Biological control of root rot of Cucumber by a *Rhizoctonia solani*

المقاومة الاحيائية لمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*

كاظم زغير خضير
م / الكلية التقنية المسيب

الخـــــلاصـــــة :-

أجريت هذه الدراسة لتقويم نشاط وفاعلية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* وفطري المقاومة الاحيائية *Glomus intradices* و *Trichoderma harzianum* في حماية نباتات الخيار من الإصابة بعزلة الفطر *R. solani* وانعكاس ذلك على مؤشرات نمو نباتات الخيار تحت ظروف الظلة الخشبية والزراعة الحقلية .

أظهرت نتائج العزل من جذور نباتات الخيار المصابة وجود الفطر*Rhizoctonia solani* من جميع العزلات التي تم عزلها من المناطق المختلفة لمحافظة بابل كما و أظهرت النتائج 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 عزلت الفطر *R.solani* (*R.s2*) إذ لم يحصل فيها إنبات لبذور اللهانة.كما وبينت نتائج معاملات البكتريا *P.fluorescens* + فطر المايكورايزا *Glomus intradices* و البكتريا. *P.fluorescens* + فطر *T.harzianum* و فطر المايكورايزا *Glomus intradces* + فطر *T.harzianum* حماية لشتلات الخيار بعمر28يوما من الاصابة بعزلة الفطر الممرض *R.s2* تحت ظروف الظلة الخشبية اذ ادت الى خفض في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت 18.75% و12.5% و25 % على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 87.5%. كما وحققت نفس المعاملات تحت الظروف الحقلية بوجود الفطر الممرض خفض في النسبة المئوية لشدة الاصابة والتي بلغت 16.25% و 11.25 % و13.00% على التوالي قياسا الى معاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت شدة الاصابة فيها 92.00 % و زيادة معنوية في الاوزان الطرية والجافة واطوال المجموع الخضري والجذري لنباتات الخيار وكانت معاملة البكتريا *P.fluorescens* + فطر *T.harzianum* افضل المعاملات في تجربة الظلة والتجربة الحقلية .وأشارت النتائج أيضا إلى أن جميع معاملات إضافة اكثر من نوع قد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) بمفرده المسبب لمرض تعفن جذور الخيار .

Abstract:-

This experiment was conducted to assess the activity and efficiency of *Pseudomonas fluorescens* bacteria and the bio controlling fungi *Glomus intradices* and *Trichoderma harzianum* in the protection of Cucumber plant from *R. solani* and its impact growth traits under lathhous and field conditions. Results showed that , each insolation of the infected roots contained *R. solani* of cucumber plants from different regions of the province of Babylon ,leading to reduction of germination percent in comparison with the control treatment in which germination percent reached 99%.the *R. solani* isolate caused zero percent of germination . Results also indicated that, *P.fluorescens* + *Glomus intradces* and. *P.fluorescens* + *T.harzianum* and *Glomus intradces* + *T.harzianum* gave protection for Cucumber seedlings at 28 days of infection isolated pathogenic fungus R.s2 conditions under lathhous conditions where the infection intensity reached 18.75% and 12.5 % and 25%, respectively, compared with the control of the pathogenic fungus alone, which amounted to 87.5%.The same treatment under field conditions in the presence of pathogen fungus caused a reduction of the infection intensity by 16.25% and 11.25% , 13.00%, respectively ,as compared to the control treatment of the pathogenic fungus alone, 92.00% and a significant increase in the fresh and dry weight and lengths of root and shoot systems of cucumber plants .The for treating with the bacterium *P.fluorescens* + *T.harzianum* hare fungus caused the best result of lathhous and field conditions .All treatments on the other hand , increased significantly the fresh and dry weights and length of root and shoot systems as compared to the treatment with *R.solani* (R.s2) alone that causes Cucumber root rot.

المقدمة :

يعد الفطر *Rhizoctonia solani* أحد أهم فطريات التربة الممرضة المهمة، يمتاز الفطر بمداه العائلي الواسع إذ يصيب الكثير من نباتات محاصيل الخضر (1)*يعد الخيار* *Cucumis sativus* L. من نباتات العائلة القرعية،حيث شهدت السنوات الاخيرة زيادة المساحة المزروع به (2) إذ رافق هذه الزيادة ظهور العديد من الأمراض ويأتي في مقدمتها موت البادرات وتعفن الجذور المتسببة عن إحياء التربة الممرضة كالفطريات والتي تعد من اخطر الممرضات لكونها تتواجد في التربة التي تحكم بينها علاقات متداخلة ومعقده مع البيئة المحيط بها (3) لقد اتسع استعمال وانتشار الاسمدة الحيوية البكتيرية والفطرية في العقدين الأخيرين من القرن الماضي وذلك نتيجة شحة مصادر الطاقة وما يترتب على ذلك من ارتفاع في أسعار الأسمدة الكيميائية فضلا عن التوجهات الحديثة في تقليل مصادر التلوث البيئي واعتماد التسميد الحيوي كأحد التقنيات الحديثة للحد من الاستعمال المفرط للأسمدة الكيميائية هذا فضلا عن الزيادة المطردة في السكان وقلة الموارد الغذائية (4 ،5) . يعد الفطر*T. harzianum* احد الفطريات الناقصة رمية المعيشة التي تستعمل في مجال المكافحة الحيوية biocontrol على نطاق واسع كما اثبتت عدد من التجارب في كثير من بلدان العالم لا سيما في زيادة جاهزية بعض العناصر كالنتروجين والفسفور والبوتاسيوم من خلال افرازه بعض الانزيمات ومقدرته العالية في تحلل المواد العضوية الموجودة او المضافة الى التربة، فضلاً عن قدرته العالية في اعطاء العائل النباتي المقاومة العالية ضد بعض المسببات المرضية(6 ، 7). اما دور فطريات المايكورايزا فمعروف من حيث مقدرتها على إكساب النبات العائل المقاومة للإصابة بالعديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية والنيماتودا وتعزى هذه الحالة إلى آليات مختلفة ولعل أهمها تلك التي تشير إلى مقدرتها على إفراز منظمات النمو مثل auxins و cytokinins و gibberellins (8) .كما وان للبكتريا *P.fluorescens* قدرة عالية لتثبيط الكائنات الممرضة الاساسية الموجودة في التربة وتاثير تنشيطي في نمو بعض المحاصيل (9). ولتطوير آلية مقاومة الفطر *R.solani* بما يلائم التوسع في زراعة المحصول والعمل على زيادة الإنتاج والحفاظ على البيئة لذا هدف هذا البحث دراسة تاثير معاملات الفطر المايكورايزا/ *G.intradices* وفطر المقاومة الاحيائية *T. harzianum* والبكتريا *P.fluorescens* في حالة إضافتها منفردة أو مجتمعة في مكافحة مسبب مرض تعفن وموت نبات الخيار المتسبب عن الفطر *R.solani*

