المكافحة الاحيائية بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* للفطر *Fusarium chlamydosporum* مسبب مرض اصفرار وتيبس السعف في القمة النامية لشجرة النخيل

ابراهيم خليل حسون   رجاء غازي الجنابي   اسياد عبد الخضر اليساري
الكلية التقنية– المسيب   كلية الزراعة–جامعة كربلاء
e-mail:assyaadd@yahoo.com

المستخلص

اجريت هذه الدراسة لعزل وتشخيص مسبب مرض اصفرار وتيبس السعف في القمة النامية لشجرة النخيل.اظهرت نتائج العزل من جذور اشجار النخيل وجود الفطر *Fusarium chlamydosporum* في بساتين محافظتي بابل وكربلاء ويعد هذا اول تسجيل للفطر *F.chlamydosporum* على اشجار النخيل في العراق.اظهر الكشف الاولي عن العزلات الممرضة للفطر *F.chlamydosporum* باستعمال بذور الفجل الاحمر ان جميع العزلات المختبرة كانت ممرضة وتراوحت نسبة الانبات في معاملاتها من 12 – 27 % وبينت النتائج تأثير عزلة الفطر *F.chlamydosporum* (F.c3) في شدة اصابة شتلات النخيل بعمر 75 يوماً تحت ظروف الظلة الخشبية حيث ان العزلة (F.c3) احدثت ارتفاعا معنوياً في شدة الاصابة اذ بلغت 93.75% قياسا بمعاملة المقارنة التي كانت شدة الاصابة فيها 0.0% وحققت معاملة اضافة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* بتركيز $5 x 10^7$ والبكتريا *Azotobacter chroococcum* بتركيز $6.5x10^6$ (وحدة تكوين المستعمرة/مل) حماية شتلات النخيل من الاصابة بعزلة الفطر الممرض (F.c3) تحت ظروف الظلة الخشبية اذ ادت معاملة البكتريا *P.fluorescens* و *A.chroococcum* الى خفض في شدة اصابة شتلات النخيل حيث بلغت 6.25% و 18.75% على التوالي قياساً بمعاملة الفطر الممرض بمفرده التي بلغت شدة الاصابة فيها 93.75%.

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

Biological control by *Pseudomonas fluorescens* and *Azotobacter chroococcum* bacteria to *Fusarium chlamydosporum* caused yellowing and stiffness of the detached leaves of date palm growth summit

Abstract

The objective of this study was to isolate and identify the pathogen cause yellowing and stiffness of the detached leaves of date palm growth summit.Results of isolation from roots showed presence of the fungal *Fusarium chlamydosporum* in palm trees of Babylon and Karbala provinces , this is the first record of the fungus *F.chlamydosporum* on palm trees in Iraq. The initial detection of pathogenic isolates of *F.chlamydosporum* using red radish seeds showed that all isolates tested were

pathogenic and germination Percentage ranged between 12 – 27% , and the results show the effect of isolate of *F.chlamydosporum* (F.c3) in the severity of injury of palm seedlings 75 days old under the lathe house conditions,the isolate(F.c3) gave a significantly rise in the severity of the injury reached to 93.75% compared to comparison which was 0.0%,the treatment of addition bacteria *Pseudomonas fluorescens* and bacteria *Azotobacter chroococcum* from concentration 5 x 10^7 , 6.5 x 10^6 (colonial unit / Ml) respectively, achieved protection of palm seedlings from injury with the isolate (F.c3) under lathe house conditions, resulted in the treatment of bacteria *P.fluorescens* and *A.chroococcum* to a reduction in the severity of the injury reached to 6.25% and 18.75% respectively compared to the treatment (pathogenic fungal only) that the severity of injury reach to 93.75%.

