الكشف عن فعالية بعض العوامل الاحيائية في استحثاث المقاومة في نباتات البطيخ عن طريق تقدير انزيم الـ Peroxidase والفينولات الكلية ومحتوى الكلوروفيل

منير زمان هاشم * صالح حسن سمير الاء خضير حسان
باحث استاذ مدرس
قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة بغداد
Muneerzaman39@gmail.com

المستخلص

هدفت الدراسة الى تقويم كفاءة بعض العوامل الاحيائية في خفض الاصابة بمرض التعفن الفحمي*Macrophomina phaseolina* في البطيخ تحت ظروف الظلة الخشبية والحقل والتحري عن فعالية عوامل الاستحثاث من خلال الكشف عن فعالية انزيم الـPeroxidase والفينولات والكلوروفيل. بينت النتائج تفوق معاملة التكامل بين العوامل الاحيائية *T.viride* مع *B.subtilis* على باقي المعاملات بتحقيقها اقل نسبة و شدة اصابة اذ بلغت (0.0 – 0.0)% على التوالي، قياساً بمعاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) التي بلغت (88.3 و76.6)% على التوالي، وكذلك تفوقت على بقية على باقي المعاملات بتحقيقها اعلى زيادة في معدل الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري بلغت (35.0– 4.0) و(13.7 –2.4) غم/نبات على التوالي. وبينت النتائج بعد 15 يوم تفوق معاملتي التكامل بين المقاوم الاحيائي *T.viride* مع كلاً من البكتريات *B.subtilis* أو *A.chrococcum* بزيادة فعالية انزيم peroxidase مقدرا على اساس التغير في الامتصاص الضوئي/ دقيقة/ غم وزن طري من نباتات البطيخ، ليبلغ (81.2 و80.6) قياساً بمعاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) التي كانت فعالية الانزيم فيها 36.9 كما تفوقت المعاملتين بزيادة فعالية الفينولات في النبات اذ بلغت (5.21 و5.00) ملغم/ غم في حين كانت فعالية الفينولات في معاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) 3.6 ملغم/ غم. وتفوقت فيها معاملة التكامل بين بين *T.viride* مع *B.subtilis* مع الفطر الممرض على باقي المعاملات بتحقيقها اعلى زيادة في مستوى الكلوروفيل حيث بلغت (56.3) سباد.

كلمات مفتاحية: التعفن الفحمي، *Macrophomina phaseolina*، PGPR.

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences –1239-1246: (5) 48/ 2017 Hashem & et al.

DETECT ACTIVITY OF SOME BIOLOGICAL FACTORS TO INDUCE RESISTANCE IN CANTALOUPE PLANT THROUGH PEROXIDASE ENZYME , PHENOLS AND CHLOROPHYLL CONTENTS

M. Z. Hashem * S. H. Samir A. K. Hassan
Researcher Prof. Lecturer
Dept. of Plant Protection - College of Agriculture - University of Baghdad
Muneerzaman39@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate efficiency of some biological agents to reduce charcoal rot of Cantaloupe which is caused by *Macrophomina phaseolina* under wooden canopy and to detect activity of inducer agents through Peroxidase enzyme, phenols and chlorophyll contents. Results obtained under Wooden canopy, treatment of combination between *T.viride* and *B.subtilis* was superior on other treatments. The disease percentage and disease severity were (0.0), (0.0)% respectively compared to control treatment (pathogen) 88.3 and 76.6% respectively. However treatment of integration between *T.viride* and *B.subtilis* was superior on other treatments in antagonism against *M.phaseolina* and to improve growth parameters of cantaloupe and increased wet weight and dry weight of vegetation and root to (35.0 – 4.0), (13.7 – 2.4) g/ plant respectively. Results indicated that treated plant produced phenols and peroxidase enzyme. Treatments of *T.viride* with *B.subtilis* or *T.viride* with *A.chrococcum* showed superiority in inducing peroxidase enzyme. The change in light absorbance/ min/ g .Fresh weight of cantaloupe were 81.2 and 80.6 respectively, compared to control treatment (pathogenic fungus) the activity of Peroxidase was 36.9. the same trend reflected to increase activity of phenols in treatments of *T.viride* with *B.subtilis* or *T.viride* with *A.chrococcum* reached (5.21 and 5.00) mg/g. compared with control treatment 3.6 mg/g. The result, also showed that all treatments increased chlorophyll content. Integration between *T.viride* and *B.subtilis* achieved highest chlorophyll content (56.3) Spad.

