور لزراعة ثلاث بذور في كل جورة وتضمنت التجربة المعامـلات التالية:-

1 – الفطر الممرض ***M.phaseolina*** **MP**)) بمفرده .

2– **MP** + العامل الاحيائي ***A.vinelandii*** (**AV1**)

3– **MP** + المبيد الكيميائي **Beltanol** (**Bel**)

4 – **MP** + عامل الأستحثاث الكيميائي الـ **BION** (**B**)

5– **B** +**AV1** + **MP**

6 – العامل الاحيائي **AV1** بمفردها .

7 – عامل الأستحثاث الكيميائي **B** بمفرده .

8 – المقارنة.

جرت عملية إضافة اللقاح الفطري بعمل شق على طول المرز وتم رفع التراب وحساب وزنه ولوث بخلطه بلقاح العزلة الفطرية **MP**المحملة على بذور الدخن بنسبة **1%**(وزن/ وزن) ، تمت تنمية العزلة البكتيرية المنتخبة (**AV1**)على وسط التنشيط السائل قبل يومين من وقت تنفيذ التجربة اضيف اللقاح بتركيز **1** × **10^8** وحدة تكوين

مستعمرة / مل بمقدار 10 مل / جورة للمعاملات التي تتطلب اضافته وبعد زراعة البذور وبعد يوم من اضافة لقاح الفطر الممرض،فقد تمت إضافة المبيد الكيميائي Beltanol بتركيز 1 مل / لتر الى الجور للمعاملة التي تتطلب اضافة المبيد. اما معاملة الـ BION فقد تم غسل البذور جيداً بالماء المقطر المعقم وجففت بورق النشاف المعقم ونقعت بمحلول البيون بتركيز 0.75% غم/لتر ولمدة 12ساعة قبل الزراعة وقد استعمل البيون بمعدل 1مل/1غم بذور من التركيز المحضر. (خضير،2007). وايضا اضيف الـ BION رشآ بعد عشرة ايام من زراعة الاصص وبتركيز 0.75 ملغم . لتر-1 بتاريخ 10/8/2011 قدرت نسبة الاصابة كما قدرت شدة المرض باستخدام الدليل المرضي التالي :-

1 – لاتوجد اصابة

2 – تلون الجذور الثانوية بلون بني فاتح مع نمو خضري جيد .

3 – تلون الجذور الثانوية بلون بني غامق والرئيسة بلون بني فاتح مع اصفرار عدد محدود من الاوراق .

4 – تلون الجذور الثانوية والرئيسة وقاعدة الساق بلون رمادي مسود مع ملاحظة الاجسام الحجرية في قاعدة الساق وتساقط الاوراق السفلية واصفرار الاوراق العليا .

5 – امتداد التلون واحاطته بالساق وملاحظة الاجسام الحجرية بغزارة في منطقة الاصابة وتساقط معظم الاوراق، ولكن النبات مازال حيا .

6 – موت النبات .

حسبت النسبة المئوية لشدة المرض وفق معادلة Mckinney (1923) والنسبة المئوية للاصابة، كما تم حساب النسبة المئوية للإنبات ووزن الحاصل.

النتائج والمناقشة

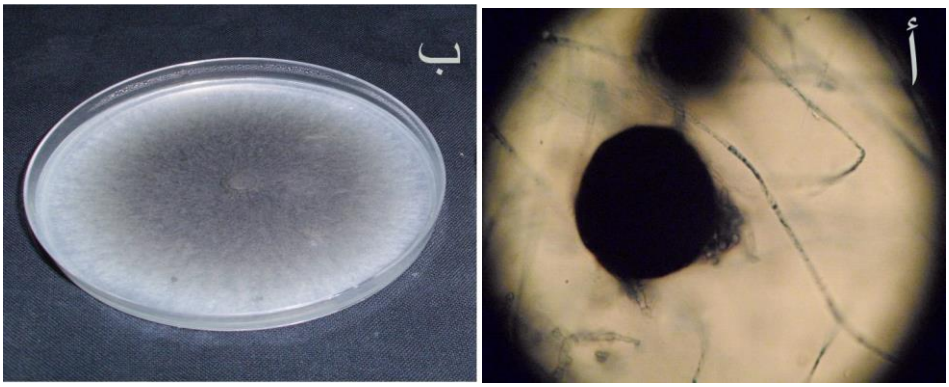
عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان اللوبياء

أظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر ***M.phaseolina*** في عينات المحافظات (كربلاء وبابل وبغداد) (جدول 1، شكل 1 أ،ب) وتراوح ظهوره بين 17.50 – 35.00 % وكان اعلى تكراراً له في عينة محافظة كربلاء – الهندية – الجدول الغربي ،وهذا يعود إلى زراعة المحصول بشكل مستمر وعدم انتظام الري وملاءَمة الظروف البيئية مما يؤدي الى تراكم اللقاح الفطري سنوياً أو قد يعود السبب الى الاختلاف في طريقة إضافة الاسمدة ونوعيتها ونوعية الترب وطرائق ادارتها التي قد تؤثر في النباتات وتجعلها حساسة للإصابة. كما ان للفطر ***M.phaseolina*** القدرة على تكوين الاجسام الحجرية التي تمكنه من البقاء لمدد طويلة في التربة. ويعود هذا الفطر الى الفطريات الناقصة التي تتمكن من انتاج سبورات بأعداد كبيرة ، وصغر حجمها وقابليتها على الانتشار لمسافات بعيدة واحتواء بعضها على صبغة الميلانين التي تحميها من الظروف الصعبة فضلاً عن تكوينها لتراكيب معينة تجتاز بها الظروف غير الملائمة لنموها (20، 24، 27). وهذه النتيجة تتفق لما ذكره Dawar وجماعته (24) عند عزله من الاجزاء المصابة لعينات نباتات اللوبياء التي جمعت وجود الفطريات ***R.solani*** و***M.phaseolina*** و ***Fusarium spp*** في اغلب العينات .

