التوافق بين البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والفطر الإحيائي *Trichoderma harzianum* لمكافحة مرض تعفن جذور وقواعد سيقان نبات الباقلاء المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*

ناجي سالم جاسم
كلية الزراعة- جامعة البصرة

الخلاصة:

أجريت هذه الدراسة في حقول ومختبرات قسم وقاية النبات/كلية الزراعة/جامعة البصرة للموسم ٢٠٠٤- ٢٠٠٥ بهدف تقيم كفاءة البكتريا *Pseudsmonas fluoresense* والفطر الاحيائي *Trichoderma harzianum* في نمو ونشاط الفطرالممرض *Rhizoctonia solani* ومكافحة مرض تعفن جذور وقواعد سيقان نبات الباقلاء المتسبب عن هذا الفطر. حيث أوضحت نتائج التجربة الحقلية كفاءة معاملات البكتريا *P.fluorescens* +الفطر الممرض R.solani . وكذلك الفطر الاحيائي *T.harzianum* + الفطر الممرض ومعاملة التداخل بين البكتريا والفطر الاحيائي في خفض نسبة وشدة الاصابة بالمرض حيث بلغت معدلات النسبة المئوية للاصابة ٦٦, ٢٦ و٨٢ , ٢٦ و٩٤ , ٢٤ % على التوالي مقارنة بـ ٤٢ , ٦٦ % لمعاملة الفطر الممرض فقط . وقد انعكس التاثير الايجابي لهذه المعاملات في معظم مؤشرات الحاصل المدروسة اذ بلغ معدل وزن ١٠٠

بذرة في تلك المعاملات ١١ , ١٨٩ و٦ , ١٨٣ و ١ , ١٩٣ غم على التوالي في حين بلغ هذا المعدل ٨١ , ١٠٨ غم في معاملة الفطر الممرض ، كذلك بلغت الزيادة في معدلات الانتاج في هذه المعاملات ٤٦ , ٤٢ و٧٣ , ٤٠ و٦٥ , ٤٣ % على التوالي للنبات الواحد مقارنة مع معدل الانتاج للنبات الواحد في معاملة الفطر الممرض .

المقدمة: يتعرض محصول الباقلاء *Vicia faba* L للإصابة بالعديد من الآفات الزراعية كالحشرات والأمراض الفطرية والفايروسية وغيرها ويعد مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان من أهم أمراض هذا المحصول في العديد من دول العالم (٢١) وفي دراسة أجراها جبر (٢) وجد أن نسبة الإصابة بهذا المرض تراوحت بين ٣-١٥% في محافظات بغداد وديالى وبابل وواسط.

تعد المكافحة الإحيائية لأمراض النبات خاصة المتسببة عن الفطريات المتوطنة في التربة احد الاتجاهات البحثية المهمة التي حظيت باهتمام الباحثين في العقود الأخيرة خاصةً بعد إدراك الأخطار الناجمة عن استخدام المبيدات الكيميائية ويضم جنس البكتريا *Pseudomonas* عدة أنواع استخدم بنجاح في مكافحة الكثير من الفطريات الممرضة للنبات خاصة تلك المتوطنة في التربة ومن بين تلك الأنواع وأكثرها أهمية *P.fluoresense* (١٠) تعود فعالية هذه البكتريا في مجال المكافحة الإحيائية الى قدرتها على تصنيع واحد أو أكثر من المركبات المضادة للفطريات مثل مركبات Siderophore و Pterins و Pyrroles و Phloroglycinol و Phenazine (٣٢،٣٧) اما الفطر الاحيائي *Trichoderma* فهو يعتبر من عوامل المقاومة الاحيائية المهمة والتي استخدمت على نطاق واسع في مقاومة العديد من المسببات المرضية وخاصة المتوطنة في التربة حيث تعد انواع هذا الجنس من اكثرها استخداما في هذا المجال اذ اشارت العديد من الدراسات الى قدرته في تثبط

نمو ونشاط العديد من المسببات المرضية مثل الفطر *Fusarium oxysporum* و *R.solani* ومكافحة الامراض الناجمة عنهما (١١، ٣٠ ، ٤٣) وتعود فعالية هذا الفطر الاحيائي في مجال المقاومة الاحيائية الى قدرته على انتاج العديد من الانزيمات مثل Celluase و B-(1-3)glucanase و Chitinase التي لها القدرة على تحطيم الـ glucans في جدران خلايا الفطر الممرض ونظراً لاهمية هذا المرض وقلة الدراسات المتعلقة بمكافحته فقد جاءت هذه الدراسة بهدف تقييم فعالية البكتريا *P.fluoresense* والفطر الاحيائي *T.harzianum* في مكافحته.

طرائق العمل والمواد المستخدمة

١- عزل الفطر الممرض

جلبت عينات عشوائية من نباتات باقلاء ظهر عليها أعراض الإصابة بمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان من مناطق مختلفة من محافظة البصرة. غسلت الأجزاء النباتية بماء جار لمدة ٣٠ دقيقة ثم قطعت الجذور وقواعد السيقان الى قطع صغيرة بطول ٠,٥-١سم وعقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl تركيز ١٠% من المستخلص التجاري لمدة ١٠ دقائق غسلت بعدها بماء معقم ثلاث مرات ثم جففت على ورق ترشيح نقلت ٤ قطع من الأجزاء النباتية الى أطباق بتري تحوي وسط الاكار المائي Water agar ٢% المعقم والمضاف له المضاد الحياتي Chloromphenicol بمعدل ٢٥٠ ملغرام/لتر بمعدل ٤ قطع لكل طبق. حضنت الأطباق في درجة حرارة ٢٥ ± ٢م لمدة ثلاث ايام بعد ذلك نقلت النموات الفطرية الى أطباق بتري تحوي وسط البطاطا دكسروز أكار PDA وحضنت لمدة ٥-٧ أيام على درجة حرارة ٢٥ ± ٢م شخصت الفطريات حسب المفاتيح التصنيفية المعتمدة (٣٩ ٢٣، ١٩).