Key Words: Charcoal rot. *Macrophomina phaseolina* , PGPR.
***Part of M.Sc. thesis of the first auther.**
***Received:25/12/2016, Accepted:19/3/2017**

المقدمة

يعد البطيخ .*Cucumis melo* L من المحاصيل الاقتصادية المهمة في العراق و التي تزرع بمساحات واسعة، فقد اشارت احصائيات المنظمة العربية للتنمية الزراعية (3) الى ان المساحة المزروعة بالبطيخ في العراق بلغت 16.57 الف هكتار وبمعدل انتاج 172 الف طن سنوياً، اذ بلغ انتاج الهكتار الواحد 10.269 طن. وفي السنوات الاخيرة أصبحت الامراض الفطرية المحددة الرئيسية لإنتاج البطيخ، ولا سيما الأمراض التي تسببها فطريات التربة ومنها الفطر *Macrophomina phaseolina* (16). توجهت الجهود الى اكتشاف طرق بديلة عن المبيدات لمكافحة المرض وهي استعمال الفطريات وانواع البكتريا الجذرية المحفزة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria(PGPR) ضد فطريات التربة الممرضة للنبات ومنها مسبب مرض التعفن الفحمي فضلاً عن دورها في تحفيز نمو النبات (18). وقد هدفت الدراسة الى استحثاث مقاومة جهازية ضد مرض التعفن الفحمي *M.phaseolina* باستخدام العوامل الاحيائية (*Trichoderma viride*، *Bacillus subtilis*، *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillum brasilense*). والكشف عن فعالية المقاومات الاحيائية عن طريق تقدير انزيم الـ Peroxidase والفينولات.

المواد وطرائق العمل

1 – عزل وتشخيص الفطر الممرض

جمعت نباتات ظهرت عليها اعرض الاصابة وتعفن الجذور من حقول مختلفة في ابي غريب، قطعت الجذور الى قطع صغيرة بطول 1 سم، وعقمت سطحياً بمحلول هابوكلورات الصوديوم بتركيز 1% كلور حر ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت على ورق ترشيح، ثم زرعت في اطباق بتري بقطر 9 سم حاوية على الوسط الزرعي PDA. حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 س°. بعد 48 ساعة نقيت العزلات بأخذ قرص بقطر 0.5 سم من طرف نمو الغزل الفطري بواسطة القاطع الفليني وزرعت في اطباق بتري حاوية على الوسط PDA، وحضنت على درجة حرارة 25 ± 2 س°. وتم التشخيص اعتماداً على المفاتيح التصنيفية وبمساعدة الدكتورة ناهدة مهدي صالح/ قسم وقاية النبات.

2– تقييم كفاءة بعض عوامل الاستحثاث الاحيائية في خفض نسبة وشدة اصابة نباتات البطيخ بالفطر *M.phaseolina* وتقدير فعالية انزيم Peroxidase والفينولات تحت ظروف الظلة الخشبية:

نفذت التجربة في الظلة الخشبية التابعة لمختبر المبيدات الاحيائية/ دائرة وقاية المزروعات/ وزارة الزراعة. عقمت تربة مزيجية و بتموس بنسبة 1:2 بجهاز المؤصدة في درجة حرارة 121 س° وضغط 1.5 بار لمدة ساعة، كرر التعقيم مرتين وبفارق زمني 24 ساعة لكل مرة، بعدها زرعت اصص بلاستيكية بمعدل 3 كغم تربة/ اصيص. اضيف عالق البكتريات *B.subtilis* و*A.chrococcum* و *A. brasilense* التي تم الحصول عليها من مختبر المبيدات الاحيائية/ دائرة وقاية المزروعات/ وزارة الزراعة المعزولة من التربة والمشخصة بشريط الاختبارات الكيموحيوية و التي تم تكثيرها باستعمال الوسط Nutrient Broth (NB) السائل المعقم الموضوع في دوارق زجاجية سعة 250 مل كلاً على انفراد الى التربة بمعدل 100مل/ اصيص وبتركيز (9 x 10^7 و8 x 10^6 و1 x 10^6) وحدة تكوين مستعمرة (Cfu/ مل) على التوالي اثناء زراعة البذور، اضيف لقاح *T.viride* محملاً على بذور الدخن المحلي بمعدل 1% (وزن/ وزن) قبل 3 ايام من الزراعة، في حين تم اضافة نصف الكمية من العالق البكتيري ولقاح المقاوم الحيوي *T. viride* في معاملات الخلط، بينما اضيف المبيد الكيميائي Paravan من انتاج شركة Greenfields Australia ومادته الفعالة Thiophanate methyl %70 بتركيز 1 غم/ لتر وذلك بعد يوم واحد من اضافة الفطر الممرض حسب توصية الشركة المنتجة له، اما لقاح الفطر الممرض اضيف محملاً على بذور الدخن المحلي بعد 10 ايام من الزراعة بمعدل 1% (وزن/ وزن) الى جميع المعاملات التي تتطلب ذلك. زرعت الاصص ببذور بطيخ محلي صنف أنناس، بواقع 5 بذور/ اصيص. استعمل التصميم العشوائي الكامل CRD وبـ 3 مكررات/ معاملة وتمت متابعة التجربة وسقيها كلما دعت الحاجة. تم اخذ العينات بعد 15 و30 يوما من اضافة اللقاح الفطري لعمل التحاليل اللازمة لانزيم الـ Peroxidase والفينولات، اذ تم تقدير انزيم الـ Peroxidase حسب طريقة Hammerschidt واخرون (9) وذلك بأخذ 1 غم من اوراق