جدول 1: النسبة المئوية لوجود عزلات الفطر ***M.phaseolina*** المرافقة لجذور وسيقان نباتات اللوبياء .

رقم العينة	المنطقة	% لوجود عزلات الفطر ***M.phaseolina*** في العينات
1	كربلاء – الهندية – الجدول الغربي	35.00
2	بابل – المسيب – جرف الصخر	25.00
3	النجف – المشخاب – منطقة الزبدية	0.00

• الارقام تمثل مناطق جمع العينات(جدول 1) ؛ النسبة المئوية لوجود الفطر = × 100



شكل 1. الصفات المظهرية للفطر *M.phaseolina* إذ أن أ– الاجسام الحجرية وب– الغزل الفطري.

القابلية الامراضية لعزلتي الفطر *M.phaseolina* MP وMPG في إنبات بذور اللوبياء ونمو نباتاتها تحت ظروف البيت الزجاجي اشارت النتائج (جدول 3) إلى أن العزلات المختبرة للفطرجميعها *M.phaseolina* سببت خفضاً معنوياً في نسبة انبات بذور اللوبياء وارتفاعاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة تحت ظروف البيت الزجاجي وكانت افل نسبة مئوية للأنبات 30 % للعزلة MP وأثرت بشكل ملحوظ في شدة الإصابة إذ بلغت 90.60 %.

جدول 3 . تأثير العزلات الفطرية الممرضة للفطر *M.phaseolina* في انبات بذور اللوبياء ومعايير نمو النبات .

رمز العزلة	النسبة المئوية للإنبات	النسبة المئوية لشدة الاصابة
MPG	65	31.5
MP	30	90.60
مقارنة	90.00	0.00
LSD	5.33	5.7

قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة الانبات فيها 90 % والنسبة المئوية لشدة الاصابة فيها 0.0 % وتتفق هذه مع نتائج دراسات اخرى قام بها عدد من الباحثين حسن (6) وجعفر (4) وحسون (7) التي أثبتت قدرة الفطر *M.phaseolina* في رفع النسبة المئوية لشدة الإصابة وخفض النسبة المئوية للإنبات.

عزل وتشخيص بكتريا Azotobacter

اظهرت نتائج عزل البكتريا الحصول على ثلاث عزلات من بكتريا الازوتوباكتر مأخوذة من تربة حقول الحنطة من محافظتي بغداد وكربلاء أنتجت عزلات البكتريا الثلاثة على الوسط الصلب **Sucrose mineral salts agar** مستعمرات لزجة، معتمة، مرتفعة، محدبة، لماعة، ناعمة ومتوسطة الحجم الى كبيرة، قوامها كثيفاً وغطت سطح الطبق. ولونت عزلات هذه البكتريا الوسط الذي تنمو عليه سواء أكان سائلاً أم صلباً بلون بني إلى بني غامق (جدول 4) وكانت صفات هذه العزلات مطابقة للصفات المزرعية للجنس **Azotobacter** (14، 36).

جدول 4 : بعض الصفات المزرعية و المجهرية لتشخيص عزلات الجنس .*Azotobacter spp*.

رقم العزلة	الصفات المزرعية للخلايا				الصفات المجهرية للخلايا	
	كثافة النمو	شكل النمو	لون المستعمرة	صبغة گرام	شكل الخلايا	تجمع الخلايا
1	+++	لزج	ابيض	–	عصوي	ثنائي
2	+++	لزج جدا	ابيض الى بني	–	عصوي	ثنائي

رباعي	عصوي	–	ابيض الى بني	زج جدا	+++	3

– لايوجد نمو +نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو كثيف

اوضح الفحص المجهري (جدول 4) أن شكل هذه البكتريا كان عصوياً، ومتحركة بأسواط محيطية، وبعد مدة قصيرة من الحضن كونت حويصلات cysts وحيدة الخلية متخذة شكلاً كروياً غير منتظم الى مستدير وغير مكونة للأبواغ هذه الصفات تتفق مع صفات الجنس ***Azotobacter*** (31، 60).

الاختبارات الكيموحيوية.

اظهرت النتائج (جدول 5) وجود نمو للعزلات البكتيرية في درجة حرارة 37 مْ وكان النمو متوسطاً في العزلتين A3 وA2 اما في العزلة A1 فكان النمو كثيفاً .كمابينت النتائج (جدول 5) قدرة العزلات البكتيرية على النمو في الوسط الزرعي الحاوي على كلوريد الصوديوم بتركيز1% . وكانت كثافة النمو متوسطة.

جدول5 : بعض الصفات الكيموأحيائية والتفريقية لتمييز الانواع التابعة لجنس **Azotobacter**

رقم العزلة	نوع العزلة	استعمال مصادر الكاربون				وسط بيرك	1% NaCl	37مْ
		مانيتول	كلوكوز	سكروز	نشاء			
A1	***A.vinelandii***	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
A2	***A.vinelandii***	+++	+++	+++	+++	++	++	++
A3	***A.vinelandii***	+++	+++	++	+++	++	++	++

– لايوجد نمو +نمو ضعيف ++ نمو متوسط +++ نمو كثيف

اوضحت النتائج (جدول 5) ان العزلات البكتيرية لها القدرة على النمو في وسط بيرك الحاوي على 1% بنزوات الصوديوم وكان النمو متوسطاً وللعزلات جميعها وهو وسط تفريقي للفصل بين الانواع التابعة للجنس أزوتوباكتر إذ لا ينمو في هذا الوسط الا النوع ***A.vinelandii*** .يلاحظ في النتائج (جدول 5) ان العزلات قد استعملت كل من المانتول والسكروز والنشأ مصدراً للكاربون والطاقة وهي من الصفات المميزة لأنواع الجنس أزوتوباكتر.