وتم حساب النسبة المئوية لظهور كل فطر حسب المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للظهور} = \frac{\text{عدد مرات ظهور الفطر في العينات}}{\text{العدد الكلي للعينات}} \times ١٠٠$$

٢- تأثير عزلات الفطر *Rhizoctonia solani* في إنبات بذور الباقلاء وإصابة بادراتها

نفذت هذه التجربة في أصص بلاستيكية سعة ٢كغم ملئت الأصص بتربة معقمة بجهاز الموصدة تحت درجة حرارة ١٢١مْ وضغط ١٥ باوند/انج^{٢} لمدة ساعة واحدة. لوثت التربة بلقاح عزلات الفطر *R.solani* المنمى على بذور الدخن بنسبة ١% (وزن/وزن) رطبت التربة بالماء المعقم وبعد ثلاثة أيام من التلويث زرعت الأصص ببذور الباقلاء بعد تعقيمها سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم ١٠% من المستحضر التجاري وبمعدل عشرة بذور لكل أص. سقيت الأصص بعد الزراعة وغطيت بأكياس نايلون وبعد الإنبات رفع الغطاء البلاستيكي وحسبت النسبة المئوية للإنبات بعد عشرة أيام من الزراعة وبعد ٣٠ يوماً من الزراعة حسبت النسبة المئوية للإصابة.

٣- اختبار القدرة التضادية لفطر المقاومة الاحيائية *Trichoderma harzianum* ضد الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* .

لغرض اختبار القدرة التضادية بين الفطر الاحيائي *T.harzianum* والفطر الممرض *R.solani* استخدمت طريقة Morton و Strouble (٣٣) حيث وضع قرص قطره 0.5 سم اخذ من حافة مستعمرة الفطر الاحيائي *T.harzianum* بعمر 7 ايام في احد جهات طبق بتري يحتوي على الوسط الغذائي PDA المعقم ووضع في الجهة المقابلة له قرص اخر قطره 0.5 سم

اخذ من حافة مستعمرة الفطر *R.solani* وبعمر 7 ايام ، ووضع القرصان على بعد متساوي من حافة الطبق اما معاملة المقارنة فتضمنت تلقيح مركز طبق بتري يحتوي على الوسط الغذائي بقرص قطره 0.5 سم اخذت من مستعمرة الفطر الممرض فقط ، نفذت التجربة بثلاث مكررات لكل معاملة وحضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 + 1 م^0 وعند وصول النمو الفطري لمعاملة المقارنة الى حافة الطبق تم قياس النمو القطري للفطر الممرض في معاملة التضاد . تم حساب النسبة المئوية للتثبيط حسب معادلة Edington وآخرون (٢٠).

$$L = \frac{C - T}{C} \times 100$$

L = معدل تثبط النمو الفطري

C = معدل النمو القطري للفطر الممرض في معاملة المقارنة

T = معدل النمو القطري للفطر الممرض النامي باتجاه الفطر الاحيائي

٤- دراسة الكفاءة التضادية للبكتريا *Pseudsmonas fluorescens* اتجاه الفطر *R.solani*

تم الحصول على البكتريا *P.fluoresense* من الدكتور سامي عبد الرضا/قسم علوم الحياة/كلية العلوم/جامعة الكوفة وكثرت البكتريا في وسط الـ KB السائلKings Medium Broth . أضيف لقاح البكتريا بعد ٤٨ ساعة الى أطباق بتري حاوية على وسط الـ PDA على شكل بقع Spots بالقرب من حافة الطبق وبشكل دائري حول مركز الطبق وبمقدار ٠,١ مل لكل بقعة وبمعدل خمسة بقع لكل طبق وبأربعة مكررات مع ترك أربعة أطباق بدون إضافة اللقاح البكتيري كمعاملة مقارنة. حضنت جميع الأطباق في درجة حرارة

٢٧ ± ٢مْ لمدة ٤٨ ساعة بعد ذلك لقح مركز كل طبق بقرص قطر ٠,٥ سم اخذ من حافة مزرعة حديثة للفطر *R.solani* (٨) حضنت الأطباق مرة أخرى في درجة الحرارة نفسها لحين وصول نمو الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق بعدها حسب مقدار التثبيط في النمو حسب المعادلة التالية :

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{نمو الفطر في المقارنة} - \text{نمو الفطر في المعاملة}}{\text{نمو الفطر في المقارنة}} \times ١٠٠$$

٥- المكافحة الإحيائية لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان نباتات الباقلاء المتسبب عن الفطر *R.solani*

نفذت التجربة في حقول كلية الزراعة/جامعة البصرة. حرثت التربة وسويت ثم قسمت الى ٢٤ وحدة تجريبية بأبعاد ٢ × ٢ م مع ترك مسافة ٣٠سم بين الوحدات التجريبية. قسمت كل وحدة تجريبية الى خمسة مروز يحتوي كل مرز على ست جور المسافة بين جورة وأخرى ٢٥سم. أضيف لقاح *R.solani* المحمل على بذور الدخن الى المعاملات المقرر تلويثها بمعدل ٠,٥ غم لقاح لكل جورة. زرعت بذور الباقلاء صنف محلي بعد تعقيمها سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم ١٠% من المستحضر التجاري بمعدل ثلاث بذور لكل جورة ثم سقيت الوحدات التجريبية باحتراس باستخدام أنبوب بلاستيكي. تضمنت التجربة المعاملات الآتية:

١- تربة ملوثة بالفطر *R.solani* + البذور معاملة بالبكتريا *P.fluoresense* .

٢- تربة ملوثة بالفطر *R.solani* + البذور معاملة بالبكتريا *P.fluoresense* + الفطر *T.harzianum*

٣- تربة ملوثة بالفطر *R.solani* + الفطر *T.harzianum*

٤- تربة ملوثة بالفطر *R.solani* فقط.

٥- البذور معاملة بالبكتريا *P.fluoresense* فقط.

٦- البذور معاملة بالبكتريا *P.fluoresense* + الفطر *T.harzianum*

٧- معاملة الفطر *T.harzianum* فقط.