النباتات وسحقها مع 2 مل من محلول فوسفات الصوديوم 0.01M SPB و6.5 pH في درجة حرارة 4 س°، بعد ذلك رشح الخليط من خلال 4 طبقات من قماش الململ ووضع في جهاز النبذ المركزي 6000 دورة/ دقيقة ولمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 4 س° واستعمل الطافي مصدرا للأنزيم، وحددت فعالية انزيم البيروكسديز، وذلك باستعمال 100 µlمن الانزيم المستخلص مع 1.5ml من Pyrogallo بتركيز 0.05M في انبوبة جهاز المطياف، ويضاف 100 µl من بيروكسيد الهيدروجين بمقدار 1% حجم: حجم لبدء التفاعل وسجل الامتصاص بجهاز المطياف عند طول موجي 420 نانوميتر كل 30 ثانية واستخدمت 6 قراءات، واستخدمت المعادلة الاتية لتسجيل مقدار التغير في الامتصاص:

$$\textbf{التغير بالامتصاص} = \frac{\Delta A/\Delta t}{\text{غم وزن طري}}$$

اذ ان:

ΔA التغير بمقدار قراءة الجهاز

Δt التغير بالوقت/ دقيقة

وتم تقدير محتوى الفينولات الكلي الموجودة في الاوراق حسب طريقة Rishi (25) وذلك بسحق 1 g من الاوراق مع 10 ml ميثانول بتركيز 80% مع التحريك المستمر لمدة 15 دقيقة وفي درجة حرارة 70 س°، بعدها خلط مل واحد من الراشح مع 5 ml من الماء المقطر المعقم و250 µl من كاشف الفولين في انبوبة اختبار معقمة، حضن المحلول في درجة حرارة 25 س°، بعد مرور 30 دقيقة تم تقدير الامتصاص بجهاز المطياف الضوئي وعند طول موجي 725 نانوميتر، وتم حساب كمية الفينول على اساس mg من الفينولات لكل g نسيج نباتي طري واستعملت مادة الكاتيتيكول مادة قياسية. وبعد مرور 50 يوم من الزراعة تم قياس محتوى النباتات من الكلورفيل، وحسبت نسبة الاصابة حسب المعادلة (النسبة المئوية للاصابة = $\frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة}}$ x 100) ، وتم تقدير شدة الاصابة على المجموعين الخضري والجذري باستعمال الدليل المرضي المكون من 5 درجات والموصوف من قبل Woltz وArthur (30) وكما يلي:

0 = النبات سليم (لا توجد أعراض ظاهرية على الاجزاء الهوائية والجذور).

1 = تعفن ¼ المجموع الجذري واصفرار الأوراق القريبة من قاعدة الساق.

2 = تعفن ½ المجموع الجذري وذبول اكثر من ½ الأوراق مع التلون البني في منطقة التاج وظهور الاجسام الحجرية.

3 = تعفن ¾ المجموع الجذري وذبول جميع الأوراق والأجسام الحجرية غطت منطقة التاج.

4 = موت النبات وتعفن المجموع الجذري بالكامل.

وقد حسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة Mckinney(19) وكما يأتي:−

%شدة الإصابة =

$$\frac{\text{[(عدد النباتات من الدرجة 0 × 0) + ..+ (عدد النباتات من الدرجة 4 × 4)]}}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة} \times 4} \times 100$$

النتائج والمناقشة:

عزل وتشخيص الفطر الممرض

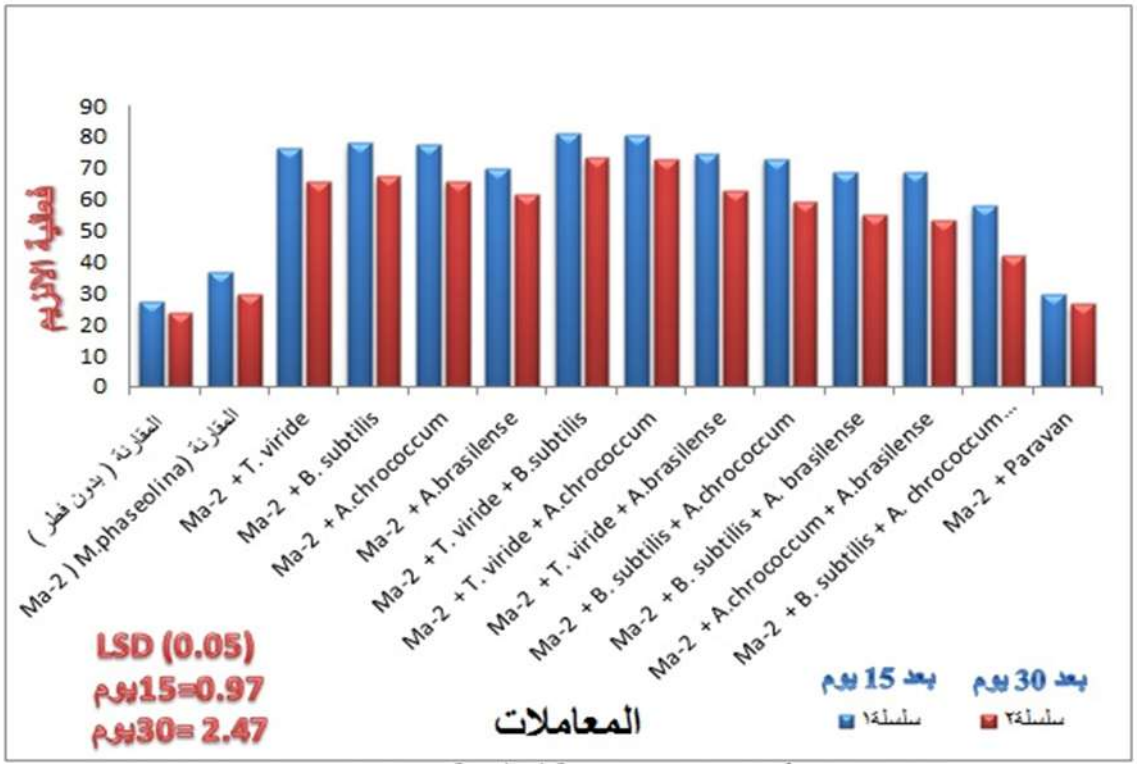
بينت نتائج العزل من جذور نباتات البطيخ المصابة وجود ثلاث عزلات من الفطر كما جلبت عزلتين من مختبر السموم الفطرية/ وزارة العلوم والتكنلوجيا. وتبين من خلال الفحص ان الوان المستعمرات الفطرية بنية اللون، وتتدرج من اللون البني الى البني الداكن نتيجة تكوين الاجسام الحجرية غيرالمنتظمة الشكل، سوداء اللون. وتتفق هذه الصفات مع الصفات التي اشار اليها العديد من الباحثين (21).

تقييم كفاءة بعض عوامل الاستحثاث الاحيائية في خفض نسبة وشدة اصابة نباتات البطيخ بالفطر *M.phaseolina* وتقدير فعالية انزيم Peroxidase والفينولات تحت ظروف الظلة الخشبية: اثرت جميع عوامل المكافحة الاحيائية سواءً بمفردها او بالتكامل فيما بينها *T.viride*، *B.subtilis*، *A.chrococcum*و*A.brasilense* في المعاملات الملوثة بالفطر الممرض من خفض نسبة و شدة الاصابة قياساً بمعاملة المقارنة الملوثة بالفطر الممرض بمفرده (جدول 1). اذ تراوحت معاملة التكامل بين العوامل الاحيائية *B.subtilis* او *A.chrococcum* مع *T.viride* 0.0 – 0.0% و0.0– 8.2 % على التوالي، قياساً بمعاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) التي بلغت 88.3 و76.6% على التوالي، كما كانت اقل المعاملات فاعلية في خفض نسبة الاصابة والشدة هي معاملة المبيد Paravan والتي بلغت 46.6 و42.7% على التوالي.

جدول 1 . تأثير بعض العوامل الاحيائية والمبيد الكيميائي Paravan في خفض نسبة و شدة الاصابة بمرض التعفن الفحمي في البطيخ تحت ظروف الظلة الخشبية