المواد وطرائق العمل Materials and methods :-

الأوساط الزرعية المستخدمة

استخدمت في هذه الدراسة عدد من الأوساط الزرعية المختلفة لعزل وتنقية الفطريات وتنميتها وتشخيصها ومن اجل إجراء التجارب الخاصة بها ايضاً إذ اختلفت الأوساط المستعملة باختلاف التجربة والغرض من استخدامها وكما موضح في أدناه :

وسط البطاطا الدكستروز الاكار الجاهزPotato Dextrose Agar (P.D.A.)

حضر بإذابة 39 غم في 1 لتر من الماء المقطر(حسب تعليمات الشركة المصنعة) وعقم في جهاز الموصدة في درجة حرارة 121 م° وضغط 15 بأوند /انج^2 لمدة 15 دقيقة وأضيف اليه المضاد الحيوي Tetracycline وصُبَ في أطباق بتري حسب التجربة المطلوبة أو حفظه في الثلاجة لحين الاستعمال .

وسط الاكار المائي (W.A.) Water Agar

حضر بإذابة 17 غم من الاكار في 1 لتر من الماء المقطر وتوزيعه على دوارق زجاجية بحسب الحاجة وعقم الوسط بوساطة جهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند /انج^2 لمدة 15 دقيقة كما في الفقرة السابقة ،وأضيف إليها 250 ملغم / لتر من المضاد الحيوي Tetracycline وصُبَ في اطباق البتري لاستخدامها في تشخيص الفطريات وتصنيفها او حفظها لحين الأستعمال.

وسط Nutrient Agar

حضر بإذابة 28 غم من الوسط الجاهز NutrientAgar في 1 لتر من الماء المقطر وتوزيعه على دوارق زجاجية بحسب الحاجة وعقم الوسط بوساطة جهاز الموصدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند /انج^2 لمدة 15 دقيقة ، وصُبَ في اطباق بتري لاستخدامها لغرض تنمية عزلة البكتريا *P. fluorescence*.او لحفظها لحين الأستعمال.

وسط Nutrient Broth

حضر بإذابة 14 غم من الوسط الجاهز Nutrient Broth في 1 لتر من الماء المقطر وتوزيعه على دوارق زجاجية بحسب الحاجة وعقم الوسط بوساطة جهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند /انج^2 لمدة 15 دقيقة ، لاستخدامها في تنمية واكثار عالق البكتريا *P. fluorescence* لغرض استخدامه في التجارب المختبرية ،الظلة والحقلية .

عزل وتشخيص الفطر الممرض *R. solani*

تم عزل وتشخيص الفطر *R. solani* من نباتات الخيار الذابلة والمأخوذة من البيوت البلاستيكية في محافظة بابل . غسلت البادرات تحت ماء الحنفية الجاري لعدة ساعات حتى يتم ازالة جميع الاتربة العالقة ثم غسلت بعد ذلك بماء مقطر معقم عدة مرات ووضعت على ورق ترشيح معقم لإزالة الماء الزائد منها . أخذت قطع من البادرات المصابة من منطقة التاج وجزء من سويقة البادرة بطول 1- 2 سم بوساطة سكين وملقط معقمين زرعت تلك القطع وبواقع 5 قطع للطبق الواحد وحضنت الإطباق المزروعة في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 2 م° وبعد 2- 3 أيام تم فحص الأطباق وتنقية المستعمرات الفطرية النامية من الاجزاء االمصابه ثم تنقية وتشخيص الفطر *R. solani* بإتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة في (10 ، 11) الخاصة بلفطر *R. solani* ، حفظت العزلات المشخصة والمنقاة في الثلاجة على الوسط الغذائي P.D.A. المائل في انابيب اختبار لإجراء الدراسات اللاحقة عليها.

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

اختبرت المقدرة الامراضية لعزلة الفطر *R.solani* و حسب طريقة (12) ، اذ تم تحضير اطباق بتري قطرها 9 سم تحتوي على 15 - 20 مل من الوسط ألزرعي الاكر والماء Water Ager (20غم آكار ، 1 لتر من الماء المقطر) والمعقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة والمضاف له المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 250ملغم/لتر وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الأطباق في مركزها بقرص قطره 0.5 سم أخذ من قرب حواف مستعمرة الفطريات *R.solani* بعمر3 أيام ، ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 25± 2 م ولمدة ثلاثة أيام ، بعدها زرعت بذور اللهانة المحلية (اختبرت نسبة إنباتها مسبقاً) معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) وبصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة / طبق ، استعملت 4 أطباق لكل عزلة كمكررات بالإضافة إلى معاملة المقارنة بدون فطر ممرض ، وضعت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25± 2 مْ ، ثم أخذت النتائج بعد 7 أيام وذلك بحساب النسبة المئوية للإنبات وحسب المعادلة الآتية :

$$\text{النسبة المئوية للانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

إكثار لقاح الفطر الممرض *R. solani* وفطر المقاومة الحيوية *T. harzianum*

استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliacem L.* لغرض تحضير اللقاحات الفطرية ، بعد ان غسلت جيداً بالماء لإزالة الأتربة والشوائب عنها ، نقعت لمدة 6 ساعات بالماء في بيكر زجاجي ثم ازيل الماء وتركت البذور على قطعة من القماش الشاش لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد منها ، ووضعت في دوارق زجاجية بواقع50 غم منها في كل دورق زجاجي سعة 250 مل . عقمت البذور بجهاز المؤصدة في درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند/انج^2 ولمدة ساعة واحدة ، واعيد التعقيم في اليوم التالي في درجة الحرارة نفسها والضغط نفسه والوقت نفسه. لقحت الدوارق كل على حدة ، وذلك بوضع 4 اقراص قطركل منها 0.5 سم من الوسط الغذائي .P.D.A النامية عليها الفطريات بعمر7 أيام للفطرين *R.solani* و *T.harzianum* لكل دورق، حضنت الدوارق في درجة حرارة 25±2 م° ولمدة 14 يوم اخذين بنظر الاعتبار رج الدوارق كل 3 أيام لضمان توزيع الفطر على جميع البذور (13).