٨- معاملة المقارنة (تربة غير ملوثة)

تضمنت معاملات البكتريا *P.fluoresense* نقع بذور باقلاء صنف محلي في معلق البكتريا المنماة في وسط KB بتركيز 10^7–10^8 وحدة تكوين مستعمرة/مل لمدة ٩٠ دقيقة أما المعاملات المتضمنة على الفطر *T.harzianum* فتضمنت اضافة لقاح الفطر المحمل على بذور الدخن المحلي الى معاملات الفطر الاحيائي وبمعدل 0.5 غم لكل جوره

بعد ١٤ يوم من الإنبات حسبت النسبة المئوية للإنبات كما تم إعادة عزل الفطر من البادرات المصابة وبعد ٣٠ يوماً من الزراعة خفت النباتات الى نبات واحد لكل جورة كما حسبت % للإصابة كل ١٥ يوماً وفي نهاية موسم النمو قلعت ١٠ نباتات من كل معاملة ولكل مكرر ونظمت جذورها بشكل جيد بعد غسلها بماء جاري وحسبت لها المعايير الآتية :

١- معدل عدد القرنات في النبات الواحد.

٢- معدل عدد البذور في القرنة الواحدة.

٣- معدل عدد البذور في النبات الواحد.

٤- معدل وزن ١٠٠ بذرة.

النتائج والمناقشة

١- عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور وقواعد سيقان الباقلاء

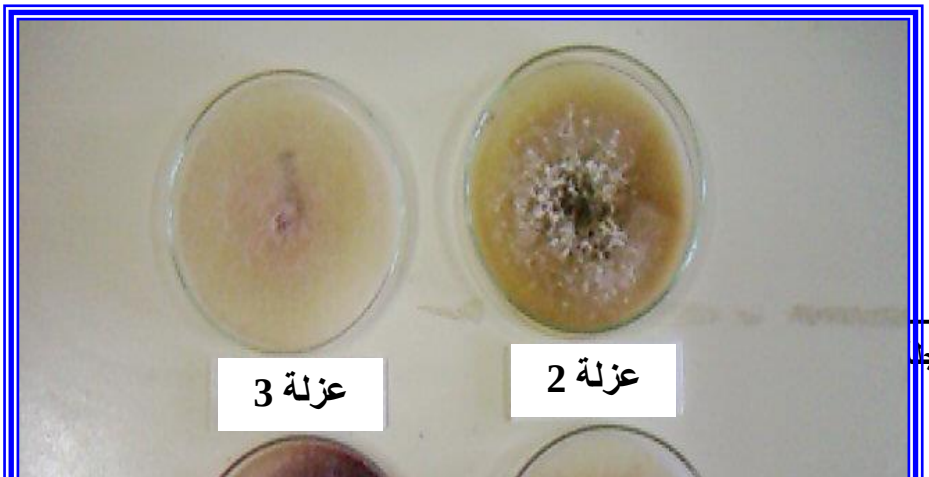
تم عزل وتشخيص عدة أجناس فطرية من جذور وقواعد وسيقان نباتات الباقلاء التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان جدول (١) وكان أكثرها تكراراً هو الجنس *Rhizoctonia* بنسبة ظهور بلغت ١٠٠% فيما سجل الفطر *Fusarium* نسبة ظهور بلغت ٧١,٧٧% ويتفق ذلك مع دراسات سابقة أشير فيها الى تواجد هذين الفطرين بنسبة عالية في جذور وقواعد سيقان الباقلاء المصابة بهذا المرض (٢) كما تم في هذه الدراسة عزل وتشخيص أربعة عزلات تابعة للفطر *R.solani* صورة (١).

٢- القابلية الامراضية لعزلات الفطر *R.solani*

أظهرت نتائج اختبار القدرة الامراضية جدول (٢) صورة (٢) وجود فروق معنوية بين عزلات الفطر *R.solani* إذ كانت العزلتين R_3 و R_4 من اشد العزلات تأثيراً في خفض النسبة المئوية للإنبات حيث بلغت ٦٦ و ٦٣% على الوالي مقارنة بـ ٨٠ و ٨٠ و ١٠٠% للعزلات R_1 و R_2 ومعاملة المقارنة على التوالي كما سببت العزلة R_4 أعلى نسبة إصابة للبادرات بعد البزوغ بلغ ٩٢% مقارنة بـ ٥٢ و ٣٨ و ٢٧% للعزلات R_3 و R_2 و R_1. أن نتائج هذه التجربة جاء متفقة مع دراسات عديدة أشارت الى تباين القدرة الامراضية لعزلات الفطر المختلفة بين عزلات شديدة الامراضية الى أخرى ضعيفة أو غير ممرضة كما ويسبب بعضها تعفن للبذور قبل الإنبات بنسبة اكبر من موت البادرات أو النباتات الكبيرة أو العكس (٣٦،١٤). أن تفوق العزلة R_4 قد يعود الى قابليتها على إفراز الإنزيمات المحللة بنسبة اكبر من غيرها من العزلات كإنزيم Cellulase و Pectinase وبعض السموم مثل Phenyl acetic acid ومشقاته الهيدروكسية (٣٦،٣٥) وفي ضوء تلك النتائج رشح العزلة R_4 لإجراء الدراسات اللاحقة.