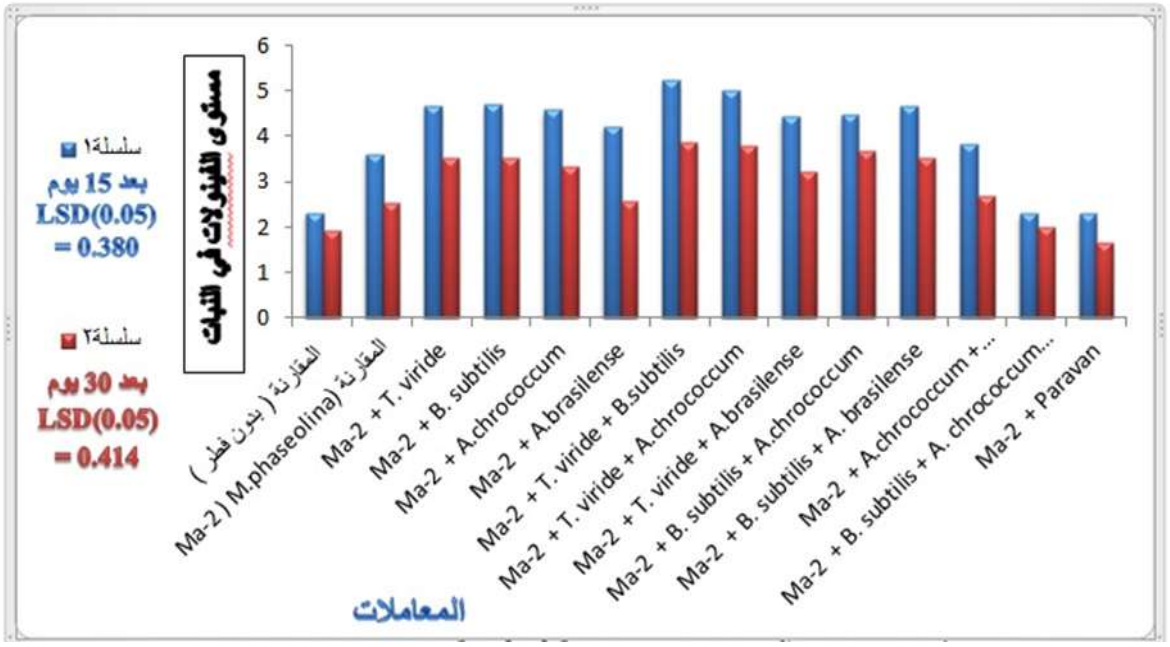
ت	المعاملة	% الاصابة	% شدة الاصابة
1	المقارنة (بدون فطر)	0	0
2	المقارنة (Ma-2) *M.phaseolina*	86.6	76.6
3	*T. viride*	0	0
4	*B. subtilis*	0	0
5	*A. chrococcum*	0	0
6	*A. brasilense*	0	0
7	*T. viride* + Ma-2	6.6	4.0
8	*B. subtilis* + Ma-2	3.3	3.1
9	*A.chrococcum* + Ma-2	6.6	5.2
10	*A.brasilense* + Ma-2	13.3	8.4
11	*B. subtilis* + *T. viride* + Ma-2	0.0	0.0
12	*A. chrococcum* + *T. viride* + Ma-2	3.3	2.1
13	*A. brasilense* + *T. viride* + Ma-2	6.6	5.3
14	*A. chrococcum* + *B. subtilis* + Ma-2	16.6	12.5
15	*A. brasilense* + *B. subtilis* + Ma-2	26.6	25.5
16	*A.brasilense* + *A.chrococcum* + Ma-2	33.3	30.1
17	+ *A. chrococcum* + *B. subtilis* + Ma-2 *A. brasilense*	43.3	38.2
18	Paravan + Ma-2	46.6	42.7
19	LSD(0.05)	7.8	4.1

كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات كما اشارت نتائج تقويم قابلية العوامل المختبرة في استحثاثها للمقاومة الجهازية من خلال التأثير في فعالية انزيم peroxidase (Po) والفينولات. فقد اظهرت النتائج بعد 15 يوم من اضافة المعاملات (شكل 1 و 2) تفوق معاملتي التكامل بين المقاوم الاحيائي *T.viride* مع كلاً من البكتريات *B.subtilis* أو *A.chrococcum* في كفاءتها في استحثاث المقاومة في نباتات البطيخ بزيادة فعالية انزيم peroxidase مقدرا على اساس التغير في الامتصاص الضوئي/ دقيقة/ غم وزن طري من نباتات البطيخ، ليبلغ 81.2 و80.6 على اساس التغير في الامتصاص الضوئي/ دقيقة/ غم وزن طري من نباتات البطيخ قياساً بمعاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) التي كانت فعالية الانزيم فيها 36.9 كما تفوقت المعاملتين بزيادة فعالية الفينولات في النبات اذ بلغت 5.21 و5.00 ملغم/ غم في حين كانت فعالية الفينولات في معاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) 3.6 ملغم/ غم، اما معاملة المبيد الكيميائي Paravan فقد احتلت المرتبة الاخيرة في زيادة فعالية انزيم peroxidase فقد بلغت 29.8 ملغم/ غم وفعالية الفينولات فيها كانت 2.28 ملغم/ غم. بعد 30 يوم من اضافة المعاملات انخفضت معاملة انزيم peroxidase في معاملة التكامل بين المقاوم الاحيائي *T.viride* مع كلاً من البكتريات *B.subtilis* أو *A.chrococcum* الى 73.1 و 72.6 على اساس التغير في الامتصاص الضوئي/دقيقة/غم وزن طري، وبمعدل زيادة في فعالية الفينولات 3.87 و3.77 ملغم/ غم، اما معاملة *B.subtilis* و*A.chrococcum* فقد بلغ الانزيم فيها 67.2 و65.9 وفعالية الفينولات بلغ 3.52 و3.53 ملغم/ غم، كما انخفض معدل الانزيم في معاملة المبيد الكيميائي Paravan الى26.4 ملغم/ غم، في حين بلغت فعالية الفينولات 1.64 ملغم/ غم (شكل 3).