إكثار لقاح فطر المايكورايزا

استعمل لقاح فطر المايكورايزا (*G.intradices*) (تم الحصول عليه من مختبر الدراسات العليا / الكلية التقنية المسيب) والمتكون من (سبورات + جذور مصابة + تربة جافة) وتم إكثار هذا اللقاح بزراعة نباتات بذور الدخن المحلي(*Panicum miliacem* L) في أصص بلاستيكية يحتوي كل منها على (2) كغم تربة رملية معقمة بجهاز المؤصدة على درجة حرارة (121)ْم ولمدة ساعة وأضيف (20) غم من اللقاح تحت الطبقة السطحية لتربة الأصص وبعمق حوالي (5)سم وخلطت (20) غم اخرى من اللقاح مع الطبقة السطحية للتربة وزرعت بذور الدخن المحلي التي سبق وان عقم سطحها الخارجي وذلك بنقعها في محلول الكحول الاثيلي (95%) ثم غسلت (5-6) مرات بالماء المقطر والمعقم وذلك لازالة أي اثر للمواد المعقمة (14) . وزرعت (25) بذرة في الأصيص الواحد .ثم أزيل المجموع الخضري بعد مرور أربعة أشهر من الإنبات ، ووضع خليط التربة والجذور المقطعة الى قطع صغيرة في أكياس بلاستيكية معقمة وحفظت في مكان بارد وجاف لحين استعماله كلقاح .

تحضير لقاح البكتريا *P.fluorescens* ضد الفطر *R.solani*

تم الحصول على عزلة البكتريا *P. fluorescens* (مختبر الدراسات العليا_ أمراض النبات / الكلية التقنية المسيب) حيث جرى إكثارها على وسط Nutrient broth. في دوارق زجاجية سعة 500مل.عقمت الدوارق في جهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121مْ لمدة 15دقيقة ، بعد ذلك جرى تلقيح الوسط بكل من البكتريا المراد تحضيرها بأخذ أربعة اقراص قطر 0.5 سم بوساطة الثاقب الفليني المعقم من النمو البكتيري النامي على وسط Nutrient Agar وتم مزج مكونات الدوارق جيداً وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 48 ساعة (15) .

تحديد التركيز الفعال من لقاح البكتريا *P.fluorescens* المثبط لنمو الفطر *R.solani*

حضرت عشرة أنابيب اختبار تحوي كل أنبوبة 9مل ماء مقطر معقم وتم اخذ 1مل من عالق البكتريا*P.fluorescens* . أضيف إلى الأنبوبة الأولى بوساطة ماصة معقمة ومزجت المكونات بتحريك الأنبوبة باليد ثم اخذ 1مل من الأنبوبة الأولى بوساطة 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 بوساطة ماصة معقمة ووضع على طبق ال PDA بعد ذلك 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 (16). حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ± 2مْ لحين وصول مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق ،بعد ذلك تم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري على وفق ما جاء في (1) في المعادلة الآتية:-

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

اختبار القدرة التضادية للفطر الممرض *R. solani* ، وفطر المقاومة الاحيائية *T. harzianum*

اجريت التجربة لدراسة العلاقة التضادية بين الفطر الممرض *R. solani* وفطر المقاومة الحيوية *T. harzianum* باستخدام تقنية الزرع المزدوج بين الفطر المعزول وفطر المقاومة الحيوية *T. harzianum* (17) على الوسط P.D.A. في اطباق بتري قطر 9 سم حيث لقحت حافة كل نصف طبق بقرص قطره 0.5 سم من النمو الفطري لمستعمرة الفطر الممرض ولقحت حافة النصف الأخر بقرص مماثل لفطر المقاومة الحيوية ، نفذت التجربة بواقع اربع مكررات ، وضعت الأطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±2 م° ولمدة 7 أيام ، بعدها تم حساب مسافة التثبيط بين الفطر الممرض والمقاوم الإحيائي باستخدام مسطرة شفافة تم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري على وفق ما جاء في (1)المعادلة الآتية:-

$$\text{\% لتثبيط النمو الفطري} = \left(1 - \frac{\text{النمو الفطري في معاملة الفطر}}{\text{النمو الفطري في معاملة المقارنة}}\right) \times 100$$

تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* وفطري المقاومة الإحيائية *G.intradices* و *T.harzianum* في حماية نباتات الخيار من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (*R.s*) المسبب لمرض تعفن جذور الخيار تحت ظروف الظلة الخشبية

نفذت التجربة بتاريخ 2012/3/7 في المعهد التقني المسيب حيث تم استخدام تربة مزيجية معقمة بجهاز الاوتوكليف وزعت التربة في أصص بلاستيكية سعة 2 كغم وتم زراعتها ببذور الخيارصنف فرات وسقيت النباتات كلما دعت الحاجة وبعد 14 يوما من الإنبات تم اجراء المعاملات الاتية :- - *R.solani* بمفرده 2- *P.fluorescens* بمفردها 3-*G.intradices* بمفردها 4- *T.harzianum* بمفردها 5- *R.solani +P.fluorescens* 6- *R.solani + G.intradices* 7- *R.solani + T.harzianum* 8- *R.solani + G.intradices* 9- *P.fluorescens + G.intradices* 10- *P.fluorescens+T.harzianum* 11-*T.harzianum + G.intradices* 12- *R. solani + P.fluorescens + T.harzianum + P.fluorescen* 13- *R. solani + G.intradices* 14- *R. solani + T.harzianum +* Bentanol 15- *R. solani* + المقارنة (بذور دخن معقمة فقط).