جدول (١): أجناس الفطريات المرافقة لجذور وقواعد سيقان نباتات الباقلاء المصابة

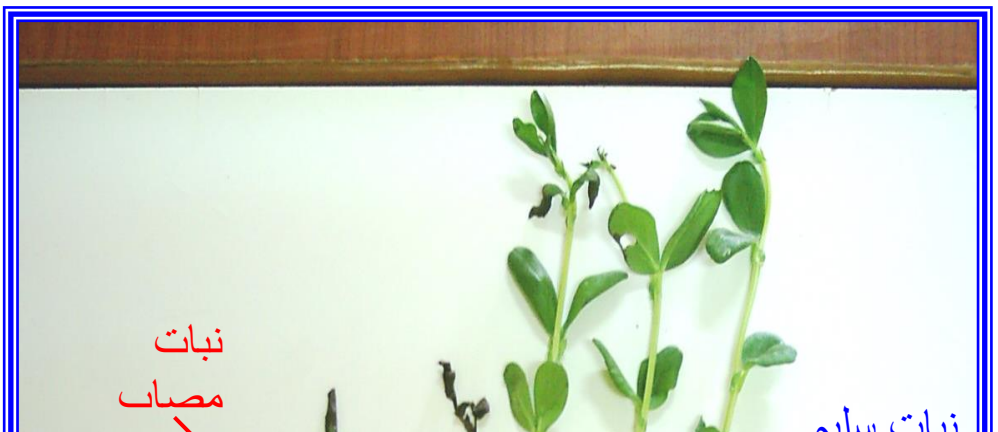
ت	الفطر	% للظهور
١	*Alternaria alternate* (Fries) këissler	٦٦,٢
٢	*Aspergillus flavus* van Tieghem	٣٠,٣٣
٣	*Aspergillus niger* van Tieghem	٣٥,٤٨
٤	*Fusarium solani* (Mart) saccarde	٦٩,٣٥
٥	*Fusarium* sp.	٧٤,١٩
٦	*Rhizoctonia solani* kuhn	١٠٠



جدول (٢): تأثير عزلات الفطر *R.solani* في النسبة المئوية لإنبات بذور الباقلاء وموت بادراتها

العزلة	% للإنبات	% للإصابة بعد البزوغ

R_1	٨٠	٢٧
R_2	٨٠	٣٨
R_3	٦٦	٥٢
R_4	٦٣	٩٢
Control	١٠٠	٠
R.S.D 0.05		



٣- اختبار القدرة التضادية لفطر المقاومة الاحيائية *Trichoderma harzianum* ضد الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* .

أظهرت نتائج التجربة التضادية كفاءة عالية للفطر الاحيائي *T.harzianum* ضد الفطر الممرض R.solani اذ بلغت النسبة المئوية االتثبيط 85.55 % ، وجاءت نتائج هذه التجربة متفقة مع نتائج العديد من الباحثين والتي اشارت فيها الى كفاءة الفطر *T.harzianum* في تثبيط العديد من المسببات المرضية ومنها الفطر R.solani ويعود سبب التاثير الى امتلاك هذا الفطر الاحيائي

الى العديد من الاليات التي تؤثر على نشاط الفطريات الممرضة كالتطفل المباشر وافراز الانزيمات مثل Celluase و B-(1-3)glucanase و Chitinase التي لها القدرة على تحطيم الـ glucans في جدران خلايا الفطر الممرض وانتاج المضادات الحيوية مثل Trichodermin و Trichodermol و Harzianolide (، ٨ ،٣٠ و ١٢) كما تتفق نتائج هذا الاختبار مع ماذكره الرفاعي (٥) بان للفطر *T.harzianum* تاثير كبير في الحد من نمو الفطر *R.solani* المسبب لمرض موتن بادرات الطماطه اذ بلغ معدل النمو القطري للفطر الممرض ١,١٧ سم في اطباق الزرع المزدوج قياسا بـ ٩ سم في معاملة المقارنة.

٤- اختبار الكفاءة التضادية بين البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والفطر *R.solani*

اظهرت نتائج هذا الاختبار أن لبكتريا *P.fluorescens* كفاءة تضادية عالية ضد الفطر *R.solani* في وسط PDA حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط في نمو الفطر ١٠٠% صورة (٣). ويتفق ذلك مع ما ذكره بعض الباحثين حول قدرة البكتريا *P.fluorescens* في تثبيط نمو العديد من الفطريات الممرضة للنبات ومنها *R.solani* و *Pythium ultimum* (١٠) كما وجد أن هذه البكتريا تسبب تحلل الأجسام الحجرية لهذا الفطر وتثبيط إنباتها (٢٧) وقد تعود القدرة التضادية العالية لهذه البكتريا الى إنتاجها للمضادات الحياتية مثل Phenazins (٤٠) أو إنتاج Lipopetide cyclic ومركب Amphisin (١٠) أو إنتاج مركبات Siderophores و Pterins و Pyrroles (٣٧) أو إنتاج الإنزيمات المحللة لجدران الخلايا الفطرية مثل إنزيم endochitinale (٣٤) كما وجد ان للبكتريا *P.fluorescens* كفاءة عالية

في تثبيط نمو الفطر *R.solani* في الاوساط الزرعية واظهرت نفس الكفاءة ضد الفطر الممرض نفسه على القطن في التجربة الحقلية (٤٧، ٤).

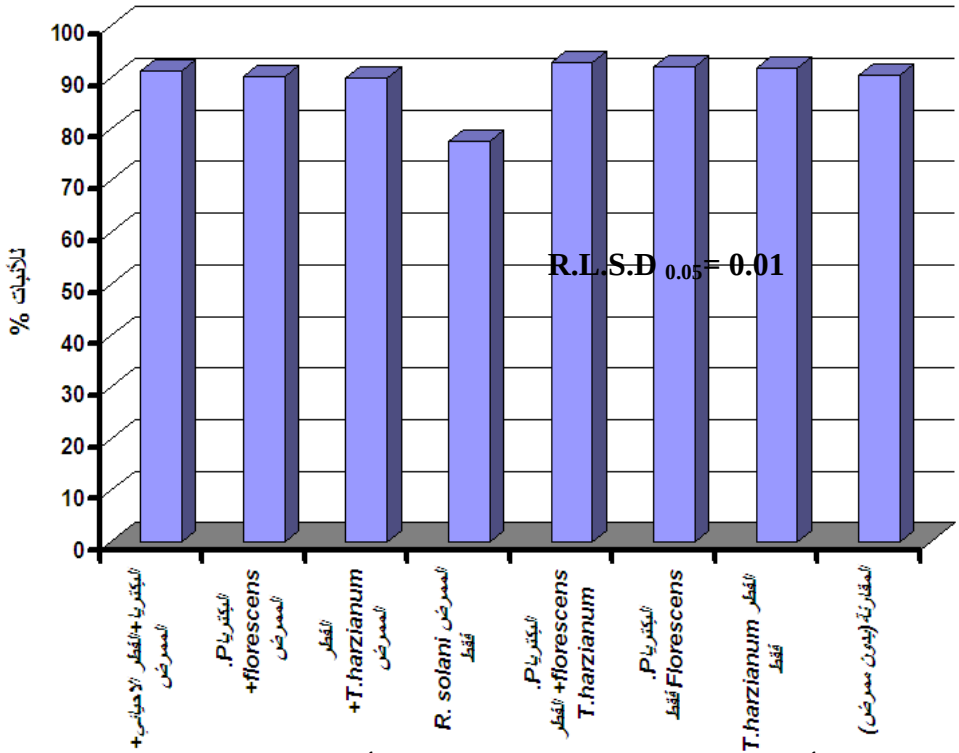
٥- المكافحة الاحيائية لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء المتسبب عن الفطر *R.solani*

