تأثير البكتريا *Bacillus subtilis*، *Bacillus thuringiensis* و *Pseudomonas fluorescens* في المقاومة الحيوية لنبات الباميا من الإصابة بالفطر *Rhizoctonia solani*

إبراهيم خليل حسون كاظم زغير خضير كفاح هادي راضي
الكلية التقنية المسيب مديرية تربية بابل

الخلاصة:

اوضحت نتائج العزل من جذور نباتات الباميا والتشخيص وجود الفطر *Rhizoctonia solani* في ثمانية مواقع في محافظة بابل. اظهر الكشف الاول عن العزلات الممرضة للفطر الممرض باستعمال بذور اللهانة ان جميع العزلات كانت ممرضة وتراوحت نسبة الانبات في معاملاتها بين 0-64% وبينت نتائج تاثير ثمانية عزلات ممرضة للفطر *R.solani*(*R.s8,R.s7,R.s6,R.s5,R.s4,Rs3,R.s2,R.s1*) في شدة اصابة نباتات الباميا بعمر 40يوما تحت ظروف الظلة الخشبية ان جميع العزلات احدثت ارتفاعا في شدة الاصابة تراوحت بين 30-94.75% قياسا بمعاملة المقارنة بدون الفطر الممرض و التي كانت شدة الاصابة فيها صفرا.كما وحققت معاملات مابين بكتريا *B.subtilis* +*P.fluorescens* وبكتريا *P.fluorescens* +*B.thuringiensis* وبكتريا *B.subtilis* + *B.thuringiensis* حماية نباتات الباميا بعمر52يوما من الاصابة بعزلة الفطر الممرض *R.s2* تحت ظروف الظلة الخشبية اذ ادت الى خفض في النسبة المئوية لشدة الإصابة لنباتات الباميا إذ بلغت 13.10% و14.15% و17.42% على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 94.75%. حققت معاملات التداخل ما بين *B.subtilis* + *P.fluorescens* وبكتريا *P.fluorescens* +*B.thuringiensis* وبكتريا *B.subtilis* + *B.thuringiensis* تحت ظروف الحقل بوجود الفطر الممرض اذ ادت الى الخفض في النسبة المئوية لشدة اللاصابة والتي بلغت 13.02 و 15.12%و18.37% على التوالي قياسا الى معاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت شدة الاصابة فيها 91.32 %. و زيادة معنوية في الاوزان الطرية والجافة واطوال المجموع الخضري والجذري لنباتات الباميا وزيادة في وزن الحاصل وكانت معاملة البكتريا *P.fluorescens* + *B.subtilis* افضل المعاملات في رفع الانتاجية الذي بلغ 4.22 كغم/نبات مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 0.85 كغم/نبات.

Effect of Bacteria *Bacillus subtilis* , *Bacillus thuringiensis and Pseudomonas fluorescens* in biological control of okra plant from the infection by *Rhizoctonia solani* fungus

Ibrahim Khalil Hasson Kifah Hadi Radhi Kadhim Zghair Khudhir

Abstract:

The results of isolation and diagnosis of fungus from roots of okra plants indicated the existing of the fungi *Rhizoctonia solani* from eight locations in the province of Babylon. The preliminary tests of pathogenic for isolates were pathogen Showed as main tested by percentage of cabbage seeds germination 0-64%. Lathhous conditions

ISSN 2072-3875

pathogenicity test of eight isolates of *R.solani* (*R.s1, R.s2, R.s3,Rs4,R.s5,R.s6 R.s7,R.s8*). Using 40 days old okra plants as host plants showed that all isolated increased increment in disease severity which ranged between 30-94.75% compared to control (non-contaminated) though the disease severity was zero%. Under the lathhous condition the result of test of biocotrol agent *Bacillus.subtitis* + *Pseudomonas.fluorescens* and *B.thuringiensis* + *P. fluorescens* and *B.subtilis* + *B.thuringiensis* using okra plants 52 days old and presence of isolate pathogen (*R.s2*) showed that all treatment caused reduction in percentage of infection severity which ranged between 13.10%, 14.15% and 17.42%, respectively, compared to the control treatment pathogen (fungus alone) which shows aseverity of disease 94.75%. Under filed condition , the result of test for biocontrol agent *B.subtilis* + *P.fluorescens* and *B.thuringiensis* + *P.fluorescens* and *B.subtilis*+ *B.thuringiensis* using okra plants and presence of isolate pathogen (*R.s2)* showed that all treatment caused significant reduction in percentage of infection severity as it ranged 13.02, 15.12% and 18.37%, respectively, compared to the control treatment pathogen (fungus alone) which shows aseverity 91.32%. All elements caused significant increase in the criteria such as fresh , dry weights and lenghts of shoot and root and increased of fruit yield.treatment biocontrol agent of *B.subtilis*+ *P.fluorescens* was the best treatment which resulted incresing the productivity that reached 4.22kg/plant compared to the treatment when the fungus was used alone 0.85kg/plant.

المقدمة :

يعد الفطر *Rhizoctonia solani* أحد أهم فطريات التربة الممرضة المهمة، يمتاز الفطر بمداه العائلي الواسع إذ يصيب الكثير من نباتات محاصيل الخضر (Montealegre و آخرون،2003) بين الحيدري (2007) إن الفطر*R.solani*، يسبب مرض تعفن بذور وجذور نبات الباميا وموتها. وللحد من تأثير هذه المسببات استخدمت المبيدات الكيميائية لمعاملة التربة وأعطت فعالية عالية في الحد من تأثير الفطر الممرض الا ان هذا الاتجاه لا ينسجم مع الستراتيجيات الحديثة في العالم التي تعمل على تقليل استخدام المبيدات لما لها من أثار سلبية في البيئة والإحياء غير المستهدفة وصحة الإنسان فضلا عن ظهور سلالات مقاومة من مسببات الأمراض (Den Hond واخرون،2003). لذلك تم الاتجاه إلى استخدام كائنات متمثلة بمجموعة من البكتريا والتي تضم الأنواع و *Bacillus subtilis*و *Bacillus thuringiensis* و *Pseudomonas fluorescens* وذات كفاءة عالية ضد مختلف فطريات التربة ومنها الفطر *R.solani* (Knaak واخرون،2007 والكعبي،2013). ونتيجة لخطورة مرض تعفن جذور الباميا وما يسببه من خسائر في الحقول الباميا في محافظة بابل فقد هدفت الدراسة الى :-

1-عزل وتشخيص الفطر *R.solani* المسبب لمرض تعفن جذور الباميا. 2- تقييم كفاءة بكتريا *B.subtilis* و*B.thuringiensis* و *P.fluorescens* في خفض شدة الإصابة بالفطر *R.solani* المسبب لمرض تعفن جذور الباميا .