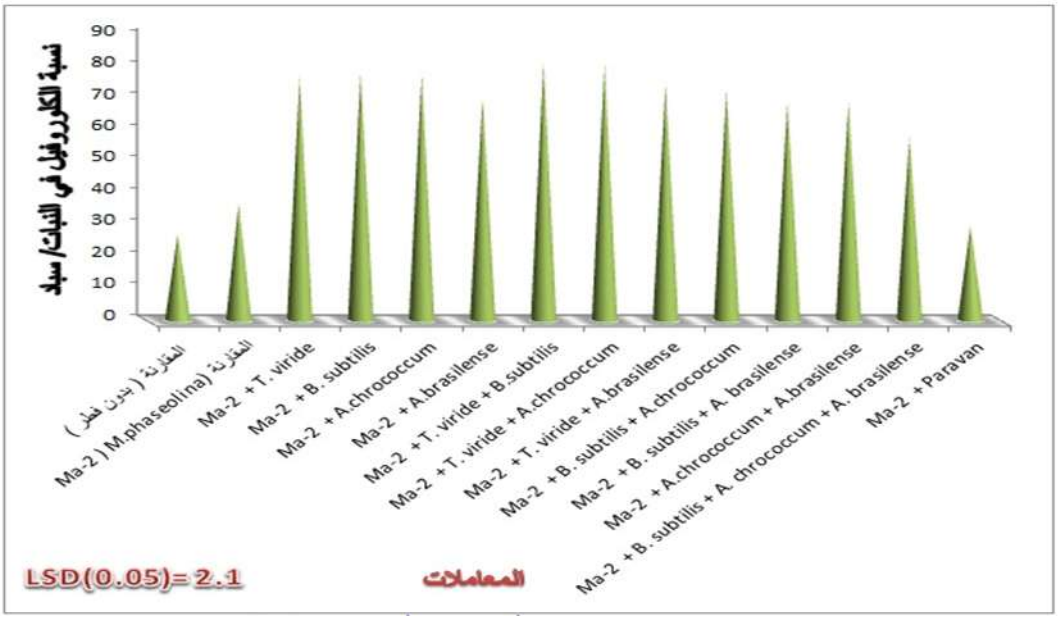
شكل 1. تأثير المعاملات الاحيائية في فعالية انزيم peroxidase

(التغير بالامتصاص/ دقيقة/ غم وزن طري). كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات



شكل 2. تأثير المعاملات الاحيائية في فعالية الفينولات (ملغم/ غم)

كما بينت النتائج (شكل 4) ان المعاملات المستعملة جميعها لمكافحة مرض التعفن الفحمي في البطيخ حققت زيادة معنوية في محتوى النبات من الكلوروفيل الكلي بعد 50 يوماً من اضافة اللقاح الفطري اذ تراوحت معدلاته بين 33.97 – 56.3 سباد قياساً بمعاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) التي كانت فيه 28.4 سباد، وقد تفوقت معاملة التكامل بين *T.viride* مع *B.subtilis* مع الفطر الممرض على باقي المعاملات بتحقيقها اعلى زيادة في مستوى الكلورفيل حيث بلغت 56.3 سباد، تلتها معاملة التكامل بين *T.viride* مع *A.chrococcum* بزيادة بلغت 52.0 سباد، في حين حققت معاملة المبيد الكيميائي Paravan اقل نسبة زيادة في الكلوروفيل حيث بلغ 33.9 سباد.