key words:*Fusarium chlamydosporum* , Date palm diseases , Rhizobacteria

المقدمة

تنتمي نخلة التمر *Phoenix dactylifera* الى العائلة النخيلية Arecaceae وهي من اشجار الفاكهة شبه الإستوائية والتي تحتل مكانة متميزة من الناحية الاقتصادية خاصة في القطاع الزراعي لما تحتويه ثمارها من قيمة غذائية عالية متمثلة بالمواد السكرية والاملاح المعدنية وبعض الفيتامينات بالاضافة الى نسبة من البروتينات (17). يتعرض النخيل في العراق الى الأصابة بمختلف المسببات المرضية الفطرية التي تهاجم المجموع الخضري والمجموع الجذري والتي تسبب تدهور اشجار النخيل في مراحل نموه المختلفة مع انخفاض الإنتاجية والموت في كثير من الحالات (8). ويعد مرض اصفرار وتيبس السعف في القمة النامية لشجرة النخيل من الامراض المهمة التي تسبب فقدان الحاصل بسبب تيبس العذوق وموت اشجار النخيل في المراحل المتقدمة من المرض، حيث يبدأ الاصفرار في السعف الجديد في قلب النخلة ومن ثم تيبس القلب بالكامل يصاحبه ذبول العذوق مع ذبول وجفاف الثمار في المراحل الاولى من النمو وبتقدم المرض تموت النخلة .وتعد المكافحة الاحيائية احد الاستراتيجيات الحديثة في مكافحة امراض النبات نظرا للسلبيات العديدة التي تنتج عن استخدام المبيدات الكيميائية في مكافحة امراض النبات والمتمثلة بالتلوث البيئي والتخصص الدقيق لعمل هذه المبيدات وتكاليفها الباهضة اضافة الى نشوء مقاومة لدى الافات ضد هذه المبيدات، وتتلخص ستراتيجية المكافحة الاحيائية باستخدام الاحياء الدقيقة كعامل مثبط للمرض او تحفيز ميكانيكيات الدفاع لدى العائل (14). لهذا ركزت معظم الدراسات على الكشف عن أحياء مضادة للمسببات المرضية لمقاومة المسبب الممرض، ومن هذه الاحياء البكتريا *Azotobacter chroococcum* التي هي من بكتريا الجذور المشجعة لنمو النبات PGPR(Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (15). وتعد البكتريا *Pseudomonas fluorescens* من الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة بشكل واسع في المقاومة الاحيائية(23). ولأهمية هذه الظاهرة فقد هدفت هذه الدراسة الى:

– عزل وتشخيص مسبب مرض اصفرار وتيبس السعف في القمة النامية لشجرة النخيل واستخدام عاملي المكافحة الاحيائية *P.fluorescens* و *A.chroococcum* في مكافحة الفطر *Fusarium chlamydosporum* المسبب لهذا المرض.

المواد وطرق العمل

– أخذ العينات :

بعد اجراء عملية المسح والتحري عن وجود اعراض الاصابة بمسبب مرض اصفرار وتيبس السعف في القمة النامية لشجرة النخيل تم اخذ العينات من بساتين مختلفة من محافظة بابل وكربلاء . أخذت العينات من محافظة بابل من منطقة (الدبلة ، محطة نخيل ابو سديرة) ، ومن محافظة كربلاء من منطقة (الحر الصغير، السوادة). تم اخذ 10عينات من جذور اشجار النخيل الظاهرة عليها اعراض اصفرار وتيبس السعف في القمة النامية (شكل1) ، والمتلونة بلون بني ووضعت العينات في اكياس بلاستيكية وتم نقلها الى المختبر ووضعت في الثلاجةعلى درجة حرارة 4 مْ من اجل اجراء الفحص.

ب أ

شكل 1: أ – النخلة السليمة ب – اعراض اصفرار وتيبس السعف في القمة النامية لشجرة النخيل

– عزل الفطر *Fusarium chlamydosporum* وتشخيصه :

بعد جلب العينات الى المختبر غُسلت الجذور بالماء الجاري لمدة ساعة، قُطعت الجذور الى قطع صغيرة بطول (0.5–1) سم وتم تعقيمها سطحيا بغمرها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1 % من المحلول التجاري (القاصر) ، غُسلت بعدها بماء معقم ونُشفت بورق نشاف معقم بعدها زُرعت 4 قطع في كل طبق بقطر 9سم تحتوي على الوسط الزرعي المعقم Potato Dextrose Agar (PDA). حُضنت الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±1 مْ واستمرت متابعة الفطريات لإجراء عملية التنقية للفطريات النامية ومن ثم اجراء الفحص. وتم تشخيص النوع *F.chlamydosporum* من جميع العينات التي جرى العزل منها باتباع المفاتيح التصنيفية الواردة في (18) و (22) .

– اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.chlamydosporum* بإستخدام بذور الفجل الاحمر على وسط Water Agar :

اختبرت القدرة الامراضية لاربع عزلات من الفطر F.chlamydosporum (F.c4,F.c3,F.c2,F.c1) الجدول1 بإتباع طريقة (12) المحورة بأستخدام بذور الفجل الاحمر بدلاً عن بذور اللهانة حيث لُقحت اطباق بتري قطر 9 سم حاويه على 15–20 سم³ من الوسط الزرعي W.A (Water Ager) بأقراص قطر 5 ملم من حافة مستعمرات عزلات الفطر F.chlamydosporum المنماة على الوسط الزرعي PDA بعمر 4 ايام كل على انفراد ، وبعد مرور ثلاثة ايام زُرعت بذور الفجل الاحمر المعقمة سطحياً بمحلول هايبوكلوات الصوديوم بتركيز 1% من المحلول التجاري(القاصر) لمدة 3 دقائق بعد تجفيفها بورق نشاف معقم، وبمعدل 25 بذرة لكل طبق.ثم وضعت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±1 مْ لحين اكمال انبات البذور في معاملة المقارنة ، جرى بعدها تسجيل النتائج وحساب النسبة المئوية لإنبات البذور.

