تأثير البكتريا *Azotobacter chroococcum* و*Bacillus thuringiensis* وسماد الدواجن ضد الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الحمضيات تحت ظروف الظلة الخشبية

ابراهيم خليل حسون غادة ماجد الغانمي*

قسم المقاومة الاحيائية . الكليه التقنيه/ المسيب . جامعة الفرات الاوسط التقنية . هيئة التعليم التقني . جمهورية العراق

المستخلص:

جرت هذه التجربة لتقييم تأثير العوامل الاحيائية *Azotobacter chroococcum* و*Bacillus thuringiensis* وسماد الدواجن بثلاث نسب (10%،15%،20%) ضد الفطر الممرض *Fusarium solani* المسبب لتعفن جذور الحمضيات تحت ظروف الظلة الخشبية وبينت النتائج الى وجود اثر ايجابي عند استخدام البكتريا مع السماد على النبات وتقليل من امراضية الفطر وتأثيره على النبات وبالأخص استخدام البكتريا *Azotobacter chroococcum* مع سماد الدواجن بنسبة 15% حيث اعطت افضل نتائج من حيث تخفيض شدة الاصابه وكذلك في مؤشرات النمو كالوزن الطري والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري وطول النبات للمجموع الخضري والجذري والذي بلغت على التوالي 15.60 و8.90 و 9.40 و5.80 غم.نبات$^{-1}$ و 51.00 و38.06 سم.نبات$^{-1}$ قياسا بمعاملة المقارنة حيث بلغت على التوالي 5.60 و 2.70 و 2.00 و 1.00 غم.نبات$^{-1}$ و42.60 و31.00 سم.نبات$^{-1}$ حيث شجع السماد من نمو البكتريا وكذلك ثبط من نمو الفطر وكانت اعلى نسبة تثبيط للفطر بمعاملة البكتريا الاروتوبكتر مع نسبة 15% من سماد الدواجن مع الفطر الممرض وكانت النتائج في وزن النبات للمجموع الخضري والجذري الجاف والطري وطول النبات الخضري والجذري على التوالي 10.80 و5.80 و6.20 و3.00 غم/نبات و47.10 و35.10 سم.نبات$^{-1}$ وقورنت النتائج مع معاملة الفطر بمفرده وكانت على التوالي 1.00 و0.60 و0.50 و0.00 وغم.نبات$^{-1}$ و9.10 و5.00 سم.نبات$^{-1}$ وظهرت فروق معنويه واضحه عندما استخدمت البكتريا والسماد مع الفطر.

كلمات مفتاحيه: بكتريا *Azotobacter chroococcum* ، *Bacillus thuringiensis* ، فطر *Fusarium solani* ، مرض تعفن الجذور Root-RotfungusRoot.

(*البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني)

المقدمة :

ان الحمضيات لها مركز مهم في الاقتصاد الزراعي العالمي وتعد احدى اهم اشجار الفاكهة في العالم اذ شكل انتاج الحمضيات خلال الفترة من 1996 الى 2005 حوالي 20% من انتاج الفاكهة على المستوى العالمي وتراوحت الكمية المنتجة عالميا حوالي 89 مليون طن لعام 2004 . تنتج الحمضيات في 104 دولة ويتركز 70% من الانتاج في النصف الشمالي من الكرة الارضية وبشكل رئيس في البرازيل وبلدان حوض البحر الابيض المتوسط والولايات المتحدة والصين اذ يشكل مجموع انتاج هذه البلدان اكثر من ثلثي انتاج العالم (7).

يقع جنس الحمضيات Citrus ضمن العائلة السذبية Rutaceae الذي يضم عدة مجاميع منها مجموعة البرتقال وتشمل Sweet orange (*Citrus sinensis*) والنارنج Sour orange (*Citrus aurantium*) ومجموعة اليوسفي الذي يضم عدة انواع والمجموعة الحامضية التي تضم الليمون Lemon (*Citrus limon*) والليمون الحلو Sweet lime (*Citrus limeta*) (2).

ويعزى سبب التدهور الى مرض تعفن الجذور rootالمتسبب من الفطري *Phytophthora citrophthora* (6) وكذلك الفطر *Fusarium solani* الذي يكاد يكون هو الفطر السائد من بين الفطريات المعزولة من جذور الحمضيات بتكرار عالٍ حتى من الأشجار التي تبدو عليها الاصابة.