a – التأثير في النسبة المئوية لإنبات البذور

أظهرت نتائج هذه التجربة شكل (١) تأثيراً واضحاً في خفض النسبة المئوية لإنبات البذور. إذ بلغت هذه النسبة ٧٧,٧٧% في التربة الملوثة بلقاح الفطر الممرض مقارنة بـ ٩٠,٤٤% في التربة غير الملوثة مما يشير الى قدرة هذا الفطر على إحداث تعفن للبذور قبل الإنبات إلا أن استخدام البكتريا *P.fluorescens* بمفردها أو مع الفطر الاحيائي *T.harzianum* قد قلل بشكل واضح في التأثير السلبي للفطر إذ ارتفعت هذه النسبة من ٧٧,٧ الى ٩١,٣٢% و ٩٠,١٢% و ٨, ٨٩% في معاملة البكتريا + الفطر الاحيائي *T.harzianum* ومعاملة البكتريا فقط ومعاملة الفطر الاحيائي بمفرده على التوالي.

وتتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة أشير فيها الى أن البكتريا *P.fluorescens* سببت زيادة في النسبة المئوية لبزوغ بادرات القطن من خلال تثبيط نمو الفطرين *R.solani* و *Pythium ultimum* (٦) كما أدت معاملة بذور الطماطة بهذه البكتريا الى تقليل موت البادرات المتسبب عن الفطر *R.solani* (٥).وايضا تتفق مع نتائج سابقة اشارة الى كفاءة الفطر *T.harzianum* في تحسين معظم مؤشرات النمو كالنسبة المئوية للانبات والاوزان الطرية والجافة (٢٢, ٣٨) وعلى قدرته على افراز المضادات الحياتية التي تقلل من كثافة الفطريات الممرضة للنبات او حماية البذور من الفطريات الممرضة (٣١, ٤٣) كما تتفق هذه النتيجة مع ماذكره صالح وبدن (٤) اذ

وجدا ان للفطر *T.harzianum* تاثيرا كبيرا في رفع النسبة المئوية للانبات وخفض نسبة موت البادرات المتسبب عن الفطر R.solani في الطماطه.



شكل(٣) تأثير البكتريا *P. fluorescens* والفطر الأحيائي *T.harzianum* وتداخلاتهما في النسبة المئوية للأنبات

b – التأثير في مؤشرات الإنتاج

أوضحت النتائج المبينة في جدول (٣) تفوق معاملة البكتريا + الفطر الاحيائي *T.harzianum* + الممرض وبفارق معنوي عن معاملة الممرض فقط في معدل عدد القرنات في الفرع ومعدل عدد القرنات في النبات الواحد إذ بلغ معدل هاتين الصفتين ٤,٦٦ و ٣٠,٢ على التوالي مقارنة بـ ٣,٣٣ و ١١,٤ في معاملة الفطر الممرض. كما أدى استخدام البكتريا + الفطر الاحيائي *T.harzianum* أو البكتريا فقط او الفطر الاحيائي فقط الى زيادة

عدد البذور في النبات الواحد إذ بلغ معدل هذه الصفة ٩٥ و ٨١,٣٤ و١, ٨٢ بذرة/نبات في تلك المعاملات على التوالي مقارنة بـ ٢٢,٢ بذرة/نبات في معاملة الفطر الممرض.

وأظهرت النتائج أن استخدام البكتريا *P.fluorescens* بمفردها أو بتداخلها مع الفطر الاحيائي او الفطر الاحيائي بمفرده قد سببت زيادة في معدل وزن ١٠٠ بذرة بلغ ١٨٩,١١غم و١, ١٩٣ و٦, ١٨٣غم على التوالي مقارنة بـ ١٠٨,٨١غم في معاملة الفطر الممرض فقط. أن تحسين مؤشرات الإنتاج عند استخدام البكتريا او الفطر الاحيائي بمفرده او تداخلهما معا قد انعكس بشكل واضح في زيادة معدل حاصل النبات الواحد إذ بلغت نسبة الزيادة في الحاصل ٤٢,٤٦ و٧٣, ٤٠ و ٦٥, ٤٣ % غم على التوالي في النبات الواحد مقارنة بمعاملة الفطر الممرض. يمكن تفسير تفوق معاملة النباتات الملقحة بالبكتريا *P.fluorescens* والفطر الاحيائي *T.harzianum* في جميع صفات المحصول المدروسة الى كفاءة البكتريا والفطر الاحيائي في منع التاثيرات السلبية للفطر الممرض والذي يدعم هذه النتائج التثبيط العالي الذي اظهرته البكتريا ضد الفطر الممرض في الوسط الزرعي حيث بلغت نسبة التثبيط ١٠٠ % وكذلك التثبيط الذي اظهره الفطر *T.harzianum* ضد الفطر الممرض والذي بلغ ٥٥, ٨٥ % ويعود الفعل التثبيطي للبكتريا *P.flourescens* الى عدة اليات ابرزها :

١- قدرة البكتريا على انتاج انواع مختلفة من المضادات الحيوية مثل سيانيد الهيدروجين و Pyoluterim و Phenazine و Carbocylic acid و Diacetylphloroglycimol (٢٨،٢٥ ، ٤٠ ، ٤٢).

