

تأثير معالجة بذور فول الصويا ببكتيريا العقد الجذرية *Rhizobium japonicum* والمبيد الفطري Tecto (Thiobendazole) في خفض الإصابة بمرض عفن الجذور وموت البادرات المتسبب عن الفطور *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina*

رقيب عاكف العاني¹، ماجدة هادي مهدي² وهايدي مهدي عبود³

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق؛ (2) قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد، العراق؛ (3) وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، العراق، البريد الإلكتروني: maa_adhab@hotmail.com

الملخص

العاني، رقيب عاكف، ماجدة هادي مهدي وهايدي مهدي عبود. 2011. تأثير معالجة بذور فول الصويا ببكتيريا العقد الجذرية *Rhizobium japonicum* والمبيد الفطري Tecto (Thiobendazole) في خفض الإصابة بمرض عفن الجذور وموت البادرات المتسبب عن الفطور *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina*. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 60-67.

أجريت هذه الدراسة لتقويم فعالية بكتيريا العقد الجذرية *R. japonicum* والمبيد الكيماوي Tecto (Thiabendazole) في مكافحة مرض تعفن الجذور وموت بادرات فول الصويا المتسببة عن الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina*. أشارت النتائج المتحصل أن معالجة بذور فول الصويا ببكتيريا العقد الجذرية والمبيد الكيماوي أدت إلى زيادة معنوية في نسبة الإنبات. حيث بلغت في البذور المعاملة ببكتيريا العقد الجذرية والمزروعة في تربة ملوثة بالفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* بشكل مفرد ومع بعضهما 48.7، 50.23 و 55.26%، على التوالي، و 44.8، 46.26 و 51.3% للبذور المعاملة بالمبيد Tecto، و 52.03، 53.3 و 57.63% للبذور المعاملة بالمبيد وبكتيريا العقد الجذرية والمزروعة في تربة ملوثة بالفطور أعلاه للفصل الربيعي، مقارنة بـ 30.96، 38.2 و 35.0% للبذور غير المعاملة المزروعة في تربة ملوثة بالفطور أعلاه، على التوالي. وأحدثت عوامل مكافحة خفصاً معنوياً في شدة إصابة المجموع الخضري، فقد بلغت النسبة المئوية لشدة الإصابة 45.51، 53.32 و 35.55% لمعاملات بكتيريا العقد الجذرية والمبيد الكيماوي والتداخل بينهما، على التوالي للنباتات المزروعة في تربة ملوثة بالفطر *F. solani*، و 42.0، 48.60 و 38.82% للنباتات المزروعة في تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina*، و 55.76، 62.16 و 50.22% للنباتات المزروعة في تربة ملوثة بالفطرين مع بعضهما، مقارنة بشدة إصابة 73.33، 64.43 و 73.30% للنباتات المزروعة (بدون معاملة) في تربة ملوثة بـ *F. solani*، *M. phaseolina* والتداخل بينهما خلال الموسم الربيعي. وأحدثت عاملتي مكافحة خفصاً مماثلاً في شدة الإصابة للمجموع الجذري. وتم الحصول على نتائج مماثلة في الفصل الخريفي مع اختلاف طفيف في النسب بين الفصلين يعود لاختلاف الظروف البيئية السائدة أثناء نمو المحصول.

كلمات مفتاحية: تعفن الجذور، رايزوبيا، مكافحة حيائية، موت البادرات.

المقدمة

solani وتحفيزها نمو نبات *Vigna mungo* (29، 32). وأدى التلقيح المزدوج بالبكتيريا *Pseudomonas* والبكتيريا *Mezorhizobium* إلى تحفيز تكوين العقد والتقليل من الإصابة بالفطور *F. solani*، *R. solani* و *Pythium aphanidermatum* (33).

على الرغم من تنوع عوامل مكافحة الحيوية تبقى المبيدات الفطرية من أكثر وسائل مكافحة استعمالاً، ولقد استعملت المبيدات الفطرية من مجموعة Benzimidazole ومنها Tecto في مكافحة مرض تعفن الجذور وسقوط البادرات في المحاصيل البقولية المتسبب عن الفطرين *Macrophomina phaseolina* و *Fusarium solani* ولم يؤثر استعماله في تكوين العقد البكتيرية على الجذور (12، 14، 21، 23، 24).

ونظراً لكفاءة مبيد Tecto في مكافحة أمراض التعفن وعدم تأثيره في تكوين العقد فقد هدفت هذه الدراسة إلى تقويم كفاءة الخلط

تحتوي التربة الزراعية على خليط متنوع من الأحياء المجهرية كالبكتيريا والفطور والطحالب والأوالي الحيوانية (4). وتعد البكتيريا من بين أكثر مجاميع الأحياء المجهرية أهمية وتلعب دوراً كبيراً في التحولات الحيوية في التربة يعكس على تغذية النبات ونموه وإنتاجيته (11، 20). ومن بين البكتيريا القاطنة للتربة تمثل البكتيريا المثبتة للنيتروجين (*Rhizobia*) التي تتعايش مع جذور النباتات البقولية أكثر المجاميع البكتيرية أهمية (9). استعملت هذه البكتيريا كثيراً كمخصبات حيوية للمحاصيل البقولية (18، 25). كما وجد أن لهذه البكتيريا مقدرة على تحفيز نمو نباتات لا تعود للعائلة البقولية من خلال تثبيطها المسببات المرضية (22). وأشار إلى أن الكثير من سلالات الرايزوبيا لها القدرة على تثبيط نمو الفطور *Macrophomina phaseolina*، *Rhizoctonia solani* و *Fusarium*

بين استعمال المبيد Tecto والتلقيح بكتريا العقد (Rhizobia) في مكافحة أمراض تعفن البذور والجذور وموت بادرات فول الصويا.