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص :-

تميزت الأعراض المرضية على نباتات الباميا المزروعة داخل البيوت البلاستيكية بضعف عام مع تلون مناطق من الجذر الرئيسي والجذور الفرعية والشعيرات الجذرية بلون بني غامق .جرى العزل من كل عينة من عينات نباتات الباميا المصابة والتي جمعت من ثمانية مواقع في محافظة بابل للفترة من 2013/2/2 ولغاية 2013/2/24 إذ

ISSN 2072-3875

غسلت جذور النباتات المصابة بالماء الجاري لمدة ساعة واحدة لإزالة ما يعلق بها من تربة وقطعت الجذور إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5سم وعقمت سطحياً بغمرها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (0.06%) لمدة 3دقائق غسلت بعدها بماء مقطر معقم لمدة 2دقيقة ثم أزيل الماء الحر منها بورق الترشيح المعقم ونقلت القطع بعدها بواسطة ملقط معقم الى أطباق بتري بقطر 9سم تحتوي على الوسط الزرعي آكر الدكستروز و البطاطا Potato Dextrose Agar (PDA) (200غم بطاطا ، 20غم دكستروز، 20غم آكر،1لتر ماء مقطر) أضيف إليه المضاد الحيوي Tetracyclin بتركيز250ملغم/لتر بعد تعقيم الوسط بجهاز الموصدة عند درجة حرارة 121مْ وضغط 1 جو ولمدة 15 دقيقة، استخدمت 5قطع لكل طبق، حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25±2مْ لمدة 3أيام، نقيت الفطريات المختلفة وفحصت تحت القوى الصغرى للمجهر المركب وشخص الفطر *R.solani* اعتماداً على المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Parameter وWhitney، 1970 و Senh وآخرون،1996).

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *R. solani* وباستخدام بذور اللهانة على الوسط W.A:-

تم اختبار المقدرة الامراضية لثمانية عزلات من الفطر *R. solani* (*R.s4, R.s3, R.s2, R.s1 R.s8, R.s7, R.s6, R.s5*) حسب طريقة Bolkan و Butler (1974) فقد حضرت اطباق بتري قطرها 9سم تحتوي على 15-20مل من الوسط ألزرعي أكار المائي (Water agar) المحضر من إذابة 20غم من الآكر في لتر ماء مقطر والمعقم بجهاز الموصدة لمدة 15دقيقة والمضاف له المضاد الحيوي Tetracyclin بتركيز250 ملغم/لتر وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الأطباق في مركزها بقرص بقطر 0.5سم أخذ من قرب حواف مستعمرة الفطر *R.solani* بعمر5أيام، ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 25 ± 2مْ ولمدة ثلاثة أيام، بعدها زرعت بذور لهانة محلية (اختبرت نسبة إنباتها مسبقاً) معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (0.06%) وبصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل 25بذرة/طبق استعملت 4 أطباق لكل عزلة كمكررات بالإضافة إلى معاملة المقارنة من دون فطر ممرض وضعت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25±2مْ ، ثم أخذت النتائج بعد 7أيام وذلك بحساب النسبة المئوية لانبات بذور اللهانة.

تحضيرا للقاح الفطري *R.solani* :-

حضر اللقاح الفطري حسب طريقة Dewan (1989) فقد استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لغرض تحضير اللقاحات الفطرية بعد ان غسلت البذور جيداً بالماء لإزالة الأتربة والشوائب عنها ونقعت لمدة 6 ساعات بالماء وتركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد منها ووضع كل 100غم من بذور الدخن في دورق زجاجي سعة 500 مل وعقمت الدوارق في جهاز الموصدة لمدة ساعة واحدة، وبعد 24ساعة أعيد التعقيم ثم تركت الدوارق لتبرد، لقحت الدوارق التي وضعت فيها بذور الدخن بوضع 5 أقراص بقطر0.5 سم من الوسط(PDA)النامي عليها الفطر الممرض *R. solani* بعمر خمسة أيام ، حضنت الدوارق تحت درجة حرارة 25±2مْ لمدة 14 يوماً مع الرج كل 3 أيام لضمان التهوية وتوزيع لقاح الفطر على جميع البذور.

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

نفذت هذه التجربة باستعمال ثمانية عزلات للفطر*R.solani* لتقدير قدرتها الامراضية على نباتات الباميا بعمر 20يوم نميت العزلات على بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* حسب طريقة Dewan (1989) ثم استخدمت تربة مزيجيه معقمة بجهاز المؤصدة (Autoclave) تحت ضغط 15 باوند / انج ² ودرجة حرارة 121 مْ لمدة ساعة وزعت التربة في أصص بلاستيكية سعة 1 كغم وتم زراعتها ببذور باميا صنف لهلوبة وبواقع أربعة نباتات في كل أصيص وبعد 20 يوم من زراعتها تم تلويث تربة الأصص بلقاح عزلات الفطر الممرض *R. solani* (*R.s5, R.s4, R.s3, R.s2, R.s1 Rs8, R.s7, R.s6*) المحملة على بذور الدخن بنسبة 1% وزن /وزن سقيت الأصص باحتراس حسب الحاجة وتم وضعها في الظلة الخشبية استخدم التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) وبواقع

ISSN 2072-3875

أربعة مكررات لكل عزلة من عزلات الفطر الممرض مع ترك أربعة أصص أضيف إليها بذور الدخن المعقمة بنسبة 1% كمعاملة مقارنة وبعد 20 يوم من التلويث بلقاح الفطر الممرض قدرت النسبة المئوية للإصابة وفق الدليل المرضي الأتي:-

0 = المجموع الجذري سليم +مجموع خضري جيد النمو

1 = 1 – 25% من المجموع الجذري ذات لون بني + اصفرار الأوراق 25% من مساحتها

2 = 26– 50% من المجموع الجذري ذات لون بني غامق+اصفرارالاوراق 50% من مساحتها

3 = 51– 75% من المجموع الجذري ذات لون بني غامق + اصفرار الأوراق 75% من مساحتها

4 = 76 –100%من المجموع الجذري ذات لون بني غامق+ اصفرار الأوراق 100% ن مساحتها

وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب معادلة (Mckinney،1923) وعلى الآتي:-

$$\% \text{ لشدةالإصابة} = \frac{(\text{عدد النباتات في الدرجة } 0\times 0) + \ldots + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 4\times 4)}{\text{عدد النباتات المفحوصة} \times 4} \times 100$$

اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.subtilis* ، *B thuringiensis* و *P. fluorescens* ضد الفطر *R. solani*:-

تحضير لقاح البكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و*P.fluorescens* ضد الفطر *R.solani*:-

تم الحصول على عزلات البكتريا *B.subtilis*، *B thuringiensis* و *P. fluorescens* من خلال عزلها من التربة سابقا والموجودة في مختبر الدراسات العليا_ أمراض النبات / الكلية التقنية المسيب حيث جرى إكثارها على وسط .Nutrient broth في دوارق زجاجية سعة 250مل.عقمت الدوارق في جهاز الموصدة بدرجة حرارة 121مْ لمدة 15دقيقة ، بعد ذلك جرى تلقيح الوسط بكل من البكتريا المراد تحضيرها بأخذ قرصين 0.5 سم بواسطة الثاقب الفليني المعقم من النمو البكتيري النامي على وسط Nutrient agar وتم مزج مكونات الدوارق جيداً وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 48ساعة (العيساوي ، 2006) .

