دور بعض عوامل المقاومة الأحيائية الفطرية والبكتيرية في استحثاث مقاومة نبات الخيار ضد الفطر *Rhizoctonia solani*

رباب مجيد عبد[1]، هادي مهدي عبود[2] وعلي هاشم الموسوي[3]

(1) كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى، العراق، البريد الالكتروني : rabab.majead81@gmail.com؛ (2) دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا، العراق؛ (3) كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، العراق

الملخص

عبد، رباب مجيد، هادي مهدي عبود وعلي هاشم الموسوي. 2017. دور بعض عوامل المقاومة الأحيائية الفطرية والبكتيرية في استحثاث مقاومة نبات الخيار إزاء الفطر *Rhizoctonia solani*. مجلة وقاية النبات العربية، 35(2): 93-102.

أجريت هذه الدراسة بهدف معرفة آليات المقاومة المستحثة في نبات الخيار إزاء الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* من خلال معاملة التربة بالعوامل الأحيائية والتي تضمنت الفطر *Trichoderma harizanum* وبكتريا *Bacillus subtilis* وفطر المايكوررايزا *Glomus mosseae*. بينت النتائج قدرة جميع العوامل الأحيائية على استحثاث مقاومة نبات الخيار إزاء الفطر الممرض وقد تفوقت معاملة *T. harzianum* معنوياً على بقية المعاملات في زيادة النشاط الإنزيمي لأنزيم Polyphenol oxidase وكانت 2.6137 وحدة/غ وزن رطب. لم يكن هناك نشاط إنزيمي لأنزيم Chitinase إلا في بعض المعاملات وفي فترات زمنية محددة. وتفوقت معاملة *G. mosseae+B. subtilis* على بقية المعاملات في زيادة محتوى النبات من الفينولات الكلية إذ سجلت 1.989 مغ/غ وزن رطب. أما معاملة *B. subtilis* فحققت أعلى زيادة في محتوى النبات من اللغنين وكانت 18.318 مغ/غ وزن رطب. بالنسبة لهرمون حمض السليسيليك على بقية المعاملات إذ سجلت 1.8658 مغ/غ وزن رطب. فيما خص هرمون حمض الجاسمونيك، لم يكن هناك أي نشاط لهذا الهرمون إلا في بعض المعاملات وبكميات ضئيلة. وقد وصل أعلى محتوى للبروتين الكلي في معاملة *T. harzianum+B. subtilis+G. mosseae* إلى 239.3 ميكروغرام/مغ.

كلمات مفتاحية: مكافحة أحيائية، خيار، *Rhizoctonia solani*.

المقدمة

يعود نبات الخيار *Cucumis sativus* إلى العائلة القرعية Cucurbitaceae ويعد محصولاً غذائياً مهماً في العالم والعراق نظراً لأهميته الغذائية والإقتصادية (2)، غير أن إحصائيات منظمة الغذاء والزراعة الدولية الأخيرة (18) أظهرت انخفاضاً ملحوظاً في إنتاجيته برغم المساحة المزروعة والتي قد تصل إلى 273.000 هكتار. يمكن أن يعزى هذا التدني في الإنتاجية إلى أمراض موت البادرات (16) ومن بين المسببات المرضية الفطر *Rhizoctonia solani* المعروف بسرعة فتكه بالعائل (27). وقد ظهر في الآونة الاخيرة اتجاه جديد يهدف إلى توظيف بعض الأحياء المجهرية في استحثاث مقاومة النبات (28)، اذ يتم تنشيط مقاومة النبات عن طريق المعاملة بالعوامل الأحيائية أو اللاأحيائية ونتيجة لذلك تتولد في النبات مجموعة من الدفاعات الطبيعية والكيميائية التي تزيد من مقاومته للمسببات المرضية (29). كما أن لأنواع جنس فطر المقاومة الأحيائية *Trichoderma* القدرة على استحثاث عدة آليات للمقاومة في النبات منها زيادة تكوين بعض المركبات التي تكون سامة للمسببات المرضية كالتربنويدات والفينولات (25، 26) فضلاً عن تحفيز النشاط الإنزيمي للأنزيمات الدفاعية مثل الكيتيناز (Chitinase) والبولي فينول أوكسيداز (Polyphenoloxidase) فضلاً عن الهرمونات الدفاعية (7، 12). كما تعد بكتريا *Bacillus* من الأحياء المحفزة لمقاومة النبات سواء من خلال معاملة التربة أو البذور بخلايا هذه البكتريا، إذ أظهرت هذه البكتريا مقدرتها على زيادة سماكة الجدران الخلوية (15) وتحفيز بعض المورثات التي تكون مسؤولة عن التعبير عن البروتينات المرتبطة بالامراضية فضلاً عن زيادة نشاط الأنزيمات الدفاعية في النبات (32). ومن العوامل الأحيائية الأخرى فطر المايكورايزا الشجيرية (Arbuscular mycorrhiza) الذي يمتلك المقدرة على استحثاث عدة دفاعات كيميائية في النبات تتضمن زيادة في نشاط الأنزيمات الدفاعية مثل البيروكسيداز (Peroxidase) (23)، وزيادة محتوى النبات من الهرمونات الدفاعية كهرمون حمض الساليسيليك وهرمون حمض

http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-035.2.093102
© 2016 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

الجاسمونيك (17)، فضلاً عن استحثاث الدفاعات الميكانيكية المتمثلة بزيادة ثخانة الجدران الخلوية بعملية اللغننة، لذلك فهي تصبح منيعة ضد اختراق المسببات المرضية للخلية النباتية (13). ونظراً لأهمية استحثاث المقاومة النباتية كبديل للمبيدات الكيميائية، هدفت هذه الدراسة إلى التحري عن بعض آليات استحثاث المقاومة في نبات الخيار بوساطة *Trichoderma harzianum*، *Bacillus subtilis* و *Glomus mosseae* إزاء الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* تحت ظروف الدفيئة البلاستيكية.