مواد البحث وطرائقه

المواد المستخدمة

الفطر - عزلت الفطور المسببة لمرض تعفن الجذور وسقوط البادرات من سوق وجذور نباتات فول صويا مصابة. قطعت الجذور والسوق إلى قطع صغيرة، طهرت سطحياً بواسطة هيبوكلووريت الصوديوم مدة 2-3 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم. جففت القطع على ورق ترشيح وزرعت على وسط الزرع PSA (مستخلص البطاطا 200 غ - سكروز 10 غ - آجار 15 غ) في أطباق بتري قطر 9 سم. نقل جزء من حافات النمو الفطرية إلى أطباق أخرى حاوية على الوسط PSA. شخص الفطر *M. phaseolina* وفق المفتاح التصنيفي Holliday و Punithalingam (19) والفطر *F. solani* وفق المفتاح التصنيفي Booth (6, 7) و Tousson و Nelson (34).

اختبرت القدرة الإراضية للفطور المعزولة في أصص بلاستيكية ملئت بخليط من تربة وبنموس بنسبة 2: 1 وقسمت الأصص إلى أربعة مجموعات. لوثت تربة المجموعة الأولى بالفطر *F. solani*، وتربة المجموعة الثانية بالفطر *M. phaseolina* ولوثت تربة المجموعة الثالثة بخليط من الفطرين، وتركت المجموعة الرابعة بدون تلوين كشاهد للمقارنة. سقيت الأصص وتركت في البيت الزجاجي عند 27 ± 3 °س مدة يومين ثم زرعت ببذور فول صويا مطهرة سطحياً بهيبوكلووريت الصوديوم. سجلت أعداد النباتات المصابة في كل معاملة بعد أسبوع من الإنبات.

البكتريا - تم الحصول على عزلة من بكتريا الرايزوبيا *R. japonicum* محملة على بنموس، من الهيئة العامة للبحوث الزراعية (مركز إباء سابقاً). أضيف 1 مل من معلق البكتريا إلى 150 مل من وسط الزرع السائل (YMB) Yeast Manitol Broth (1 غ K_2HPO_4 ، 1 غ KH_2PO_4 ، 0.2 غ NaCl، 0.2 غ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 0.1 غ $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ ، 0.08 غ $FeCl_2 \cdot 2H_2O$ ، 1 غ KNO_3 ، 1 غ مستخلص الخميرة، 10 غ مانيتول و 1 لتر ماء مقطر) (30) بدرجة حموضة 7.6، في دوارق زجاجية سعة 250 مل لتثبيتها وإكثارها. حضنت المزارع عند درجة حرارة $25-30$ °س مدة 48 ساعة وقدرت الكثافة العددية لها بطريقة التخفيف المتسلسل على وسط الزرع YAM (مستخلص الخميرة - مانيتول - آجار) (1 غ K_2HPO_4 ، 1 غ KH_2PO_4 ، 0.2 غ NaCl،

0.2 غ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 0.1 غ $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ ، 0.08 غ $FeCl_2 \cdot 2H_2O$ ، 1 غ KNO_3 ، 1 غ مستخلص الخميرة، 10 غ مانيتول و 1 لتر ماء مقطر ولتصليب الوسط أضيف 15 غ/لتر من الآجار) في أطباق بتري قطر 9 سم (5)، واستعمل التركيز 10^8 وحدة مشكلة للمستعمرات (cfu)/مل في التجارب اللاحقة. رشح المعلق البكتيري قبل استعماله من خلال غشاء Millipore بواسطة جهاز التفريغ الهوائي.

المبيد - استعمل في هذه الدراسة المبيد الفطري Tecto 500 SC (Thiabendazole). وهو مبيد جهازي.

تأثير المبيد Tecto في نمو الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* على وسط الزرع

أضيفت تراكيز المبيد 0.1، 0.2، 0.4، 0.8، 1.6 مغ/لتر إلى وسط الزرع PSA قبل تصلبه وصب في أطباق بتري قطر 9 سم. لقع الوسط، بعد تصلبه، بأقراص قطر 5 مم من نموات الفطرين *M. phaseolina* و *F. solani* من مزارع عمر 48 ساعة. حضنت الأطباق في حاضنة عند 28 ± 2 °س، وحسب النمو القطري للفطرين وحسبت نسبة التثبيط حسب المعادلة الآتية:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل النمو القطري في الشاهد} - \text{معدل النمو القطري في المعاملة}}{\text{معدل النمو القطري في الشاهد}} \times 100$$

كررت المعاملات ثلاث مرات.