تحديد التركيز الفعال من لقاح البكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* المثبط لنمو الفطر *R.solani* (*R.s2*):-

حضرت عشرة أنابيب اختبار تحوي كل أنبوبة 9مل ماء مقطر معقم وتم اخذ 1مل من عالق البكتريا *B. subtilis* وأضيف إلى الأنبوبة الأولى بواسطة ماصة معقمة ومزجت المكونات بتحريك الأنبوبة باليد ثم اخذ 1مل من الأنبوبة الأولى بواسطة ماصة معقمة أخرى 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 PDA (من دون إضافة مضاد حيوي) بأخذ 1مل /طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري بواسطة ماصة معقمة ووضع بشكل بقع دائرية تبعد عن حافة الطبق 1سم بعد وضع في مركزها قرص بقطر 0.5 سم من حواف مستعمرة الفطر *R.solani* عزلة Rs2 المنماة على وسط PDA بعمر خمسة أيام وبواقع أربعة أطباق لكل تخفيف وتركت أربعة أطباق للفطر من دون تلقيح بالبكتريا أضيف إليها 1 مل ماء مقطر للمقارنة (حسون ،2005). حضنت الأطباق بدرجة حرارة 22 ± 1مْ لحين وصول مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق ،بعد ذلك تم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري على وفق المعادلة الآتية:-

$$\% \text{ لتثبيط النمو الفطري} = [\,1 - (\frac{\text{النمو الفطري في معاملة البكتريا}}{\text{النمو الفطري في معاملة المقارنة}})\,] \times 100$$

(Montealegre وآخرون ، 2003) ونفس الطريقة تتبع لتحضير التركيز الفعال لبكتريا *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* المثبط لنمو الفطر *R.solani* .

ISSN 2072-3875

حساب الكثافة العددية للبكتريا *B. subtilis* ، *B.thuringiensis* و *P. fluorescens*:-

بعد الحصول على اقل تخفيف مثبط من العالق البكتيري للفطر *R.solani* للأنواع البكتيرية الثلاثة والذي كان 10^{-6} لكل من *B.subtilis* و *B.thuringiensis* و10^{-7} للبكتريا *P.fluorescens* ، حضرت أربعة أطباق بتري قطر9سم حاوية على الوسط ألزرعي N.A المعقم لكل نوع بكتيري ثم لقحت الأطباق بالعالق البكتيري من التخفيف المثبط للفطر وذلك بأخذ 1مل/طبق ثم حضنت الأطباق بالحاضنة في درجة حرارة 25 ± 1 لمدة 48 ساعة بعد ذلك تم حساب عدد المستعمرات في كل طبق واستخرج المعدل ثم ضرب في مقلوب التخفيف الفعال المثبط للفطر (Clark ،1965) .

تقييم أنواع البكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* في حماية نباتات الباميا من الإصابة بعزلة الفطر *R. solani* (*R.s2*) المسبب لمرض تعفن جذور الباميا تحت ظروف الظلة الخشبية :-

نفذت التجربة بتاريخ 2012/3/7 في منطقة البدع الكبير تابعة إلى قضاء المحاويل / بابل . تم استخدام تربة مزيجيه معقمة بغاز بروميد المثيل 500غم /م3 تركت قبل الاستعمال لمدة 15 يوم وزعت التربة في أصص بلاستيكية سعة 2 كغم وتم زراعتها ببذور باميا صنف لهلوبة وتم سقيها كلما دعت الحاجة وبعد 25 يوما من الإنبات تم إضافة الأنواع البكتيرية وقبل أسبوع من إضافة لقاح الفطر الممرض *R. solani* (*R.s2*) وتضمنت التجربة المعاملات التالية :-

1- *R.solani* بمفرده
2- *B.subtilis* بمفردها
3-*B.thuringiensis* بمفردها
4- *P.fluorescens*بمفردها
5- *R.solani* +*B.subtilis*
6- *R.solani* + *B.thuringiensis*
7- *R.solani* +*P.fluorescens*
8- *B.thuringiensis* + *B.subtilis*
9- *P.fluorescen* +*B.subtilis*
10- *P.fluorescen* +*B.thuringiensis*
11- *R. solani* + *B.thuringiensis* + *B.subtilis*
12- *R. solani* + *P.fluorescen* + *B.subtilis*
13- *R. solani* + *P.fluorescen* + *B.thuringiensis*
14- *R. solani* + Bentanol
15- المقارنة (بذور دخن معقمة فقط).

كررت كل معامله ثلاث مرات. حيث اعتمد في هذه التجربة التصميم العشوائي التام (C.R.D) أضيف لقاح البكتريا *B.subtili* و*B.thuringiensis* و *P.fluorescens* بمعدل 10مل من عالق البكتريا لكل مكرر من التركيز5×10^{7} و 6×10^{7} و6×10^{8} (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي (Larkin، 2004) وأضيف الفطر *R.solani*بنسبة 1% وزن/ وزن المحمل على بذور الدخن للمعاملات (1، 5، 6 ،7،11، 12 ،13 ،14)ماعدا معاملة المقارنة ومعاملة البكتريا بدون الفطر وأضيف المبيد الكيميائي Bentanol بتركيز (1مل\لتر) وبمعدل 25مل\مكرر بعد يوم من إضافة لقاح الفطر الممرض. (حسون، 2005). سجلت النتائج بعد مرور 52 يوم من ألزراعه في الأصص البلاستيكية .وتم حساب شدة إصابة تعفن الجذور حسب الدليل المرضي المذكور في تجربة تقييم المقدرة الامراضية للعزلات الممرضة في شدة الإصابة لنباتات الباميا تحت ظروف الظلة الخشبية قياس شدة

ISSN 2072-3875

الإصابة لعزلات الفطر الممرض وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب معادلة (Mckinney،1923) كما تم اخذ الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري ،طول الساق و طول الجذر.

تقييم أنواع البكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* في حماية نباتات الباميا من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (R.s2) تحت الظروف الحقلية :-

نفذت التجربة الحقلية في منطقة البدع الكبير/ قضاء المحاويل– بابل بتاريخ 2013/3/1 بإتباع تصميم القطاعات العشوائية الكاملة(R.C.B.D) وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة فقد تم إعداد الأرض بتسويتها وتقسيمها إلى ثلاثة ألواح بطول 20م وكل لوح يحتوي على 15مرز وطول كل مرز 3م والمسافة بين مرز وأخر 90سم زرعت ثلاثة بذور باميا صنف لهلوبة بمعدل 3بذرة/جوره والمسافة بين جوره وأخرى 25سم وبعد ثلاثين يوم من زراعة بذور الباميا خفت النباتات إلى نبات واحد في كل جوره وتضمنت التجربة المعاملات التالية:-

1-*R.solani*بمفرده
2-*B.subtilis*بمفردها
3-*B.thuringiensis* بمفردها
4- *P.fluorescens*بمفردها
5- *R.solani* +*B.subtilis*
6-*R.solani* +*B.thuringiensis*
7-*R.solani* + *P.fluorescens*
8- *B.thuringiensis* + *B.subtilis*
9- *P.fluorescen* + *B.subtilis*
10- *P.fluorescen* + *B.thuringiensis*
11- *R. solani* + *B.thuringiensis* +*B.subtilis*
12- *R. solani* + *P. fluorescen* + *B. subtilis*
13- *R. solani* + *P. fluorescen*+ *B. thuringiensis*
14- *R.solani* + Bentanol
15- المقارنة (بذور دخن معقمة فقط).

أما عالق البكتريا *B. subtili* و*B.thuringiensis* و *P.fluorescens* فقد اضيفت مع ماء الري بمعدل 100مل/نبات (Larkin ، 2004) بتركيز 5×10^7 و 6×10^7 و 6×10^8(وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي وبعد سبعة أيام من إضافة البكتريا أجريت عملية إضافة اللقاح الفطري الممرض *R. solani* بعمل شق على طول المرز وتم رفع التراب وحساب وزنه ثم لوث بخلطه بلقاح الفطر الممرض الحمل على بذور الدخن بنسبة 1% وزن/وزن للمعاملات (1،5،6،7،11، 12،13،14) أما المعاملات (2،3،4،8،9،10) فقد تم إتباع نفس الخطوات لكن من دون إضافة لقاح الفطر الممرض *R.solani* اما معاملة المقارنة فقد تم إضافة إليها بذور دخن معقمة فقط (حسون ، 2005). وأخذت النتائج بعد 140يوم من زراعة بذور الباميا وتم حساب شدة إصابة تعفن الجذور بإتباع الدليل المرضي الذي تم ذكره في تجربة الظلة الخشبية كذلك حسب الوزن الطري والجاف والطول للمجموع الخضري والجذري وتم حساب كمية الإنتاج لكل معاملة .