وعرف الفطر *F. solani* مسبباً مرضياً يؤدي إلى تعفن الجذور واختزال النمو وتدهور أشجار الحمضيات (16)

وفي العقود الاخيرة نالت المكافحة الاحيائية للمسببات المرضية اهتماماً واسعاً باستعمال بعض الاحياء المضادة ومن بين تلك الاحياء الانواع العائدة للجنس *Trichoderma* ومنها الفطر *T. harzianum* والبكتريا *Bacillus* وكذلك Azotobacterاذ حققت نجاحاً على مستوى تجارب البيت الزجاجي والحقل (24 و 17).

مواد وطرائق العمل

عزل الفطر وتشخيصه :-

تم اخذ عينات من جذور الحمضيات التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض تعفن الجذور لبعض البساتين في محافظة بابل في منطقتي السدة (العلكاية ، المصايف) والمسيب (قطاع19 ، قطاع 6) إلى المختبر وقطعت بحجم 0.5 سم وغسلت بالماء الجاري لمدة 15 دقيقة وعقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1%) لمدة 3 دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة 3 دقيقة ونشفت بورق الترشيح ونقلت بواسطة ملقط معقم وزرعت بواقع 4 قطع في كل

طبق بتري قطر 8.5 سم حاو على 15-20 سم3 من الوسط الزرعي PDA المضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200ملغم

حضنت الأطباق في 25±2 م° لمدة 7 أيام ، وبعدها تم إجراء الفحص للتحري عن وجود الفطريات المرافقة وتنقيتها بنقل قطع صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاو على الوسط الزرعي PDA حضنت الأطباق لمدة 7 أيام ثم حفظت العزلات في أنابيب اختبار حاوية على الوسط الزراعيPDA شخصت الفطريات لمستوى الجنس والنوع بعد ظهور

النموات الفطرية اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها وباستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة من قبل Booth (11).

الكشف عن العزلات الممرضة باستعمال بـــذور اللهانة:-

تم اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F. solani* الذي تم الحصول عليها من جذور الحمضيات المصابه وذلك حـــــسب طريقة الموصوفة من قبل Bolkan وButler (10) حضرت أطباق بتري قطرها 8.5 سم تحوي على 20 – 15 مل مـــن الوسط الزرعي الاكر والماء المعقم (20غم اكر ، 1 لتر ماء مقطر) والمضاف له المضاد الحيوي 200ملغم.لتر$^{-1}$. لقحت الاطباق فـي مركزهـا بقـرص (0.5 سـم) مـن مـزارع الفطريـات المنمـاة علـى الوسـط الزرعـي PDA بعمر 7 أيام كل على انفراد. وحضنت الأطباق في درجـة حـرارة 25±2 م° ولمـدة 7 أيـام ، بعـدها زرعت بذور لهانة محلية معقمة سطحياً بمحلول هـايبوكلورات الصـوديوم (1%) وبصـورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة / طبق. كررت المعاملات ثلاث مرات فضلاً عن معاملة المقارنة (من دون الفطر) وحضنت بدرجة حرارة 25±2 م° وبعد 7 ايام جرى حساب النسبة المئوية للإنبات.

تـم تلقـيح اطبـاق بتـري تحتـوي علـى الوسـط الزرعـي PDA بوضـع قطعـة قطـر5 ملـم مـن مستعمرة الفطر المحفوظة وبأربعة مكررات لكل عزلة وحضنت الاطباق عند درجة حرارة 25 $\pm$ 2ْم لمدة 7 ايام وقبل يوم من انتهاء مدة تحضين الاطباق اخذت بذور دخن محلية *Panicum miliaceum* وغسلت جيدا للتخلص من الشوائب والاتربة ثم نقعت البذور لمدة 6 ساعات بعدها ازيل الماء الزائد وذلك بترشيحها بقطعة قماش . وزعت البذور في دوارق زجاجية سعة 250مل وبمعدل 50 غـم . دورق$^{-1}$ وعقمـت الـدوارق بالموصـدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 1,5كغم .(سم^2)$^{-1}$ لمدة 20 دقيقة وبعد تبريد الدوارق لقحت بلقاح عزلة الفطر *F.solani* وبمعدل 4 اقراص قطر5 ملم/ دورق بعمر 7 ايام (اربع مكررات لكل عزلة) حضنت الدوارق تحت درجة حرارة 25 $\pm$ 2ْم لمدة اسبوعين و رجت الدوارق مرة كل 5 ايام لضمان التهوية وتوزيع لقاح الفطر على جميع البذور (13).

تحضـير عـالق البكتيريـا *A.chroococcum*، *B. thuringiensis*

حضرت كمية من العالق البكتيري وإستعملت في التجارب الظلة الخشبية حيث نميت البكتريا على وسط التنشيط السائل Nutrient broth وذلك بوضع 50 مل من هذا الوسط السائل في دورق زجاجي حجم 100مل وبعد التعقيم لقح بالبكتريا المأخوذة من مزرعة بكتيريه منماة في اطباق بتري بعمر يوم واحد وللحصول على كمية اكبر من اللقاح لتجارب الظلة استعملت دوارق مخروطية حجم 250 مل تحتوي على 100مل من وسط التنشيط السائل المعقم وحضنت الدوارق الملقحة في حاضنة بدرجة حرارة 37ْم ولمدة 48 ساعة (8).

تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري *A. chroococcum* و *B. thuringiensis* المثبط لنمو الفطر الممرض *F.solani* :-

تـم أخـذ 1 مـل مـن الوسـط السـائل النامية فيـه البكتريـا بعمـر 1 يـوم بوسـاطة ماصـة معقمـة واضيف الى انبوبة اختبار تحتوي على 9 مل ماء مقطر معقم وتم تلقيح كل الانابيب وذلك بأخذ 1 مل من الأنبوبة الأولى واضافتها

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

الـى الانبوبـة الثانيـة بوسـاطة ماصـة معقمـة كـررت العملية على باقي الأنابيب للحصول على سلسلة من التخافيف 10^{-1}....10^{9} بعدها جرى تلقيح الأطبـاق الحاوية على الوسط الزرعي PDA بأخذ 1 مل / طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري على شكل بقع دائرية على الطبق ووضـع في مركزها قرص بقطر 0.5سم من الفطر الممرض حيث أخذ من قرب حواف مستعمرة الفطر *F.solani* عزلـة a والمنمـاة علـى الوسـط PDA بعمر7 أيـام وتركـت أربعـة أطبـاق لكـل فطـر للمقارنـة مـن دون تلقـيح بالبكتريا أضيف لها 1 مل ماء مقطر معقم لغرض المقارنه (4 و 5) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25±2 مْ لمـدة 3 أيـام بعـد ذلـك تـم حسـاب مقـدار التثبيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر النـامي في معاملة البكتريا ومقارنتها بقطر مستعمرة الفطر النامي في معاملـة المقارنـة ، حسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفق معادلـة التثبيط الفطـري (22).

تقييم كفـاءة العوامل الاحيائيـة *A. chroococcum* ، *B. thuringiensis* فـي خفـض شـدة اصـابة شـتلات النـارنج بعمـر 103 يومـآ بـالفطر الممرض *F.solani* تحت ظروف الظلة الخشبية:-

نفذت التجربة في الكلية التقنية المسيب بتاريخ 2014/1/15 واعتمد فيها التصميم العشوائي التام CRD تم زراعة بذور النارنج في تاريخ 15 \ 1 \ 2014 وبعد اربعين يومآ من زراعة البذور نقلت بادره واحده في اصص بلاستيكية قطرها 20 سم وارتفاعها 15 سم وسعة 2.5 كغم تربة مزيجية ، معقمة بالمؤصدة تحت درجة 121ْم وضغط 1.5 كغم.(سم²)$^{-1}$ لمدة ساعة ، وعند وصول الشتلات الى عمر خمسة شهور تم البدء بأجراء المعاملات عليها وبثلاثة مكررات للمعاملة الواحدة ، تضمنت التجربة المعاملات الاتية:-

1- الفطر بمفرده *F.solani* 2- الفطر *F.solani* + سماد دواجن 10% 3- الفطر *F.solani* + سماد دواجن 15% 4 – الفطر *F.solani* + سماد دواجن 20% 5- الفطر *F.solani* + بكتريا *A. chroococcum* -6 الفطر *F.solani* + بكتريا *B. thuringiensis*

7 – الفطر *F.solani* + بكتريا *chroococcum* *A.* + سماد دواجن 10% 8- الفطر + بكتريا *A. chroococcum* +سماد دواجن15% 9- الفطر + بكتريا *A. chroococcum* +سماد دواجن 20% 10- الفطر+ بكتريا *B. thuringiensis* +سماد دواجن 10% 11- الفطر + بكتريا *B. thuringiensis* +سماد دواجن 15% 12- الفطر + بكتريا *B. thuringiensis* +سماد دواجن 20% 13- سماد دواجن 10% 14- سماد دواجن 15% 15- سماد دواجن 20% 16- بكتريا *A. chroococcum* 17- بكتريا *B. thuringiensis* 18- بكتريا *A. chroococcum* + سماد دواجن 10% 19- بكتريا *A. chroococcum* + سماد دواجن 15% 20- بكتريا *A. chroococcum* + سماد دواجن 20% 21 - بكتريا *thuringiensis* . *B* + سماد دواجن 10% 22- بكتريا *B. thuringiensis* + سماد دواجن 15% 23- بكتريا *B. thuringiensis* + سماد دواجن 20% 24-المقارنه