تأثير المبيد Tecto في الرايزوبيا *R. japonicum* على وسط الزرع وضع 1 مل من مزرعة الرايزوبيا السائلة بتركيز 10^8 خلية/مل في طبق بتري معقم قطر 9 سم، وصبت فوقه كمية ملائمة من وسط الزرع YAM وترك ليتصلب. غطست 5 أقراص من ورق ترشيح قطر 2 مم في تراكيز المبيد 0.1، 0.2، 0.4، 0.8، 1.6 مغ/لتر ووزعت على محيط دائرة قطر 8 سم على وسط الزرع الحاوي على الرايزوبيا في الأطباق. غطست 5 أقراص أخرى في ماء مقطر معقم ووزعت على الوسط بالطريقة نفسها للمقارنة، كررت المعاملات ثلاث مرات. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28 ± 2 °س. تم قياس هالة التثبيط حول كل قرص بعد 48 ساعة.

تقويم الكفاءة التضادية للرايزوبيا ضد الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* في البيت الزجاجي

لوثت تربة معقمة في أصص بلاستيكية بمعدل 2 كغ/أصيص بالفطرين الممرضين *F. solani* و *M. phaseolina* كل على انفراد

- الزراعة في تربة ملوثة بالفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* والبذور معاملة بالمبيد Tecto ومحملة بالرايزوبيا.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* والبذور غير معاملة (شاهد للمقارنة).
- الزراعة في تربة غير ملوثة والبذور معاملة بالمبيد.
- الزراعة في تربة غير ملوثة والبذور محملة بالرايزوبيا.
- الزراعة في تربة غير ملوثة والبذور غير معاملة (شاهد للمقارنة).

تم تلويث التربة بالفطور الممرضة بعمل شق على امتداد التلم وإضافة اللقاح الفطري المحمل على جريش الذرة ونخالة الحنطة بمعدل 6 غ/م طولاً. ولمعاملة البذور بالمبيد الكيماوي، غمرت البذور بمحلول 0.8 مغ/لتر مدة 5 دقائق ثم زرعت. حملت البكتريا النامية في الوسط السائل على طمي نهري مضافاً إليه 0.5% K_2HPO_4 ، 1% مانيتول، 1% مسحوق صمغ عربي كمادة لاصقة، بنسبة 500 مل من المزرعة السائلة: 300 غ تربة، عقم الحامل قبل الاستعمال في الاوتوكلاف عند 121°س وضغط 1.5 كغ/بوصة² مدة ساعتين. خلطت البذور مع اللقاح المحمل في إناء معقم. ترك الخليط مدة ساعتين مكشوفاً ثم زرعت البذور (في معاملات البذور المحملة بالبكتيريا) (37).

أخذت البيانات على الشكل التالي: حسب نسبة إنبات البذور المعاملة بعد أسبوع من الإنبات. وقدرت شدة الإصابة على المجموع الخضري وفق الدليل المرضي الموصوف من Woltz و Arthur (36) المكون من 6 درجات. كما قدرت شدة الإصابة على المجموع الجذري وفق الدليل المرضي (0-4) الآتي: 0 = المجموع الجذري سليم، 1 = 1-25% من المجموع الجذري متعفن، 2 = 26-50% من المجموع الجذري متعفن، 3 = 51-75% من المجموع الجذري متعفن، 4 = 76-100% من المجموع الجذري متعفن.

النتائج والمناقشة

تأثير المبيد Tecto في نمو الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* على وسط الزرع
أشارت نتائج هذه التجربة إلى أن المبيد Tecto وبجميع التراكيز المستعملة قد سبب تثبيطاً معنوياً لنمو الفطرين تناسب طردياً مع زيادة التركيز وبلغت نسبة التثبيط 100% عند التركيز 1.6 مغ/لتر (جدول 1). وقد أشارت دراسات سابقة إلى فعالية المبيد Tecto عند استعماله في معاملة بذور فول الصويا في تثبيط الفطور المسببة لتعفن الجذور وموت البادرات (14).

ومع بعضهما، المنماة على وسط الجريش، بواقع 2 غ/كغ تربة. وزعت الأخص في البيت الزجاجي وسقيت بالماء ولقحت بعد يومين بالرايزوبيا النامية في وسط الزرع YMB بواقع 10 مل/أصيص بتركيز 10^8 وحدة مشكلة للمستعمرات (cfu)/مل. زرعت الأخص ببذور فول الصويا بواقع 10 بذور/أصيص وكررت المعاملات 10 مرات. تركت أخص بدون معاملة للمقارنة. حسب النسبة المئوية للإنبات بعد أسبوع من الزراعة. خفت البادرات إلى ثلاث بادرات لكل أصيص وحسبت عليها شدة الإصابة حسب الدليل المرضي الموصوف من قبل Woltz و Arthur (36).