تصميم وتحليل التجارب:-

نفذت التجارب المختبرية وتجارب الظلة الخشبية وفقا للتصميم العشوائي الكامل (C.R.D)، فيما تم تطبيق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (R.C.B.D) لمعاملات التجربة الحقلية ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (L.S.D=0.05). واستعمل البرنامج SAS (2001) في التحليل الاحصائي للتجارب.

ISSN 2072-3875

النتائج والمناقشة:-

العزل التشخيص:-

أظهرت نتائج العزل من جذور نباتات الباميا المصابة وجود الفطر *R.solani* من جميع العزلات التي تم عزلها من المناطق المختلفة لمحافظة بابل. وتم تشخيص الفطر اعتماداً على الصفات المظهرية والمجهرية، إذتميزت عزلات الفطر *R.solani* بتكوينها مستعمرات ذات لون بني الى بني مبيض وتباينت في سرعة نموها و تكوينها للاجسام الحجرية ذات اللون الداكن وكثافة الغزل الفطري الذي تفرع بشكل زاوية قائمة واحتواء الغزل الفطري على تخصرات عند منطقة نشوء التفرع وتكوين حواجز في الفروع قرب منطقة النشوء (Parameter وWhitney، 1970 و Senh واخرون ، 1996).

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *R.solani* باستعمال بذوراللهانة على الوسط W.A:-

أظهرت النتائج(الجدول1)إن جميع عزلات الفطر المختبرة أدت إلى خفض معنوي في النسبة المئوية للإنبات قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت النسبة المئوية لانبات بذوراللهانة فيها 99% وقد تفوقت عزلتي الفطر *R.solani*(*R.s2* و*R.s6*)(عزلة االبدعة و الحصوة) إذ لم يحصل فيها إنبات لبذور اللهانة تلتها العزلة*R.s3*(عزلة الوطيفية) فقد بلغت نسبة الإنبات فيها 11% في حين تراوحت النسبة المئوية للإنبات لباقي العزلات ما بين 21–64%. ان سبب تباين العزلات في تاثيرها في النسبة المئوية لانبات بذور اللهانة قد يعود الى الاختلاف الوراثي بين عزلات الفطر التي جمعت من مناطق مختلفة. ويعود سبب انخفاض نسبة البذور النابتة الى قدرة الفطر *solani*. *R*على إفراز بعض المركبات السامة للنبات Phytotoxin مثل(Acetic Acid Phenyl(PAA ومشتقاته الهيدروكسيلية مثل hyderoxy-Beta وhyderoxy Para والتي تتسبب في قتل أجنة البذور(Mandova وآخرون، 1980).

جدول(1)اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *R.solani* باستعمال بذور اللهانة على الوسط W.A.

ت	الموقع	رمز العزلة	النسبة المئوية للانبات
1	الحلة/الوردية	*R.s*1	58
2	المحاويل/ البدعة	*R.s*2	00
3	الاسكندرية / الوطيفية	*R.s*3	11
4	المحاويل / البوعلوان	*R.s*4	62
5	المسيب/ ابو الجاسم	*R.s*5	47
6	الاسكندرية/الحصوة	*R.s*6	00
7	المحاويل/ المشروع الكبير	*R.s*7	21
8	المحاويل / الطاهرية	*R.s*8	64
9	المقارنة		99
10	0.05 L.S.D		1.84

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

ISSN 2072-3875

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

أظهرت نتائج هذه التجربة (جدول 2) ان جميع العزلات المختبرة كانت ممرضة وبفروق معنوية عالية عن معاملة المقارنة (من دون فطر ممرض) والتي كانت شدة الإصابة فيها صفر ، وكانت شدة الإصابة في نباتات الباميا قد تراوحت من 30% -94.75 وقد تباينت العزلات فيما بينها في تأثيرها في شدة اصابة نباتات الباميا اذ تفوقت العزلتين *R*.s2 و*R*.s6 على جميع العزلات المختبرة وأحدثت شدة إصابة بلغت 94.75 لكل منها تلتها العزلتين *R*.s3 و*R*.s7 للفطر *R.solani* فقد أحدثت شدة إصابة بلغت 85.5% و70% على التوالي .إن ظهور أعراض تعفن الجذور ناجم عن مهاجمة الخيوط الفطرية للفطر *R.solani* والاختراق المباشر للنسيج وامتداد الخيوط الفطرية بين خلايا القشرة او داخلها مسببة تلون الأنسجة بلون بني كما وان الفطر يفرز مواد سامة وإنزيمات محللة التي تساعد على تحليل جذور نباتات الباميا وبالتالي قلة امتصاص المواد الغذائية وقلة نمو النباتات (Eken و Demirci ، 2004) ووجد من نتائج إعادة عزل المسبب المرضي من جذور نباتات الباميا المصابة بعزلات الفطر الممرض في هذه التجربة على الوسط PDA ان الصفات المظهرية لها مطابقة لصفات الفطر *R.solani* والعزلات التي تم إضافتها للتربة أنها مسبب رئيسي لتعفن جذور الباميا .

جدول (2) تقيم تأثير المقدرة الامراضية للعزلات الممرضة للفطر *R.solani* في شدة الإصابة لنباتات الباميا تحت ظروف الظلة الخشبية .

ت	المعاملة	النسبة (%) لشدة الاصابة
1	***R*.s8**	**30**
2	***R*.s5**	**32**
3	***R*.s4**	**35**
4	***R*.s1**	**40**
5	***R*.s7**	**70**
6	***R*.s3**	**85.5**
7	***R*.s6**	**94.75**
8	***R*.s2**	**94.75**
9	**المقارنة**	**00**
10	**0.05 L.S.D**	**8.76**

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

حساب الكثافة العددية للبكتريا *B. subtilis* ، *B. thuringiensis* و *P. fluorescens* :-

اشارت النتائج ان الكثافة العددية للبكتريا *B. subtilis* و*B. thuringiensis* و *P. fluorescens* هي:- 5×10^{7} و6×10^{7} و6×10^{8} (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي.

اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.subtilis* ، *B thuringiensis* و *P. fluorescens* ضد عزلة الفطر *R. solani* (*R*.s2)على وسط PDA:-

أظهرت نتائج هذه الدراسة (جدول 3) إن عزلة البكتريا *P. fluorescence* ذات كفاءة تثبيطية عالية ضد عزلة الفطر الممرض *R. solani*(*R*.s2) بتركيز 6×10^{8}وحدة تكوين مستعمرة/مل اذ بلغت نسبة التثبيط 94% قياسا بعزلات البكتريا الأخرى. ويرجع سبب قدرة بكتريا *P.flourescens* على تثبيط نمو الفطر الممرض إلى إنتاجها بعض المضادات الحيوية مثل Lipopeptide cyclic ومركب Amphisin وإنتاجها بعض الأنزيمات المحطمة

ISSN 2072-3875

لجدران الخلايا الفطرية مثل إنزيم Endochitinase (Nielsen واخرون ، 1998 و Andersen وآخرون ،2003).و إنتاجها إنزيمات مثل Chitinase وβ-1 ,4 glucanase و β-1,3 glucanase و Protease و Lipase المثبطة للفطر *R.solani* (saad ،2006).