٢- قدرة البكتريا *P.flourescens* على تحفيز المقاومة الجهازية Induced Systemic Resistance (ISR) في النباتات المعاملة بها وانتاج مركبات مثبطة لفعل الممرض (٢،٤،٣١)

اما كفاءة الفطر الاحيائي *T.harzianum* في تثبيط فعل الفطر الممرض فقد اشارت عدة بحوث الى قدرة على كبح نشاط العديد من المسببات المرضية بواسطة العديد من الاليات مثل التطفل وافراز الانزيمات المحللة مثل Chitinase و Cellulase وكذلك التنافس على العناصر الغذائية المهمة مثل الحديد والكاربون (١٥) كما وجد ان للفطر الاحيائي *T.harzianum* القدرة على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات العائل (٢٩).وازالة الضرر المتسبب عن الفطرين *Rhizoctonia solani* و *Fusaruim oxysporum* وزيادة محصول الحنطه (٧) .

جدول (٣): تأثير البكتريا *P.fluorescens* والفطر *T.harzianum* وتداخلاتهما في مؤشرات الحاصل لنبات الباقلاء

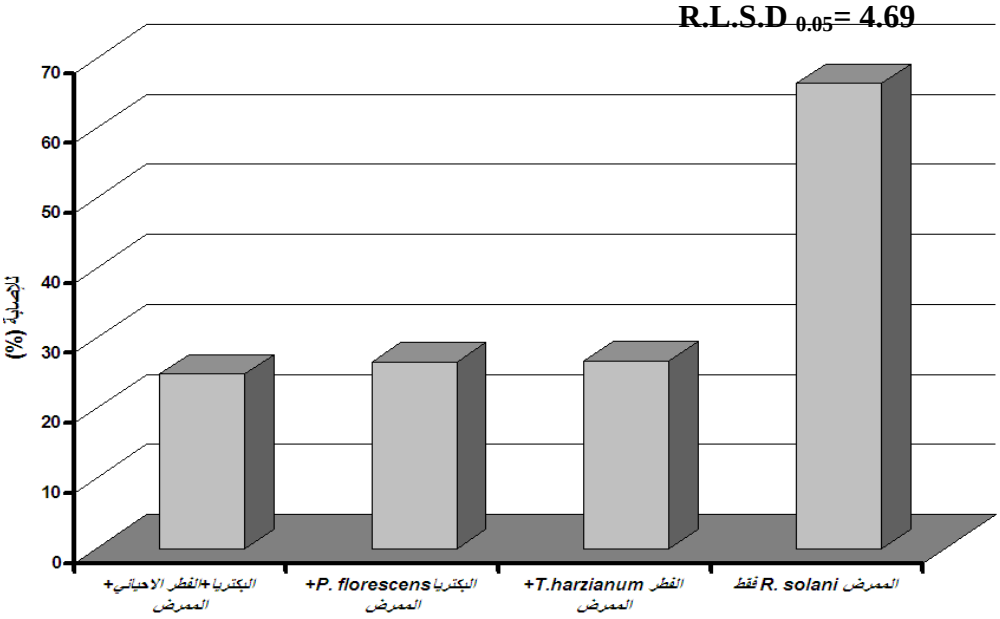
المعاملات	معدل	معدل عدد	معدل عدد	معدل عدد	معدل عدد

	وزن ١٠٠ بذرة/غم	البذور في النبات الواحد	البذور في القرنة الواحدة	القرنات في النبات الواحد	القرنات في الفرع الواحد
البكتريا + الفطر + الممرض	,١٦ ١٩٣	٩٥	٣,٣	٢٨,٧٩	٤,٦٦
البكتريا + الممرض	١٨٩,٤٤	٨١,٣٤	٣,١	٢٦,٢٤	٤,٦٦
الفطر الاحيائي+ الممرض	١٨٣,٦	٨٢,١٤	٢,٢٢	٢٦,٤٩	٤,٦٦
الممرض *R.solani*	١٠٨,٨١	٢٢,٢٢	١,٩٥	١١,٤	٣,٣٣
البكتريا + الفطر الاحيائي	١٩٥,٣٦	١١١,٥٨	٣,٤	٣٢,٨٢	٥,٦٦
البكتريا *P.fluorescens*	١٩٣,٢١	١٠٥,١٥	٣,٥	٣٠,٩	٥,٣٣
الفطر *T.harzianum*	١٩١,٧٢	٩٦,٥٥	٣,٢٤	٢٦,٨٤	٤,٦٦
مقارنة بدون ممرض	١٥٥,٥	٨٦,٩٦	٣,٢٤	٢٦,٨٤	٤,٦٦
R.L.S.D 0.05	٤,٢٦	٢٤,٦٣	٠,٠٢	٣,٥٢	٠,٥

c – التأثير في النسبة المئوية للإصابة

أظهرت النتائج شكل (٢) أن أحسن المعاملات في خفض النسبة المئوية للإصابة بالمرض هي معاملة البكتريا *P.fluorescens* + الفطر الاحيائي *T.harzianum* ومعاملة البكتريا بمفردها و معاملة الفطر الاحيائي بمفرده حيث بلغت النسبة المئوية للإصابة في تلك المعاملات ٢٤,٩٤ و ٢٦,٦٦ و ٢٦ ,٨٢ على التوالي مقارنة بـ ٦٦,٤٢ في معاملة الفطر الممرض فقط. أن خفض الإصابة بالمرض باستخدام هذه البكتريا يتفق مع العديد من الدراسات التي أشير فيها الى قدرة هذه البكتريا في خفض الإصابة بعدة أمراض

نباتية فقد وجد Amini (٩) أن أربعة عزلات من البكتريا *P.fluorescens* خفضت الإصابة بمرض الذبول الفيوزيومي في الطماطة بنسبة ٨ مرات اقل من معاملة المقارنة . كما سببت البكتريا *P.fluorescens* تثبيط للنسبة المئوية للإصابة بمرض لفحة غمد الرز المتسبب عن الفطر *R.solani* بنسبة ١٠,٥% مقارنة بـ ٥١% في معاملة المقارنة (٢٧).كما جاءت نتائج هذه التجربة متفقة مع نتائج العديد من الباحثين والتي اشارة الى كفاءة الفطر الاحيائي *T.harzianum* في تثبيط نشاط الفطر الممرض الى امتلاك العديد من الاليات والتي يؤثر من خلالها في الفطر الممرض كالتطفل المباشر وافراز الانزيمات وانتاج المضادات الحيوية او انتاج المركبات السامة مثل Sesquiterpene و Gliotoxin و Pyron (٣٠,٢٤) وهذه النتائج تتفق مع ماذكره (٤٣) بان معاملة بذور الحنطة بالفطر *T.harzianum* ادى الى توفير الحماية لها من مهاجمة فطريات التربة الممرضة .