تقويم كفاءة المبيد الفطري والرايزوبيا ضد الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* حقلياً

حرثت قطعة أرض ملائمة ونعمت ثم سويت وقسمت إلى قطاعات عملت فيها أثلاماً بطول 3 م والمسافة بين الأثلام 30 سم. زرعت بذور فول الصويا على الأثلام في جور بمعدل 3 بذور/جورة ثم خفت بعد الإنبات إلى نباتين في الجورة. وزعت المعاملات بطريقة عشوائية وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة. كررت المعاملات ثلاث مرات وعلى موسمين ربيعي وخريفي، وكانت على النحو الآتي:

- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *F. solani* والبذور معاملة بالمبيد Tecto.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *F. solani* والبذور محملة بالرايزوبيا.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *F. solani* والبذور معاملة بالمبيد Tecto ومحملة بالرايزوبيا.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *F. solani* والبذور غير معاملة (شاهد للمقارنة).
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* والبذور معاملة بالمبيد Tecto.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* والبذور محملة بالرايزوبيا.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* والبذور معاملة بالمبيد Tecto ومحملة بالرايزوبيا.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* والبذور غير معاملة (شاهد للمقارنة).
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* والبذور معاملة بالمبيد Tecto.
- الزراعة في تربة ملوثة بالفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* والبذور محملة بالرايزوبيا.

جدول 1. تأثير المبيد Tecto في معدل النمو الفطري للفطرين المرضيين *F. solani* و *M. phaseolina* على وسط الزرع.

Table 1. The effect of Tecto on fungal radial growth rate of the pathogens *F. solani* and *M. phaseolina* on culture medium.

<i>Macrophomina phaseolina</i>		<i>Fusarium solani</i>		تركيز المبيد (مغ/لتر) Fungicide concentration (mg/L)
معدل النمو الفطري (سم)	Average radial growth (cm)	% للتثبيط inhibition	معدل النمو الفطري (سم)	
24.9	6.80	27.6	6.51	0.1
40.0	5.40	41.5	5.26	0.2
54.8	4.06	55.5	4.00	0.4
85.5	1.30	87.1	1.16	0.8
99.6	0.03	100.0	0.00	1.6
0.0	9.00	0.0	9.00	الشاهد Control
	0.41		0.38	أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05

تأثير المبيد Tecto في الرايزوبيا *R. japonicum* على وسط الزرع

لم تشر نتائج هذا الاختبار إلى وجود أي تأثير تثبيطي للمبيد Tecto بالتراكيز 0.1، 0.2، 0.4، 0.8، 1.6 مغ/لتر في نمو البكتريا *R. japonicum*، إذ لم يختلف نمو البكتريا مع المبيد عن نموها في معاملة عدم وجود المبيد (الشاهد). إن عدم وجود تأثير لهذا المبيد في الرايزوبيا ربما يعود إلى غياب المسار الحيوي الذي يؤثر فيه المبيد في الرايزوبيا. وتتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات سابقة حول عدم حساسية الرايزوبيا للمبيد Tecto. لذلك فقد استعمل هذا المبيد بالتوافق مع الرايزوبيا في التجارب الحقلية في برامج مكافحة المتكاملة.

المقدرة التضادية للرايزوبيا ضد الفطرين المرضيين *F. solani* و *M. phaseolina* في البيت الزجاجي

وجد أن إضافة الرايزوبيا إلى التربة المعاملة بالفطرين المرضيين *F. solani* و *M. phaseolina* على انفراد أو مع بعضهما أدت إلى زيادة معنوية في النسبة المؤية للإنبات عند مستوى احتمال 5%. إذ بلغت النسبة المؤية للإنبات في معاملات الرايزوبيا 66.6، 73.3 و 63.3% مقارنة بـ 40.0، 43.3 و 46.6% لمعاملة الفطرين والتداخل بينهما، على التوالي (جدول 2)، وكانت النسبة المؤية للإنبات في معاملة الشاهد 76.6%. إن الزيادة في النسبة المؤية للإنبات بوجود الرايزوبيا ربما يعود إلى إفراز هذه البكتريا مواد تحفيزية ومنظمات نمو تعمل على تحفيز الإنبات مثل Indol Acetic Acid (IAA) و Cytokinin. وقد أشارت بعض

الدراسات إلى مقدرة بعض أنواع الرايزوبيا على إنتاج منظمات نمو (9، 15، 25، 26، 28)، فضلاً عن إنتاجها حامض الجبرليك (GA) الذي يحفز الإنبات ويزيد من انقسام الخلايا (8). وقد ذكر سابقاً أن الرايزوبيا تعمل على زيادة جاهزية العناصر الغذائية للنبات كالفسفور (1، 10)، وهذه جميعها عوامل تحفز على الإنبات.