جدول 6. النسبة المئوية للنتروجين المثبت من قبل عزلات الـ **Azotobacter**.

رمزالعزلة	نوع العزلة	نسبةN (%)
A1	***Azotobacter vinelandii***	0.18
A2	***A.vinelandii***	0.14
A3	***A.vinelandii***	0.11

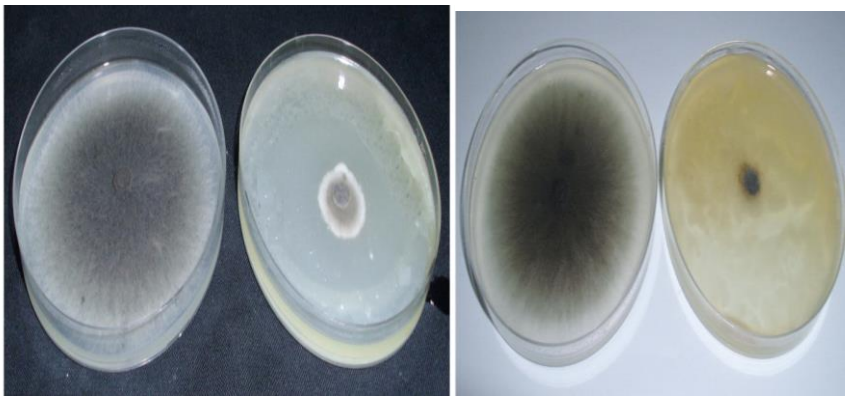
كما اظهرت النـتائج (جدول 6) قيم تثبيت النتروجين للعزلات، إذ تميزت بقابليتها على تثبيت النتروجين الجوي في وسط المانتول السائل الخال من النتروجين مكونة نمواً يظهر بشـكل غشاء رقيق ابيض اللون على سطح الوسط الزرعي السائل فأعطت العزلة رقمA1 اعلى قيمة لتثبيت النتروجين وعلى أساس مقدرة وسرعة وكفاءة العزلة A_1 من الاستفادة من مصادر الكربون وسرعة نموها في الأوساط المختبرية تم اختيارها عزلة محلية استعملت عامل المكافحة في التجارب الحقلية . ومن خلال دراسة هذه الصفات سواء أكانت المظهرية أم البيتو كيميائية والمبينة في الجداول 4، 5، 6 وعند مقارنة هذه الصفات مع صفات الأنواع المعروفة والتابعة لجنس الازوتوبكتر يمكن الاستنتاج بان هذه العزلات جميعها هي تابعة للنوع ***A. vinelandiiA*** (17، 36). وتتفق النتائج مع ما وجدهYousef وجماعته (67) و المصلح والحيدري (3) ان بكتريا الازوتوباكتر موجودة في نماذج ترب مختلفة وهي الأكثر شيوعاً في الترب العراقية.

اختبار المقدرة التضادية لعزلات البكتيريا *Azotobacter vinelandii* ضد عزلات الفطر *M.phaseolina* الممرضة على الوسط الزرعي PDA

بينت النتائج (جدول 7 وشكل 3) أن استعمال عزلات البكتريا *A.vinelandii* (AV) عامل مكافحة إحيائية أدى إلى تثبيط معنوي في نمو عزلات الفطر جميعها *M.phaseolina*. وتفوقت المعاملة MP+AV1 بأعلى نسبة تثبيط بلغت 86.52 اما المعاملتان المتبقيتان فكانت 81.66 و83.94 % على التوالي قياساً الى معاملة المقارنة من دون عامل احيائي والمبيد الكيميائي Beltanol التي بلغت نسبة الثبيط فيها 100. %. إن التأثير الذي يسببه استعمال هذه البكتريا في تثبيط نمو الفطر الممرض قد يعود إلى مقدرة هذه البكتريا على إنتاج مواد أيضية ومركبات عضوية وإنتاج IAA وبعض الإنزيمات والمضادات الحيوية وإنتاج HCN وغيرها (44، 63، 64).

جدول7: تقويم القدرة التضادية لعزلات البكتريا *Azotobacter vinelandii* وفعالية المبيد Beltanol ضد عزلات الفطر *M.phaseolina* الممرضة على الوسط الزرعي PDA .

المعاملة	معدل نمو الفطر (سم)	نسبة التثبيط) %)
المقارنة	9.0	0.0
MP+Bel	0.0	100
MP+AV1	1.21	86.52
MP+AV2	1.45	83.94
MP+AV3	1.65	81.66
0.05LSD	0.4	4.2



شكل 3. يبين القدرة التضادية للبكتريا *A.vinelandii* ضد عزلات الفطر *M.phaseolina* ،إذ إن
أ- MP+AV1 وب- MP+AV2بالمقارنة مع الفطر الممرض بمفرده على يسار كل صورة.
ب-

وهذه النتيجة تتفق مع ماوجده كل من Chetverikov وLoginov (21) اللذان عزلا عدداً من المواد الايضية ومنها المركب Tetraamine Of Sucrose Polythiophosphatase من الوسط الزرعي الذي تنمو فيه البكتريا *A.vinelandii* واوضحا قدرة المركب على تثبيط نمو معظم الفطريات .

تأثير بعض المركبات الكيميائية والبكتريا *Azotobacter vinelandii* في مكافحة مسبب مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان الفطرية تحت الظروق الحقلية .