تحضير اللقاح:

أ . لعزلة الفطر (F.c3) :

أُستعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لغرض تحضير اللقاح الفطري ، حيث غُسلت البذور جيداً بالماء لإزالة الاتربة والشوائب ، بعدها نُقّعت البذور بالماء لمدة 6 ساعات بعدها تم ازالة الماء منها بواسطة قطعة من الشاش ، وُضعت في دوارق زجاجية سعة 500 مل بمعدل 100غم بذور/ دورق وتم غلق فوهة الدوارق بشكل جيد ووضعت في جهاز التعقيم البخاري Autoclave لمدة ساعة واحدة تحت ضغط 15 باوند/انج^2 ودرجة حرارة 121مْ (13). بعد 24 ساعة أُعيد التعقيم بنفس الطريقة ، تركت الدوارق لتبرد ثم لُقحت بوضع 5 اقراص بقطر 1 سم من حافة المزرعة الفطرية للعزلة (F.c3) والمنماة على الوسط الزرعي PDA بعمر 4 ايام . وضعت الدوارق بالحاضنة تحت درجة حرارة 25±2 مْ لمدة 14 يوماً مع مراعاة رج الدوارق وتحريكها كل 3 ايام لضمان التهوية وتوزيع الفطر على كافة البذور.

ب . للبكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* :

بعد الحصول على عزلتي البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* من مختبر الدراسات العليا(الكلية التقنية/المسيب) تمت تنميتها واكثارها على الوسط N.B (Nutrient Broth) في دوارق زجاجية سعة 250 مل . عُقمت الدوارق في جهاز التعقيم البخاري Autoclave على درجة حرارة 121مْ وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 15 دقيقة ، بعدها تركت الدوارق لتبرد ثم جرى تلقيحها ببكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* بأخذ مسحة من النمو البكتيري على الوسط N.A (Nutrient Agar) بعمر 24 ساعة بواسطة ابرة التلقيح ذو العقدة(Loop) ولقح بها الوسط N.B كل على انفراد ثم رجت الدوارق جيداً وحضنت بدرجة حرارة 27 مْ لمدة 48 ساعة (10).

– تحديد التركيز الفعال من لقاح البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* المثبط لنمو الفطر :*F.chlamydosporum*

تم اتباع الطريقة الاتية لكلا العزلتين البكتيريتين *A. chroococcum* و *P. fluorescens* كلاً على حده لتحديد التركيز الفعال والمثبط لنمو الفطر *F.chlamydosporum* وهي كالآتي :-

تم تحضير سلسلة تخافيف ($10^{-1} - 10^{-10}$) وذلك بأخذ 10 انابيب اختبار معقمة ويوضع في كل منها 9 مل ماء مقطر معقم ، يضاف للانبوبة الاولى 1 مل من الوسط البكتيري (N.B) المنمى عليه البكتريا ويتم رج الانبوبة جيداً فيصبح التخفيف 1(10^{-1}) ثم يؤخذ منها 1 مل ويضاف للانبوبة الثانية ليصبح التخفيف2 (10^{-2})وهكذا. بعدها تم تلقيح اطباق بتري حاويه على الوسط PDA بأخذ 1 مل من كل تخفيف من التخافيف البكتيرية بواسطة ماصه معقمة ووضعت اربع بقع بشكل دائري تبعد عن حافة الطبق 1سم بعدها وضع في مركز الطبق قرص بقطر 0.5سم من حواف المزرعة الفطرية للعزلة *F.c*3 والمنماة على وسط PDA وبعمر 4 ايام وبأربعة مكررات لكل تخفيف مع ترك اربعة اطباق للمقارنه اضيف اليها فطر بمفرده مضافاً اليه 1 مل ماء مقطر فقط، بعدها وضعت الاطباق بالحاضنة على درجة حرارة 25±1 مْ لحين وصول مستعمرة الفطر في معاملة المقارنه الى حافة الطبق ، بعدها تم حساب النسبة المئوية للتثبيط (الجدول 2) حسب معادلة montealegre (21) الاتية:-

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = [1 - \frac{\text{معدل النمو في المعاملة}}{\text{معدل النمو في المقارنة}}] \times 100\ \%$$

– تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* و *A.chroococcum* والمبيد الكيميائي Beltanol في تثبيط نموعزلة الفطر الممرض *F.chlamydosporum* (F.c3) على الوسط الزرعي PDA :