فقد اضيف الفطر الممرض *F. solani* المحمل على بذور الدخن بنسبة 1% (وزن/ وزن) بعد تنميته على بذور الدخن المحلي. بالنسبة لعالق البكتريا *A. chroococcum* وعالق بكتريا *B.thuringiensis* فقد أضيف مع ماء الري بمعدل 100مل/ نبات (18) بتركيز 5 × 10^8 و 6 × 10^7 وحدة تكوين مستعمرة / مل على التوالي قبل أسبوع من التلويث بالفطر الممرض ، بينما معاملة المقارنة (بكتريا بمفردها) لم يتم إضافة فطر ممرض لها اما سماد الدواجن فقد اضيف بثلاث نسب 10% و15% و20% للمعاملات التي يستوجب اضافته اليها .

تم اخذ النتائج بتاريخ 14\7\2014 من حيث النسبة المئوية لشدة الاصابة بالفطر الممرض a *F.solani* ومعايير النمو المتمثلة بالوزن الطري والجاف واطوال النباتات للمجموعين الجذري والخضري ،

وحسبت شدة الإصابة حسب الدليل المرضي المكون من خمس درجات وهي:

1. مجموع جذري ابيض اللون لم تظهر عليه اصابه ومجموع خضري ذو لون اخضر جيد النمو.
2. تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر من 25% - 50 % مع اصفرار عدد من الاوراق السفلية ليشمل 25% منها.
3. تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر من 50% - 75% مع اصفرار عدد من الاوراق السفلية ليشمل 50% منها مع جفاف حواف الاوراق.
4. تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر من 755 مع اصفرار عدد من الاوراق السفلية يشمل 75% مع جفاف حواف الاوراق مع تساقط الاوراق السفلية.
5. تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكبر من 76 % - 100 % مع اصفرار جميع اوراق النبات مع تساقط الاوراق.

وحسبت النسبة المئوية لشدة المرض حسب معادلة (21).

$$\% \text{ شدة المرض} = \frac{(\text{عدد النباتات في الدرجة } 0 \times 0) + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 1 \times 1) + \ldots + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 4 \times 4)}{\text{عدد النباتات الكلي} \times \text{اعلى درجة اصابة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة :-

1 - العزل وتشخيص الفطر:

بينت نتائج العزل من جذور اشجار الحمضيات التي ظهرت عليها اعراض مرض تعفن جذور الحمضيات المتمثلة بتلون الجذور بلون بني وتعفن قسم منها الى وجود الفطر *Fusarium solani* الذي ظهرت نمواته في جميع العينات التي جمعت من بعض بساتين الحمضيات في محافظة بابل وبنسبة تواجد عالية بلغت 90 - 100 % عند اجراء العزل من الجذور باستعمال الوسط الزرعي PDA كما تمثلت صفات الفطر *F. solani* في مستعمراته التي عزلت من جميع العينات بتكوين غزل فطري ابيض الى حليبي . كما اظهر الفحص المجهري تكوين الفطر ثلاثة انواع من الابواغ الكونيدية الصغيرة microconidia وهي اسطوانية الى بيضوية الشكل تنتج من monophielides طويله تحمل جانبا على غزل فطري هوائي ، وابواغ كونيديه كبيره macroconidia وهي تكون مغزلية غير متماثلة متغايرة في ابعادها اما النوع الثالث من الابواغ فهو Chlamydospores التي تنتج مفردة او بشكل ازواج في فروع جانبية صغيرة ،او وسط الغزل الفطري واعتماداً على المفاتيح التصنيفيه (12) .

2 - الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F.solani* باستعمال بذور اللهانة.

اوضحت نتائج هذا الاختبار (الجدول1) ان كافة عزلات الفطر المختبرة احدثت خفضاً معنوياً في نسبة انبات بذور اللهانة قياساً الى معاملة المقارنة التي بلغت نسبة انبات البذور فيها 100 % . كما تباينت عزلات الفطر *F.solani* فيما بينها في خفض نسبة الانبات اذ كان اكثر هذه العزلات تأثيراً في انبات بذور اللهانة هي العزلةF1 والتي تم عزلها من بساتين من بعض مناطق محافظة بابل اذ اختزلت نسبة الانبات في معاملتها الى 0% كما حققت العزلتانs F.b s.F , c خفضاً معنوياً في تأثيرها في انبات بذور اللهانة اذ بلغت نسبة الانبات في معاملاتها 2% فيما كانت نسبة انبات بذور اللهانة بتأثير العزله g s.F كانت بنسبة 4%.