مواد البحث وطرائقه

عزل وتحضير لقاح العوامل الأحيائية

حضر لقاح الفطر *T. harzianum* بعد تنميته على مستنبت جريش قوالح الذرة والنخالة (4) واستخدم هذا اللقاح في تجربة الأصص بواقع 2 غ لقاح/كغ تربة. جرى عزل البكتريا من تربة منطقة حول الجذور لنبات الفصة/الجت باستخدام طريقة التخفيف، وشخصت العزلات بالاعتماد على الصفات المظهرية والبيوكيميائية (20، 34، 38). أضيف اللقاح البكتيري بهيئة معلق بواقع 10 مل معلق/كغ تربة. اتبعت طريقة الغربلة الرطبة (22) لعزل أبواغ فطر المايكورايزا والتي شخصت حسب المفتاح التصنيفي المذكور من طرف Walker وآخرون (44). وأضيف لقاح فطر المايكورايزا المؤلف من أبواغ خارجية + جذور مايكورايزية + تربة حول الجذور إلى التربة بواقع 10 غ لقاح/نبات.

عزل الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*

تم عزل الفطر الممرض من نباتات ظهرت عليها أعراض الاصابة بمرض سقوط البادرات واعتمد في التشخيص على الصفات المذكورة لدى Parmeter و Whitney (39) وتم تأكيد التشخيص بحساب عدد النوى في طرف الخيط الفطر حسب ما أورده حسن (5). تم تنمية العزلة المرضية للفطر على وسط جريش قوالح الذرة (4) وأضيف لقاح الفطر الممرض بواقع 1غ/كغ تربة.

اختبار كفاءة العوامل الأحيائية في استحثاث مقاومة نبات الخيار إزاء الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*

نفذت تجربة في الدفيئة البلاستيكية التابعة لدائرة البحوث الزراعية ببغداد، العراق بهدف التحري عن آليات المقاومة المستحثة في نبات الخيار إزاء الفطر الممرض نتيجة لمعاملة بالعوامل الأحيائية *Trichoderma harzianum*، *Bacillus subtilis* و *Glomus mosseae*. واستخدمت لهذا الغرض تربة مزيجية – رملية وبيتموس بنسبة (3:1) معقمة بجهاز المؤصدة (Autoclave) ووضع خليط التربة والبيتموس المعقم في أصص بلاستيكية سعة 3 كغ وتم إضافة لقاح العوامل الأحيائية والفطر الممرض إلى التربة قبل يومين من الزراعة. زرعت بذور نبات الخيار بعدها بواقع 10 بذرة/اصيص. وتم خلال التجربة وفي نهايتها إجراء القياسات الخاصة باستحثاث المقاومة والتي تضمنت ما يلي:

قياس نشاط الهرمونات الدفاعية – جرى قياس محتوى المجموع الخضري لنبات الخيار من هرمون حمض الساليسيليك وهرمون حمض الجاسمونيك حسب الطريقة الموصوفة من قبل Albacete وآخرون (9)، إذ تم وزن 1 غ من العينة النباتية المجمدة وسحقت مع 20 مل من مزيج الميثانول : الماء (80 : 20) (حجم/حجم) وحفظت في الثلاجة عند 4°س لمدة ساعة. تم بعد ذلك أخذ الراشح ومرر عبر مرشحة (Millipore filter) (0.45 ميكروميتر) وكررت هذه الخطوة مرتين، أخذ بعدها الراشح ومرر عبر C18 cartridge لغرض إزالة الصبغات النباتية وكذلك الدهون النباتية، واستخدم هذا المستخلص لغرض قياس محتوى الهرمونات الدفاعية فيه وذلك بوضع 2 مل من المستخلص في وعاء خاص بجهاز الكروموتوجرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC). جرى القياس بحقن 20 ميكرولتر في العمود LC-18 (250×4.6 مم) وتمت مقارنة القراءة من خلال تحضير المنحنى القياسي للمحاليل القياسية لهرمون حمض الساليسيليك بدرجة نقاوة 99.9%، أما بالنسبة لهرمون حمض الجاسمونيك، فقد استخدم محلول بدرجة نقاوة 95%، وتم تحضيرهما من خلال إذابتهما في المحلول المستخدم للاستخلاص نفسه والذي يتألف من الميثانول : الماء (80 : 20) (حجم/حجم). أعطيت بعد ذلك النتائج مباشرة على البرنامج الملحق بالجهاز وتم التعبير عنها بـ 1 مغ/غرام.

قياس النشاط الإنزيمي للأنزيمات الدفاعية – لغرض قياس النشاط الإنزيمي للأنزيمات الدفاعية التي تضمنت البولي فينول أوكسيداز والكيتيناز، جرى أخذ عينات عشوائية من النباتات خلال أربع فترات زمنية هي 5، 10، 15 و20 يوماً. اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Mayer وآخرون (35) لقياس نشاط البولي فينول أوكسيداز، والطريقة الموصوفة من قبل Boller و Mauch (10) لقياس نشاط الكيتيناز، وتم حساب نشاط كل من الأنزيمين حسب معادلة Nezih (37) كالتالي:

$$\text{النشاط الإنزيمي (وحدة امتصاص/غ وزن رطب)} = \frac{\text{قراءة الجهاز}}{\text{وزن النموذج/حجم الاستخلاص} \times \text{الحجم المأخوذ للقراءة}}$$

قياس الفينولات الكلية – جرى قياس محتوى المجموع الخضري لنبات الخيار من الفينولات الكلية بعد 45 يوماً من الزراعة أي في نهاية التجربة بحسب ما أشار إليه Zieslin و Ben-Zaken (48).

قياس محتوى المجموع الخضري من الغكنين – اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Lin وKao (33) لقياس محتوى نبات الخيار من اللغنين بعد 45 يوماً من الزراعة.

قياس تركيز البروتين الكلي – تم قياس محتوى نبات الخيار من البروتين الكلي حسب الطريقة الموصوفة من قبل Da Rocha وآخرون (14) مع إجراء بعض التعديلات التي أشار إليها الذهيبي (1)، واستخدمت المعادلة المبينة من قبل Whitaker وآخرون (45) لحساب تركيز البروتين وهي كالتالي:

$$\text{تركيز البروتين} = \frac{OD_{260} - OD_{280}}{2.51}$$

حيث OD = الكثافة الضوئية

التحليل الاحصائي

نفذت الدراسة حسب تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وتم مقارنة المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمالية 0.05 وذلك باستخدام برنامج SPSS الإصدار 17.0.