أظهرت نتائج هذه التجربة (جدول 8) وجود فروق معنوية (p=0.05) في نسبة إنبات بذور اللوبياء والنسبة المئوية للإصابة وشدتها بين العوامل جمعيها المستعملة في المكافحة ومعاملة العزلة الفطرية *M.phaseolina* (MB) بمفردها التي كانت نسبة الانبات فيها12.50 % . واعطت معاملة البكتريا AV1 اعلى نسبة مئوية لإنبات بذور اللوبياء تحت الظروف الحقلية بلغت 94.79 % واقل نسبة للإصابة التي كانت 0.0 % . تلتها المعاملة MP المضاف اليها العامل الاحيائي البكتريا AV1 والبيون التي كانت النسبة المئوية للإنبات فيها 79.16% بالتتابع وبلغت النسبة المئوية للإصابة وشدتها 31.2 و8.75 % على التوالي قياساً الى معاملة الفطر MP بمفرده التي كانت النسبة المئوية للإصابة فيها 100 % وبلغت النسبة المئوية لشدة الاصابة 85 % . واعطى المنشط الكيميائي البيون نسبة مئوية للإنبات بلغت 77.08 % وكانت النسبة المئوية للإصابة 14.6% والنسبة المئوية لشدة الاصابة في معاملته 3.09 %. كما حققت معاملة المبيد رفعاً معنويًا (P=0.05) في النسبة المئوية للإنبات فقد اعطت المعاملة Bel + MB 76.04 %. قياسا الى معاملة المقارنة (الفطر الممرض بمفرده).يعزى عمل البكتريا *A.vinelandii* في زيادة النسبة المئوية للإنبات وخفض معدلي نسبة وشدة المرض ربما يعزى الى امتلاكها مقدرة تنافسية عالية مع الفطر الممرض بالإضافة الى امتلاك البكتريا خاصية النمو السريع في الوسط الذي تعيش فيه تمكنها من الاستيطان في منطقة نمو الجذور واستغلال المصادر الغذائية المتوفرة وقابليتها على إنتاج السايدروفورس وكذلك إنتاج الجزيئات الصغيرة وإفرازها مضادات احيائية فضلاً عن تحفيزها لنمو النبات والآليات الأخرى التي تمتلكها في التأثير في المسببات المرضية كقدرتها على كبح نمو الممرض ومن ثم توفير ظروف بيئية أكثر ملائمة لإنبات وبزوغ البذور (55، 64). تتفق هذه النتائج مع ما وجده El-Barougy وجماعته (29) الذين أشارو الى عمل بكتريا الازوتوباكتر في تثبيط نمو الفطر الممرض *M.phaseolina* المسبب لمرض التعفن الفحمي في محصول فول الصويا واثرت ايجابياً في زيادة نسبة الانبات بالقياس مع المقارنة ، واثبتHusen (37) قدرة البكتريا *A.vinelandii* على تجميع كميات كافية من العناصر الغذائية الضرورية لنمو النبات وفي مقدمتها الفسفور وانتاج مواد ايضية مثبطة لنمو المسببات المرضية في ترب النباتات الملقحة بها .كما اتضح وجود استجابة معنوية في مكونات نمو حاصل مختلف النباتات نتيجة التسميد الأحيائي ببكتريا الازوتوباكتر (29، 51، 64).

جدول 8 : تأثير معاملة العزلات الفطرية الممرضة ببعض المركبات الكيميائية والبكتريا *Azotobacter vinelandii* في النسبة المئوية للإنبات ونسبة الأصابة وشدتها ووزن الحاصل تحت الظروف الحقلية .

المعاملة	النسبة المئوية للأنبات	نسبة الأصابة %	شدة الاصابة %	وزن الحاصل (غم)
A.vinelandii(AV1) بمفردها	94.79	0.00	0.00	674.4
عامل الأستحثاثBion بمفرده	77.08	14.6	3.09	563.8
Macrophomina phaseolina(MP)بمفرده	12.50	100	85.00	17.1
MP+ AV1	63.54	53.1	16.25	138.9
B +MP	61.46	52.4	13.44	452.8
Bel +MP	76.04	62.0	25.62	143.1
MP+ AV1+B	79.16	31.2	8.75	279.3
المقارنة	81.25	0.00	0.00	273.3
L.S.Dعند مستوى معنوية 5 %	1.78	1.27	1.56	69.12

ربما يرجع عمل البيون في زيادة معايير النمو الى استحثاث المقاومة الجهازية في البادرات النامية بحيث تصبح قادرة على مقاومة تأثير المسبب المرضي في فعل البروتينات ذات العلاقة بالإمراضية مما يوفر حماية للنبات من الإصابة بالممرضات الذي يؤدي إلى زيادة المساحة السطحية الخضراء للأوراق الذي ينعكس ايجابياً على قوة النبات وإطالة مدة نمو المحصول ثم زيادة حاصل النبات(**44**، **46**، **48**، **69**). إعطي المبيد الكيميائي حماية كافية للبذورمن خلال انتشاره في منطقة نمو الجذور مما يؤثر في المسبب المرضي ويمنعه من مهاجمة البذور.كماهو الحال في إدخال المبيد الكيميائي في هذه التجربة ،مثل معاملة المقارنة الموجبة وقد لوحظ أن المبيد المستعمل كان فعالاً في السيطرة على الفطر الممرض. تشير دراسات سابقة الى كفاءة المبيد **Beltanol** في السيطرة على الفطريات الممرضة تحت الظروف الحقلية (**1**، **2**، **5**، **7**) .