تم اختبار المقدرة التضادية بين البكتريا *P.fluorescens* و *A. chroococcum* والمبيد الكيميائي Beltanol ضد الفطر الممرض *F. chlamydosporum* بإجراء ما يلي : تحضير 8 انابيب اختبار تحتوي كل انبوبة على 9 مل ماء مقطر معقم ، وضع في الانبوبة الاولى 1 مل من عالق البكتريا بواسطة ماصه معقمة مع رج الانبوبة رجاً هادئاً لكي تمتزج المكونات جيداً وأخذ من هذه الانبوبة 1 مل واضيف للأنبوبة الثانية مع الرج المستمر وهكذا حتى نصل للانبوبة الثامنة وبهذا نحصل على سلسلة تخافيف(10^{-1}–10^{-8}) ثم جرى تلقيح اطباق حاويه على الوسط PDA(دون اضافة المضاد الحيوي) بإضافة 1مل / طبق من كل تخفيف مع مراعاة تحضير اربعة مكررات لكل تخفيف مع ترك اربعة اطباق دون اضافة البكتريا للمقارنة ، بعد اضافة العالق البكتيري تم تحريك الاطباق حركة رحوية لضمان توزيع العالق على كافة الطبق ، وفي معاملة المبيد الكيميائي Beltanol تم اضافة 1 مل/طبق من هذا المبيد (بتركيز 1مل/لتر) ، بعدها جرى تلقيح الاطباق بالمركز بقرص قطر 0.5 سم من حواف مزرعة فطرية للفطر *F. chlamydosporum* بعمر 6 ايام ، حضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±1مْ لمدة اسبوع اي بعد وصول النمو الفطري في معاملة المقارنة الى حافة الطبق، وتم حساب قطر مستعمرة النمو الفطري وحساب النسبة المئوية للتثبيط.

- تقييم كفاءة البكتريا *P. fluorescens* و *A.chroococcum* والمبيد Beltanol في شدة اصابة الفطر *F. chlamydosporum* لشتلات النخيل بعمر 75 يوم وبعض معايير النمو تحت ظروف الظلة الخشبية:

نفذت التجربة في الكلية التقنية-المسيب بتاريخ 2013/8/12 وأُعتمد فيها التصميم العشوائي التام (CRD) ، استخدمت أصص بلاستيكية بعدد 20 اصيص حاويه على 3 كغم تربة معقمة مسبقاً بجهاز التعقيم البخاري على درجة حرارة 121مْ وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة ساعة ، وأُعيد التعقيم في اليوم التالي بنفس الطريقة ، وتمت زراعة نوى التمر صنف زهدي بمعدل نواة واحدة في كل اصيص وسقيت الأصص بصورة دورية ومستمره حسب الحاجة ، وبعد 42 يوم بزغت البادرات ، وعند وصول الشتلات الى عمر 75 يوم تم البدء بإجراء المعاملات عليها ، وكانت كالآتي : 1) الفطر *F.chlamydosporum* بمفرده 2) البكتريا *P. fluorescens* + الفطر *F.chlamydosporum* 3) البكتريا *A. chroococcum* + الفطر *F.chlamydosporum* 4) المبيد Beltanol + الفطر *F.chlamydosporum* 5) المقارنة (شتلات مزروعة في تربة معقمة يضاف اليها بذور دخن معقمة فقط). في معاملة الفطر بمفرده تم اضافة الفطر الممرض *F.chlamydosporum* والمحمل على بذور الدخن بنسبة 1% وزن/وزن تربة الى الشتلات ، اما معاملة البكتريا *P. fluorescens* مع الفطر *F.chlamydosporum* ومعاملة البكتريا *A.chroococcum* مع الفطر *F.chlamydosporum* فقد تم اضافة عالق لقاح البكتريا من مزرعة عمرها48 ساعة مع ماء السقي بمقدار 30 مل/اصيص من التركيز 5× 10^7(وحدة تكوين المستعمرة/مل) للبكتريا *P. fluorescens* ومن التركيز 6.5 x 10^6 للبكتريا *A.chroococcum* بعد اضافة الفطر الممرض بـ 7 ايام (6)و(1). اما معاملة المبيد مع الفطر فقد اضيف المبيد Beltanol بتركيز 1مل/لتر حسب توجيهات الشركة مع ماء السقي المضاف للأصص لحد الاشباع بعد يوم واحد من اضافة الفطر الممرض *F.chlamydosporum* (3).وبعد مرور ثلاثة اشهر تم تسجيل النتائج وحساب شدة الاصابة حسب الدليل المرضي التالي:

0=مجموع جذري ابيض اللون لم تظهر عليه اصابة ومجموع خضري ذو لون طبيعي (اخضر)

1=تلون من 1-25% من الجذر بلون بني فاتح او تيبس 25% من مساحةالنمو الخضري لشتلات نوى التمر من الاعلى للاسفل.

2=تلون من 26-50% من الجذر بلون بني غامق او تيبس 50% من مساحةالنمو الخضري لشتلات نوى التمر من الاعلى للاسفل.