كررت كل معاملة ثلاث مرات. حيث اعتمد في هذه التجربة التصميم العشوائي التام أضيف لقاح البكتريا و *P.fluorescens* بمعدل 10مل من عالق البكتريا لكل مكرر من 5× 10^7 (وحدة تكوين مستعمرة/مل) (18) أما لقاح الفطر ين *T.harzianum,* *G.intradices* فقد أضيف بمقدار 2 % (وزن/ وزن) قبل أسبوع من إضافة لقاح الفطر الممرض *R. solani* (*R.*s2) الذي تم اضافتة بنسبة 1% (وزن / وزن) تم إضافتة 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 (8). سجلت النتائج بعد مرور 28 يوم من ألزراعة في الأصص البلاستيكية .وتم حساب شدة إصابة تعفن الجذور حسب الدليل المرضي المكون من خمسة درجات وهي:_ 0 - المجموع الجذري سليم والمجموع الخضري ذو نمو طبيعي اخضر اللون : 1- تلون أكثر من 0– 25% من الجذور والشعيرات الجذرية بلون بني فاتح . 2- تلون أكثر من 25 – 50 % من الجذور والشعيرات الجذرية بلون بني غامق وجفاف الأوراق السفلية. 3- تلون أكثر من 50 – 75 % من الجذور والشعيرات الجذرية بلون بني غامق مع تساقط الأوراق السفلية. 4- تلون أكثر من 75 – 100 % من المجموع الجذري بلون بني غامق وموت النبات ، وتم حساب النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب معادلة (19) المذكورة في (20) وعلى الآتي:-

$$\text{النسبة المئوية لشدة الإصابة} = \frac{\text{مجموع (عدد النباتات المصابة × درجة إصابتها)}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة × أعلى درجة}} \times 100$$

تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* وفطري المقاومة الإحيائية *G.intradices* و *T.harzianum* في حماية نباتات الخيار من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (*R.s*) المسبب لمرض تعفن جذور الخيار 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 قطاعات بطول 20م وكل قطاع يحتوي على 15مرز وطول كل مرز 3م والمسافة بين مرز وأخر 90 سم زرعت شتلات الخيار صنف الفرات بمعدل شتلة واحدة في كل جورة والمسافة بين جورة وأخرى 50سم اي اصبح كل مرز يحتوي على خمس شتلات بعمر 14 يوم تم زراعتها مسبقاً وتضمنت التجربة المعاملات التالية:-1- *R.solani* بمفرده 2- *P.fluorescens* بمفردها 3-*G.intradices* بمفردها 4- *T.harzianum* بمفردها 5- *R.solani +P.fluorescens* 6- *R.solani + G.intradices* 7- *R.solani + T.harzianum* 8- *R.solani + G.intradices* 9- *P.fluorescens + G.intradices* 10- *P.fluorescens+T.harzianum* 11-*T.harzianum + G.intradices* 12- *R. solani + P.fluorescens + T.harzianum + P.fluorescen* 13- *R. solani + G.intradices* 14- *R. solani + T.harzianum +* Bentanol 15- *R. solani* + المقارنة (بذور دخن معقمة فقط).

تم اضافة عالق البكتريا *P.fluorescens* مع ماء الري بمعدل 100مل/نبات (18) بتركيز 5× 10^{7} (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي كما واضيف فطر المايكورايزا *G.intradices* بمقدار (1 كغم / لوح) كذلك الفطر *T.harzianum* تم تحميله على بذور دخن محلي واضيف بمقدار (100 غم/ شتلة) وبشكل عمل شق مستقيم تحت الشتلات مباشرة لضمان وصول اللقاح الى جذور نبات الخيار وبعد اضافة اللقاح للمعاملات التي تحتاج الى اضافة اللقاح تم وضع غطاء من التراب على لقاح الفطرللحفاظ عليه من الموثرات الخارجية . أجريت عملية إضافة اللقاح الفطري الممرض *R .solani* بعمل شق على طول المرز وتم رفع التراب وحساب وزنه ثم لوث بخلطه بلقاح الفطر الممرض المحمل على بذور الدخن بنسبة 1% (وزن/وزن) كذلك الفطر *T.harzianum* تم تحميله على بذور دخن محلي واضيف بمقدار (100 غم/ شتلة)للمعاملات :- 1و5و6و7و11و 12و14و13 أما المعاملات :- 2و3و4و8و9و10 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 (16). وأخذت النتائج بعد 80 يوم من زراعة شتلات الخيار 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 لكل معاملة .

النتائج والمناقشة :-

العزل والتشخيص

أظهرت نتائج العزل من جذور نباتات الخيار 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 للأجسام 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 (21 ، 22)

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

أظهرت نتائج 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 عزلة الفطر *R.solani* (*R.s2*) (الكلية التقنية المسيب) إذ لم يحصل فيها إنبات لبذور اللهانة تلتها العزلة*R.s3*(عزلة الطاهرية) فقد بلغت نسبة الإنبات فيها 12% في حين بلغت النسبة المئوية للإنبات لعزلة *R.s1* 35%. 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 مثلAcetic Acid Phenyl(PAA) ومشتقاته الهيدروكسيلية مثل hyderoxy-Beta وhyderoxy Para والتي تتسبب في قتل أجنة البذور(23)

الجدول1: اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *R.solani* باستعمال بذور اللهانة على W.A.

ت	الموقع	رمز العزلة	النسبة المئوية للانبات
1	المحاويل/ البدعة	*R.s*1	35
2	الكلية التقنية المسيب	*R.s*2	00
3	المحاويل /الطاهرية	*R.s*3	12
4	المقارنة		99
5	0.05 L.S.D		1.887

كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *P.fluorescens* و الفطر *T.harzianum* ضد عزلة الفطر الممرض *R.solani* على وسط PDA

أظهرت نتائج عزلة البكتريا *P. fluorescence* كفاءة تثبيطية عالية للفطر الممرض *R. solani* بتركيز 5 × 10^{7} اذ سببت تثبيطا تاما لنمو الفطر الممرض اذ بلغت الكفاءة التثبيطية 92% الجدول 2 ، قياسا لمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفرا. 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 لجدران الخلايا الفطرية مثل إنزيم Endochitinase (24 ، 25). وإنتاجها لمركبات الـ Siderophore والتي تقوم بجعل الحديد غير جاهز للفطر وبالتالي يؤدي الى موته وتحلله (26).