النتائج والمناقشة

نشاط الهرمونات الدفاعية

أظهرت نتائج قياس نشاط هرمون حمض الساليسيليك في المجموع الخضري لنبات الخيار حصول زيادة معنوية عند وجود الفطر الممرض *R. solani* نتيجة المعاملة بالعوامل الأحيائية *T. harzianum*، *B. subtilis* و *G. mosseae* والتداخل بينهم، وقد تفوقت معاملة التداخل بين *T. harzianum* + *B. subtilis* معنوياً على بقية معاملات التداخل ومعاملات الإضافة المنفردة إذ كان محتوى هرمون حمض الساليسيليك هو 1.8658 مغ/غ وزن رطب وسجلت معاملة *T. harzianum* أقل نشاط هرموني بمعدل 0.5516 مغ/غ وزن رطب. أما بالنسبة لمعاملة الشاهد فلم يتم تحديد أي نشاط هرموني لحمض الساليسيليك.

جدول 1. تاثير معاملة التربة بالعوامل الأحيائية (Th) *Trichoderma harzianum*، (Bs) *Bacillus subtilis* و (Gm) *Glomus mosseae* في محتوى المجموع الخضري لنبات الخيار من الهرمونات الدفاعية عند وجود الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

Table 1. Effect of soil treatment with the biological control factors *Trichoderma harizanum* (Th), *Bacillus subtilis* (Bs) and *Glomus mosseae* on defense hormone contents in vegetative growth fresh weight of cucumber plants inoculated with the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*.

المعاملات Treatments		محتوى النبات من هرمون حمض السليسيليك (مغ/1 غ وزن رطب) Plant salisylic acid content (mg/1 g fresh weight) بدون الفطر الممرض Without pathogenic fungus	مع الفطر الممرض With pathogenic fungus	محتوى النبات من هرمون حمض الجاسمونيك (مغ/1 غ وزن رطب) Plant jasmonic acid hormone content (mg/1 g fresh weight) بدون الفطر الممرض Without pathogenic fungus	مع الفطر الممرض With pathogenic fungus
الشاهد	Control	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Gm		0.5136	0.5516	0.0000	0.0042
Bs		0.3698	1.2078	0.0000	0.0000
Th		0.3909	0.5516	0.0000	0.0000
Gm + Bs		0.6395	1.2842	0.0000	0.0035
Gm +Th		0.6177	0.7281	0.0036	0.0074
Bs + Th		0.6642	1.8658	0.0000	0.0000
Gm + Bs + Th		0.8908	1.6616	0.0000	0.0025
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05		العوامل الأحيائية Biological factors	2.898	العوامل الأحيائية Biological factors	1.731
		الفطر الممرض Pathogenic fungus	1.449	الفطر الممرض Pathogenic fungus	0.865
		التداخل Interaction	4.098	التداخل Interaction	92.44

0 = عدم حصول إنبات للبذور

0=no germination

يظهر الجدول 1 حصول زيادة معنوية في نشاط هرمون حمض الساليسيليك عند عدم وجود الفطر الممرض نتيجة لإضافة العوامل الأحيائية إلى تربة الزراعة، إذ نجد تفوق معاملة *G. mosseae* + *T. harzianum* + *B. subtilis* على بقية المعاملات، حيث وصل محتواها من الهرمون إلى 0.8908 مغ/غ وزن رطب وسجلت معاملة *B. subtilis* أقل محتوى لحمض الساليسيليك (0.3698 مغ/غ وزن رطب). كما أظهرت النتائج وجود تفاوت في قدرة العوامل الأحيائية على تحفيز النبات على إنتاج هرمون حمض الجاسمونيك، حيث لم يكشف عن وجود نشاط واضح لهذا الهرمون في معظم المعاملات عند وجود الفطر الممرض وهذه المعاملات هي *G. mosseae* + *T. harzianum*، *G. mosseae*، *G. mosseae* + *B. subtilis* و *G. mosseae* + *B. subtilis* + *T. harzianum* والتي كان محتواها من حمض الجاسمونيك هو 0.00737، 0.0042، 0.0035 و0.0025 مغ/غ وزن رطب، على التوالي. أما في حالة عدم وجود الفطر الممرض، فأظهرت النتائج المبينة في الجدول وجود نشاط هرموني في معاملة *G. mosseae* + *T. harzianum* فقط التي كانت 0.0036 مغ/غ وزن رطب علما ان هذه الكمية ازدادت عند وجود المسبب المرضي، ولم يظهر أي نشاط هرموني لهذا الهرمون في معاملة الشاهد. أما في حالة عدم وجود الفطر الممرض، فأظهرت النتائج المبينة في الجدول وجود نشاط هرموني في معاملة *G. mosseae* + *T. harzianum* فقط وصل إلى 0.0036 مغ/غ وزن رطب علما ان هذه الكمية ازدادت عند وجود المسبب المرضي ولم يظهر أي نشاط هرموني لهذا الهرمون في معاملة الشاهد.

إن هرمون حمض الساليسيليك يعمل كإشارة داخلية (endogenous signal) لاستحثاث المقاومة الجهازية في النبات والتي تشمل استحثاث البروتينات المرتبطة بالإمراضية (21)، وبناء مركبات ذات نشاط مضاد للميكروبات مثل الفايتوالكسينات (30)، وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسات سابقة (8، 17، 46). إن عدم وجود نشاط لهرمون حمض الجاسمونيك في معظم المعاملات ربما يعزى إلى قدرة هرمون حمض الساليسيليك على استحثاث الدفاعات النباتية الكافية فضلاً عن الدفاعات السابقة المتكونة في النبات والتي تضمنت زيادة نشاط الأنزيمات الدفاعية وزيادة الفينولات الكلية فضلا عن زيادة سماكة الجدران الخلوية نتيجة لترسيب اللغنين.