بينت النتائج (جدول **8**) إن المعاملات جميعها قد حققت زيادة معنوية في الانتاج قياساً بمعاملة المقارنة وهي عزلة الفطر ***M.phaseolina*** (**MP**) بمفردها. إذ حققت معاملة العامل الاحيائي بكتيريا ***A.vinelandii*** بمفردها أعلى القيم في الانتاج في هذه الدراسة ،اذ بلغ معدل وزن الحاصل فيها **674.44** غم/نبات. قياسا الى معاملة المقارنة **MP** بمفردها . التي كان معدل وزن الحاصل فيها **17.11** غم/نبات.وهذا يؤكد أن لهذه العزلة الممرضة عملاًً مهماً في خفض الانتاج لحاصل اللوبياء. ربما تعود الزيادة في معاملة البكتريا لحاصل اللوبياء إلى خصائص بكتريا ***A.vinelandii*** الحياتية في إفرازها منظمات نمو مثل الـ **Gibberellins** والـ **Auxin** و الـ**Cytokinins** مثلما أشارت إلى ذلك دراسات باحثين آخرين (**9**، **44**، **50**، **68**). تؤدي هذه الإفرازات تؤدي عملاً في استطالة النباتات نتيجة زيادة إنقسام الخلايا النباتية. أوأن تعود إلى قدرة بكتريا ***A.vinelandii*** على تثبيت النتروجين الجوي بصورة حرة وهذا يلبي بعض حاجة النبات من هذا العنصر الغذائي المهم الذي يدخل في بناء جزيئة الكلوروفيل والحوامض النووية **RNA** و **DNA** وفي تركيب الاحماض الامينية والبروتينات مما يسهم في زيادة وزن المادة الجافة للنبات او زيادة نمو المجموع الخضري والجذري. فقد اشارت نتائج **Abd El-Gawad** وجماعتهم (**9**) بأن اضافة بكتريا الـ **Azotobacter** يزيد من عدد التفرعات لمعظم المحاصيل الزراعية. كما اوضح **Nosheen** وجماعتهم (**51**) عمل البكتريا الـ ***A.vinelandii*** كسماداً حيوياً في نمو نباتات العصفر لاسيما حجم المجموع الجذري وزيادة تفرعاته . وحققت معاملة البيون بمفرده زيادة في الإنتاج تمثلت بوزن الحاصل التي بلغت **563.76** غم . قياساً الى معاملة المقارنة و العزلة الفطرية بمفردها . وقد تعود فعالية **BION** الى مقدرته على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات وتحفيزه على النمو، وانتاج جذور وبراعم خضرية جيدة . فقد اشار كل من **Benhamou** و **Belanger** (**16**). الى ان زيادة نشاط هذه البروتينات يسبب سمك جدران خلايا العائل النباتي. وتتفق هذه النتائج مع ما وجده كل من **Latunde** و **Lucas** (**42**) ان اضافة المنشط الكيميائي البيون الى بذور اللوبياء تنتج عنها نباتات نشطة تنمو بسرعة اكبر واكثر مقاومة للفطر ***M.phaseolina*** . وايضا تتفق مع ما وجده **Mondal** وجماعته(**48**) من ان نقع بذور القطن بالمنشط الكيميائي البيون قبل الزراعة قد زاد من عدد الجذور الثانوية السليمة بنسبة **35%**. وحققت معاملة المبيد الكيميائي البلتانول + العزلة الفطرية زيادة معنوية في الانتاج فقد حققت المعاملة **Bel + MP**زيادة في وزن الحاصل للنبات بلغت **143.14** غم/نبات بالمقارنة مع معاملة الفطر الممرض **MP** بمفرده . وقد يعود سبب كفاءة المبيد **Beltanol** في مكافحة الفطر ***M.phaseolina*** إلى أن المبيد كبح نشاط الفطر الممرض الموجود في التربة وعمل على بقاء الجذر فعالاً في امتصاص الماء والغذاء وقيام النبات بفعالياته الحيوية بصورة منتظمة خضير (**5**). وتعود فعالية البكتريا ***A.vinelandii*** في تحسين معايير نمو النبات لأستعمارها جذور النباتات المعاملة بها فتنافس الفطر الممرض على المكان والمواد الغذائية مما يؤدي إلى تكوين مجموع جذري كبير وقوي يتحمل عوامل الإجهاد التي يتعرض لها النبات فضلاً عن إنتاجها العديد من المواد المضادة للفطر الممرض وربما تؤدي إلى تحفيز المقاومة

الجهازية في النباتات فضلاً عن الاسباب التي ذكرت سابقا . وتتفق هذه النتيجة مع ما وجده **Sharma** وجماعته (**56**) إذ اثبتوا قدرة البكتريا ***A.vinelandii*** في تثبيط العديد من المسببات المرضية الفطرية . ومع نتائج كل من **Chetverikov** و**Loginov** (**21**) اللذان بينا كفاءة البكتريا ***A.vinelandii*** بإنتاجها مواداً ايضية تعمل على كبح نمو الفطر الممرض ***F.solani*** والعديد من المسببات المرضية الفطرية . فقد حققت المعاملة ***A.vinelandii*** + البيون + الفطر الممرض **MP** زيادة في وزن الحاصل بلغ **279.28** غم قياساً الى معاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده . وهذا يعود الى وجود توافق وتكامل واضح بين عوامل المكافحة المختلفة المستعملة في هذه التجربة.تعمل الـ **Plant Growth Promoting Rhizobacteria** بآليات عدة منها إنتاج مواد أيضية ومركبات عضوية وكذلك إنتاج **IAA** والإنزيمات المحللة لجدران خلايا الممرض والمضادات الحيوية والهرمونات التي يعتقد أنها تعمل على كبح الممرض (**12**، **15** ، **33**). يعد عمل **BION** الإيجابي لأنه من المركبات المنشطة التي تتحرك بسهولة داخل النبات وأن وجوده يؤدي إلى زيادة محتوى الفينول في النبات والبروتينات ذات العلاقة بالإمراضية، وأن للبيون تأثيراً مباشراً في عملية اختراق الفطر لنسيج العائل ومنع انتشار خيوطه الفطرية فضلاً عن عمله الرئيس في استحثاث المقاومة وتحفيز النبات على إنتاج حامض السالسليك (**38**،**39**، **49**، **54**). كما أن عامل المكافحة الأحيائي والمنشط بيون يعملان على تحفيز النباتات على انتاج بروتينات وانزيمات لها عمل كبير في دفاعات العائل النباتي ضد العديد من المسببات المرضية لاسيما الممرضات الفطرية (**54**، **58**). وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي اثبتت عمل هذه العوامل في المقاومة (**5**، **4**، **8**، **53**، **65**).