الجدول 2 : يمثل اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *P.fluorescence* والفطر *T.harzianum* ضد الفطر *R. solani* (*R.s2*) على الوسط PDA

المعاملة	معدل نمو الفطر *R . solani* في الطبق (سم)	النسبة المئوية للتثبيط %
P. fiourescens + R.solani	0.75	92
T.harzianum + R.solani	3.5	61.5
المقارنة الفطر بمفرده	9.00	0.00
L.S.D	0.2419	1.411

كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

كما بين (27) أن آلية تثبيط بكتريا *P.flourescens* للفطر الممرض *R.solani* تعود إلى إنتاجها إنزيمات مثبطة للعديد من الفطريات مثل Chitinase وglucanase ,4 β-1 و β-1 ,3 glucanase و Protease و Lipase لذلك فهي تمتلك فعلاً تضادياً قوياً ضد الفطر *R.solani*. وهذه النتيجة جاءت مطابقة لنتائج العديد من الدراسات التي أثبتت كفاءة استخدام عزلات من بكتريا *P.fiourescens* في تثبيط الفطر الممرض *R.solani* على الوسط الزرعي PDA (28).كما و أظهرت نتائج الجدول 2 ، أن للفطر *T.harzianum* قدرة عالية في تثبيط نمو الفطر *R.solani*، إذ اعطى نسبة تثبيط عالية لنمو الفطر الممرض اذ بلغت 61.5 % أن هذه النتيجة تتفق مع النتائج التي توصل إليها (29) إذ أشار بعض الباحثين ان الفطر *T.harzianum* يفرز بعض الإنزيمات ومنها إنزيم البكتينيز الذي يحلل مادة البكتين التي تدخل في تركيب جدران الخلايا للفطر *R.solani* (30 ، 31).

نتائج تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* وفطري المقاومة الإحيائية *G.intradices* و *T.harzianum* في حماية نباتات الخيار من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (*R.s2*) المسبب لمرض تعفن جذور الخيار تحت ظروف الظلة الخشبية

بينت نتائج هذه الدراسة الجدول3، أن جميع معاملات عوامل المقاومة الحيوية المستخدمة أدت إلى خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة إصابة نباتات الخيار بعزلة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. فقد حققت معاملة البكتريا. *P.fluorescens* و فطر المايكورايزا *G.intradices* والفطر *T.harzianum* بوجود الفطر الممرض أعلى نسبة خفض في النسبة المئوية لشدة الإصابة لنباتات الخيار إذ بلغت 18.75% بالنسبة لمعاملة البكتريا. *P.fluorescens* + فطر المايكورايزا *G.intradices* و12.5%بالنسبة لمعاملة البكتريا. *P.fluorescens* + فطر *T.harzianum* اما معاملة فطر المايكورايزا *G.intradices*+فطر *T.harzianum* فقد بلغت شدة الإصابة فيها 25% قياسا بمعاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت 87.5% وان تفوق إضافة المعاملات في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة ربما يعود إلى التأثير التازري فيما بينها في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات وتحفيز نمو النبات والسيطرة على مسببات أمراض النبات وربما يعود السبب إلى التداخل في آليات عملها مما أدى إلى زيادة تحفيز نمو النبات والسيطرة على الأمراض النباتية كذلك تعمل على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات (32 ،33). أما بالنسبة لمعاملة البكتريا *P.fluorescens* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة والتي بلغت 18.75% 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 (34) . كذلك تقوم البكتريا بتحفيز المقاومة الجهازية في النباتات مما يؤدي ذلك الى إنتاج مركبات مثبطة للفطر الممرض مثل Phytoalexin (35). كذلك حققت معاملة فطر المايكورايزا *G.intradices* مع الفطر الممرض *R.solani* (*Rs2*) خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت37.5 مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده، ويعود السبب إلى مقدرة فطريات المايكورايزا على إكساب النبات العائل المقاومة للإصابة بالعديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية والنيماتودا وتعزى هذه الحالة إلى آليات مختلفة ولعل أهمها تلك التي تشير إلى مقدرتها على إفراز منظمات النمو مثل auxins وcytokinins و gibberellins (8) . أما بالنسبة لفطر المقاومة الإحيائية *T.harzianum* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) فقد سببت هي الأخرى خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت 31.25 مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده، ويعود السبب الى امتلاكه اليات مهمة منها التطفل اذ يؤثر في مجاميع كثيرة من الفطريات والبكتريا الممرضة للنبات اذ يتمتع بنظام انزيمي جيد مما يعمل على تحليل جدران خلايا الفطر الممرض فضلاً عن انه يعد منافساً Competitive جيداً على المكان والغذاء و ان له القابلية على انتاج مواد حيوية مضادة Antibiotic compounds (36) او نتيجة لقابليته على تحفيز النمو أو استحثاث المقاومة الجهازية في النبات (37) . وأشارت نتائج الجدول3 ، أيضا إلى أن جميع معاملات إضافة اكثرمن نوع من عناصر المقاومه الاحيائيه 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 *P.fluorescens* + الفطر *T.harzianum* بوجود الفطر الممرض أعلى قيمة في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري فقد بلغت 7.1و0.72 و1.73 و 1.00 غم و23و 27.7 سم على التوالي قياسا مع معاملة الفطر الممرض بمفرده فقد بلغت 2.1 و0.15 و0.345 و0.125 غم و 8.5 و12 سم على التوالي .كذلك حققت المعاملة مابين البكتريا *P.fluorescens* + فطر المايكورايزا *G.intradices* بوجود الفطر الممرض زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغت 6.26 و0.68 و1.64 و0.9 غم و 22 و27 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض

بمفرده. أما معاملة الفطر المايكورايزا *G.intradices* +الفطر *T.harzianum* بوجود الفطر الممرض فقد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغت 6.5 و0.64 و1.53 و0.75 غم و20.25و25.25 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده.كماوحققت معاملة البكتريا *P.flluorescens* بمفردها مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري بلغ 4.30 و0.5 و 0.93 و0.7 غم و 21.5 و 25.5 سم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده . كما وأظهرت معاملة الفطر المايكورايزا *G.intradices*مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) زيادة معنوية ايضا في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري بلغ 3.06 و0.34 و0.72 و0.5 غم و16 و20.5 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده . ويعود سبب ذلك الى فوائد الفطرالعديدة أهمها دورها الأساس في زيادة جاهزية بعض العناصر المغذية الكبرى مثل الفسفور وذلك من خلال آليات مختلفة ، منها تقليل المسافة التي يقطعها الفسفور بالانتشار (38) ، زيادة المساحة السطحية للامتصاص (39) والألفة العالية بين الفسفور و الجذور المايكورايزية (40).