ان الاختلاف بين العزلات العائدة للنوع نفسه في مدى تأثيرها في انبات بذور اللهانة قد يعزى سببه الى تغاير وراثي بسبب اختلاف مناطق جمع العينات او اختلاف في كمية ما تفرزه هذه العزلات من السموم مثل Fusarubin و dihydrofusarubin اذ ان العزلات ذات المقدرة الامراضية العالية تمتاز بإفرازها كمية من هذه المواد الايضية اكبر من العزلات ذات مقدرة

امراضية ضعيفة وهذا ما اكده عدد من الباحثين مثل (27) و (9) .وربما يعود السبب الى اختلاف العزلات في مقدرتها على افراز الانزيمات المحللة للكنين في جدار خلايا العائل مثل Laccase و Lignin peroxidase وما لذلك من اهمية في احداث الاصابة وانتشار سموم الفطر وانزيماته في تلك الخلايا (19)

جدول(1) تأثير عزلة الفطر *F.solani* في النسب المئوية لانبات بذور اللهانة على وسط Water Agar

الموقع	رمز العينة	النسبة المئوية للإنبات %
السدة (العلكايه)	Fs a	00
السدة (المصايف)	Fs b	2
المسيب(قطاع19)	Fs c	2
المسيب (قطاع6)	Fs g	4
	المقارنة	100
	LSD	*1.406

*كل رقم في الجدول يمثل اربعة مكررات

3 - تقييم كفاءة البكتريا *A. chroococcum* ، *B. thuringiensis* في تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض *F.*solani (F.s a) على وسط PDA :-

أشارت نتائج الجدول2 الى ان استخدام البكتريا *A. chroococcum* بتركيز 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة.مل$^{-1}$ أدى الى تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض*F.solani* الى 79.4% على الوسط الزرعي مقارنة بمعاملة المقارنة حيث بلغت نسبة التثبيط 0.00% قد يعزى التأثير الذي يسببه استعمال هذه البكتيريا في تثبيط نمو الفطريات الممرضة الى مقدرة هذه البكتيريا على انتاج عدد من الانزيمات التي لها القدرة على تحليل جدران خلايا الفطر الممرض ومن هذه الانزيمات انزيم chitinase و laminarinase و 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 (26) و (14) .

وكذلك أشارت نتائج هذا الجدول الى ان استخدام البكتريا *B. thuringiensis* بأقل تخفيف مثبط لنمو الفطر الممرض و بتركيز 6×10^8 وحدة تكوين مستعمرة / مل أدى الى تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض(*F.solani* (F.s a على الوسط الزرعيPDA ، فقد أظهرت العزلة البكتيرية كفاءة عالية في تثبيط النمو الفطر70.6% قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت نسبة التثبيط فيها 0.00 % .

يعزى التأثير الذي يسببه استعمال هذه البكتيريا في تثبيط نمو الفطريات الممرضة الى افراز إنزيم الكايتنيز من قبل هذه البكتريا مما يؤدي الى تحليل خلايا جدران الفطر الممرض وربما يؤدي إنزيم البروتيز نفس الدور الذي يؤديه انزيم الكايتنيز واتفقت هذه النتيجة مع ما وجده Usharani و Gowda (28) في تثبيط نمو الفطر Fusarium .

جدول(2) تقييم كفاءة البكتريا *A.chroococcum* و *B. thuringiensis* في تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض *F. solani* (F.s a)

النسبة المئوية للتثبيط%	النمو الفطري (سم)	المعاملة
79.4	1.75	فطر+*A.chroococcum*
70.6	2.5	فطر+*B. thuringiensis*
00	8.5سم	المقارنة فطر *F.solani* (F.s a)
0.25	0.117	LSD

4 - تقييم فعالية العوامل الاحيائيه *chroococcum* *A.* ، *B. thuringiensis* وسماد الدواجن في خفض شدة اصابة شتلات النارنج بعمر سنه بالفطر الممرض*F.solani* وبعض معايير النمو تحت ظروف الظلة الخشبية :-