3=تلون من 51-75% من الجذر بلون بني غامق او تيبس 75% من مساحةالنمو الخضري لشتلات نوى التمر من الاعلى للاسفل.

4=تلون(او موت النبات) من 76-100% من الجذر بلون بني غامق او تيبس اكثر من 75% من مساحة النمو الخضري لشتلات نوى التمر من الاعلى للاسفل.

وحُسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة Mchinney:

$$\text{شدة الاصابة} = \frac{\text{مجموع}\ (\text{عدد النباتات المصابة} \times \text{درجة اصابتها})}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة} \times \text{اعلى درجة اصابة}} \times 100\%$$

وتم حساب الوزن الطري والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري وطول المجموع الخضري والجذري.

النتائج والمناقشة

– العزل والتشخيص

اظهرت نتائج العزل من جذور اشجار النخيل المصابة والتي ظهرت عليها اعراض اصفرار السعف في القمة النامية وجود النوع *F. chlamydosporum* في جميع العينات التي تم العزل منها، والذي يتميز بغزل فطري مقسم جيد التكوين مع تكوين ثلاثة انواع من الابواغ وهي الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia والتي تتميز بشكلها البيضوي او الاسطواني وغير مقسمة والابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia والتي تتميز بكونها مغزلية الشكل وهلالية ومقسمة طوليا وعرضيا بأكثر من تقسيم والابواغ الكلاميدية Chlamydospores والتي تتكون بشكل مفرد او بشكل سلسلة على فروع جانبية صغيرة او وسط الغزل الفطري وتكون ذات جدران متثخنة .

– اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.chlamydosporum* بأستخدام بذور الفجل الاحمر على الوسط Water Ager :

اظهرت النتائج في الجدول 1 ؛ ان جميع عزلات الفطر التي تم اختبارها ادت الى خفض معنوي في النسبة المئوية للإنبات قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت النسبة المئوية لإنبات البذور فيها الى 98% واعطت عزلة الفطر (F.c3) (كربلاء/ الحر الصغير) اقل نسبة مئوية للانبات 12% وبفروقات معنوية على باقي العزلات، تلتها العزلة (F.c1) (بابل/الدبلة) والتي بلغت نسبة الإنبات فيها 20% ، تلتها العزلة (F .c2) (بابل/ محطة نخيل ابو سديرة) والتي حققت نسبة انبات 24% ، في حين بلغت نسبة الإنبات في العزلة (F.c4) (كربلاء/السوادة) 27%.

الجدول 1: اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.chlamydosporum* بإستخدام بذور الفجل الاحمر على الوسط Water Ager

الموقـــع	رمز العزلة	النسبة المئوية للأنبات (%)	النسبة المئوية للتثبيط (%)
بابل / الدبلة	F .c1	20	80
بابل / محطة نخيل ابو سديره	F .c2	24	76
كربلاء /الحر الصغير	F .c3	12	88
كربلاء / السوادة	F .c4	27	73
المقارنة		98	0.0
L.S.D 0.05		**1.81**	**3.94**

**كل رقم في الجدول يمثل معدل لاربع مكررات

ان هذه الاختلافات في تأثير العزلات الفطرية على نسب الإنبات لبذور الفجل الاحمر قد يعود الى كمية ونوعية المواد السامة التي تفرزها هذه العزلات اهمها المركب Chlamydosporol حيث تزداد قابلية العزلات على افراز هذا المركب مع زيادة قابليتها الامراضية بالاضافة الى افراز المواد السامة. واظهرت عزلات هذا الفطر فرقا معنويا فيما بينها في نسبة انبات بذور الفجل الاحمر ويعود ذلك للأختلافات الوراثية بين عزلات الفطر(11). او قد يعود اختلاف العزلات الى مقدرتها على افراز الانزيمات المحللة للكنين في جدار خلايا العائل مثل Lignin peroxidase وما لهذا من اثر في احداث الاصابة وانتشار السموم والانزيمات في تلك الخلايا(19).

– تقييم كفاءة البكتريا *A.chroococcum* و*P.fluorescense* والمبيد Beltanol في تثبيط نمو عزلة الفطر *F.chlamydosporum* (F.c3) على الوسط الزرعي PDA :