شكل 3 . تأثير العوامل الاحيائية في نسبة الكلوروفيل في النبات

ان دور المقاوم الاحيائي *T.viride* في مقاومة المسبب المرضي قد يكون من خلال قدرته على التطفل المباشر على الفطر الممرض *M.phaseolina* بالالتفاف حول الغزل الغزل الفطري وافراز الانزيمات التي تحلل جدرانه وبالتالي يؤدي الى تثبيط نمو الفطر الممرض وخفض الاصابة (22)، وايضا يمكن ان يعود الى مقدرته على احداث تغير في تركيب النظام الجذري من خلال زيادة سمك الجدار الخلوي لخلايا الجذر وكذلك زيادة جاهزية العناصر الغذائية للنبات وبالتالي زيادة مقاومة النبات للإجهادات البيئية (24). فقد وجد Karthikeyan وآخرون (14) ان هنالك زيادة في مستوى فعالية انزيمي الـ Peroxidase في جذور نباتات جوز الهند وفستق الحقل بعد 3 أيام من معاملة التربة بالفطر *T.viride*، فضلاً عن زيادة مستويات المواد الفينولية. كما اشار Harman (8) الى زيادة فعالية إنزيمي الـ Peroxidaseوالـ Chitinase في النباتات المعاملة بالمقاوم الاحيائي *T.viride* بعد 48 – 72 ساعة على التوالي. وان المقاوم الاحياتي يعمل على زيادة المواد الغذائية والعناصر المهمة للنبات والتي تزيد من كفاءة عملية البناء الضوئي وزيادة محتوى النبات من الكلوروفيل (2). ان التأثير الذي احدثته البكتريا *B. subtilis* في خفض نسبة الاصابة بمرض التعفن الفحمي يعود الى قدرتها على انتاج المضادات الحيوية Antibiotics ومن تلك المضادات Bacillomycin D، Iturin A، Surfactin، Mycosubtilin، Bacillysion، Fengycin، Difficidin، Subtilin وOxydifficidin (12). وكذلك انتاجها للأنزيمات الحالة Lytic Enzymes التي تعمل على تحليل المركبات البوليميرية وبالتالي تثبيط نمو المسببات للنبات ومن اهم هذه الانزيمات Amylase، Lipase، Protease وChittinase، وكذلك انزيم Lecithinase، Catalase و Superoxide dismutase(7)، فضلاً عن كفاءتها في زيادة مقاومة النبات من خلال تحفيز المقاومة الجهازية للنبات عن طريق زيادة فاعلية انزيمات الـ Peroxidase وB-1,3-glucanase (20)، كما تقوم بإفراز السايتوكاينين الذي يعمل على زيادة محتوى الاوراق من الكلوروفيل وكذلك افراز الاوكسينات التي تعمل على زيادة المساحة الورقية للنبات وبالتالي زيادة تصنيع المواد 4(و15). في حين تكمن كفاءة المقاوم الحيوي البكتيري *A.chrococcum* في خفض نسبة وشدة الاصابة الى تأثيرها المباشر على النبات من خلال تثبيتها للنتروجين الجوي (5)، و كذلك زيادة جاهزية عنصر الفسفور P (1)، فضلاً عن افراز الهرمونات النباتية التي اما تكون ذات تأثير محفز او مثبط للعمليات الفسلجية في النبات والكائنات الحية الدقيقة ومن تلك الهرمونات هي الجبرلينات Gibberellins، السايتوكاينينات Cytokinins والاوكسينات Auxins مثلIndole Acetic Acid (IAA) والتي تحفز نمو النبات وزيادة كفاءته على امتصاص العناصر الغذائية (28). او يعود الى قدرتها على انتاج بعض الانزيمات المحللة للاحياء الدقيقة الاخرى مثل Esterase، Amylase، Catalase،

والـ Phosphatase ،Phenol Oxidase ،Peroxidase Nitrogenase (10)، وكذلك انتاج سيانيد الهيدروجين Hydrogen Cyanide (HCN) (14). فقد اشار Hofte وBakker (11) ان البكتريا *A.chrococcum* لها القدرة على استحثاث مقاومة جهازية في النبات Induced Systemic Resistance من خلال انتاج مركبات Siderophores. بينما يعود تأثير البكتريا *A.brasilense* في خفض نسبة وشدة الاصابة الى تحسين نمو النبات من خلال تثبيت النتروجين وجعله ميسراً للامتصاص من قبل الجذور وافراز منظمات النمو مثل IAA والسايتوكاينيات وكذلك جعل بعض العناصر مثل الفسفور اكثر جاهزية للنبات، كما انها تزيد من عدد العقد الجذرية وتحسن صفات التربة المزروعة بها من خلال زيادة نسبة النتروجين واذابة مركبات الفوسفات في الوسط الذي تتواجد فيه (18 و27 و29). او تعود الى قدرتها على تثبيط المسببات المرضية من خلال افراز المواد المضادة للمسببات المرضية مثل Bacteriocins وHCN وانتاج مواد مخلبية تمسك الحديد، وتحفيز المقاومة في النبات من خلال الزيادة في فعالية البروتينات ذات العلاقة بالامراضية والانزيمات الدفاعية وتراكم الفايتوالكسينات والمركبات الفينولية، وايظاً تراكم اللكنين الذي يعيق تقدم المسببات المرضية (7 و23 و26).

REFERENCES

1. Abd El-Ghany, B. F., R. A. M. Arafa, T. A. EL-Rahmany and M. M. EL-Shazly. 2010. Effect of some microorganisms on soil properties and wheat production under North Sinai conditions.,J.of App.Sci.Res. 4:559-579.

2. Al-Halbusi,H.M.J. 2016. Biological Control of the Fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) DeBary Causing White rot on Mistletoe Alrannquil *Ranunculus asiaticus* L. M.Sc. Thesis. Collage of Agriculture University of Baghdad. 97 p.

3. Arabic Organization for Agricultural Development. 2013. Yearbook of Agricultural Statistics Arabic, Volume 33.

4. Arkhipova, T. N.; S. Yu. Veselov; A. I Melent'ev; E. V. Martynenko and G. R. Kudoyarova. 2006. Comparison of effects of bacterial strains differing in their ability to synthesize cytokinins on growth and cytokinin content in wheat plants. Russian Journal of Plant Physiology, 53: 567–574.

5. Dobbelaer,S.J. Vianney;J. Erleyden and Y. Okon. 2003. Plant growth–promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Crit. Rev. Plan Sci, 22:107-149.