أدت إضافة الرايزوبيا أيضاً إلى خفض شدة الإصابة على المجموع الخضري بشكل معنوي عند مستوى احتمال 5%، حيث بلغت 37.76، 34.43 و 55.53% لمعاملات *F. solani* و *M. phaseolina* والتداخل بينهما، على التوالي مقارنة بـ 82.2، 46.6 و 68.96% بدون وجود الرايزوبيا، على التوالي (جدول 2). وظهرت نتائج مماثلة على المجموع الجذري فقد بلغت شدة الإصابة 44.4، 36.1 و 38.83% للمعاملات نفسها أعلاه مع الرايزوبيا مقارنة بـ 77.76، 69.4 و 74.96% بدون وجود الرايزوبيا. تشير هذه النتائج إلى احتمال وجود نشاط تضادي للرايزوبيا ضد الفطرين المرضيين عن طريق إفرازها مواد مثبطة، وقد ذكرت المصادر مقدرة الرايزوبيا على إنتاج Siderophores كمواد مخلبية تزيد من قدرة الرايزوبيا التضادية (3). وقد أشار Murphy وآخرون (27) إلى قدرة الرايزوبيا على إنتاج مادة Rhizopine التي تعمل على زيادة القدرة التنافسية للرايزوبيا مما يؤدي إلى تثبيط مسببات المرضية.

جدول 2. المقدرة التضادية للبكتريا *R. japonicum* (R.J) ضد الفطرين المرضيين *F. solani* (F.S) و *M. phaseolina* (M.P) تحت ظروف البيت الزجاجي.

Table 2. The antagonistic capacity of *R. japonicum* (R.J) against *F. solani* (F.S) and *M. phaseolina* (M.P) under greenhouse conditions.

شدة الإصابة على المجموع الجذري Disease severity on roots	شدة الإصابة على المجموع الخضري Disease severity on foliage	% للإنبات Germination %	المعاملات Treatments
77.76	82.20	40.00	F.S
69.40	46.60	43.30	M.P
74.96	68.96	46.60	F.S + M.P
44.40	37.76	66.60	F.S + R.J
36.10	34.43	73.30	M.P + R.J
38.83	55.53	63.30	F.S + M.P + R.J
27.73	19.96	83.30	R.J
9.40	18.80	76.60	الشاهد Control
12.85	12.49	12.89	أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05

و 53.3% لمعاملات الرايزوبيا والمبيد والاثان معاً، على التوالي للفصل الربيعي، 50.5 و 40.5 و 52.7%، على التوالي للفصل الخريفي. وكانت النسبة المؤية للإنبات لعاملي المكافحة مع الفطرين كليهما 55.26 و 51.3 و 57.63%، على التوالي للفصل الربيعي، 50.13 و 40.1 و 51.5%، على التوالي للفصل الخريفي. ويلاحظ أيضاً تميز معاملة الرايزوبيا عن المبيد الكيماوي في رفع نسبة الإنبات.

أحدثت عوامل المكافحة خفضاً معنوياً في شدة الإصابة على المجموعتين الخضري والجزري إذ بلغت شدة الإصابة على المجموع الخضري 45.53، 53.32 و 35.55% في معاملات الرايزوبيا والمبيد والتداخل بينهما مع الفطر *F. solani*، على التوالي، 42.0، 48.6 و 38.82% للعوامل نفسها مع الفطر *M. phaseolina*، على التوالي، 55.76، 62.16 و 50.22% للفطرين مع بعضهما للموسم الربيعي. وبلغت 46.63، 62.2 و 42.2% مع الفطر *F. solani*، 43.23، 62.16 و 40.4% مع الفطر *M. phaseolina*، و 51.0، 62.16 و 48.22% للفطرين مع بعضهما لعوامل المكافحة نفسها في الفصل الخريفي.

تأثير التداخل بين المبيد Tecto الفطري والبكتريا *R. japonicum* في الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* تحت الظروف الحقلية تشير النتائج التي تم الحصول عليها (جدول 3) إلى أن الفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* على أفراد أو مع بعضهما أحدثاً خفضاً معنوياً في النسبة المؤية لإنبات بذور فول الصويا. فقد بلغت 30.96، 38.2 و 35.0% للموسم الربيعي و 28.5، 35.83 و 33.8% للموسم الخريفي، على التوالي، مقارنة بنسبة إنبات 65.16% للموسم الربيعي و 42.2% للموسم الخريفي في الشاهد.

أحدثت عوامل المكافحة زيادة معنوية في النسبة المؤية للإنبات عند مستوى احتمال 5%، حيث بلغت نسبة الإنبات عند زراعة بذور حملة بالرايزوبيا أو معاملة بالمبيد Tecto أو بالاثنين معاً في تربة ملوثة بالفطر *F. solani*، 48.7، 44.8 و 52.03% على التوالي في الموسم الربيعي، 44.93 و 42.36 و 50.13% على التوالي للفصل الخريفي وتميزت معاملة الرايزوبيا مع الفطر قليلاً عن المبيد إلا أن الفرق لم يكن معنوياً، وكان للتداخل بين عاملي المكافحة تأثيراً أكبر في نسبة الإنبات. وظهرت نتائج مماثلة لعاملي المكافحة مع الفطر *M. phaseolina* فقد بلغت نسبة الإنبات 50.33 و 46.26

جدول 3. تأثير التداخل بين المبيد Tecto والبكتريا *R. japonicum* (R.J) في الفطرين *F. solani* (F.S) و *M. phaseolina* (M.P).
Table 3. The effect of interaction between Tecto and *R. japonicum* (R.J) on the fungi *F. solani* (F.S) and *M. phaseolina* (M.P).