النشاط الانزيمي للأنزيمات الدفاعية

تبين النتائج المعروضة في الجدول 2 حصول زيادة في نشاط انزيم البولي فينول أوكسيداز عند وجود الفطر الممرض *R. solani* وذلك نتيجة للمعاملة بالعوامل الأحيائية *T. harzianum*، *B. subtilis* و*G. Mosseae* والتفاعل بينهم. أظهرت النتائج أن النبات قد استجاب للمعاملة بهذه العوامل الأحيائية منذ اليوم الخامس للزراعة وكان أعلى مستوى لنشاط أنزيم البولي فينول أوكسيداز في معاملة *T. harzianum* + G. mosseae حيث وصل إلى 2.6131 وحدة/غ وزن رطب. أما المعاملة *T. harzianum* + *B. subtilis* + *G. mosseae* فقد سجلت أقل مستوى لنشاط الانزيم وكانت 1.2242 وحدة/غ وزن رطب. كما يظهر الجدول حصول ارتفاع وانخفاض في مستوى النشاط الإنزيمي لأنزيم البولي فينول أوكسيداز خلال الفترات الزمنية المدروسة حيث استمر النشاط الإنزيمي بالزيادة في بعض المعاملات ليصل إلى أعلى مستوى له في اليوم الـــ 20. وعلى العكس نجد هناك معاملات أخرى بدأ النشاط الانزيمي لانزيم PPO بالانخفاض ليصل إلى أقل مستوى له في اليوم الـــ 20. وكذلك يظهر الجدول أن أعلى مستوى لنشاط الإنزيم بولي فينول أوكسيداز في معاملة *T. harzianum+ B. subtilis* كان في اليوم الـــ 15 حيث كان مستوى النشاط الإنزيمي 2.3119 وحدة/غ وزن رطب والذي بدأ في الانخفاض في اليوم الـــ 20 ليصبح 2.0626 وحدة/غ وزن رطب.

حصلت زيادة معنوية في معاملات العوامل الأحيائية من دون الفطر الممرض مقارنة مع معاملة الشاهد مثل معاملة *G. mosseae* + *T. harzianum* ومعاملة *G. mosseae* + *B. subtilis* + *T. harzianum* اللتين سجلتا نشاطاً إنزيمياً مقداره 1.2217 و 1.2087 وحدة/وزن رطب، على التوالي، أما بقية المعاملات فلم تكن الزيادة فيها معنوية. إن أنزيم البولي فينول أوكسيداز PPO يعتبر من الأنزيمات التي تحفز على تكوين الدفاعات الميكانيكية في النبات من خلال زيادة تسمك الجدار الخلوي لخلايا النبات عن طريق زيادة ترسيب اللغنين فيصبح الجدار منيعاً ضد اختراق المسببات المرضية له (47) وتتفق النتائج أعلاه مع ما ورد في دراسات سابقة (3، 36، 46).

يبين الجدول 3 عدم وجود نشاط لانزيم الكيتيناز في نبات الخيار عند وجود الفطر الممرض باستثناء بعض المعاملات وهي معاملة *G. mosseae* + *T. harzianum* التي حصلت فيها زيادة في نشاط هذا الإنزيم في اليوم الـــ 5، 10 و 15 إذ كان مستوى النشاط الإنزيمي 2.0019، 0.7258 و 0.1249 وحدة/غ وزن رطب، على التوالي، وانعدم هذا النشاط في اليوم الـــ 20. كذلك أظهرت معاملة *T. harzianum* حصول نشاط إنزيمي في اليوم الـــ 10 فقط والذي كان 0.0578 وحدة/غ وزن رطب. ويظهر الجدول أيضاً أن استخدام *T. harzianum+ B. subtilis +G. mosseae* سبب زيادة في النشاط الإنزيمي في اليوم الـــ 15 و 20 فقط حيث وصل إلى 0.3619 و 1.1996 وحدة/غ وزن رطب، على التوالي.

جدول 2. تأثير معاملة التربة بالعوامل الأحيائية *Trichoderma harizanum* (Th)، *Bacillus subtilis* (Bs) و *Glomus mosseae* (Gm) والتداخل بينها في النشاط الإنزيمي لإنزيم البولي فينول أوكسيداز (وحدة/غ وزن رطب) في نبات الخيار عند وجود الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

Table 2. Effect of soil treatment with the biological control factors *Trichoderma harizanum* (Th), *Bacillus subtilis* (Bs) and *Glomus mosseae* (Gm) on enzyme activity of polyphenol oxidase (unit/g fresh weight) in cucumber plants inoculated with the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*.

Enzyme activity (unit/g fresh weight) النشاط الانزيمي (وحدة/غ وزن رطب)										
With pathogenic fungus مع الفطر الممرض					Without pathogenic fungus بدون الفطر الممرض					
Duration (day) الفترات الزمنية (يوم)					Duration (day) الفترات الزمنية (يوم)					المعاملة
Mean المعدل	20	15	10	5	Mean المعدل	20	15	10	5	Treatments
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.1889	0.1809	0.1885	0.1915	0.1946	Control الشاهد
2.3233	3.5538	3.3835	1.7556	0.6004	0.7228	0.8786	0.8634	0.8132	0.3359	Gm
1.2521	1.4622	1.4409	1.1369	0.9682	0.7027	0.8755	1.3011	0.4058	0.2285	Bs
1.4763	0.532	0.6399	1.1978	3.5355	0.5605	0.4682	0.4666	0.4666	0.8406	Th
2.0805	3.4778	1.7404	1.6522	1.4516	0.6080	0.3238	0.6582	0.7509	0.6992	Gm + Bs
2.6137	3.3714	3.0674	2.0307	1.9851	1.2217	2.0626	1.3346	1.2631	0.2265	Gm + Th
1.4976	2.0626	2.3119	1.2525	0.3633	0.2883	0.3222	0.2386	0.2412	0.3511	Bs + Th
1.2242	0.3192	0.6262	0.7311	3.2201	1.2087	1.2509	1.3163	1.1491	1.0716	Gm + Bs + Th
	1.8461	1.6513	1.2196	1.5156		0.7953	0.7959	0.6602	0.4935	Mean المعدل

أقل فرق معنوي عند مستوى إحتمال 5% LSD at P=0.05:

العوامل الأحيائية Biological factors	0.7484	
الفترات الزمنية × الفطر الممرض Pathogenic fungus x Duration	0.7484	
الفطر الممرض Pathogenic fungus	0.3742	
الفترات الزمنية Duration	0.5292	
الفطر الممرض x العوامل الأحيائية Biological factors x Pathogenic fungus	1.0584	
الفترات الزمنية × العوامل الأحيائية Biological factors x Duration	1.4968	
الفطر الممرض × الفترات الزمنية × العوامل الأحيائية Pathogenic fungus x Duration x Biological factors	2.1168	

0 = عدم حصول إنبات للبذور

0=no germination

جدول 3. تاثير معاملة التربة بالعوامل الأحيائية *Trichoderma harizanum* (Th)، *Bacillus subtilis* (Bs) و *Glomus mosseae* (Gm) والتفاعل بينها على نشاط إنزيم الكيتيناز (وحدة/غ وزن رطب) في نبات الخيار عند وجود الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

Table 3. Effect of soil treatment with the biological control factors *Trichoderma harizanum* (Th), *Bacillus subtilis* (Bs) and *Glomus mosseae* (Gm) on chitinase enzyme activity (unit/g fresh weight) in cucumber plants inoculated with the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*.