اظهرت النتائج المبينة في الجدول 2 ، ان معاملة البكتريا *P.fluorescens* بتركيز 5×10^7 وحدة تكوين مستعمرة/مل اثبتت قابليتها على تثبيط عزلة الفطر F.c3 حيث اعطت نسبة تثبيط 78.02% تلتها معاملة البكتريا *A.chroococcum* بتركيز 6.5×10^6 وحدة تكوين مستعمرة/مل والتي بلغت 71.83% قياساً بمعاملة المبيد Beltanol التي بلغت نسبة التثبيط فيها100%، امامعاملة المقارنة فقد كانت نسبة التثبيط فيها صفراً، وقد يعود سبب قدرة البكتريا *P.fluorescens* على تثبيط نمو الفطر الممرض إلى إنتاجها بعض المضادات الحيوية مثل Lipopeptide cyclic ومركب Amphisin وإنتاجها بعض الأنزيمات المحطمة لجدران الخلايا الفطرية مثل إنزيم Endochitinase (9). وكذلك افراز بعض الانزيمات المثبطة للعديد من الفطريات ومنها Chitinase و(1-3) β Glucanase و Protease و Lipase لذا فانها تمتلك فعلا تضاديا قويا ضد عزلة الفطر الممرض.

اما معاملة البكتريا *A.chroococcum* فقد يعود سبب قدرتها على تثبيط عزلة الفطر الممرض الى افرازها لبعض الانزيمات التي لها القدرة على تحليل جدران خلايا الفطر الممرض ومن هذه الانزيمات انزيم Chitinase و Laminarinase و (1-3) β Glucanase وانتاج مضادات حيوية مثل Pyoluteorin ، Herbicolin ، Phenazin فضلا عن انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين(HCN) حيث إن وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة(16) .

الجدول 2: تقييم كفاءة البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescense* في تثبيط نمو الفطر الممرض *F. chlamydosporum* على الوسط الزرعي PDA

المعاملة	معدل النمو الفطري (سم)	النسبة المئوية للتثبيط (%)
الفطر *F.chlamydosporum* بمفرده	8.95	0.00
الفطر *F.chlamydosporum* + المبيد Beltanol	0.00	100
الفطر *F.chlamydosporum* + *P.fluorescense*	1.96	78.02
الفطر *F.chlamydosporum* + *A.chroococcum*	2.52	71.83
L.S.D 0.05	0.15	1.65

* كل رقم في الجدول يمثل معدل لاربع مكررات

– تقييم كفاءة البكتريا *P. fluorescens* و *A.chroococcum* والمبيد Beltanol في خفض شدة اصابة شتلات النخيل بعمر 75 يوم بالفطر *F. chlamydosporum* وبعض معايير النمو تحت ظروف الظلة الخشبية :

بينت نتائج الجدول 3 ، ان جميع المعاملات ادت الى خفض اصابة شتلات النخيل بعمر 75 يوم بالفطر *F.chlamydosporum* وبالتالي اعطت حماية لهذه الشتلات ضد الفطر المذكور وبدرجات متفاوته قياسا بمعاملة الفطر بمفرده ، حيث اظهرت معاملة المبيد Beltanol تفوقاً على المعاملات الاخرى في خفض النسبة المئوية لشدة الاصابة التي بلغت 0.0% والذي لم تختلف معنويا عن معاملة المقارنة السليمة ويعزى التأثير الفعال لهذا المبيد الى تكوين مركبات مخلبية مع النحاس في انسجة العائل وهذا يسهل مروره الى داخل خلايا الممرض وبعدها يتحرر ويؤدي الى قتل المسبب المرضي،وتتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسات اخرى حول تأثير المبيد Beltanol في خفض شدة الاصابة بالفطر *F.spp* للعديد من العوائل النباتية(2)و(7)و(20). في حين كانت النسبة المئوية لشدة الاصابة لمعاملة الفطر *F.chlamydosporum* + البكتريا *P.fluorescens* 6.25% والتي تفوقت على معاملة الفطر *F.chlamydosporum* + البكتريا *A.chroococcum* التي بلغت 18.75% اما في معاملة الفطر بمفرده فقد بلغت النسبة المئوية لشدة الاصابة 93.75% قياساً بمعاملة المقارنة السليمة. وأدى هذا الاختلاف في التأثير بين المعاملات الى الاختلاف في معايير النمو الاخرى للمعاملات حيث كان هناك اختلاف في طول المجموع الجذري وحصلت معاملة الفطر *F.chlamydosporum*+ البكتريا*P.fluorescens* على اعلى نسبة فقد بلغت 33.65 سم والتي لم تختلف معنويا عن معاملة الفطر *F.chlamydosporum* + البكتريا *A.chroococcum* التي بلغت 32.20 سم ولكنها اختلفت معنويا عن معاملة الفطر*F.chlamydosporum*+المبيد Beltanol والتي بلغت 30.25 سم اما معاملة الفطر بمفرده فقد بلغت 21.0 سم قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت 25.75 سم.