6. El-Hamshary, O.I.M and A.A. Khattab. 2008. Evaluation of antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* and their fusants against *Fusarium solani*. Research Journal of Cell and Molecular Biology . 2:24-29.

7. Haas,D. and G.Defago.2005. Biological control of soil borne pathogens by Fluorescent pseudomonads. Nature Rev. Microbial. 3:307-319.

8. Harman,G.E.2006.Overview of mechanisms and uses of Trichoderma spp. Phytopathology. 96:190-194.

9. Hammerschmidt, R;F. Nuckles and J. Kuc, 1982. Association of enhance activity induced systematic resistance of cucumber to *Colletotricum lagenrium*. Physiol. Plant pathol.20:73-82.

10. Herter, S; M. Schmidt; M.L. Thompson; A. Mikolasch and F. Schauer. 2011. Study of enzymatic propertis of Phenol Oxidase from Nitrogen-fixing *Azotobacter chroococcum*. ABM Express.10: 1-14.

11. Hofte, M. and P. A. H. M. Bakker. 2007. Competiton for Iron and induced systemic resistance by siderophores of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Soil Biol. 12:121-133.

12. Jamil,B. 200. Isolation of *Bacillus subtilis* MH-4 from soil and its potential of polypeptidic antibiotic production. PAK. J . Pharm Sci .20:26-31.

13. Joseph, B.; R. R. Patra and R. Lawrence, 2007.Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). International Journal of Plant Production, 2: 141-152.

14. Karthikeyan, M; K. Radhika ; S. Mathiyagan; R. Bhaskaran; R. Samiyappan, and R. Velazhan. 2006. Induction of phenolic and defense– related enzyme in coconut (*Cocos mucifera* L.) roots treated with biocontrol agent .Baz.J. Plant Phsiol.18:367-377.

15. Kifle, M. H. and M. D Laing. 2010. Determination of optimum dose and frequency

of application of free-living diazotrophs (FLD) on lettuce. African Journal of Agricultural Research. 6: 671-675.

16. Kubota, C.; M. Olsen and M. A. McClure. 2007. Introduction of Grafting as a New IPM tool in Arizona Melon Production. Department of Plant Sciences. University of Arizona. PP : 286.

17. Lugtenberg, B. and F. Kamilova. 2009. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Annu RevMicrobiol 63:541–556.

18. Matloop, A. A .H . 2012 . Determination of the causeses of bean foot and root rot disease and evaluation of the efficacy of some biological control agents in their control. Ph.D. Dissertation. Collage of Agriculture University of Baghdad. pp:183.

19. Mckinney, H . H .1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporum sativum*. J . Agric .Research 26:195-217.

20. Nakkeeran, S.; K. Kavitha; G.Chandrasekar; P. Renukadevi and W.G.D .Fernando. 2006. Induction of plant defence compounds by *Pseudomonas chlororaphis* PA23 and *Bacillus subtilis* BSCBE4 in controlling damping – off of hot pepper caused by *Pythium aphanidermatum*. Biocontrol Sci. and Technology.16:403-416.

21. Ndiaye, M. 2007. Ecology and Management of Charcoal Rot (*Macrophomina Phaseolina*) on Cowpea in the Sahel. Ph.D. Dissertation . Wageningen University, the Netherlands. pp: 114.

22. Radjacommare, R;S.Venkatesan and R. Samiyappan. 2010. Biological control of phytopathogenic fungi of vanilla through lytic action of Trichoderma species and *Pseudomonas fluorescens* .Archives of Phyto. and Plant Prot .43:1-17.

23.Ramamoorthy,V; R. Viswanathan; T. Raghuchander; V. Prakasam and R. Samiyappan.2001.Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and disease. Crop Protec. 20:1-11.

24. Ridthaisong,W; W. Intanoo; C. Chamswarng and C. Hongprayoon. 2004. Integrated control of Pythium damping– off and root rot of tomato with Trichoderma spp. and calcium chloride or silicon. Kamphaengsaen Acad.J.3:18-29.

25. Rishi, K.M; P. Vidya and D.K.Arora. 2008. Study on phenolic and Their Oxidative Enzyme in *Capsicum annuum* L. Infected with Geminivirus. Asian J. Exp. Sci . 22:307 -310.

26. Saharan B. S. and V. Nehra 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci. Med. Res.* 21: 1–30.

27. Spaepen, S., J. Vanderleyden and R .Remans .2007. Indole-3-acetic Acid in Microbial and Microorganism-Plant Signaling. In: Unden F (ed) FEMS Microbiol Rev. 4: 425- 448.

28. Vaddar, U.B. 2007. Studies on Grape Rhizosphere Microorganisms. M.Sc. Thesis. Univ. of Agric. sci. Dharwad. pp: 91

29. Yahalom,E; Y. Okon and A. Dovrat. 1990.Possible mode of action of *Azospirillum brasilense* strain cd on the root morphology and nodule formation in barr medic (*Medicago polymorpha*) Can. J. Microbiol. 36:10-14.

30. 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.