Enzyme activity (unit/g fresh weight) النشاط الانزيمي (وحدة/غ وزن رطب)										
With pathogenic fungus مع الفطر الممرض					Without pathogenic fungus بدون الفطر الممرض					
Duration (day) الفترات الزمنية (يوم)					Duration (day) الفترات الزمنية (يوم)					المعاملة
Mean المعدل	20	15	10	5	Mean المعدل	20	15	10	5	Treatment
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Control الشاهد
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Gm
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Bs
0.0145	0.0000	0.0000	0.0578	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Th
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Gm + Bs
0.7132	0.0000	0.1249	0.7258	2.0019	0.0989	0.0000	0.0000	0.3955	0.0000	Gm + Th
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Bs + Th
0.3903	1.1996	0.3619	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	Gm + Bs + Th
	0.1499	0.0061	0.0097	0.2502		0.0000	0.0000	0.0494	0.0000	Mean المعدل

أقل فرق معنوي عند مستوى إحتمال 5% LSD at P=0.05:

العوامل الأحيائية Biological factors	1.4539	
الفترات الزمنية × الفطر الممرض Pathogenic fungus x Duration	1.4539	
الفطر الممرض Pathogenic fungus	0.7269	
الفترات الزمنية Duration	1.0281	
الفطر الممرض × العوامل الأحيائية Biological factors x Pathogenic fungus	2.0562	
الفترات الزمنية × العوامل الأحيائية Biological factors x Duration	2.9079	
الفطرالممرض × الفترات الزمنية × العوامل الأحيائية Pathogenic fungus x Duration x Biological factors	4.1125	

0 = عدم حصول إنبات للبذور

0=no germination

في ضوء نتائج هذه الدراسة فان أنزيم الكيتيناز لم يكن له نشاط ملحوظ في نبات الخيار عند معاملته بالعوامل الأحيائية إلا في بعض المعاملات وكان النشاط الإنزيمي فيها قليل أو متأخر الحدوث وربما يعزى ذلك إلى قدرة الأنزيمات الدفاعية التي استحثت في نبات الخيار على توفير الحماية الكاملة للنبات والتي أدت إلى اختزال نسبة الإصابة بالمرض وشدتها. أما بالنسبة لبعض المعاملات التي سجل فيها حدوث نشاط إنزيمي لأنزيم الكيتيناز ولكنه كان متأخر أو ضعيف، فقد يعزى السبب إلى حصول انخفاض في نشاط بعض من الأنزيمات السابقة خلال إحدى الفترات مما أدى إلى عودة الفطـــرالممرض إلى نشاطه مما استوجب معالجة سريعة من قبل النبات من خلال زيادة نشاط هذا الأنزيم المعروف بقدرته على تحليل الجدار الخلوي للعديد من الفطريات الممرضة.

محتوى المجموع الخضري من الفينولات الكلية

تشير النتائج في الجدول 4 حصول زيادة معنوية في محتوى نبات الخيار من الفينولات الكلية عند وجود الفطر الممرض *R. solani* وذلك نتيجة للمعاملة بالعوامل الأحيائية *T. harzianum*، *B. subtilis* و *G. mosseae* والتفاعل بينها، وقد تفوقت معاملة *B. subtilis* + *G. mosseae* على جميع المعاملات ووصل تركيز الفينولات إلى 1.989 مغ/غ وزن رطب، أما معاملة *B. subtilis* فقد سجلت أقل محتوى من الفينولات الكلية (1.489 مغ/غ وزن رطب). كذلك أدت المعاملة بالعوامل الأحيائية إلى حصول زيادة معنوية في محتوى نبات الخيار من الفينولات الكلية عند غياب المسبب المرض، وقد تفوقت معاملة *T. harzianum* + *B. subtilis* على بقية المعاملات من دون الفطر الممرض، حيث وصل تركيز الفينولات الكلية إلى 1.656 مغ/غ وزن رطب، مقارنة بـــ 0.724 مغ/غ وزن رطب في معاملة الشاهد.

إن للمركبات الفينولية أهمية في حماية النبات من المسببات المرضية لما لها من نشاط مضاد للميكروبات (42)، إن في تثبيط نمو الفطور المرضية ونمو الخطوط الهيفية أو تثبيط عملية التبوغ أو من خلال ارتباطها بالأنزيمات التي يفرزها المسبب المرضي أثناء محاولته غزو خلايا النبات ومن ثم تقويض عملها (40). كما أنها تعمل كإشارات لاستحثاث الدفاعات التركيبية في النبات من خلال ارتباطها بالتراكيب التي يكونها الفطر الممرض (11)، وأن زيادة محتوى النبات من الفينولات الكلية يجعل وسط النمو للفطر الممرض غير مناسب، كونها تسهم في إنتاج بعض مواد التفاعل الخاصة بأنزيمات الأكسدة التي تحتاج إلى استهلاك الأوكسجين لإتمام التفاعل. ويرافق ذلك إنتاج بعض المركبات التي تكون سامة للفطر الممرض مما يجعل وسط النمو غير ملائم لتطور المرض أو الفطر الممرض (31). وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسات سابقة (8، 41).

جدول 4. تأثير معاملة التربة بالعوامل الأحيائية *Trichoderma harizanum* (Th)، *Bacillus subtilis* (Bs) و *Glomus mosseae* (Gm) و التفاعل بينها على محتوى المجموع الخضري لنبات الخيار من الفينولات الكلية (مغ/غ وزن رطب) عند وجود الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

Table 4. Effect of soil treatment with the biological control factors *Trichoderma harizanum* (Th), *Bacillus subtilis* (Bs) and *Glomus mosseae* (Gm) and there interaction on total phenol content (mg/g fresh weight) in shoots of cucumber plants inoculated with the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*.