الجدول3 : نتائج تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* وفطري المقاومة الإحيائية *G.intradices* و *T.harzianum* في حماية نباتات الخيار من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (*R.s*2) المسبب لمرض تعفن جذور الخيار تحت ظروف الظلة الخشبية

ت	المعاملة	شدة الإصابة بالجذر	وزن المجموع الخضري (غم)		وزن المجموع الجذري (غم)		الطول (سم)	
			الطري	الجاف	الطري	الجاف	الساق	الجذر
1	*R. s* بمفرده.	87.5	2.10	0.15	0.345	0.125	8.5	12
2	*P. f* بمفرده.	0.00	5.4	0.52	1.13	0.8	23	28.5
3	*G.in*بمفرده.	0.00	4.6	0.4	0.88	0.6	20.5	26
4	*T.h* بمفرده.	0.00	5.26	0.51	0.84	0.6	24	25
5	*R.s+P. f*	18.75	4.30	0.5	0.93	0.7	21.5	25.5
6	*R.s+G.in*	37.5	3.06	0.34	0.72	0.5	16	20.5
7	*R. s+T.h*	31.25	4.19	0.45	0.81	0.6	19	22.5
8	*P. f + G.int*	0.00	7.62	0.88	2.61	1.1	26	34.5
9	*P. f + T.h* بمفرده.	0.00	6.93	0.81	2.14	1.00	28	33
10	*T.h + G.in* بمفرده.	0.00	7.47	0.75	2.1	0.85	25	31.5
11	*R. + P. f + G.in*	18.75	6.26	0.68	1.64	0.9	22	27
12	*R. s + ..P. f + T.h*	12.5	7.1	0.72	1.73	1.00	23	27.7
13	*R.s+T.h + G.in*	25.00	6.5	0.64	1.53	0.75	20.25	25.25
14	*R.s*+Bentanol	0.00	3.1	0.41	0.7	0.42	18.5	21
15	المقارنة	0.00	3.25	0.43	0.75	0.5	19	20.25
	0.05 L.S.D	0.4809	0.1695	6.189	0.08634	0.1411	1.0582	1.0864

كل رقم يمثل معدلاً لثلاثة مكررات *R.solani =R.s*، . ، *P.fluorescens =P.f*   *Glomus intradices =G.in* ، *T.h=T.harzianum*

أما معاملة فطر المقاومة الإحيائية *T.harzianum* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) فقد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغ 4.19 و0.45 و0.81 و06 غم و19 و22.5 سم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده ، ويعزى زيادة نمو النبات الى ان للفطر *T. harzianum* دور في تحسين كفاءة امتصاص النتروجين من جذور النبات وإذابة العناصر الغذائية القليلة الذوبان مثل الزنك و المنغنيز و الحديد و النحاس ، اذ ينتج الفطر *T.harzianum* عددا من المواد الكيميائية التي تسهم في ذوبان وجاهزية العناصر الغذائية الصغرى للنبات ، و إن المنغنيز من العناصر الصغرى المهمة في العمليات الحيوية في النبات منها نمو النبات ومقاومة الأمراض (41) .

نتائج تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* وفطري المقاومة الإحيائية *G.intradices* و *T.harzianum* في حماية نباتات الخيار من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (*R.s2*) المسبب لمرض تعفن جذور الخيار تحت الظروف الحقلية

بينت نتائج هذه الدراسة الجدول4، أن جميع معاملات عوامل المقاومة الحيوية المستخدمة أدت إلى خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة إصابة نباتات الخيار بعزلة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. فقد حققت معاملة البكتريا. *P.fluorescens* و فطر المايكورايزا *G.intradices* والفطر *T.harzianum* بوجود الفطر الممرض أعلى نسبة خفض في النسبة المئوية لشدة الإصابة لنباتات الخيار إذ بلغت 16.25% بالنسبة لمعاملة البكتريا *P.fluorescens* + فطر *G.intradices*و11.25% بالنسبة لمعاملة البكتريا*P.fluorescens* + فطر *T.harzianum* اما معاملة فطر ا *G.intradices* + فطر *T.harzianum* فقد بلغت شدة الإصابة فيها 13% قياسا بمعاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت 92.00% وقد يعزى سبب تفوق إضافة اكثر من عامل من عوامل المقاومة الاحيائية في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بوجود الفطر الممرض إلى التأثير التعاوني مابين عوامل المقاومة الإحيائية المستخدمة في التجربة كونها تعمل معاً وبصورة متعاونة في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات ضد المسببات المرضية (42) . كذلك ان التداخل ما بين عوامل المقاومة الإحيائية هي طريقة استراتيجية للسيطرة على الأمراض النباتية وكذلك على الآفات (43).

الجدول4: نتائج تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* وفطري المقاومة الإحيائية *G.intradices* و *T.harzianum* في حماية نباتات الخيار من الإصابة بعزلة الفطر *R.solani* (*R.s2*) المسبب لمرض تعفن جذور الخيار تحت الظروف الحقلية

ت	المعاملة	شدة الإصابة للجذر	وزن المجموع الخضري (غم)		وزن المجموع الجذري (غم)		الطول (سم)	
			الطري	الجاف	الطري	الجاف	الساق	الجذر
1	*R. s* بمفرده.	92.00	94.08	20.15	1.84	0.56	31.09	7.09
2	*P. f* بمفرده.	0.00	269.12	54.68	7.74	1.72	110.35	25.08
3	*G.in*بمفرده.	0.00	265.91	52.96	7.11	1.61	107.04	25.62
4	*T.h* بمفرده.	0.00	279.37	56.75	8.18	1.81	115.06	26.40
5	*R.s+P. f*	18.00	243.88	48.9	6.63	1.69	83.42	23.78
6	*R.s+G.in*	25.00	232.64	42.85	5.76	1.52	80.34	20.31
7	*R. s+T.h*	20.0	239.20	46.76	6.22	1.60	81.61	21.43
8	*P. f + G.in*	0.00	286.27	58.07	10.05	1.92	130.7	32.25
9	*P. f + T.h* بمفرده.	0.00	300.66	62.76	10.82	2.41	147.15	36.00
10	*T.h + G.in*	0.00	292.24	60.36	10.15	2.01	135.13	34.24
11	*R. + P. f + G.in*	16.25	251.29	51.24	8.055	1.77	93.66	25.45
12	*R. + ..P. f + T.h*	11.25	269.26	56.67	8.88	1.88	99.56	31.55
13	*R.s+T.h + G.in*	13.00	257.28	53.74	8.49	1.82	96.35	28.57
14	*R.s*+Bentanol	10.00	245.56	49.85	6.20	1.47	82.33	22.6
15	المقارنة	0.00	258.36	51.08	6.79	1.52	88.65	22.55
	0.05 L.S.D	1.839	3.441	1.227	0.325	0.0271	10.122	6.494