المصادر

1- الجبوري، حرية حسين شهاب (**2002**). تأثير أستخدام معيق النمو كلتار **Cultar** وبعض المستخلصات النباتية على أصابة نباتات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور. رسالة ماجستير، كلية الزراعة– جامعة بغداد، العراق.

2- الهاشمي، محمد نديم قاسم (**2011**). التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر ***Macrophomina phaseolina*** على محصول البطيخ **Cucumis melo L**. رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد، العراق.

3- المصلح، رشيد محجوب ونظام كاظم عبدالامير الحيدري (**1985**). علم أحياء التربة المجهرية. مطبعة – جامعة بغداد.

4- جعفر، علا هادي (**2011**). المقاومة الاحيائية والكيميائية لمرض ذبول اللوبياء المتسبب عن الفطرين ***Rhizoctonia solani*** **kuhn** و***Fusarium solani*** (**Mart) Sacc** . رسالة ماجستير . الكلية التقنية . المسيب، العراق.

5- خضير، وديجة محسن (**2007**). المكافحة المتكاملة لمرض تعفن جذور الحمضيات المتسبب عن الفطر **Fusarium solani**. أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة. جامعة بغداد، العراق.

6- حسن، محمد صادق .**2001**. دراسات عن مرض تعفن جذور وساق اللوبيا المتسبب عن الفطر ***Macrophomina phaseolina***.مجلة العلوم الزراعية العراقية . **32** (**5**) : **151-154** .

7- حسون، أبراهيم خليل (2005). المكافحة البايولوجية والكيميائية لمسبب تقرح ساق البطاطا **kuhn *Rhizoctonia solani*** . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد ، العراق.

8- حسون، إبراهيم خليل (2008). مكافحة تعفن الجذور وتقرح ساق اللوبيا المتسبب عن الفطر الفيوزيريوم تحت ظروف الظلة الخشبية . مجلة العلوم الزراعية – 39 (6):102 –110.

9- **Abd El- Gawad, A.M.; M.H. Hendawey and H.I.A. Farag (2009). Intraction between biofertilization and canola genotypes in relation to Some biochemical Constituent under Siwa Oasis condition. Res. J. of Agric. and Biol., Sci. 5:82-96.**

10- **Adam, T. (1986). Contribution à la connaissance des maladies du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) au Niger avec mention spéciale au *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goïd. Université de Renne I. Thèse de doctorat. 117 p.**

11- **Adandonon. A. (2000). Damping-Off Of Cowpea in Benin and south Africa.MSc Thesis , University Of Pretoria , South Africa. 80 pp.**

12- **Ahmed, F.; I. Ahmed and K.M. Saghir (2004). Indol Acetic Acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and *Fluorescent pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan .Turk .J.Biol 29:29-34.**

13- **Barreto, D.; S. Babbitt; M. Gally and B.A. Perez (2003). *Nectria haematococca* cansing root rot in olive greenhouse plants revista de la Soiciedad Argentina de Horticultura, 32: 49 – 55.**

14- **Becking, J.H. (1992). The Family Azotobacteraceae In The Prokaryotes (3). Ahand Book On The Biology Of Bacteria (ed).By Albert Balows. Hans, Hein Wehleifer. Springer-Verlag. New York.31:44-70.**

15- **Behl, R.K.; H. Sharma; V. Kumar and N. Narula (2003). Interactions amongst mycorrhiza *Azotobacter chroococcum* and root characteristics of wheat varieties. Crop Science 189 :151 – 155.**

16- **Benhamou, N. and R. Belanger (1998). Benzothiadiazole – Mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp.Radicis lycopersic in tomato. Plant Physiology. 118 : 1203-1212.**

17- **Bergey's Mannual (2004). Systematic Bacteriology. Williams and Wilking. Baltimore. london. 1136pp**

18- **Bolkan, H.A. and D.F. Butler (1974). Studies on heterokaryosis and virulence of *Rhizotonia solani*. Phytopathology 64 : 513-522.**

19- **Bouhot, D. (1967). Étude du *Macrophomina phaseolina* surarachide. Agr. Tropic. 22: 1165–1171.**

20- **Butler, M.J.; J.M. Heson and N.P. Money (2001). Pathogenic properties of fungal melanins. Mycologia., 9 :39-47.**

21- **Chetverikov, S.P. and O.N. Logino (2009). New metabolites of *Azotobacter vinelandii* exhibiting antifungal activity .Microbiology.78:428-432**

22- **Chidambaran, P. and S.B. Mathur (1975). Production of pycnidia by *Macrophomina phaseolina*. Transactions of the Br. Mycol. Soc., 64: 165-168.**

23- **Cook, G.E.; M.G. Boosalis; L.D. Dunkle and G.N. Odovody (1973). Survival of *Macrophomin phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. Plant Dis. Rep. 57 : 873-875.**

24- **Dawar, S.; S. Khaliq and M. Tariq (2010). Comparative Effect of plant extract of datura alba nees and cynodon dactylon (L.) pers., alone or in combination with microbial antagonists for the control of root rot disease of cowpea and okra. Pak. J. Bot., 42(2): 1273-1279.**

25- **Dhingra, O.D. and J.B. Sinclair (1977). An annotated biblography of *Macrophomina phaseolina* 1905-1975. Brasil Universidad Federal de Vicosa. p. 244.**

26- **Diourte, M.; J.C. Starr; M.J. Jeger; J.P. Stack and D.T. Rosenow (1995). Characoal rot (*Macrophomina phaseolina*) resistance and the effects of water stress on disease development in sorghum. Plant Pathol. 44 : 196-202.**