الجدول 3: تقييم تأثير البكتريا *P. fluorescens* والبكتريا *A.chroococcum* والمبيد الكيميائي Beltanol في النسبة المئوية لشدة الاصابة وبعض معايير النمو لشتلات النخيل بعمر 75 يوم المصابة بالفطر *F.chlamydosporum* تحت ظروف الظلة الخشبية

المعاملة	شدة الاصابة (%)	طول النبات (سم)		الفرق في طول النبات (سم)	طول الجذر	امتداد التعفن الجذري(سم)
		قبل الاصابة	بعد الاصابة			
الفطر *F.chlamydosporum* بمفرده	93.75	26.66	28.00	1.34	21.00	16.00
الفطر *F.chlamydosporum* + المبيد Beltanol	0.00	26.66	33.66	7.00	30.25	0.00
الفطر *F.chlamydosporum* + *P.fluorescens*	6.25	29.67	43.23	13.56	33.65	3.66
الفطر *F.chlamydosporum* + *A.chroococcum*	18.75	29.33	40.21	10.88	32.20	4.83
المقارنة	0.00	24.66	29.64	4.98	25.75	0.00
L.S.D 0.05	**1.253**	**2.113**	**2.380**	**0.805**	**2.557**	**1.046**

** كل رقم في الجدول يمثل معدل لاربع مكررات

اما بالنسبة لطول الجزء المتعفن من الجذور فقد تفوقت معاملة المبيد Beltanol على المعاملات الاخرى حيث ادى استخدام المبيد الى منع حدوث تعفن للجذور فبلغت نسبة امتداد التعفن0.0 سم في حين ادى استخدام البكتريا *P.fluorescens* الى خفض نسبة امتداد التعفن في الجذور فبلغت 3.66 سم والتي اختلفت معنويا عن معاملةالفطر *F.chlamydosporum*+البكتريا *A.chroococcum* التي بلغت 4.83سم اما معاملة الفطر*F.chlamydosporum* بمفرده فقد كانت 16.0سم قياساً بمعاملة المقارنة التي لم يحدث فيها تعفن 0.0سم. وتفوقت معاملة الفطر *F.ch*+البكتريا *P.fluorescens* في زيادة طول النبات حيث بلغ فرق طول المجموع الخضري13.56سم تلتها معاملة الفطر *F.chlamydosporum*+البكتريا*A.chroococcum* حيث بلغ فرق الطول فيها10.88سم جاءت بعدها

معاملة الفطر *F.chlamydosporum*+المبيدBeltanol حيث بلغ فرق الطول فيها7.0 سم في حين كان الفرق في طول النبات في معاملة الفطر *F.chlamydosporum* بمفرده1.34سم قياسا بمعاملة المقارنة السليمة التي بلغت 4.98 سم وبفارق معنوي بين جميع المعاملات. واشارت نتائج الجدول 4 ، الى تفوق معاملة المبيد Beltanol في زيادة الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري والتي بلغت 4.30 ، 2.20 ، 2.90 ، 1.10 غم على التوالي تلتها معاملة البكتريا *P.fluorescens* التي بلغت 3.70 ، 1.25 ، 2.80، 0.80 غم على التوالي والتي اختلفت معنويا عن معاملة البكتريا *A.chroococcum* التي بلغت 1.80 ، 1.10 ، 1.30 ، 0.30 غم على التوالي ، اما معاملة الفطر *F.chlamydosporum* فقد بلغت 1.50 ، 0.92 ،1.13 ، 0.20 غم قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت 4.20 ، 1.40 ، 2.70 ، 0.72 غم . وقد يعود التأثير الفعال للبكتريا *P.fluorescens* الى قدرتها على انتاج مركبات Siderophore التي تعمل على جذب ايونات الحديد في التربة وبذلك تعمل على حرمان المسببات المرضية من ايونات الحديد، كما ان لها القدرة على انتاج هرمونات نباتية تعمل على تنظيم نمو النبات مثل هرمون Auxin وGibberellin و Cytokinin (5).

الجدول4: تقييم فعالية البكتريا *P.fluorescens* والبكتريا *A.chroococcum* والمبيد الكيميائي Beltanol على الوزن الطري والجاف لكل من المجموع الخضري والجذري لشتلات النخيل بعمر 75 يوم المصابة بالفطر *F.chlamydosporum* تحت ظروف الظلة الخشبية

المعاملة	الوزن الطري (غم)		الوزن الجاف (غم)	
	للمجموع الخضري	للمجموع الجذري	للمجموع الخضري	للمجموع الجذري
الفطر *F.chlamydosporum*	1.50	1.13	0.92	0.20
المبيد Beltanol	4.30	2.90	2.20	1.10
الفطر +البكتريا *P.fluorescens*	3.70	2.80	1.25	0.80
الفطر +البكتريا*A.chroococcum*	1.80	1.30	1.10	0.30
المقارنه	4.20	2.70	1.40	0.72
L.S.D 0.05	**0.50**	**0.05**	**0.03**	**0.07**