شكل(٢) تأثير البكتريا *P .fluorescens* والفطر الأحيائي *T.harzianum*

المصادر

١- الخشن، علي وعبد الباري احمد نور (١٩٨٥). أنتاج المحاصيل. الجزء الثاني، المعاملات، دار المطبوعات الجديدة، مصر.

٢- جاسم ، ناجي سالم (٢٠٠٧) . دراسة مرض تعفن جذور وقواعد سيقان محصول الباقلاء المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* (Kuhn) في محافظة البصرة ومكافحته إحيائيا وكيميائيا .أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة ، ١٢٣ صفحة .

٣- جبر، كامل سلمان (٢٠٠١). مسح لمرض تعفن جذور وقواعد وسيقان الباقلاء وتشخيص الفطريات المسببة له ومكافحته احيائياً. مجلة العلوم الزراعية العراقية، ٣٢ (٢): ١٢٧-١٣٢.

٤- الجبوري ، صبا باقر عبد خلف (١٩٩٨). اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* على محصول القطن ، الاستجابة والمقاومة الحيوية لمرض الخناق المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد ،٩٩ صفحة

٥- الرفاعي ، فيصل عبد الرحمن محمد (٢٠٠٤) . المكافحة المتكاملة لمرض موت بادرات الطماطه *Lycopersican esculantum* المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn .رسالة ماجستير ،كلية الزراعة ، جامعة البصرة ، ٨٦ صفحة

٦- صالح ، يحيى عاشور ومحمد محسن بدن (٢٠٠٠) . المقاومة الكيميائية والحياتية للفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn المسبب لموت البادرات في الطماطه . مجلة البصرة للعلوم الزراعة ، ١٣(٢):١٠١ – ١١٢

٧- حمودي ، عبد الحميد محمد (١٩٩٩). تشخيص الفطريات المتواجدة في جذور الحنطة وتاثيرها على الفطرين *Rhizoctonia solani* Kuhn و *Fusarium graminearum* Shcwab . رسالة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة البصرة ،٢٢١ صفحة

8. Amara, M. A., Robie, K. A. and Talkhan, A. C. (1996). Activety of *Pseudomonas fluorescens* mutant in relation to growth regulators production and biological control in Tomato plant. Annal. of Agricultare Science Cario. 41 (1) 111-124 (Abstract).
9. Amini, Johanshir (2006). Biocontrol of Fusarium wilh of Tomato. Ninth Arab congress of plant protection. 19-23 November 2006. Damascus, Syria. (Abstract).
10. Anderson, J. B., Koch, B., Nielsen, T. H., Sorensen, D., Hansen, M., Nybroe, O., Christophere, C., Soren, J., Molin, S. and Gvskove, M. (2003). Surface motility in *Pseudomonas* sp Dss required for sfficient biological containment of root pathogenic micro fungi *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. Microbiology. 149:37-46 (Abstruct).
11. Behzad , H ; Torabi- Giglou , M ; Mohammadi , M .R . Davari , M, (2008) . Biological potential of some Lranian *Trichoderma* isolates in the

control of soil born plant pathogenic fungi . African . J . Biotechnology.

12. Behzad , H., Torbi – Giglou , M. , Mohammadi, M . R., Davari , M., (2008) . Biological potential of some Iranian *Trichoderma* isolates in the control of soilborn plant pathogenic fungi . African .J. Biotechnology . 8:967 – 972 .
13. Booth, C. (1971). The genus *Fusarium.* Common. Mycol. Inst. Surry, U.K. 237pp.
14. Castanho, B., Bulter, E. E. and Shepherd (1978). The association of double stranded RNA with *Rhizoctonia* decline. Phytopathology. 68: 1515-1519.
15. Chet,I.(1990). Biological control of soilborne pathogen with fungal antagonists in combination with soil treatment .In: Biological control of soilborne pathogens (pp 15 – 25) .D.Hornby, R.J.Cook,Y.Henis,WH.KO A.D.Rovira, B. S
16. Deepti, D. and Johri, B. N. (2003). Antifungal from fluorescent pseudomonades. Biosynthesis and regulation. Current. Science. 85: 1693-1703.
17. Deleij, F., Dixon-Hardy, J. E. and Lynch, J. M. (2002). Effect of 2, 4- diacetylphloro glucinal-producing and non-producing strain of *Pseudomonas fluorescens* on root developing of pea seeding in three different soil types and its effect on nodulation by Rhizobium-Biol. Fertile. Soils. 35: 114-121.
18. Dennis , C., Webster , J. (1971) . Antagonistic properties of species group of *Trichoderma* : production of non – volatile antibiotics . Trans.Brit. Myco. Soc. 57:25-39.

19.Domasch, K. H., Gams, W. and Anderson, T. H. (1980). Compendium of soil fungi. Vol.1 Academic press. London.

20.Edington .L ., Khew, K., Barron , G., (1971) . Fungitoxic spectrum of benzimidazol compounds . Phytopathology.61: 42-44.

21.El-Mosallamy, H. M., Elain, M. L., Yonis, S. and Shalaby, M. S. (1990). Histopathological studies or root rot of broad bean plant induced by *Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum* and *Macrophomiua phaseolina*. Zagazig Journal at Agriculture research. 13 (2): 437-449.