27- **Domsch, K.H.; W. Gams and T.H. Anderson (2003). Compendium of soil fungi . Academic press , London .894 pp.**

28- **Dubey, R.C.; D.K. Maheshwari; V. Kumar and R.R. Pandy (2012). Growth enhancement of *Sesamum indicum* L. by rhizosphere-competent *Azotobacter chroococcum* AZO2 and its antagonistic activity against *Macrophomina phaseolina*. Archives Of Phytopathology And Plant Protection.45:437-454.**

29- **El-Barougy, E.; N.M. Awad; A.S. Turky and H. A. Hamed (2009). Antigonistic activity of selected strains of rhizobacteria against *Macrophomina phaseolina* of soybean plants. American- Eurasian J. Agric& Environ. Sci. 5(3): 337-347.**

30- **El-Mougy, N.S. (2004). Preliminary evaluation of salicylic acid and-acetylsalicylic acid efficacy for controlling root rot disease of lupin under greenhouse conditions. Egypt. J. Phytopathol., 32: 11-21.**

31- **Fang, J.; J. Moreno and G.R. Vela (1987). Growth Of *Azotobacter vinelandii* On Soil Nutrients . Appl.Environ.Microbiol.53:489-494**

32- **Farr, D.C.; G.F. Bills; G.P. Chamuris and A.Y. Rossman (1995). Fungi on plants and plant products in the United states.The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.11 pp.**

33- **Glick, B.R. and Y. Bashan (1997). Genetic manipulation of plant growth promoting bacteria to enhance biocontrol of phytophogens .Biotechnology Advance, 15:353-378.**

34- **Gray, F.A.; B.J. Kolp and M.A. Mohamed (1990). Adisease survey of crops , grown in the bay region of somalia , East Africa. F. A. O. Plant Prot. Bult . 38 : 39 – 47 .**

35- **Hall, R. (1991). Compendium of bean diseases American phytopathological Society, St. paul, MN. 74 P.**

36- **Holt, J.; N.R. Krieg; P.H.A. Sneath; J.T. Staley and S.T. Williams (1994). Berge's manual determinative bacteriology. 9th Ed. Williams and Wilkins, USA.850 pp.**

37- **Husen, E. (2003). Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro. Indonesian Journal of Agricultural Scie., 4 (Suppl 1): 27-31.**

38- **Ishii, H., Y.; T. Tomita; Y. Horio; Y. Narnsaka; and J.T. Nakazaw (1994). Prevalence and pathogenicity of anastomsis group of *Rhizoctonia solani* from wheat and sugar beat in Texas. Plant Dis 78: 349-452.**

39- Jabaji–Hare, S. and S.M. Neat (2005). Non pathogenic binculate Rhizoctonia spp. And benzothiadiazole protect cotton seedling against *Rhizoctonia* damping – off and Alternaria leaf spot in cotton . Phytopathology. 95 : 1030 - 1036. (Abstract) .

40- Juarez , B.; M.V. Martinez – Toledo and J. Gonzalez – Lopez (2005). Growth Of *Azotobacter chroococcum* in chemically defined media containing P-hydroxybenzoic acid and protocatechuric acid Chemosphere, 59:1361–1365.

41- Katon, J. and A. Gamliel (1993). Supperession of major and minor pathogens by *pseudomonos florescens* in solarized and non-solarized. Soil Phyto. 83:68-75.

42- Latund-Dada, A.O. And J.A. Lucas (2002). The plant defence activator acibenzolar-S-methyl primes cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] seedlings for rapid induction of resistance. Physiol. and Molecular, Plant, Pathol., 58:199-208.

43- Li, S.X.; G.L. Hartman and J.M. Widholm (1999). viability staining of soybean suspension-cultured cells and aseedling stem cutting assay to evaluate phytotoxicity of *Fusarium solani* f.sp *glycines* filtrates plant cell Rep 18: 375-380.

44- Mali, G.V. and M.G. Bodhankar (2009). Antifungal and Phytohormone Production Potential of *Azotobacter chroococcum* Isolates from Groundnut (*Arachis hypogea* L.). Asian J. Exp. Sci., 23(1):293-297.

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

46- Metraux, J.P.; H. Signer; J. Ryals; E. Ward; M. Wyss –Benz; J. Gaudin; K. Raschdort; E. Schmid; W. Blum and B. Inverardi (1990). Incresase in salicylic acid at the onset of Systemic acquired resistance in Cucumber. Scie., 250:1004 –1006.

47- Mihail, J.D. and S.J. Taylor (1995). Interpreting variability among isolates of *Macrophomina phaseolina* in pathogenicity, pycnidium production, and chlorate utilization. Can. J. Bot., 73:1596–1603.

48- Mondal, A.H.; D.B. Nehl and S.J. Allen (2005). Acibenzolar-S– methyl induces systemic resistance in cotton against black root caused by *Thielaviopsis basicola* Australian Plant Pathology, 34 : 494 – 507.

49- Morris, S.W.; B. Vernooij; S. Titatarn; M. Starrett; S. Thomas; C.C. Wiltse, R.A. Frederiksen; A. Bhandhufalck; S. Hulbert and S. Uknes (1998). Induced resistance responses in maize. Mol. Plant. Microbe. Interact. 7. 643 – 658

50- Mrkovacki, N. and V. Milic (2001). Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. Annals of Microbiol.,51: 145-158.

51- Nosheen, A.; A. Bano; F. Ullah; U. Farooq; H. Yasmin and I. Hussain (2011). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on root morphology of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). African Journal of Biotechnology. Quaid-i-Azam University, Islamabad, Pakistan .10:12669-12679.

52- Parmeter, J. R. and H.S. Whitney (1970). Taxonomy and nomencleature of the imperfect stage In: *Rhizoctonia solani* Biology and Pathology. (ed.) J. R. Parmeter. University of California Barkely. Los Angeless : 7 – 19.