** الارقام في الجدول تمثل معدل لاربع مكررات

اما بالنسبة للبكتريا *A.chroococcum* فيعزى تأثيرها الفعال الى امتلاكها خاصية النمو السريع في الوسط الذي تعيش فيه ومقدرتها التنافسية العالية التي تمكنها من الاستيطان في منطقة Rhizosphere وكذلك انتاج انزيمات تقوم بتحليل جدران الخلايا للمسبب المرضي ومنها انزيم Chitinase و Laminarinase وبعضها ينتج انزيم (1-3) β Glucanase وتقوم أيضا بعض أنواع هذه البكتريا بتحلل

مائي لبعض السموم المنتجة من قبل بعض الفطريات الممرضة بحيث يصبح أقل سمية على النبات (4). وقد يعود سبب تفوق البكتريا *P.fluorescens* و البكتريا *A.chroococcum* على المبيد الكيميائي في زيادة طول النبات الى عدة آليات تمتلكها هذه العزلات البكتيرية ومنها تحفيز المقاومة الجهازية للنبات والتأثيرات الهرمونية المحفزة لنمو النبات إضافة إلى تثبيط الفطر الممرض من خلال المضادات الحيوية (Antibiotics) والأنزيمات المحللة(10).

المصادر

1- البياتي، إسراء موفق عبيد .2010 .المكافحة الإحيائية والكيميائية للفطر *Fusarium solani* المرافق لجذور الكمثرى في محافظة بابل. رسالة ماجستير.كلية العلوم.الجامعة المستنصرية .

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

3- الرحماوي، عتاب خير الله دايح.2013.عزل وتشخيص مسببات مرض تدهور النخيل وتأثير مستخلصات ازهار الدفلة وبذور السمسم والبكتريا *Azotobacter chroococcum* في مقاومتها بمحافظة ذي قار.رسالة ماجستير.الكلية التقنية–المسيب.

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

5- المسعودي، ابتسام محمد حسين.2012. تقييم الدور الحيوي لبعض الأنواع البكتيرية في مكافحة مرض تعفن جذور الباقلاء وتحسين معيار نمو النبات في محافظة بابل.رسالة ماجستير.الكلية التقنية–المسيب.

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

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

8- غالي ، فائز صاحب(2001). تدهور النخيل المتسبب عن القطر *Chalara paradoxa* ظروف الاصابة والمقاومة. اطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

9- 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 sfficient biological containment of

root –pathogenic microfungi *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. Microbiology. 149: 37 – 46.

10- Bakker, P. A. H., Weisbeek, P. J. and Schipper, B. (1986). The role of siderophores in plant growth stimulation by *Fluorescent pseudomonas spp*. Med. Fac. Land. Bouww. Rijks. Univ. Gent. 51/3b

11- Barreto , D. ; S. Babbitt ; M. Gally and B. A. Perez .2003. *Nectria haematococca* Causing Root Rot in Olive Greenhouse Plants. Revista de la Soiciedad Argentina de Horticultura , 32:49-55.

12- Bolkan, H.H.; and E.E. Butler. 1974. Studies on Heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 64: 513 – 522.

13- Dewan , M.M.1989. Identity and frequency occurrence of fungi in root of wheat and rye grass and their effect on take_all and host groth.Ph.D. thesis univ . Western Australia . 210 pp.

14- El Hassani,M.;A.El Hadrami;F.Daayf;M Cherif;E.A. Barka and I El Hadrami.2006. Biological control of bayoud disease in date palm: Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions.Environmental and experimental Botany.Elsivier.112-119.

15- EL- Komy, M. H. A. 2001. Biocontrol of soil- borne fungi and increasing production using growth promoting Rhizobacteria. Master Thesis. Faculty of Agriculture- Alexandri Univ.

16- Hillel, D. 2005. Plant Growth Promoting Bacteria. Elsevier, Oxford, U. K.,:103-115.

17- Krüger, M. and Fischer, R..1998**.**Integrity of a Zn-finger like domain in SamB is crucial for morphogenesis in ascomycetous fungi.Microbiology. 17.204-214.

18- Leslie , J. F.and B. A. Summerell .2006.The Fusarium laboratory manual.388 Pp.

19- Lozovaya , V.V.; A.V. Lygin ; O.V. Zernova ; S. Li; J. M. Widholm and G.L. Hartman. 2006.Lignin degradation by *Fusarium solani* f.sp. glycines. plant Dis.90 : 77-82 .

20- Meister, R. T. 2000. Farm chemical Handbook. Listing for Beltanol willough by oH. vol. 86. 45 p. .

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

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

23- Verma, M .; S.K. Brar; R. Y. Surampalli; and J. R. Valero . 2007. Antagonistic fungi , *Trichoderma* spp. : Panoply of biological control . Biochemical Engineering Journal. 37 : 1–20.