كل رقم يمثل معدلاً لثلاثة مكررات *R.solani* =*R.s*، . ، *P.fluorescens* =*P.f* *Glomus intradices* =*G.in* ، *T.h*=*T.harzianum*

أما بالنسبة لمعاملة البكتريا *P.fluorescens* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s2*) فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة والتي بلغت 18.00% 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 (34) . كذلك تقوم البكتريا بتحفيز المقاومة الجهازية في النباتات مما يؤدي ذلك الى إنتاج مركبات مثبطة للفطر الممرض مثل Phytoalexin (35). كذلك حققت معاملة فطر المايكورايزا *G.intradices*مع الفطر

الممرض *R.solani* (*Rs2*) خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت25 % مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده، ويعود السبب إلى مقدرة فطريات المايكورايزا على إكساب النبات العائل المقاومة للإصابة بالعديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية والنيماتودا وتعزى هذه الحالة إلى آليات مختلفة ولعل أهمها تلك التي تشير إلى مقدرتها على إفراز منظمات النمو مثل auxins و cytokinins و gibberellins (8) . أما معاملة الفطر *T.harzianum* مع الفطر الممرض(*R.s2*) *R.solani* فقد سببت هي الأخرى خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت 20% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده، ويعود سبب ذلك ان عزلات الفطر *Trichoderma spp.* قادرة على استحثاث المقاومة من خلال زيادة فعالية أنزيم البيروكسديز (44) ، وقد ذكر (45) بأن دفاعات النبات تتحفز عند تعرضها إلى مسببات خارجية حية أو غير حية بإنتاج الفايتولكسين فضلا عن إنتاج اللكنين والسوبرين ، ولا يقتصر تحفيز المقاومة على المسببات الممرضة فقط بل أثبتت الدراسات إن عددا من الفطريات غير الممرضة قادرة على استحثاث المقاومة الجهازية التي يمكن استغلالها لتقليل نسبة الإصابة بالأمراض اللاحقة بعد تلقيح النباتات بالفطر غير الممرض (46 ، 47 ،30) . كما وأشارت نتائج الجدول4، أيضا إلى أن جميع معاملات إضافة اكثرمن نوع قد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) بمفرده، فقد أظهرت المعاملة البكتريا *P.fluorescens* + الفطر *T.harzianum* بوجود الفطر الممرض أعلى قيمة في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري فقد بلغت 269.26 و 56.67 و8.88 و 1.88غم و99.56 و 31.55 سم على التوالي قياسا مع معاملة الفطر الممرض بمفرده فقد بلغت 94.08 و20.15 و1.84 و0.56 غم و 31 و7.09 سم على التوالي .كذلك حققت المعاملة مابين البكتريا*P.fluorescens* + فطر المايكورايزا *G.intradices* بوجود الفطر الممرض زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغت 251.29 و51.24 و8.055 و1.77 غم و 93.66 و25.45 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. أما معاملة الفطر المايكورايزا *G.intradices*+ فطر *T.harzianum* بوجود الفطر الممرض فقد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغت 257.28 و 53.74 و8.49 و1.82 غم و96.35 و28.57 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. وهذا قد يرجع إلى حالة التداخل الايجابي microb – microb أو إلى التأثير الايجابي لبعض المواد التي تفرزها الفطريات او البكتريا مثل المواد المنظمة للنمو (8) . كماوحققت معاملة البكتريا *P.flluorescens* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري بلغ 243.88 48.9 و 6.63 و1.69 غم و 83.42 و 23.78 سم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده. حيث تتميز البكتريا *P.fluorescens* بافرازها لمنظمات النمو التي تساعد على زيادة نمو النباتات والانتاج وتحصينها من غزو الممرضات مثل Auxins و Gibberellins (48). تلتها معاملة فطر المقاومة الإحيائية *T.harzianum* مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) فقد حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغ 239.20 و46.76 و6.22 و1.60 غم و81.61 و21.43 سم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده ، ويعود سبب ذلك على قابليته الفطر في تحفيز النمو واستحثاث المقاومة الجهازية في النبات (37) . أظهرت معاملة الفطر المايكورايزا *G.intradices*مع الفطر الممرض *R.solani* (*R.s*2) زيادة معنوية ايضا في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري بلغ 232 و42.85 و5.76 و1.52 غم و80 و20.31 سم على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده . ويعود سبب ذلك مقدرة فطريات المايكورايزا على زيادة تركيز عناصر اخرى في انسجة النبات مثل النتروجين (38) والزنك (49) والبوتاسيوم والمغنسيوم (50) والنحاس والحديد (51) مما ينعكس ايجابياً على صفات النبات من حيث المجموع الخضري والجذري .

المصادر :-

1 - 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.

2 - - الجهاز المركزي للإحصاء . 2010 . المجموعة الإحصائية الصادرة عن الجهاز المركزي للإحصاء سنوياً. جمهورية العراق .

3 - طه، خالد حسن.1990. المقاومة المتكاملة لمرض ذبول الخضراوات الوعائي التسبب عن الفطر *Verticillium dahliae* . اطروحة دكتوراه. قسم وقاية النبات . كلية الزراعة . جامعة بغداد. 192 ص.

4 - Subba-Rao,N.S. 1984. Biofertilizers in Agriculture. Oxford and IBH publishing Co., New Delhi.

5 - Deshmukh,A.M. 1998. Biofertilizers and Biopesticides. India :(ch. 1) : 1-3.

6 - Harman, G. E. 2000 . Myths and Dogmas of Biological Changes is perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* strain T.22. Plant Dis. Report., 84:377-393

7 - الحديثي ، بهاء عبد الجبار عبد الحميد . 2002 . النشاط الأنزيمي للفطر *T.harzianum* في التربة ونمو حاصل نبات الطماطة . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد . العراق

8 - Barker,S.J. and Tagu,D.,. 2000. The roles ofauxins and cytokinins in mycorrhizal symbiosis. Journal of Plant Growth Regulation. (19) 2 : 144-154, 2000 Jun.