المعاملة Treatment	محتوى النبات من الفينولات الكلية (مغ/غ وزن رطب) Plant content of total phenols (mg/g fresh weight) بدون الفطر الممرض Without pathogenic fungus	مع الفطر الممرض With pathogenic fungus	المعدل Mean
Control الشاهد	0.724	0.000	0.362
Gm	0.918	1.616	1,267
Bs	1.378	1.489	1.434
Th	1.587	1.898	1.743
Gm + Bs	1.605	1.989	1.797
Gm +Th	1.624	1.664	1.644
Bs + Th	1.656	1.775	1.716
Gm + Bs + Th	1.621	1.676	1.649
Mean المعدل	1.389	1.513	

أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05	العوامل الأحيائية Biological factors	1.122
	الفطر الممرض Pathogenic fungus	0.287
	التفاعل Interaction	1.587

0 = عدم حصول إنبات للبذور 0=no germination

محتوى المجموع الخضري من اللغنين

توضح النتائج في الجدول 5 أنه عند وجود الفطر الممرض *R. solani* حصلت زيادة في ترسيب اللغنين في الجدران الخلوية لنبات الخيار نتيجة للمعاملة بالعوامل الأحيائية وقد تفوقت معاملة *B. subtilis* على بقية المعاملات إذ كان تركيز اللغنين فيها 18.318 مغ/غ وزن جاف، أما معاملة *T. harzianum + B. subtilis + G.mosseae* فسجلت أقل تركيز للغنين وهو 12.468 مغ/غ وزن جاف. وكانت قدرة العوامل الأحيائية على زيادة تركيز اللغنين في النبات حتى عند عدم وجود المسبب المرضي أعلى في معاملة *B. subtilis +G.mosseae* ووصلت إلى 13.192 مغ/غ وزن جاف. أما معاملة *G. mosseae + T. harzianum* فسجلت أقل تركيز للغينين بدون الفطر وهو 11.989 مغ/غ وزن جاف وذلك بالمقارنة مع معاملة الشاهد 11.373 مغ/غ وزن جاف أما بالنسبة لبقية المعاملات فلم يكن بينها وبين معاملة الشاهد فروقات معنوية.

في ضوء النتائج المبينة اعلاه يمكن ان تعزى الزيادة الحاصلة في محتوى النبات من اللغنين إلى الزيادة في نشاط الانزيم بولي فينول أوكسيداز لما له من دور في عملية اللغننة عند الانبات (15)، وتتفق هذه النتائج مع ما بينته دراسات سابقة (23، 47).

تركيز البروتين الكلي

توضح النتائج في الجدول 6 تفوق معاملة *B. subtilis + G. mosseae* ومعاملة *T. harzianum + G. mosseae + T. harzianum* على بقية المعاملات، حيث كانت كمية البروتين الكلي فيهما 239.3 و 239.1 مايكروغرام/مغ، على التوالي. أما بالنسبة للمعاملات في غياب الفطر الممرض، فقد تفوقت معاملة *B. subtilis* + G. *mosseae* على بقية المعاملات و كانت كمية البروتين الكلي فيها 191.8 ميكروغرام/مغ.

مما لا شك فيه أن زيادة تركيز البروتينات الكلية في نبات الخيار لا سيما عند وجود الفطر الممرض يعزى إلى حالة المقاومة المستحثة في النبات نتيجة للمعاملة بالعوامل الأحيائية والتي كان من نتائجها زيادة نشاط الأنزيمات الدفاعية التي تعتبر مركبات بروتينية. كما أن نشاط هرمون حمض الساليسيليك في النبات أدى إلى زيادة إنتاج البروتينات المرتبطة بالإمراضية وهذا ما أكده Hadi و Balali (24)، وكذلك في دراسات أخرى سابقة (6، 19، 43).

جدول 5. تاثير معاملة التربة بالعوامل الأحيائية *Trichoderma harizanum* (Th)، *Bacillus subtilis* (Bs) و *Glomus mosseae* (Gm) في محتوى المجموع الخضري لنبات الخيار من اللغنين (مغ/غ وزن جاف) عند وجود الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

Table 5. Effect of soil treatment with the biological control factors *Trichoderma harizanum* (Th), *Bacillus subtilis* (Bs) and *Glomus mosseae* (Gm) and there interaction on lignin shoot content (mg/g fresh weight) of cucumber plants inoculated with the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*.

المعاملة Treatment	محتوى النبات من اللكنين (مغ/غ) Lignin plant content (mg/g fresh weight) بدون الفطر الممرض Without pathogenic fungus	مع الفطر الممرض With pathogenic fungus	المعدل Mean
Control الشاهد	11.373	0.000	5.687
Gm	12.191	15.625	13.908
Bs	11.373	18.318	14.846
Th	12.741	18.099	15.420
Gm + Bs	13.192	16.932	15.062
Gm +Th	11.989	14.979	13.484
Bs + Th	11.422	13.561	12.491
Gm + Bs + Th	11.736	12.468	12.102
Mean المعدل	12.002	13.748	

أقل فرق معنوي عند احتمال 5% LSD at P=0.05		
	العوامل الأحيائية Biological factors	1.989
	الفطر الممرض Pathogenic fungus	1.307
	التفاعل Interaction	3.698

0 = عدم حصول إنبات للبذور

0=no germination

جدول 6. تاثير معاملة التربة بالعوامل الأحيائية *Trichoderma harzianum*(Th) و *Bacillus subtilis*(Bs) و*Glomus mosseae* (Gm) والتداخل بينها في محتوى المجموع الخضري لنبات الخيار من البروتينات الكلية (ميكروغرام/مغ) عند وجود الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

Table 6. Effect of soil treatment with the biological control factors *Trichoderma harizanum* (Th), *Bacillus subtilis* (Bs) and *Glomus mosseae* and there interaction on shoot content of total proteins (µg/mg) in cucumber plants inoculated with the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*.