أظهرت نتائج الدراسة (جدول3) ان اقل نسبة شدة اصابه هي معاملة البكتريا *A.chroococcum*والفطر الممرض وسماد الدواجن بنسبة15% حيث كانت 8.29 وان المعاملة ببكتريا *A.chroococcum* وسماد الدواجن بنسبة15% حققت أعلى القيم في معايير النمو كالوزن الطري والوزن الجاف وطول النبات وللمجموعين الجذري والخضري اذ بلغت 15.60 و 8.90 و 9.40 و 5.80 غم.نبات$^{-1}$ و51.00 و 38.06سم.نبات $^{-1}$ مقارنة بمعاملة المقارنة حيث بلغت 5.60 و2.70 و2.00 1.00 غم.نبات$^{-1}$ و42.60 و31.00 سم.نبات$^{-1}$ ومقارنة بمعامله هذه البكتريا مع نسبة15% من السماد مع الفطر الممرض حيث كانت10.80 و5.80 و6.20 و3.00 غم.نبات$^{-1}$ و47.10 و35.10 سم.نبات-1 والفطر بمفرده اذ كانت 1.00 و0.60 و0.50 و0.00 غم.نبات$^{-1}$ و9.10 و5.00 سم.نبات-1 على التوالي اذ حققت البكتريا مع السماد خفض واضح لإصابة الفطر للنبات ويعود السبب الى ما تمتلكه هذه البكتريا من اليات مختلفة للتأثير في المسبب المرضي منها انتاج الأنزيمات كأنزيم الكايتنيز والبروتيز والمضادات الحيوية مثل Bacteriocin و Thuricin والسموم منها delta-endotoxin التي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطريه وجاءت معاملة البكتريا *B.thuringiensis* والسماد بنسبة15% بالمرتبة الثانية فقد حققت زيادة معنوية في معايير النمو كالوزن الطري والوزن

جدول(3) تقييم تأثير بكتريا *A.chroococcum* و *B.thuringiensis* وسماد الدواجن في خفض شدة اصابة شتلات النارنج بعمر 103 يوم بالفطر الممرض *solani.F* تحت ظروف الظلة الخشبية

المعاملات	شدة الاصابة	الوزن الطري (غم/نبات)		الوزن الجاف(غم/نبات)		اطوال النباتات (سم/نبات)	
		للمجموع الحضري	للمجموع الجذري	المجموع الخضري	المجموع الجذري	للمجموع الخضري	للمجموع الجذري
فطر F.s بمفرده	91.33	0.60	1.00	0.00	0.50	5.00	9.10
فطر+ سماد دواجن 10%	66.66	2.10	4.40	0.00	1.20	30.00	41.00
فطر+ سماد دواجن 15%	50.00	2.70	5.10	0.20	2.10	30.30	41.30
فطر+ سماد دواجن 20%	48.33	2.50	4.80	0.00	2.70	30.80	42.70
فطر+بكتريا *A.chroococcum*	41.66	3.00	6.20	0.60	2.80	31.50	43.10
فطر+ بكتريا *B. thuringiensi*	50.00	2.86	5.90	0.30	2.50	31.20	42.80
فطر+ *A.chroococcum*+سماد10%	16.66	5.10	9.60	2.30	5.40	34.30	46.30
فطر + *A.chroococcum*+سماد15%	8.29	5.80	10.80	3.00	6.20	35.10	47.10
فطر + *A.chroococcum*+سماد20%	16.66	5.60	10.20	2.70	5.80	34.70	46.80
فطر+ بكتريا *B. thuringiensi* +سماد10%	41.66	4.20	8.00	1.70	4.30	33.00	44.70
فطر+ بكتريا *B. thuringiensi* + سماد15%	25.00	4.70	9.00	2.00	5.10	33.90	45.40
فطر+ بكتريا *B. thuringiensi* + سماد20%	33.33	4.40	8.50	1.80	4.70	33.50	45.06
سماد 10% بمفرده	00	3.20	6.80	0.80	3.20	31.80	43.60
سماد15% بمفرده	00	4.00	7.30	1.30	4.00	32.60	44.30

سماد20% بمفرده	00	3.60	7.10	1.00	3.60	32.20	43.90
بكتريا *A.chroococcum* بمفرده	00	6.40	12.40	3.70	7.20	35.80	47.80
بكتريا *B. thuringiensi* بمفرده	00	6.00	11.90	3.30	6.90	35.40	47.46
بكتريــا *A.chroococcum* + سماد10%	00	8.10	14.30	4.90	8.80	37.30	50.10
بكتريــا *A.chroococcum* + سماد15%	00	8.90	15.60	5.80	9.40	38.06	51.00
بكتريــا *A.chroococcum* + سماد20%	00	8.50	15.00	5.20	9.10	37.60	50.80
بكتريــا *B. thuringiensi* + سماد10%	00	6.90	13.10	4.00	7.70	36.10	48.20
بكتريــا *B. thuringiensi* + سماد15%	00	7.83	14.00	4.60	8.50	37.00	48.90
بكتريــا *B. thuringiensi* + سماد20%	00	5.40	13.70	4.20	8.10	36.50	48.60
المقارنه	00	2.70	5.60	1.00	2.00	31.00	42.60
L.S.Dعند مستوى احتمال 0.05	*1.507	*0.603	*0.229	*0.183	*0.189	*8.719	*0.228