جدول(3)يمثل اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* ضد عزلة الفطر *R. solani* (*R*.s2)على الوسط PDA

المعاملة	معدل نمو الفطر *R.solani* في الطبق (سم)	النسبة المئوية للتثبيط %
P.fluorescens + (Rs2) *R.solani*	0.5	94.00
B.thuringiensis+(Rs2) *R.solani*	1.75	80.55
B. subtilis + (Rs2) *R.solani*	1.37	84.77
عزلة الفطر *R.solani* (*R*.s2)بمفرده	9.00	0.00
0.05 L.S.D	0.178	1.477

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

كما ان استخدام البكتريا *B.thuringiensis* و بتركيز6 × 10^7وحدة تكوين مستعمرة/مل أدى الى تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزرعي PDA ، إذ بلغت نسبة التثبيط 80.55%. يعزى التأثير الذي يسببه استعمال هذه البكتيريا في تثبيط نمو الفطريات الممرضة الى افراز إنزيم Chitinase من قبل هذه البكتريا مما يؤدي الى تحليل خلايا جدران الفطر الممرض(Reyes-Ramirez واخرون،2004 وUsharani و Gowda،2011).كما بينت النتائج قدرة بكتريا *B.subtilis* على تثبيط عزلة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) بتركيز5 × 10^7(وحدة تكوين مستعمرة/مل)على الوسط ألزرعي PDA ، فقد أظهرت العزلة البكتيرية كفاءة عالية في تثبيط النمو الفطري إذ بلغت نسبة التثبيط 84.77% ويعزى سبب ذلك إلى قدرة البكتريا على النمو بصورة سريعة ومن ثم انتشارها على الوسط ألزرعي PDA وتثبيط الفطر الممرض وكذلك يعود السبب إلى قدرة بكتريا *B.subtilis* على إنتاج العديد من المضادات الحيوية مثل Subtiline وBacitracin و Bacillomycin و Bacillin والتي تقوم بتثبيط نمو الفطر الممرض(Montealegre وآخرون ، 2003).

تقييم أنواع البكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* في حماية نبات الباميا من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (*R.s*2) المسبب لمرض تعفن جذور الباميا تحت ظروف الظلة الخشبية:-

بينت نتائج هذه الدراسة (جدول4) أن جميع معاملات عوامل المقاومة الحيوية المستخدمة أدت إلى خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة إصابة نباتات الباميا بعزلة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. فقد حققت جميع معاملات البكتريا *P.fluorescens+ B.subtilis* وبكتريا *P.fluorescens+B.thuringiensis* وبكتريا *B.thuringiensis + B.subtilis* بوجود الفطر الممرض أعلى نسبة خفض في النسبة المئوية لشدة الإصابة لنباتات الباميا إذ بلغت 13.10% و14.15 % و17.42 % على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت 94.75% وان تفوق معاملات إضافة أكثر من نوع بكتيري في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة ربما يعود إلى التأثير التازري فيما بينها في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات وتحفيز نمو النبات والسيطرة على مسببات امراض النبات وربما يعود السبب الى التداخل في اليات عملها مما ادى الى زيادة تحفيز نمو النبات والسيطرة على الأمراض النباتية كذلك تعمل على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات (Duffy وآخرون ،1996 و Pieterse وآخرون ، 2002 وThilagavathi وآخرون ، 2007). أما بالنسبة لمعاملة البكتريا *P.fluorescens* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية

ISSN 2072-3875

لشدة الإصابة والتي بلغت 19.16% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) بمفرده ، ويعود سبب ذلك لقدرة البكتريا على إنتاج أنواع مختلفة من المضادات الحيوية مثل Oomycin و Pyrolnitrin و Phloroglucinal و Pyrroles ضد الفطريات الممرضة (Sharma وآخرون ،2002) . كذلك تقوم البكتريا بتحفيز المقاومة الجهازية في النباتات مما يؤدي ذلك الى إنتاج مركبات مثبطة للفطر الممرض مثل Phytoalexin (Bakker وآخرون ، 2003). كذلك حققت معاملة بكتريا *B.subtilis* مع الفطر الممرض *R.solani* (*Rs2*) خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت 21.16% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده، ويعود السبب إلى امتلاك البكتريا عدة آليات تمكنها من تخفيض النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض منها المنافسة على المواد المهمة للنمو مثل إفرازات الجذور والمواد الغذائية إضافة إلى قدرة البكتريا على إنتاج مضادات حيوية تعمل على تحليل سايتوبلازم الخيوط الفطرية للفطر *R.solani* (Montealegre ، 2003) أما بالنسبة لبكتريا *B.thuringiensis* مع الفطر الممرض(*R.s2*) *R.solani* فقد سببت هي الاخرى خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت 24.05 مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده، ويعود السبب الى اليات عملها المختلفة مثل انتاجها للإنزيمات كإنزيم الكايتنيز والبروتيز وانتاجها للسموم و من هذه السموم delta-endotoxin التي ثبت ان لها دوراً في تثبيط نمو الغزل الفطري مما يؤدي الى منع حدوث الاصابة لعوائل نباتية مختلفة (De la Vega واخرون ، 2006 و Gomaa ، 2012).

وأشارت النتائج (جدول4) أيضا إلى أن جميع معاملات إضافة أكثر من نوع يكتيري قد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) بمفرده، فقد أظهرت المعاملة مابين البكتريا *B.subtilis* + *P.fluorescens* بوجود الفطر الممرض أعلى قيمة في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري فقد بلغت 21.72 و 7.09 و 4.56 و 1.55غم و 35.35 و 16.03 سم على التوالي قياسا مع معاملة الفطر الممرض بمفرده فقد بلغت 7.21و 1.86 و 1.62 و 0.58 غم و13.22و 5.02 سم على التوالي .كذلك حققت المعاملة مابين البكتريا *B.thuringiensis* + *P.fluorescens* بوجود الفطر الممرض زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغت 19.67 و 6.84 و 4.39 و 1.34 غم و 32.50 و14.65 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. أما معاملة البكتريا *B.thuringiensis* + *B.subtilis* بوجود الفطر الممرض فقد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغت 14.12 و 4.77 و 3.29 و 0.92 غم و25.62 و11.27 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده.

كماوحققت معاملة البكتريا *P.flluorescens* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري بلغ 12.91 و 4.11 و 2.95 و 0.85غم و 23.2 و 9.05 سم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده وأظهرت معاملة البكتريا *B.subtilis* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) زيادة معنوية ايضا في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري بلغ 12.33 و 3.79 و 2.78 و 0.77 غم و21.37 و8.07 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده . ويعود سبب ذلك إلى قدرة بكتريا *B.subtilis* على استعمار منطقة الجذور ومنافستها مع الفطر الممرض على المواد الغذائية والمكان وإفرازات الجذور التي تعتبر عوامل أساسية لنمو البكتريا في الجذور وبالتالي إبعاد المسبب المرضي عن منطقة الجذور (Handleman و Stabb ، 1996). ولبكتريا *B.subtilis* القدرة على إنتاج العديد من المضادات الحيوية مثل Subtenolin و Bacillin و Bacillomycin و Bactracin والتي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطرية وتشوه قمم الخيوط الفطرية (Shoda و Asake ، 1996 و Montealegre وآخرون ، 2003).أما معاملة بكتريا *B.thuringiensis* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) فقد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغ 11.08 و 3.35 و 2.52 و 0.74 غم و20.40 و7.52 سم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده ، ويعزى زيادة نمو النبات بوساطة البكتريا *B.thuringiensis* سواء في التربة الملوثة بالفطر الممرض و حتى غير الملوثة الى مقدرة هذه البكتريا على انتاج

ISSN 2072-3875

مواد أيضية محفزة للنمو، إذ تعد احد أفراد مجموعة البكتريا الملازمة للجذور والمحفزة لنمو النبات(Gray و آخرون ، 2006 و Sheikh وآخرون ، 2006) .