المعاملة Treatment	محتوى النبات من البروتينات الكلية (مايكروغرام/مغ) Plant content of total proteins (µg/mg) بدون الفطر الممرض Without pathogenic fungus	مع الفطر الممرض With pathogenic fungus	المعدل Mean
الشاهد Control	117.53	0.00	58.77
Gm	151.07	205.67	178.37
Bs	144.73	192.77	168.75
Th	145.73	210.10	177.92
Gm + Bs	191.80	204.00	197.90
Gm +Th	175.98	239.10	207.54
Bs + Th	156.60	201.90	179.25
Gm + Bs + Th	182.75	239.30	211.03
المعدل Mean	158.27	186.61	

أقل فرق معنوي	العوامل الأحيائية	Biological factors	27.304
عند مستوى احتمال 5%	الفطر الممرض	Pathogenic fungus	13.652
LSD at P=0.05	التفاعل	Interaction	38.614

0 = عدم حصول إنبات للبذور

0=no germination

Abstract

Abed, R.M., H.M. Aboud and A.H. El-Mousawy. 2017. The role of some fungal and bacterial biological control agents in inducing resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* in cucumber plants. Arab Journal of Plant Protection, 35(2): 93-102.

This study was carried out to investigate the mechanisms of induced resistance in cucumber plant against pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* by biocontrol agents *Tricoderma harzianum* fungus, *Basillus subtilis* bacterium and mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. The biocontrol agents showed their ability to induce several mechanisms of resistance in cucumber plant against pathogenic fungus. The treatment with *T. harzianum* showed significantly increased polyphenol oxidase activity which was 10.6707 unit/g fresh weight. The *G. mosseae* + *B. subtilis* treatment was superior to other treatments; it increased plant content of total phenol which reached 1.989 mg/g fresh weight. *B. subtilis* treatment significantly increased plant content of lignin which was 18.318 mg/g fresh weight. The treatment with *T. harzianum* + *B. subtilis* showed significantly increase in plant content of salicylic acid hormone which was 1.8658 mg/g fresh weight. No jasmonic acid hormone activity was detected in treated plants, and at low level in some treatments. The treatment with *G. mosseae* + *T. harzianum* + *B. subtilis* produced the highest total protein content which reached 239.3 µg/mg.

Keywords: Biological control, cucumber, *Rhizoctonia solani*

Corresponding author:* *Rabab Majead Abed, College of Education for Pure Science, University of Diyala, Iraq, Email: rabab.majead81@gmail.com

References المراجع

1. **الذهيبي، رباب مجيد عبد.** 2015. آليات استحثاث المقاومة في نبات الخيار بواسطة *Trichoderma harzianum*، *Bacillus subtilis* و*Glomus mosseae* اتجاه الفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض سقوط البادرات. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، العراق.
2. **الركابي، فاخر إبراهيم وعبد الجبار جاسم.** 1981. إنتاج الخضر ص 125 -133. مؤسسة المعاهد الفنية - وزارة التعليم العالي والبحث العلمي - العراق.
3. **الطائي، ورقاء سعيد قاسم.** 2010. اختبار كفاءة عزلات من *Trichoderma* في استحثاث بعض الأنزيمات الدفاعية ضد الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* في نباتات الطماطة. مجلة زراعة الرافدين، 38: 89-100.
4. **حافظ، حمدية زاير علي.** 2001. التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي على السمسم المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.
5. **حسن، محمد صادق.** 2002. قابلية عزلتين من الفطر *Rhizoctonia solani* على إصابة بادرات كل من اللهانة والقرنبيط والفلفل والباذنجان بأعمار مختلفة. مجلة التقني (البحوث التقنية)، 98: 112-128.

19. **Farfour, S.A. and M.A. Al-Saman.** 2014. Root-rot and stem-canker control in faba bean plants by using some biofertilizers agents. Journal of Plant Pathology and Microbiology, 5: 1-6.
20. **Forbes, B.A., D.F. Sahm and A.S. Weissfeld.** 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th edition. Mosby Inc., St. Louis. 1056 pp.
21. **Gaffney, T., L. Friedrich, B. Vernooij, D. Negrotto, G. Nye, S. Uknes, E. Ward, H. Kessmann and J. Ryals.** 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Science, 261: 754-756.
22. **Gerdeman, J.W and T.H. Nicolson.** 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society, 46: 235-244.
23. **Goicoechea, N., I. Garmendia, M. Sánchez-Díaz and J. Aguirreolea.** 2010. Review of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) as bio-protector agents against wilt induced by *Verticillium* spp. in pepper. Spanish Journal of Agricultural Research, 8: S25-S42.
24. **Hadi, M.R. and G.R. Balali.** 2010. The effect of salicylic acid on the reduction of *Rhizoctonia solani* damage in the tubers of Marfona potato cultivar. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 7: 492-496.
25. **Hassan, E., M. Maggie, S.S. Abd El-Rahman, I.H. El-Abbasi and M.S. Mikhail.** 2007. Changes in peroxidase activity due to resistance induced against bean chocolate spot disease. Egyptian Journal of Phytopathology, 35: 35-48.
26. **Howell, C.R., L.E. Hanson, R.D. Stipanovic and L.S. Puckhaber.** 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. Phytopathology, 90: 248-252.
27. **Jayasinghe, C.K., S.C.P. Wijayaratne and T.H.P. Fernando.** 2004. Characterization of cell wall degrading enzymes of *Thanatephorus cucumeris*. Mycopathologia, 157: 73-79.
28. **Jones, J.D. and J.L. Dang.** 2006. The plant immune system. Nature, 444: 323-329.
29. **Kloepper, J.W., C.M. Ryu and S. Zhang.** 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology, 94: 1259-1266.
30. **Lamb, C. and R.A. Dixon.** 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 48: 251-275.
31. **Lattanzio, V., V.M. Lattanzio and A. Cardinali.** 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. Phytochemistry: Advances in Research, 661: 23-67.
32. **Liang, J., R. Tao, Z. Hao, L. Wang and X. Zhang.** 2011. Induction of resistance in cucumber against seedling damping-off by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus megaterium* strain L8. African Journal of Biotechnology, 10: 6920-6927.
33. **Lin, C.C. and C.H. Kao.** 2001. Cell wall peroxidase against ferulic acid, lignin, and NaCl-reduced root