22.EL-R afai, I.M;Susan,M.W.A. and Awdalla,O.A.(2003) . Biocontrol of some tomato disease using some microorganism . Pak .J .Biol .Sci .6(4):399-406

23.Graham, P. H. and Vance, C. P. (2003). Legumes : Importance and constraints to greater use. Plant physiology. 131: 872-877.

24.Harman, G.F;Howell,C.R;Viteba,A;Chet,I .and Lorito ,M.(2004) .*Trichoderma* species-opportunistic avirulent plant symbionts. Natural Review Microbiology 2:43-66.

25.Howell, C. R. and Stipanovic, R. D. (1979).Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedling with *Pseudomonas fluorescens* and with antibiotic pyoluterion .Phytopathology 69:480 – 482

26.Judenko, E. (1972). An assessment of economic losses in yield of annual crops caused by pests and problem of economic threshold. PANS. 18: 186-191.

27.Kazempour, M. N. (2004). Biological control of *Rhizoctonia solani* the cause agent of rice sheath blight by antagonistic bacteria in greenhouse and field condition. Plant pathology Journal, 3 (2): 88-96.

28.Keel,C .S;M.Mourhofer ;C.Coisard; J.Laviile;U .Burger;P. Wirthur;D. Htas; G.Defago (1992) .Suppression of roots disease by *Pseudomonas fluorescens* CHAO.Importance of the bacterial secondary metabolic 2 ,4diacetylphloroglucinol . Molecular Plant Microbe Interaction 5:40 – 43

29.Kleifeld , O., and Chet, I. (1992) . *Trichoderma harzianum* intraction with plants and infection on growth response. Plant and soil .144:267-272.

30.Kuguk , C. and Kivang , M . (2002) . Isolation of *Trichoderma ssp* and determination of their antifungal , biochemical and physiological featured. Tarky , J . Biol. 27: 2 47- 253

31.Leeman , S.D.; J.A. Denouden , F.P.M. Vapelt; H. Dirkx; P.A.H. Steijl ; M. Baker, and B.Shipper,(1996).Iron availablility effects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas flurescens* .Phytopathology .86(2):149 – 155.

32.Maurhfer, M., Keel, C., Hass, D. and Defago, G. (1995). Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO with enhanced antibiotic production. Plant pathol. 44: 40-50.

33.Morton ,D.T., Stroubl , NH.(1955) . Antagonistic and stimulatory effects of microorganism upon sclerotium rolfsii – Phytopathology 45:419-420.

34.Nielson, M. N., Sorensen, J. and Perdersen, H. C. (1998). Secondary metabolic and endochitinase dependant antagonism toward plant pathogenic micro fungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. Appl. Environ. Microbe, 64: 3563-3569.

35.Ogoshi, A. (1996). Introduction. The genus Rhizoctonia-1-9pp. (c.f. snech, B., Hare, H. J., Neak, E. F. and Gisse, J. 1996*). Rhizoctoni* species, Taxanomy, Mollecular Biology, Ecology, Pathology and disease control, Kluwer, Academic puplisher printed in Netherlands, 585 pp.

36.Rush, C. M., Carling, D. E., Harveson, R. M. and Mathieson, J. T. (1994). Prevalence and pathogenicity of Anastomosis group of *Rhizoctonia solani* from wheat and sugar beat in texas. Plant Dis. 78: 349-352.

37.Shanahan, P., O'sullivan, D. J., Simpson, P., Glennon, J. D. and O'Gara, F. (1992). Isolation of 2,4-diacety/phloroglucionl from fluorescent pseudomonas and investigation of physiological parameter influncing its production. Appl. Environ Microbial, 58: 353-358 (Abstract).

38.Sivan , A ; Ucko , and Chet , I . (1987) . Biological control of Fusarium crown rot of tomato by

Trichoderma harzianum under field condition . Plant disease . 17:587-592.

39. Sneh, B., Hare, H. J., Neak, E. F. and Gijse, J. (1996). *Rhizoctonia* species: Taxanomy, Mollecular Biology, Ecology, Pathology and disease control. Kluwer Academic puplishers printed in Netherlands, 585 pp.
40. Thomoshow, L. S. and Weller, D. M. (1988). Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*. J. Bacterial. 170: 3499-3508.
41. Velazhanan, R., Samiyppan, R. and Vidhyasekarnan, Relationship between antagonistic activitcs of R. (1999). *Pseudomonas fluorescens* isolate against *Rhizoctonia solani* and their production of Lytic enzymes. J. of plant disease, 106 (3): 224-250.
42. Voisarid , C.; C. Keel., D. Haas and G. Defago, (1989). Cyanide production by *Pseudomonas flurescens* help suppress black root rot of tobacco under gnoto biotic condition , EMBO Journal 8:351- 358.
43. Yildiz , F. (1993) . the role of potential of *Trichoderm*a in biocontrol agent . Anadolu . 3:112-128 .(Abst) .

Combination between the bacteria *Peuodomonas fluorescens* and the Fungus *Trichoderma harzianum* For Control the Root and Stalk Rot of Braod bean Disease Caused By *Rhizoctonia solani*

Naji S. Jassim

Plant Protection Dept. ,College of Agri.

Abstract:

This study was conducted at the Department of plant protection, College of Agriculture, University of Basrah to evaluate the efficiency of the bacteria *Pseudomonas fluorescens* and the fungus *Trichoderma harzianum* against the growth of *Rhizoctonia solani* and control the root and stalk rot Disease caused by this fangs.

The Result showd that bacteria *P.fluorescens* and the fungus *T.harzianum* revealed hight suppression to the growth of the pathogen R.solani on the substrate (PDA).

Also the results of field experiment indicated that the bacteria *P.fluorescens* alone or the fungus *T.harzianum* alone or the intraction between them reduced the rate of infection withy R.solani about 26.66 , 26.82 , 24.94 % respectively , the same result was obtained when used 100 grains which was about 189.11 , 183.6 and 193.1 gm respectively . also these treatments increased the rate of production about 42.46 , 40.73 and 43.65 % respectively , compared with the treatment of pathogen .