جدول(4) تقييم أنواع البكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* في حماية نبات الباميا من الإصابة بالفطر *R.solani* (*R.s2*)المسبب لمرض تعفن جذور الباميا تحت ظروف الظلة الخشبية.

ت	المعاملة	شدة الاصابة للجذر	وزن المجموع الخضري (غم)		وزن المجموع الجذري (غم)		الطول (سم)	
			الطري	الجاف	الطري	الجاف	الساق	الجذر
1	*R. s* بمفرده.	94.75	7.12	1.62	1.86	0.58	13.22	5.02
2	*P. f* + *B. s*	0.00	30.21	6.56	12.42	3.15	53.65	26.15
3	*P. f* + *th*	0.00	29.01	6.24	13.34	2.91	51.37	24.29
4	*B. s* + *B. th*	0.00	27.61	5.86	10.70	2.37	48.32	23.37
5	*P. f*	0.00	25.24	5.37	9.45	2.07	43.15	21.32
6	*B. s*	0.00	24.57	5.21	9.03	1.91	40.75	20.12
7	*B. th*	0.00	23.39	4.90	8.58	1.80	39.35	18.50
8	*R. s* + Bentanol	11.30	15.85	3.54	5.13	1.04	27.18	12.10
9	*.R. s*+*P. f* + *B. s*	13.10	21.72	4.56	7.09	1.55	35.35	16.03
10	*R. s*+*P. f* + *B. th*	14.15	19.67	4.39	6.84	1.34	32.50	14.65
11	*R. s*+ *B.s* + *B.th*	17.42	14.12	3.29	4.77	0.92	25.62	11.27
12	*R. s* + ..*P. f*	19.16	12.91	2.95	4.11	0.85	23.02	9.05
13	*R. s* + *B. s*	21.16	12.33	2.78	3.79	0.77	21.37	8.07
14	*R. s* + .*B. th*	24.05	11.08	2.52	3.35	0.74	20.40	7.52
15	المقارنة	0.00	17.61	3.77	6.02	1.18	29.22	13.07
	0.05 L.S.D	0.36	0.50	0.14	0.27	0.08	1.07	0.69

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات *R.s* =*R.solani*، *B.s* =*B.subtilis* ، *B.th* =*B.thuringiensis* ، *P.f* =*P.fluorescens*

تقييم أنواع البكتريا *Bacillus subtilis* ، *Bacillus thuringiensis* و*Pseudomonas fluorescens* في حماية نبات الباميا من الإصابة بالفطر *R.solani* (*R.s2*) المسبب لمرض تعفن جذور الباميا تحت الظروف الحقلية:-

بينت نتائج الدراسة الحقلية (جدول5) أن جميع معاملات المقاومة الحيوية للبكتريا *B.subtilis* + *P.fluorescens* وبكتريا *B.thuringiensis* + *P.fluorescens* وبكتريا *B.subtilis* +*B.thuringiensis* بوجود الفطر الممرض قد حققت اقل شدة إصابة والتي بلغت 13.02 و15.12% و 18.37 % على التوالي قياسا الى معاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت شدة الإصابة فيها 91.32 %..وقد يعزى سبب تفوق معاملات الجمع بين عوامل المقاومة الحيوية في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بوجود الفطر الممرض إلى التأثير التازري مابين عوامل المقاومة الحيوية المستخدمة في التجربة كونها تعمل معاً وبصورة متعاونة في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات ضد المسببات المرضية (Ganeshmoorthi وآخرون ، 2008 و Latha وآخرون ، 2009) .أما بالنسبة إلى معاملة البكتريا *P.fluorescens* مع عزلة الفطر الممرض *R.solani* (*Rs2*) فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت 21.37 % مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده. ويعود سبب ذلك لما تمتلكه بكتريا *P.fluorescens* من آليات فعالة في كبح الممرض النباتي فهي تجعل المجموع الجذري

ISSN 2072-3875

أكثر مقاومة للإصابة بممرضات الجذور من خلال تحفيز جينات المقاومة (Carvajal وآخرون، 2002) وكذلك إنتاج البكتريا للعديد من المركبات المضادة في كبح العديد من المسببات المرضية والتي تسمى Antifungal compound ومنها المضاد الحيوي Pyrrolinitrin والذي يمتاز بفعله المتخصص ضد الفطر *R.solani* والمضاد الحيوي Pyoluteorin وكذلك إنتاج مركبات Siderophore والتي تعمل على خلب الحديد وبذلك تحرم الفطر الممرض من عنصر الحديد الضروري لنمو الأحياء الدقيقة (Velazhahan وآخرون ، 1999). كذلك حققت معاملة بكتريا *B.subtilis* مع الفطر الممرض خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *R.solani* فقد حققت 24.27% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده . ويعود سبب ذلك إلى قدرة البكتريا على إفراز المواد المضادة المثبطة لنمو المسببات المرضية وكذلك تحفيزها للمقاومة الجهازية في النباتات كما تقوم بكتريا *B.subtilis* باستعمار جذور النباتات فتصبح قوية وسليمة وتتحمل عوامل الإجهاد التي يتعرض لها النبات (Schisler وآخرون ، 2002) . ولبكتريا *B.subtilis* القدرة في السيطرة على العديد من المسببات المرضية الفطرية نتيجة لقدرتها على تحفيز المقاومة الجهازية في النباتات وإنتاج الفايتوالكسين كذلك قدرتها على إنتاج العديد من المضادات الحيوية التي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطر وتشوه قمم الخيوط الفطرية (Montealegre وآخرون ، 2003 و Yao وآخرون ، 2006). كما ان معاملة بكتريا *B.thuringiensis* مع الفطر الممرض فقد سببت هي الأخرى خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) فقد حققت 27.37% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده . ويعود سبب ذلك إلى ماتمتلكه هذه البكتريا من آليات مختلفة للتأثير في المسبب المرضي منها إنتاج الأنزيمات كإنزيم الكايتنيز والبروتيز والمضادات الحيوية مثل Bacteriocin و Thuricin والسموم منهاdelta-endotoxin التي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطرية (Gray و اخرون ، 2006 و Gomaa،2012)

جدول(5) تقييم أنواع البكتريا *B.subtilis* ، *B.thuringiensis* و*P.fluorescens* في حماية نبات الباميا من الإصابة بالفطر*R.solani* (*R.s2*) المسبب لمرض تعفن جذور الباميا تحت الظروف الحقلية