53- **Pristchepa, L.I. and D.V. Voitica (2001). Biological fundamentals and practical aspects of *Trichoderma* application in plant protection against disease. Bulletin of the Polish Acade. Biological Science.4:1-10.**

54- **Rohilla, R.S. and U.R. Singh (2001). Mode of action acibenzolar–s–methehyl against sheath blight of rice, caused by *Rhizoctonia solani* Kühn Pest Management Science. 58: 63 – 69.**

55- **Saharan, B.S. and V. Nehra (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: A Critical Review. Life Sciences and Medicine Research, LSMR-21,30 pp**

56- **Sharma, P.K.; S.K. Dey and V.P.S. Chahal (1986). In vitro interaction between phytopathogens and *Azotobacter* species. Indian Phytopathol. 39 : 117 – 119**

57- **Singh, S.R. and D.T. Allen (1979). Cowpea pests and diseases. Manual series. IITA, Ibadan,Nigeria.**

58- **Slininger, P.J.; R.W. Behle; M.A. Jackson and D.A. Schisler (2003). Discovery and development of biological agents to control crop pests. *Neotropical Entomology* 32, 183–195.**

59- **Smith, G.S. and T.D. Wyllie (1999). Charcoal rot pages 29-31 in Compendium of soybean Disease 4th ed G.L. Hartman.J.B Sinclair and Rupe eds. The American phytopathological society, stpaul,M.N.**

60- **Tchan, Y.T. and N.B. Peter (1984). Genus *Azotobacter*. In: Bergey's manual of systematic Bacteriology Sneath, P.H., Mair, N.S.Sharpe, M.E. and Holt, J.G 1. William and Wilkins :219-229.**

61- **Thompson, A.D. and V.B.D. Skerman (1979). Azotobacteraceae: The taxonomy and ecology of the aerobic nitrogen-fixing bacteria, Academic press, London. 419 pp.**

62- **Thompson, H.C. and W.C. Kelly (1957). *Vegetable crops*. New York, United States of America, McGraw Hill, Inc.**

63- **Verma, J.P.; J. Yadav and K.N. Tiwari (2009). Effect of meosorhizobium and plant growth promoting rhizobacteria on nodulation and yeilds of chicpea.Biol.Forum-An Int.J., 1:11-14.**

64- **Verma, J.P.; J. Yadav; K.N. Tiwari; Lavakush and V. Singh (2010). Impact Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria On Crop Production. International, J., Agricultural Res. 11:954-983.**

65- **Windham, M.T.,Y. Elad. and R. Baker (1986). A Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* sp. Phytopathology., 76. 518-521.**

66- **Wyllie, T.; S. Gangopadhyay; W. Teague and R. Blanchar (1984). Germination and production of *Macrophomina phaseolina* microsclerotia as affected by oxygen and carbon dioxide concentration. Plant Soil 81:195-201.**

67- **Yousef, A.N.; S.K. Al-Azawi; M.S. Al-Baquari and Y.A. Hamdi (1976). Population of *Azotobacter* spp. In Iraq Soils. Technical Bull. No. 87, Appel . Res . Natural Resources , Iraq .**

68- **Zaied,K.A.; Z.A. Kosba; M.A. Nassef and A.S. OElSanossy (2009). Enhancement nitrogen fixation via inducing recombinants in *Azospirillum*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences,3:1369-1385.**

69- Zarrin, F.; M. Saleemi; M. Zi; T. Sultan; M. Aslam; R. Rehman and M. F. Chandhary. 2009.AntiFungal activity of plant growth promoting Rhizobactera isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. African J.of Biotechnol. 8: 219-225.

EVALUTION THE EFFICIENCY OF A AZOTOBACTER VINELANDII AND SOME CHEMICAL COMPOUNDS IN CONTROL OF MACROPHOMINA PHASEOLINA THE CAUSEL AGNT OF CHARCOAL DISEASE UNDER LAB AND FIELD CONDITIONS

M.A. Al-Mousawy K.S. Jaber

ABSTRACT

This study aimed to isolation and identification the causal of root and stem rot disease of cowpea in some governarates in the middle of Iraq ،testing the pathogenicity of its isolates and evaluating the efficiency of the bacteria *Azotobacter vinelandii*) AV1 (and some chemical compounds in its control .The results of isolation and identification showed the existence of the fungus *Macrophomina phaseolina* in the samples collected from Karbala ,Baghdad, and Babylon governerate in percentage of existence ranged 17.50-35.00% ,and identified to genus and species level on the bases of cultural and morphological characteristics، results also showed that the fungal isolate MP which tested on cowpea seed ,had the superiority which reduced seed germination to 3 % 0 compared with 90% in control treatment .the results of isolation and identification of bacteria from soil led to obtain three isolates of bacteria *A .vinelandii* depending on cultural,microbial and biochemical characteristics, the lab. antagonistic activity test of this bacteria cultured on PDA media indicated that this bacteria possessed higher antagonistic activity against *M.phaseolina* which gave percentage of inhibition ranged 81.66-86.52% . The results of evaluation chemical compunds and bacteria *A.vinelandii* in the controlling of *M.phaseolina* under field conditions indicated that all treatments increased the germination percentage ,reduction in disease incidence and severity of disease and increased plant yield . The germination in all the control treatment ranged 61.46-94.79% with the superiority of AV1 as alone which gave 94.79% and less percentage of infection and severity %0.00 compared with *M.phaseolina* isolate individualy which gave 12.50% seed germination with the 100% infection and 85.00% severity .The plant yield in AV1 treatment was 674.44gm/plant compared with 17.1gm/plant in the treatment of pathogenic fungus only .

Agri. College-Baghdad Univ. – Baghdad, Iraq.