الجــاف وطــول النبــات وللمجمــوعين الجــذري والخضـــــري اذ بلغـــت14.00 و7.83 و8.50 و4.60 غم.نبـات$^{-1}$ و48.90 و37.00 سم.نبات$^{-1}$ على التوالي قياساً الـى معاملـة الفطـر مـع البكتريـا هذه والسماد بنسبة15%حيث كانت 9.00 و4.70 و5.10 و 2.00 غم.نبـــــات$^{-1}$ و45.40 و33.90 سم.نبات$^{-1}$.ويعود السبب الـى اليات هذه البكتريـا فـي تثبـيط نمـو الفطريـات ومنهـا القـدرة التنافسـية العاليـة بينهـا وبـين المسبب المرضـي علـى المـواد الغذائية وكذلك توفير بيئة ملائمة عند اضافة سماد الـدواجن للتربـة حيـث زودت مـن خصـوبة التربـة وتشجيع نمو البكتريا وكذلك ابعاد الممرض عن البيئـة الاسـتيطانية الملائمـة كمـا ان لهـذه البكتريـا القـدرة علـى تكـوين مركبـات الــ Sidrophores الخالبـة للحديد الثلاثي ومـن ثم جعلـه غير جـاهز للفطـر ممـا يـؤدي الـى موتـه وتحللـه ، اضـافة الـى افرازهـا للمضـادات الحيويـة وانتاجهـا للأنزيمـات التي تعمل علـى تحلل الغزل الفطـري وتشـوه قمم الخيوط الفطرية (26 و 25 و 15) .

المصادر:

1. اغـا ، جـواد ذنـون وداود عبـد داؤد . 1991. انتـاج الفاكهـة المسـتديمة الخضـرة ، الجـزء الثاني . دار الكتب للطباعـة والنشـر ، جامعـة الموصل . العراق

2. الخفـاجي ، مكـي علـوان وفيصـل عبـدالهادي المختـار. 1989. انتـاج الفاكهـة والخضـر. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد. العراق

3. جبر،كامل سلمان ،2006.اول تسجيل للفطري *Rhizoctonia solani* و *Scytalididum sp.*المسـببين لمـرض تعفـن جذوروقواعـد سـيقان نباتـات الجربـرا فـي العراق.مجلـة العلوم الزراعية 37 : 133-140. جمهورية العراق

4. حسـون ، إبـراهيم خليـل . 2005 . المكافحـة البايلوجيـة والكيميائيـة لمسـبب تقـرح سـاق البطاطـا *Rhizoctonia solani* Kuhn أطروحـة دكتـوراه . كليـة الزراعـة . جامعـة بغداد. جمهورية العراق.

5. خضير،وديجة محسن 2007.المكافحة المتكاملة لمرض تعفن جذور الحمضيات المتسبب عن الفطـر *Fusarium solani* .اطروحـة دكتـوراه .كليـة الزراعـة .جامعـة بغـداد . جمهورية العراق

6. غـالي ، فـائز صـاحب غـالي . 1980. تـدهور الحمضـيات المتسـبب عـن الفطـر *Phytophthora citrophthora* (R.E. Sn. and E.H. Sm.) وعلاقتـه بمستوى المـاء الارضـي. رسـالة ماجسـتير. كليـة الزراعة. جامعة بغداد. العراق

7. منظمـة الاغذيـة والزراعـة العالميـة 2007 بالتعـاون مـع مشـروع GCP/SYR/006/IJA.

8. Bakker, A.W. and Shippers, B. . Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp. Mediated plant growth stimulation. Soil biology and biochemistry, 19 : 451 – 457.

9. Barreto , D; S. Babbitt , M. Gally and Perez, B. A . 2003. *Nectria haematococca* Casing Root Rot Ra in Olive Greenhouse Plants. Revista de la Soiciedad Argentina de Horticultura , 32 (1) : 49-55.

10. Bolkan, H. H., and Butler, E. E. 1974. Studies on heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani* . Phytopathology 64: 513 – 522.

11. Booth ,C. 1971.The Genus *Fusarium* . Commonwealth Mycological Institute , Kew , Surrey , England,237 pp.

12. Booth , C; 1977. *Fusarium* . Laboratory guide to the identification of the major species . Commonwealth Mycological Institute , Kew, Survey , England , 58 pp.

13. Dewan , M.M; 1989. Identity and frequency of fungi in root of wheat and Ryegrass and their effect on take all and host growth . Ph. D. Thesis , Univ. , Wes. Australian 210 pp.