الموسم الخريفي Fall season			الموسم الربيعي Spring season			المعاملات Treatments
شدة الإصابة على المجموع الجذري Disease severity on roots	شدة الإصابة على المجموع الخضري Disease severity on foliage	% للإنبات Germination %	شدة الإصابة على المجموع الجذري Disease severity on roots	شدة الإصابة على المجموع الخضري Disease severity on foliage	% للإنبات Germination %	
83.30	79.96	28.50	77.73	73.33	30.96	F.S
74.90	68.83	35.83	72.20	64.43	38.20	M.P
86.00	75.53	33.8	83.30	73.30	35.00	F.S + M.P
30.50	39.90	56.13	41.63	42.20	66.00	R.J
47.20	59.97	45.50	49.96	48.88	64.40	Tecto
27.70	46.63	44.93	48.20	45.53	48.70	F.S + R.J
49.90	62.20	42.36	55.55	53.32	44.80	F.S + Tecto
27.70	42.20	50.13	45.90	35.55	52.03	F.S+ R.J +Tecto
38.10	43.23	50.50	42.77	42.00	50.33	M.P + R.J
55.50	62.16	40.50	44.40	48.60	46.26	M.P + Tecto
36.80	40.40	52.70	40.44	38.82	53.30	M.P + R.J +Tecto
41.60	51.00	50.13	48.55	55.76	55.26	F.S + M.P+ R.J
66.60	62.16	40.10	58.33	62.16	51.30	F.S + M.P + Tecto
41.60	48.22	51.50	95.13	50.22	57.63	F.S + M.P + R.J. + Tecto
33.30	24.40	45.20	24.98	24.22	65.16	الشاهد Control
16.26	9.11	4.93	16.16	9.42	5.06	أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%

LSD at P=0.05

نمو تحفز الإنبات وتزيد من جاهزية بعض العناصر الغذائية كالفسفور للنبات مما يؤدي إلى حصول نمو خضري جيد يجعل النبات أكثر تحملاً للإصابة ويلغي جانباً كبيراً من تأثير المسبب المرضي في النبات. وقد سبقت الإشارة إلى منظمات النمو والمواد المحفزة التي تفرزها الرايزوبيا. ومن جانب آخر المقدرّة التضادية للرايزوبيا ضد المسببات المرضية من خلال ما تفرزه من مواد مثبّطة لهذه المسببات مثل Siderophore والرايزوبين Rhizopine التي تعمل على زيادة القدرة التنافسية والتضادية للرايزوبيا مع مسببات أمراض النبات. ولا يستبعد أن يكون للرايزوبيا دوراً في استحاثات المقاومة الجهازية في النبات من خلال إنتاجها مواد محفزة/محفزة للمقاومة مثل مادة Lipo Chito-oligosaccharides (LCOS) (22) أو مادة Lipopolysaccharides (LPS) (28، 31) التي تحفز النبات على إنتاج بروتينات تعمل على تثبيط تأثير المسببات المرضية.

يلاحظ تطابق النتائج لعاملية المكافحة في موسمي النمو مع اختلاف طفيف في النسب المئوية للإنبات ولشدة الإصابة على المجموعين الخضري والجذري ممكن أن يعزى إلى الاختلاف في الظروف البيئية السائدة في الموسمين أثناء نمو المحصول وخصوصاً درجة الحرارة والرطوبة.

يستنتج من هذه النتائج أنه بالإمكان استعمال المبيد الكيماوي Tecto مع عامل المكافحة الاحيائية الرايزوبيا في مكافحة المسببات المرضية مما يضمن الأداء الثابت والمستقر لهذه العوامل على الرغم من تباين الظروف البيئية التي كثيراً ما تأتي لصالح المسبب المرضي. إن إدخال عوامل مكافحة مختلفة يعني إشراك آليات مختلفة في المكافحة والذي يعد إحدى استراتيجيات المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية (2، 16، 17)، وقد أشارت دراسات عدة إلى إمكانية استعمال الطريقة الكيماوية مع الأحيائية بتوافق في برامج المكافحة المتكاملة لأمراض النبات (13، 21، 24، 35).

إن تفوق الرايزوبيا في التأثير في الإنبات وشدة الإصابة ربما يأتي من جانبين: الأول هو ما تفرزه هذه البكتريا من مواد ومنظمات

Abstract

Alani, R.A., M.H. Mahdi and H.M. Abood. 2011. Effect of Seed Treatment with *Rhizobium japonicum* together with Thiabendazole in Minimizing Root Rot Infection and Seedling Mortality of Soybean Caused by *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*. Arab Journal of Plant Protection, 29: 60-67.