9- Haas, D. and C. Keel. 2003. Regulation of antibiotic production in rootcolonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. Annu. Rev. Phytopathol., 41:117-153 .

10 - Leslie, J. F., and B. A. Summerell. 2006 . The *Fusarium* Laboratory manual.

11 - Dugan, F.M. 2006. The identification of fungi an illustrated introduction with keys, glossary, and guide to literature. u.s. department of agriculture . agricultural research service Washington State University Pullman .176 pp.

12 - Bolkan, H. A. and Butler, E. E. 1994 . Studies on heterkaryosis and virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathol ., 64: 513-522.

13 - Dewan, M. M. and Sivasithamparam, K. 1989. Occurrence of species of *Aspergillus* & *Penicillium* in root of wheat & ryegrass & their effect on root rot caused by Gaeumannomyces graminis var. tritici . Australian J. B ot., 36:701-710

14 - Vincent,J.M. 1970. A manual for practical study of root nodules bacteria . IBP. Handbook No.15. Black Well Sci. Publications, Oxford and Ed.inburg. : 125-126.

15 – 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

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

17 - Bell ,D.k. ;wells, H.D.and Markham ,G.R. 1982.In vitro antagonism of *Trichoderma* spp against six fungal plant pathogens . Phytopathology . 72:- 379-382.

18 - 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-Maine potatoes. com/ pdf/potresgrant-04.

19 - Mckinney , H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture of infection of weat seedling by *Helminthosporium sativum*. J. Agric. Res. 26 : 165-217.

20 - جبر ، كامل سلمان. 1996 . المقاومة الاحيائية للمعقد المرضي بين ديدان تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* والفطر *Rhizoctonia solani* في الباذنجان . اطروحة دكتوراة . كلية الزراعة . جامعة بغداد .

21 - Parmeter, J. R.andH.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.

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

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

24 - 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.

25 - 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).

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

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

28 - جاسم ، ناجي سالم. 2007. دراسة مرض تعفن جذور وقواعد سيقان محصول الباقلاء المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* (Kuhn) في محافظة البصرة ومكافحته إحيائياً وكيميائياً. أطروحة دكتورا. كلية الزراعة. جامعة البصرة.

29 - الركابي ، فراس علي احمد . 2008 . تاثير مستخلصات النمو الخضري لبعض الادغال على الفطريات الممرضة لجذور الطماطة وعلى فطر المقاومة الاحيائية *Trichoderma harzianum* Rifai رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الكوفة . العراق .
30 - علوان ، صباح لطيف . 2005 . امكانية تصنيع مبيد إحيائي من الفطر *Trichoderma harzianum* Rifai لمكافحة مرض تعفن البذور وموت البادرات في الحنطة . اطروحة دكتوراه . كلية التربية للبنات . جامعة الكوفة العراق .
31- كمال الدين، زاهد نوري علي.2008.تأثير التداخل بين الفطر *Trichoderma harzianum* Rifai والفطر *Aspergillus niger* Van Tieghem في حماية نباتات الطماطة من الاصابة بالفطر *lycopersici* f.sp . *Fusarium oxysporum* .رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الكوفة.
32 - 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.
33 - Thilagavathi,R.;D.Saravanakumer;N.Ragupathi;andR.Samiyappan.2007.A combinationof biocontrol agents improves the management of dry root rot (*Macrophomina phaseolina*)ingreengra phytopathology Mediterranea.46(2).157-167.
34 - 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.
35 - 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.
36 - Mukerji, K. G. and Garg, K. L. 1987. *Trichoderma* as a biocontrol agent. Biocontrol of Plant Dis. (1): 71-82.
37 - Demeyer, G. ; Bigirmana, J. ; Elad, Y. and Hoft, M. 1988. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* biocontrol of Botrytis cinerae. Eur. J. Plant Pathol. 104:279-286.
38 - Barea,J.M. and Gonzalez,S.B. 1986. VA mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In: Transaction of the 5. Congress of International society of soil science which was held at Hamburg 13-20 August 1986. Agriculure and Forstry, Mr. Iganaz Kiechle.: 808-816.
39 - Abbot,L.K.andRobson,A.D. 1977. Growth stimulation subterranean clover with VA-mycorrhizas. Aust. J. Agric. Res. 28 : 639-649.
40 Cress,W.A., Throneberry,G.O. and Lindsey,D.L.(1979). Kinetic of phosphorous absorption by mycorrhizas and nonmycorrhizas tomato roots. Plant Physiol. 64 : 484-487.
41 - Graham, R.D. and Webb, M.J. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plant. Soil Science Soc. Of American., 329-370.
42 - Latha, P.; T. Anand; N. Ragupathi; V. Prakasam; and R. Samiyappan. 2009. Antimicro--bialactivity 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.
43 - Saravanakumar, D.; C. Vijayakumar; N. Kumar; and R Samiyappan. 2007. PGPR induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. Crop Protection 26: 556–565.
44 - حميد ، فاخر رحيم . 2002 . دراسة كفاءة عزلات من الفطر *Trichoderma* في استحداث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* في أربعة أصناف من القطن . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد . العراق .
45 - Agrios , G. N. 2007 . Plant pathology . 4th Ed .. Academic press 606 pp, New York .U.S.A.
46 - Howell, C. R. 2000. Cotton seedling pre-emergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. Phytopathology, 92:177-180.
47 - العبيدي ، اسامة قاسم . 2005 . استخدام المخلفات الحيوانية المدعمة بالفطر *Trichoderma harzianum Rifai dependency* في مكافحة فطري التربة *Rhizctonia solani* و *Fusarium solani* الممرضين للنبات. رسالة ماجستير. الكلية التقنية المسيب . العراق .

48 - Lugtenberg, B. J. J., L. Dekkers, and G. V. Bloemberg. 2001.Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. Ann.Rev. Phytopathol., 38:461-490.

49 - Gilmore,A.E. 1971. The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96 : 35-38.

50 - Saif,S.R. 1987.Growth response of tropical forage plants species to VA mycorrhizae. (1). Growth, mineral uptake and mycorrhizal dependency . Plant and Soil 97 : 25-35 .

51 - Lambert,D.H.,Baker,D.E .and Cole,H. 1970. The role of mycorrhiza in the interact ion of phosphorus with Zinc, Copper and other elements. Soil Sci. Soc. Am. J. 43 : 976-980.