ت	المعاملة	شدة الاصابة للجذر	وزن المجموع الخضري (غم)		وزن المجموع الجذري (غم)		الطول (سم)		وزن الثمار (كغم)
			الطري	الجاف	الطري	الجاف	الساق	الجذر	
1	***R. s* بمفرده.**	**91.32**	**65.20**	**14.07**	**15.03**	**3.81**	**21.35**	**10.09**	**0.85**
2	***.P. f + B. s***	**00.00**	**437.85**	**101.36**	**53.21**	**10.17**	**137.35**	**34.02**	**6.89**
3	***.P. f + th***	**0.00**	**421.88**	**97.05**	**49.22**	**9.90**	**132.35**	**31.47**	**6.76**
4	***B. s + B. th***	**0.00**	**411.52**	**95.50**	**45.63**	**9.64**	**127.55**	**30.53**	**6.34**
5	***P. f***	**0.00**	**398.20**	**92.48**	**40.47**	**8.71**	**121.42**	**28.12**	**5.81**
6	***.B. s***	**0.00**	**390.23**	**89.41**	**38.38**	**8.15**	**11.95**	**27.37**	**5.47**
7	***B. th***	**0.00**	**379.15**	**87.03**	**37.58**	**8.06**	**103.52**	**26.32**	**5.12**
8	***R.s*+ Bentanol**	**11.50**	**288.48**	**73.62**	**28.23**	**6.03**	**74.50**	**19.37**	**3.32**
9	***R. s+ P.f+B.s***	**13.02**	**363.86**	**81.70**	**34.31**	**7.63**	**95.15**	**23.60**	**4.22**
10	***R.s+.P.f+B.th***	**15.12**	**343.03**	**80.19**	**33.03**	**7.41**	**87.82**	**21.46**	**3.85**
11	***R.s+B.s+B.th***	**18.37**	**263.87**	**69.13**	**27.09**	**5.84**	**66.35**	**18.12**	**3.01**
12	***R. s + ..P. f***	**21.37**	**241.73**	**60.08**	**25.50**	**5.48**	**58.05**	**17.65**	**2.93**
13	***R. s + B. s***	**24.27**	**229.16**	**52.50**	**23.39**	**5.01**	**50.47**	**16.83**	**2.55**
14	***R.s + .B.th***	**27.37**	**196.55**	**47.36**	**21.46**	**4.70**	**42.32**	**15.67**	**2.32**
15	**المقارنة**	**0.00**	**302.80**	**78.41**	**29.40**	**6.21**	**80.57**	**20.82**	**3.54**
	0.05 L.S.D	**0.83**	**1.57**	**0.83**	**0.67**	**0.12**	**2.02**	**0.73**	**0.08**

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات*R.solani=R.s*، *B.subtilis=B.s*، *B.thuringiensis=B.th* ، *P. fluorescens=P.f*

ISSN 2072-3875

وقد يعود سبب زيادة نمو النبات بوساطة البكتريا *B.thuringiensis* سواء في التربة الملوثة بالفطر الممرض و حتى غير الملوثة الى مقدرة هذه البكتريا على انتاج مواد أيضية محفزة للنمو، إذ تعد احد أفراد مجموعة البكتريا الملازمة للجذور والمحفزة لنمو النبات(Sheikh وآخرون ، 2006). كما وحققت المعاملة البكتريا *P.fluorescens* + *B.subtilis* بوجود الفطر الممرض زيادة معنوية في جميع مؤشرات النمو المدروسة لنباتات الباميا ، فقد بلغ الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري ووزن الثمار 363.86غم ،34.31 غم ، 81.70غم ، 7.63غم ،95.15سم ، 23.60 سم و 4.22 كغم على التوالي. كما حققت المعاملة مابين البكتريا *B.thuringiensis* و *P.fluorescens* 343.03غم، 33.03غم، 80.19 غم ،7.41غم ، 87.82سم،21.46سم و 3.85كغم على التولي وحققت معاملة للبكتريا *B.subtilis* و *B.thuringiensis* و263.87غم و27.09غم و69.13غم و 5.84غم و 66.35سم و 18.12سم و3.01كغم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 65.20غم و 15.03غم و14.07غم و3.81غم و21.35سم و10.09سم و0.85 كغم على التوالي، ويعزى سبب زيادة مؤشرات النمو في معاملات الجمع ما بين الكائنات الحية الدقيقة نتائج لاستخدام مختلف الآليات التي تمتلكها هذه الكائنات ضد الممرضات النباتية، وكذلك قد يعود السبب إلى التعاون ما بين آليات عوامل المقاومة الإحيائية المستخدمة بالتجربة ومن هذه الآليات التحفيز على إنتاج منظمات النمو والتي تلعب دور مهم في عملية نمو النبات (Domenech وآخرون ، 2006). أما بالنسبة إلى معاملات استخدام الأنواع البكتيرية بصورة منفردة فقد حققت معاملة البكتريا *P.fluorescens* مع الفطر الممرض زيادة معنوية ملحوظة في جميع مؤشرات النمو فقد بلغ الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري 241.73 و25.50 و 60.08 و 5.48غم و 58.05 و17.65على التوالي، أما وزن الثمار2.93كغم. ويعزى سبب ذلك أن بكتريا *P.fluorescens* تمتلك القدرة على تثبيط نمو العديد من الممرضات النباتية وهذا بدوره ينعكس على تحسين مؤشرات النمو في كثير من المحاصيل الزراعية ، إذ تمتلك بكتريا *P.fluorescens* العديد من الآليات المختلفة.كما وتمتلك القدرة على إنتاج هرمونات نباتية تعمل على تنظيم نمو النبات مثل هرمون auxin و gibblerellin و cytokinin (Vessey ، 2003وRyu واخرون ،2003).

وحققت معاملة البكتريا *B.subtilis* مع الفطر الممرض زيادة معنوية في جميع مؤشرات النمو المدروسة فقد بلغت فقد بلغ الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري 229.16 و 23.39 و 52.50 و 5.01غم و50.47 و16.86سم على التوالي أما وزن الثمار فقد بلغ 2.55كغم مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده .ويعزى سبب هذه الزيادة في مؤشرات النمو إلى قدرة البكتريا *B.subtilis* على إنتاج منظمات النمو مثل Indol Acetic Acid (IAA) و GA3 وهذه بدورها تعمل على زيادة معدل انقسام الخلايا وارتفاع مستوى الأيض داخل الخلايا (Swain وآخرون، 2007). كذلك حققت معاملة البكتريا *B.thuringiensis* مع الفطر الممرض زيادة معنوية في جميع مؤشرات النمو المدروسة فقد بلغت فقد بلغ الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري 196.55 و21.46 و47.36 و4.70غم و42.32 و 15.67سم في حين بلغ وزن الثمار 2.32كغم وتعزى زيادة نمو النبات بوساطة البكتريا *B.thuringiensis* إلى مقدرة هذه البكتريا على إنتاج مواد أيضية محفزة للنمو، إذ تعد احد أفراد مجموعة البكتريا الملازمة للجذور والمحفزة لنمو النبات (Gray و آخرون ، 2006 و Sheikh وآخرون ، 2006) .

المصادر:

ألكعبي ، حوراء نعمة حسين . 2013 . فعالية عوامل إحيائية و كيميائية ضد الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الشليك. رسالة ماجستير . الكلية التقنية-المسيب.

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.

ISSN 2072-3875

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

حسون، إبراهيم خليل. 2005. المكافحة البايلوجية والكيمائية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani* أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

Andersen, J.B.; B. Koch; T.H. Nielsen; D. Sorensen; M. Hansen; O. Nybroe; C. Christopheren; J. Soren; S. Molin; and M. Gvskove. 2003. Surface motility in *pseudomonas* sp. Dss73 required for sufficient biological containment of root – pathogenic microfungi *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. Microbiology. 149: 37 – 46. (Abstract).