This study was carried out to evaluate the efficacy of *Rhizobium japonicum* and the fungicide Thiabendazole (Tecto) in controlling *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina* root rot and seedling death in Soybean. Results obtained showed that treatment of soybean seeds with Rhizobia and Tecto induced significant increase in seed germination. The germination rate of seeds treated with Rhizobia and seeded in soil contaminated with either *F. solani* and *M. phaseolina* or both were 48.7, 50.33, and 55.26%, respectively, and 44.8, 46.26, and 51.3% for seeds treated with Tecto, 52.03, 53.3, and 57.63% for seeds treated with Tecto and Rhizobia and seeded in soil contaminated with the same fungi above compared to 35.96, 38.2, and 35.0% for non treated seeds sown in soil contaminated with the same fungi mentioned above during the spring season, respectively. The disease severity on the foliage reached 45.51, 53.32 and 35.55% for plants treated with Rhizobia, Tecto, and both, respectively, and grown in soil contaminated with *F. solani*; 42.0, 48.60, and 38.82% for plants grown in soil contaminated with *M. phaseolina*; 55.76, 62.16, and 50.22% for plants grown in soil contaminated with both fungi, compared with 73.33, 64.43, and 73.30% for untreated plants in soil contaminated with *F. solani*, *M. phaseolina*, and both fungi during spring season, respectively. The control agents induced similar decrease in disease severity on the root system. Similar results were obtained in the fall season with slight difference due to differences in ecological conditions between the two seasons.

Keywords: Root rot, Rhizobia, biological control, seedling death.

Corresponding author: Majda H. Mahdi, Department of Biological Science, Faculty of Sciences, Baghdad University, Iraq, Email: maa_adhab@hotmail.com

References

1. *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. Current Science, 81: 673–677.
4. **Atlas, R.M. (ed.).** 1997. Handbook of microbiological media, 2nd ed. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
5. **Black, C.A. (ed.).** 1965. Methods of soil analysis. Part I and II. American Soil Agronomy. Inc., Publishers, Madison, Wisconsin USA.

المراجع

1. **المفتي، هدى فاروق زكي.** 2004. التأثير المتداخل لفطري المايكورايزا الحوصلية *Glomus moseae* و *Gigaspora* spp. والبكتريا *Rhizobium* spp. في نباتات الماش والبقلاء النامية تحت مستويات مختلفة من الفسفور. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية، العراق.
2. **حافظ، حمدية زايد علي.** 2001. المكافحة المتكاملة لمرض التعفن الفحامي على السمسم المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.
3. **Aroora, N.K., S.C. Kang and D.K. Maheshwari.** 2001. Isolation of siderophore-producing strains of