6. **حسن، محمد صادق، إسماعيل خليل السامرائي وعلي عباس كاظم.** 2012. استحثاث المقاومة في نبات البطاطا ضد الفطر *Rhizoctonia solani* باستخدام بكتريا *Azotobacter chroococcum* والفطر *Trichoderma harzianum*. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 43: 2-8.
7. **طه، خالد حسن و بسام يحيى إبراهيم.** 2010. طرز حيوية جديدة من الفطر .*Trichoderma* spp كفوءة في إنتاج بعض منظمات النمو. مجلة زراعة الرافدين، 38: 1-8.
8. **طه، خالد حسن، نظال يونس محمد وبسام يحيى إبراهيم.** 2011. تأثير الطرازN22(Th20K) *Trichoderma harzianum* في تقليل مستويات الإصابة لبعض أصناف القمح بالفطر *Bipolarissoro kiniana*. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 192-198.
9. **Albacete, A., M. Ghanem, C. Martínez-Andújar, M. Acosta, J. SánchezBravo, V. Martínez, S. Lutts, I.C. Dodd and F. Pérez-Alfocea.** 2008. Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. Journal of Experimental Botany, 59: 4119-4131.
10. **Boller, T. and F. Mauch.** 1988. Chitinase from *Phaseolus vulguris* leaves. Methods in Enzymology, 161: 479-484.
11. **Boller, T.** 1995. Chemoperception of microbial signals in plant cells. Annual Review in Plant Biology, 46: 189-214.
12. **Contreras-Cornejo, H.A., L. Macías-Rodríguez, E, Beltrán-Pena, A. Herrera-Estrella and J. López-Bucio.** 2011. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. Plant Signaling and Behavior, 6: 1554-1563.
13. **Cordier, C., M.J. Pozo, J.M. Barea, G. Gianinazzi and V. Gianinazzi-Pearson.** 1998. Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. Molecular Plant-Microbe Interactions, 11: 1017-1028.
14. **Da Rocha, A., S.T. Ohki and C. Hiruki.** 1986. Detection of viruses and mycoplasma like organisms in situ by indirect immunofluorescence microscopy. Phytopathology, 76: 864-868.
15. **Docimo, T., R. Consonni, L. Coraggio and M. Mattana.** 2013. Early phenylpropanoid biosynthetic steps in *Cannabis sativa*: link between genes and metabolites. International Journal of Molecular Sciences, 14: 13626-13644.
16. **El-Behadli, A.H.**1998. Pathogenic fungi in peat moss and soil and their impact on covered farm vegetable crops. Bulletin of Iraq National History Museum, 8: 47-53.
17. **El-Sharkawy, M.M.** 2012.The plant growth-promoting fungus *Fusarium equiseti* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induce systemic resistance against *Cucumber mosaic virus* in cucumber plants. Plant Soil, 36: 397-409.
18. **F.A.O.** 2013. World Food and Agriculture organization of United Nations Book, Rome, Italy.

41. **Rajendran, L. and R. Samiyappan**. 2008. Endophytic *Bacillus* species confer increased resistance in cotton against damping off disease caused by *Rhizoctonia solani*. Plant Pathology Journal, 7: 1-12.
42. **Ruiz, J.M., R.M. Rivero, I. López-Cantarero and L. Romero.** 2003. Role of Ca^{+2} in the metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.). Plant Growth Regulation, 41: 173-177.
43. **van Loon, L.C., M. Rep and G.M. Pieterse.** 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. Annual Review of Phytopathology, 44: 135-162.
44. **Walker, C., M. Vestberyg and A. Sehübler**. 2007. Nomenclatural classifications in Glomeromycota. Mycology Research, 111: 253-255.
45. **Whitaker, P., C.V. Givan and R.M. Leech.** 1987. Biochemical anatomy of higher plant chloroplast and their synthesis of small molecules. Biological Review, 49: 409-428.
46. **Zhang, Z., A. Moyne, M.S. Reddy and J.W. Kloepper.** 2002. The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. Biological Control, 25: 288-296.
47. **Zheng, H., C. Cui, Y. Zhang, D. Wang, Y. Jing and K.Y. Kim**. 2005. Active changes of lignification-related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and/or *Phytophthora capsici*. Journal of Zhejiang University Science, 6: 778-786.
48. **Zieslin, N. and R. Ben-Zaken.** 1993. Peroxidase activity and presence of phenolic substances in peduncles of rose flower. Plant Physiology and Biochemistry, 31: 333-339

growth of rice seedlings. Journal of Plant Physiology, 158: 667-671.
34. **Mamo, G., B.A. Gashe and A. Gessess.** 1999. A highly thermostable amylase from a newly isolated thermophilic Bacillus sp. W11. Journal of Applied Microbiology, 86: 557-560.
35. **Mayer, A.M., E. Harel and R.B. Shaul.** 1965. Assay of catechol oxidase a critical comparison of methods. Phytochemistry, 5:783-789.
36. **Moradi, H., B. Bahman, A. Jahanshir and H.A. Kavch.** 2012. Suppression of chickpea (*Cicer Air minum* L.) *Fusarium* wilt by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum*. Plant Omics Journal, 5: 68-74.
37. **Nezih, M.** 1985.The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat. Food and Agriculture, 36: 877-880.
38. **Norris, J.R., R.C. Berkeley, N.A. Logan and A.G. Donnell.** 1981. The genera *Bacillus* and *Sporolacto bacillus*. Pages 1711-1742. In: The prokaryotes. vol. 2. M.P. Starr, A. Stolp, A.G. Truper, A. Balows and H.G. Schlegel (eds). Berlin, Springer. 4126 pp.
39. **Parmeter, J.R. and H.S. Whitney.** 1970. Taxonomy and Nomenclature of the imperfect stage. Pages 7-19. ***In***: *Rhizoctonia solani* biology and pathology. University of California at Berkley.
40. **Pezet, R. and V. Pont.** 1992. Differing biochemical and histological studies of two grape cultivars in the view of their respective susceptibility and resistance to *Botrytis cinerea*. Pages 93-98. In: Recent Advances in *Botrytis* Research, Proceedings of the 10th International *Botrytis* Symposium. K. Verhoeff, N.E. Malathrakis, B. Williamson (eds.). Heraklion, Crete, Greece.

Received: November 19, 2016; Accepted: July 14, 2017

تاريخ الاستلام: 2016/11/19؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2017/7/14