Bakker, P.A.; L.X. Ran; C.M. Pieterse; and L.C. Vanloon. 2003. Understanding the involvement of Rhizobacteria mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant disease. Can. J. Plant Pathol. 25: 5- 9.

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

Carvajal, M.M.C.; A.H.M.Wijfjes;I.H.M. Mulders; B. J.J. Lugtenberg; andG.V.Bloemberg.2002.Characterization of NADH dehydrogenases of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 and their role in competitive Root nization. Molecular Plant-Microbe Interactions(MPMI).15(7): 662–671. Clark, F.E. 1965. Agar-plats method for total microbial count. C. F: Black,1965. method of soil analysis part. 2. Publisher Madison Wisconson U.S.A. pp. 1572.

Dewan, M.M. 1989. Identity and frequency occurrence of fungi in roots of wheat and rye grass and their effect on take-all and host growth. Ph.D. thesis. Univ. of Western Australia. 201 pp. De la vega, L.M.; J.E. Barboza-corona; M.G. Aguilar-uscanga and M. Ramirez-lepe.2006. Purification and characterization of an exochitinase from *Bacillus thuringiensis* sub sp.aizawai and its action against phytophathogenic fungi. Canadian Journal of Microbiology. vol.52(7): 651-657.

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.

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

Duffy, B.K.; A. Simon; and D.M. Weller. 1996. Combination of *Trichoderma koningii* with *Pseudomonas fluorescens* for control of take-all on wheat. Phytopathology . 86: 188-194.

ISSN 2072-3875

Eken ,C .and E .Demirci . 2004. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani and binucleate Rhizoctonia solani* from bean in Erzurum , Turkey . J. of plant pathol. 86*:* 49-52.

Ganeshmoorthi, P.; T. Anand; V. Prakasam; M. Bharani; N. Ragupathi; and R.Samiyappan.2008. Plant Growth promoting *Rhizobacteria*(PGPR) bioconsortia mediates induction of defense-related proteins against infection of root rot pathogen in mulberry plants. Journal of Plant Interactions. 3(4): 233-244.

Gomaa,E.Z.2012. Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: Their potential in antifungal biocontrol. Journal of Microbiology. vol. 50(1): 103-111.

Gray, E.J.;K.D. Lee; A.M. Souleimanov ; M.R. Di-Falco ; X. Zhou ; A. Ly ; T.C. Charles ; B.T. Driscoll and D.L. Smith .2006. A novel bacteriocin, thuricin 17, produced by plant growth promoting rhizobacteria strain *Bacillus thuringiensis* NEB17: isolation and classification. Journal of Applied Microbiology . 545-554.

Handelsman, J.; and E.V. stabb.1996. Biocontrol of soil borne plant pathogen. Plant cel, 8:1855-1859.

Knaak , N.; A. A. Rohr and L. M. Fiuza . 2007 . *In vitro* effect of *Bacillus thuringiensis* strain and cry proteins in phytopathogenic fungi of paddy rice-field . Brazilian Journal of Microbiology . 38:526-530.

Larkin, R.P. 2004. Development of integrated biological and cultural approaches for control of powdery scab and other soil borne disease . USDA , ARS , New England plant , soil , and Water lab Univer. of Maine , Orone , MEO 44469 WWW-Mainepotatoes. com/ pdf/potresgrant-04.

Latha, P.; T. Anand; N. Ragupathi; V. Prakasam; and R. Samiyappan. 2009. Antimicrobialactivity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. Biological Control. 50: 85–93.

Mandova, N.B.; R.G. Orellana; J.D. Warther; J.E. Werely; S.R. Duthy; H. Finegerd; and B.C. Weathington. 1980. Phtotoxins in *Rhizoctonia solani*, Isolation and Biological activity of M. Hydroxy and M. Methoxy. Phenylacetic acid. J. Agric. Food. Chem. 28: 71-75.

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

Montealegre, J.R.; R. Rodrigo; P.M.Luz;H.Rodrigo ;S .Polyana and Ximena.2003.Selection of bioantagonstic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato.J. Biotec.6:115-127.

Nielson,M.N.; J.Soreensen; J.Fels; and H.C.Pdersen.1998.Secondary

ISSN 2072-3875

metabolite and endochitinase dependent antagonism toward plant pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere . Applied and Environmental Microbiology 64: 3563-3569.

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 Angeless. 7-19 pp.

Pieterse, C.M.J.; S.C.M. Wees Van; J. Ton; J.A. Pelt Van; and L.C. Loon Van. 2002. Signalling in Rhizobacteria-induced systemic resistance in Arabidopsis thaliana. Plant Biol. 4: 535-544 Reyes- Ramírez, A. ; B. I. E. Abarca ; G. A. Uscanga ; P. M. H. Jones and J. E. B. Corona .2004. Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds . Journal of food science. Vol.69.Published on Web. www.ift.org

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

Saad, M.M. 2006. Destruction of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici* causing Tomato root- rot by *Pseudomonas fluorescens* Lytic enzymes. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences.2(6):274- 281.

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

Schisler, D.A.; N.I. Khan; and P. J. Slinger.2002.Greenhouse and field evaluation of biological control of Fusarium head blight on durum wheat. Plant Dis.86:1350– 1356.

Sharma, R. C.; S.K. Vasal; B.K. Fernarido Gan zalez; and N.N. Singh. 2002. Redressal of Banded Leef and Sheath blight of Maize through breeding chemical and biocontrol agent. Proceeding of the 8th Asia Regional Maize Workshop , Bankok, Thailand. August 5-8,2002.

Sheikh, L.I. ; S. Dawar ; M.J. Zaki ; and A. Ghaffar. 2006. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* and *Rhizobium meliloti* with nursery fertilizers in the control of root infecting fungi on mung bean and okra plants . Journal of Botany.38(2):465-473.

Shoda, M.; and O. Asaka. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping off of Tomato with *Bacillus subtilis* RB 14. APPI. Environ. microbiol. 62: 4081 - 4085.

Sneh, B., S. Jabai- Hare , S. Neate and G. Dijst . 1996. *Rhizoctonia* species : taxonomy , molecular biology , ecology , pathology and disease control. Kluwer ecademic publishers , London . 578 pp.

Swain, M.R.; K.S. Nasker; and C.R. Ramesh. 2007. Indole – 3- acetic acid production and effect on sprouting of Yam (Dioscorea rotundata L.) minisetts by *Bacillus subtilis* isolated from Culturable Cow dung microflora. Polish Journal of microbiology .. 56(2) : 103-110.

Thilagavathi, R.; D. Saravanakumer; N. Ragupathi; and R.Samiyappan.2007.A combination of biocontrol agents improves the management of dry root rot

ISSN 2072-3875

(*Macrophomina phaseolina*)in greengram.Phytopathology Mediterranea.46(2).157-167.

Usharani, T.R. and T.K. Gowda .2011. Cloning of chitinase gene from *Bacillus thuringiensis* . Ind. J. Biotechnology 10:264-269.

Velazhahan , R.; R. Samiyappan; and P. Vidhyasekarm. 1999. Relationship between antagonitics activites of *Pseudomonas fluorescens* isolate against *Rhizoctonia solani* & their production of lyric enzymes , J. of plant diseases & protection . 106 (3): 244-250.

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

Yao , A.V.; S. Karimov; H. Bochow; U. Boturov; S. Sanginboy; and A. Sharipov. 2006. Effect of FZB24 *Bacillus subtilis* as biofertilizer on cotton yields in field test. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 39(4): 323-328.

ISSN 2072-3875