14. Glick, B. R. and Y. Bashan. 1997. Genetic manipulation of plant growth- promoting bacteria to enhance biocontrol of Phytopathogens. Biotechnol. Advances. 15:353-378.
15. Hillel, D. 2005. Plant Growth Promoting Bacteria. Elsevier, Oxford, U. K.,:103-115.
16. Hassan , M.S; A.H. El-Behadli and Al-Saadawi, I. S . 1989. Citrus replant problem in Iraq. 1- Possible of soil fungi and nematodes. Plant and Soil, 116 : 151-155.
17. Kloepper , J.W; C.M. Ryu and Zhang, S . 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology, 94 : 1259-1266.
18. Larkin , R.P. 2004. Development of integrated biological and cultural approaches for control of powdery scab and other borne disease. USDA , ARS, New England. Plant , Soil, and water lab University of Maine , Orone , ME. 044469 www-Maine potatos. Com / pdf. / potresgrant-04.
19. Lozovaya , V.V., A.V. Lygin , O.V. Zernova , S., Li , J.M. Widholm and Hartman, G. L . 2006. Lignin degradation by Fusarium solani f. sp. glycines. Plant Dis., 9 : 77-82.
20. Lesli, A. and F.J. Summere. 2006. Nuama Laboratory Fusarium The .pp 388.
21. Mckinney , H.H; 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by Helminthosprium sativum .J.Agric. Res., 26:195-217.
22. Montealegre, J. R. ; R. Rodrigo ; P.M. Luz ; H. Rodrigo ; S. Polyana and Ximena, B.2003. Selection of bioantagonstic bacteria to be used in biological control of Rhizoctonia solani in tomato. J. Biotec.,6:115- 127.
23. Rai , V.R. and T. Mamatha . 2005. Seedling diseases of some important forest tree species and their management . http: //www. Metla. F : / julkaisut / working papers / 2005 / m WPo11.htm.
24. Schisler , D.A; N.I. Khan and Slininger, P. J . 2002. Greenhouse and field evaluation of biological control of Fusarium head blight

on durum wheat. Plant Dis., 86 : 1350-1356.

25. Sharma, P. K., S. K. Dey and Chahal, V. P. S . 1986 .In vitro interaction between phytopathogens and Azotobacter species. Indian Phytopathol., 39 : 117 – 119.
26. Singh, T. 1977. Studies on interaction between Azotobacter chroococcum and some plant pathogens. IAP, Ph. D. Thesis . Cited from Can. J. Microb. , New Delhi. India.
27. Tatum , J.H. and R.A. Baker. 1983. Naphthoquinones produced by Fusarium solani isolated from citrus. Phytochemistry 22 : 543-547.
28. Usharani, T.R. and T.K. Gowda .2011. Cloning of chitinase gene from Bacillus thuringiensis . Ind. J. Biotechnology ,10:264-269

Effect of *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus thuringiensis* Bacteria with poultry manures against *Fusarium solani* caused citrus root Rot under wooden canopy foundation

Ibrahim Khaleel Hassoon *Ghadah Majid Al-Ghanimi

Department of Bio- Resistance . Al – Musayyib / Technical College . Al – Furat Al – Awsat Technical University . Foundation of Technical Education . Republic of Iraq

Abstract:

This experiment was cd ouarriett to assess the impact of two bio- agent factors *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus thuringiensis* and poultry manure with three ratios (10% 15 % and 20%) against pathogenic fungus *Fusarium solani* under a lathhouse conditions results showed the presence of a positive impact when using bacteria with fertilizer on the plant and reducing the pathogenesis fungus and its impact on the plant and in particular the use of *Azotobacter chroococcum* with poultry manure by 15 % gave good results as fresh weight and dry weight of shoot and root, plant height of shoot and root length , which were 15.60 and 8.90 and 9.40 and 5.80gm.plant^{-1} and 51.00 and 38.06cm.plant-1 as respectively compared to the control treatment which were 5.60 and 2.70 and 2.00 and 1.00 gm.plant-1 and 42.60 and 31.00cm.plant^{-1}. The manure encouraged the growth of bacteria , as well as inhibited the growth of fungus and lack of fungus adaptability in the soil and the highest inhibition percentage inhibition for the treatment of fungus and Azotobacter with 15% of poultry manure with pathogen fungus which effect on plant weight of fresh and dry shoot and dry root and the length of shoot and root plant, 10.80 and 5.80 and 6.20 and 3.00gm. plant^{-1} and 47.10 and 35.10cm.plant^{-1} and respectively compared with treatment with fungus alone which were 1.00 and 0.60 and 0.50 and 0.00 and gm.plant-1 and 9.10 and 5.00cm.plant^{-1} respectivety and appeared significant differences evident when used bacteria and manure with fungus .

Key words : Bacteria *Azotobacter chroococcum* and *Bacillus thuringiensis* , Fungi *Fusarium solain*, fungus Root- Rot.

Part of M.Sc thesis of the second author*