- Fungi and Bacteria. No. 275. Commonwealth mycological Institute, Kew, Surrey, England.
20. **Ikram, I.** 1990. Beneficial soil microbes and crop productivity. *Planter*, 66: 640-648.
 21. **Khan, M.O. and S. Shahzad.** 2007. Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides. *Pakistan Journal of Botany*, 39: 945-951.
 22. **Lian, B., A. Souleimanov, X. Zhou and D.L. Smith.** 2002. *In vitro* induction of lipo-chitooligosaccharide production in *Bradyrhizobium japonicum* cultures by root extracts from non-leguminous plant. *Microbiological Research*, 157: 157-160.
 23. **Mamza, W.S., A.B. Zarafi and O. Alabi.** 2008. *In vitro* evaluation of six fungicides on radial mycelial growth and regrowth of *Fusarium pallidoroseum* isolated from castor (*Ricinus communis*) in Samaru, Nigeria. *African Journal of General Agriculture* 4: 65-71.
 24. **Mansoor, F., V. Sultana and S. Ehteshamul-Haque.** 2007. Enhancement of biocontrol potential of *Pseudomonas aeruginosa* and *Paecilomyces lilacinus* against root rot of mungbean by a medicinal plant *Launaea nudicaulis* L. *Pakistan Journal of Botany*, 39: 2113-2119.
 25. **Mathews, S.S., D.L. Sparkes and M.J. Bullard.** 2001. The response of wheat to inoculation with the diazotroph *Azorhizobium caulinodans*. *Aspects of Applied Biology*, 63: 35-42.
 26. **Minamisawa, K., T. Seki, S. Onodera, M. Kubota and T. Asami.** 1992. Genetic relatedness of *Bradyrhizobium japonicum* field isolates as revealed by repeated sequence and various other characteristics. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 2832 - 2839.
 27. **Murphy, P.J., W. Wexler, W. Grzemeski, J.P. Rao and D. Gordon.** 1995. Rhizopines their role in symbiosis and competition. *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 525-529.
 28. **Noel, K.D.** 1992. Rhizobial polysaccharides required in symbioses with legumes. Pages 341-357. In: *Molecular signals in plant microbe communications*. D.P.S. Verma (ed.). CRC Press, Boca Raton, FL.
 29. **Omar, S.A. and M.H. Abd-Alla.** 1998. Biocontrol of fungal root rot disease of crop plants by the use of Rhizobia and Bradyrhizobium. *Folia Microbiologica*, 43: 431-437.
 30. **Osa-Afiana, L.O. and M. Alexander.** 1979. Effect of moisture on the survival of rhizobium in soil. *Soil Sciences Society of America Journal*, 43: 925-930.
 31. **Reitz, M., P. Oger, A. Meyer, K. Niehaus, S.K. Farrand, J. Hallmann and R.A. Sikora.** 2002. Importance of the O-antigen, Core-region and lipid A of rhizobial lipopolysaccharides for the induction of systemic resistance in potato to *Globodera pallida*. *Nematology*, 4: 73-79.
 32. **Siddiqui, I.A., S. Ehteshamul-Haqu and A. Ghaffar.** 1999. Use of *Pseudomonas aeruginosa* with rhizobia in the control of root rot disease of mashbean (*Vigna mungo* (L.) Hepper). *Pakistan Journal of Botany*, 31 : 237-242.
 6. **Booth, C.** 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237 pp.
 7. **Booth, C.** 1981. Perfect states (telemorphs) of *Fusarium* species. Pages 446-452. In: *Fusarium: disease, biology and taxonomy*. P.E. Nelson, T.A. Toussoun and R.J. Cook (eds). Pennsylvania States University Press, University Park.
 8. **Cattelan, A.J., P.G. Hartel and J.J. Fuhrmann.** 1999. Screening for plant growth promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63: 1670-1680.
 9. **Chen, L.S., A. Figueredo, H. Villani, J. Michajluk and M. Hungria.** 2002. Diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from field-grown soybean nodules in Paraguay. *Biology and Fertility of Soils*, 35: 448-457.
 10. **De Freitas, J.R., M.R. Banerjee and J.J. Germida.** 1997. Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biology and Fertility of Soils*, 24: 358-364.
 11. **Denison, R.F.** 2000. Legume sanctions and the evaluation of symbiotic cooperation by rhizobia. *The American Naturalist*, 156: 567-576.
 12. **Domingues, R.J.** 2008. Potential fungicida *in vitro* de extratos de plantas e de basidiomicetos sobre *Alternaria solani* (Ell. & Martin) Jones & Grout, *Colletotricum acutatum* Simmonds e *Sclerotium rolfsii* Sacc. Master Science Dissertation. Instituto de Botânica. São Paulo, Brazil. 70 pp.
 13. **Ehteshamul-Haque, S. and A. Ghaffar.** 1993. Use of rhizobia in the control root rot diseases of sunflower, okra, soybean and mungbean. *Phytopathology*, 138: 157-163.
 14. **Gamal El-Din, I.F., E. Hanafy, M.I. Ziedan, N.A. Neweigy and M.A. Abu-Neama.** 1990. Effect of fungicides on nodule bacteria nitrogenase activity and growth of peas and soybean in soil infested with *Fusarium solani*. 4th Egyptian Conference of Botany. Part 2 - Microbiology and Physiology. April, 16-19 1986. Pt. 2: 557-587.
 15. **Ghosh, A.C. and P.S. Basu.** 1997. Culture growth and IAA production by a microbial diazotrophic symbiont of stem-nodules of the legume *Aeschynomene aspera*. *Folia Microbiologica*, 42: 565-600.
 16. **Hall, R.** 1995. Challenges and prospects of integrated pest management. Pages 1-12. In: *Novel Approaches to Integrated Pest Management*. R. Reuveeni (ed.). Lewis publishers CRC press, In Boca Raton, FL.
 17. **Harman, G.E., B. Latorre, E. Agosin, R. San Martin, D.G. Riegel, P.A. Nielson, A. Tronsmo and R.C. Person.** 1996. Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. *Biological Control*, 7: 259-266.
 18. **Hirsch, A.M., M.R. Lum and J.A. Downie.** 2001. What makes the rhizobial-legume symbiosis so special?. *Plant Physiology*, 127: 1484-1492.
 19. **Holliday, P. and E. Punithalingam.** 1970. *Macrophomina phaseolina*. Description of Pathogenic

36. **Woltz, S.S. and A.W. Engelhard.** 1973. Fusarium wilt of chrysanthemum: effect of nitrogen source and lime and disease development. *Phytopathology*, 63: 155–157.
37. **Yousef, A.N. and A.M.A. Zubar.** 1979. Influence of inoculation with local and imported Rhizobium on the yield and protein content of Alfalfa. Soil Microbiology Section, Soil Division, Institute for Applied Research on Natural Resources, Scientific Research Foundation, Baghdad, Iraq.
33. **Sindhu, S.S. and K.R. Dadarwal.** 2001. Chitinolytic and cellulolytic *Pseudomonas* sp. antagonistic to fungal pathogens enhances nodulation by *Mesorhizobium* sp. Cicer in Chickpea. *Microbiological Research*, 156: 353–358.
34. **Toussoun, T.A. and P.E. Nelson.** 1976. A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. 2nd Edition. The Pennsylvania State University Press, University Park. 43 pp.
35. **Vyas, S.C.** 1994. Integrated biological and chemical control of dry root rot on soybean. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, 24: 132-134.

Received: October 31, 2009; Accepted: August 3, 2010

تاريخ الاستلام: 2009/10/31؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2010/8/3