

# Samarra Journal of Pure and Applied Science



# www.sjpas.com

ISSN:2663-7405

# تقييم الفعالية البيولوجية للبكتريا المعزولة من داخل النبات في مقاومة مرضي التفحم المغطى وتعفن الجذور وموت البادرات في الحنطة. Triticum aestivum L

#### عبد الله عبد الكريم حسن، هارون رشيد أحمد \*

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت <u>Z4h.rasheed@gmail.com</u>)\*, <u>drabdullah.has67@tu.edu.iq</u>) البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الثاني

# الخلاصة:

# معلومات البحث:

تأريخ الاستلام: 2020/09/25 تأريخ القبــول: 2020/11/20

#### الكلمات المفتاحية:

البكتريا داخل النبات، السيطرة الإحيائية

أجريت الدراسة لتقييم فعالية بكتريا داخل النبات في السيطرة على المسببات المرضية Pythium aphanidermatum المسبب لمرض تعفن الجذور وموت البادرات و Tilletia laevis / T. caries المعطى، إذ عزلت 50 عزلة من البكتريا من أنسجة نبات الحنطة من بعض مناطق محافظة صلاح الدين. أشارت نتائج إختبار التضاد المباشر للبكتريا المعزولة مع المسبب المرضى P. aphanidermatum إلى أن مدى التثبيط قد تراوح بين (0.3 - 9.3 ملم) إذ بلغ أعلى معدل تثبيط في العزلة SHSt2 بمنطقة تثبيط بلغت 9.3 ملم وشخصت هذه العزلة الى مستوى النوع Pseudomonas flvescens (SHSt2) . أن المعاملة (بذور + رش 10<sup>12</sup> خلية بكتيرية/ مل) في التجربة الحقلية قد أبدت تفوقاً معنوياً في مؤشرات النبات الخضرية كمحتوى الكلوروفيل وارتفاع النباتات. أثرت المعاملة ببكتريا P.flvescensفي نسبة الاصابة بالفطرين الممرضين P.aphanidermatum و T. caries/T. laevis إذ بلغت ادنى نسبة اصابة في معاملة البكتريا (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/ مل) بنسبة إصابة بلغت 19.94 و11.13% على التوالي مقارنة باعلى نسبة اصابة في معاملتي السيطرة بوجود الممرضين فقط إذ بلغت نسبة الإصابة 81.57 و 58.47 % على التوالي. في المؤشرات الانتاجية ، رفعت المعاملة بالبكتريا P. flvescens من الوزن الكلى للنبات بوجود الممرضين P. aphanidermatum و T. caries/T. laevis إذ بلغ أعلى وزن 60.4 و 58.71 غم على التوالى في معاملة (بذور + رش  $10^{12}$ خلية بكتيرية/ مل)، مقارنة بأدنى وزن في معاملتي السيطرة للممرضين إذ بلغ 26.47 و 20.56 غم على التوالي، إضافة إلى ذلك فقد إنعكس تأثير المعاملة بالبكتريا P. flvescens على دليل الحصاد إذ بلغت أعلى نسبة 36.5 و28.75% بوجود الممرضين P. aphanidermatum و T. caries/T. laevis على النوالي في معاملة (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/ مل) مقارنة بأدنى نسبة في معاملة

السيطرة للممرضين إذ بلغت 22.42 و18.42 %على التوالي.

#### المقدمة

يعد محصول الحنطة L. Triticum aestivum L. من أهم المحاصيل الاستراتيجية في العالم إذ يبلغ الإنتاج العالمي للمحصول 760.1 من أهم المحاصيل الاستراتيجية في العالم 2020 [2]. يتعرض 760.1 مليون طن للعام 2020 [2]. ويمثل إنتاج محصول الحنطة ما يقارب 30 % من الإنتاج الكلي للحبوب [2]. يتعرض محصول الحنطة كغيره من المحاصيل إلى الإصابة بالعديد من الأمراض الفطرية والفايروسية والبكتيرية والنيماتودية وغيرها إلا أن للمسببات الفطرية النسبة الأكبر في إصابة المحصول [3]. ومن هذه الأمراض مرض تعفن الجذور وموت البادرات والذي يمثل أحد أكثر المشاكل التي تواجه العاملين في الزراعة وأكثرها خطورة [4] وهو من الأمراض المحمولة بالتربة والتي تعد من

العوامل المحددة لإنتاج العديد من محاصيل الحقول والبيوت المحمية [6،5]. كما ويصاب محصول الحنطة بأمراض المجموع الخضري كمرض التقحم المغطى المتسبب عن T. caries وينتشر هذا المرض في كثير من دول آسيا وأفريقيا وأوربا وشمال القارة الأمريكية وجنوبها [7]. يعمل التقحم على إتلاف الحبوب كلياً قبل تكونها في السنابل مما يحدث خسائر تصل إلى 80% وبعض الأحيان 100% [8]. إن إستخدام المبيدات الكيميائية لمكافحة أمراض النبات وبشكل روتيني وما تسببه هذه المواد من تلوث لمختلف مفاصل البيئة وأضرارها على الإنسان والحيوان دفع العاملين في هذا المجال للبحث عن طرق أكثر فعالية وجدوى إقتصادية وأن تكون صديقة للبيئة [9]. لذلك إتجه العلماء الى المكافحة الحيوية كونها آمنة إضافة لتأثير ها المضاد لمسببات الأمراض [10]. توفر بكتريا داخل النبات العديد من الفوائد للنبات أهمها حماية النبات من المسببات المرضية وتعزيز نمو النبات في لقدرتها على التفاعل مع العائل النباتي [11]. تهدف الدراسة الى الى تقييم الفعالية البيولوجية للبكتريا المعزولة من داخل النبات في معالجة بعض المسببات الفطرية الممرضة.

# المواد وطرائق العمل:

# عزل بكتريا داخل النبات

عزلت بكتيريا داخل النبات من اجزاء مختلفة لنباتات الحنطة (الجذر، الساق و الأوراق) من بعض مناطق محافظة صلاح الدين – جمهورية العراق، غسلت النباتات جيداً بالماء المقطر المعقم وقطعت الى قطع صغيرة 1 سم، ثم وضعت القطع في اطباق بتري تحتوي على الماء المقطر لإكمال عملية الغسل، نقلت القطع بعد ذلك الى أطباق أخرى تحتوي محلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCL بتركيز 3% و لمدة دقيقة واحدة فقط لتعقيم القطع سطحياً، بعدها نقلت الى أطباق تحتوي ماء مقطر لغسلها من بقايا محلول هايبوكلورات الصوديوم ثم جففت بإستخدام اوراق ترشيح، نقلت القطع و زرعت على وسط الاكار المغذي agar ثم حضنت الأطباق لمدة 24-48 ساعة [14].

بعد انتهاء فترة التحضين وملاحظة نمو المستعمرات البكتيرية، ولغرض تنقية المستعمرات اخذت مسحات من البكتيريا النامية بواسطة عروة التلقيح Inoculation loop ونقلت إلى اطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي (NA) Nutrient Agar (NA) تم حضنت لمدة 48 ساعة، و قد اعطيت العزلات النامية اسماء مختصرة تدل على المنطقة التي جمعت منها و جزء النبات الذي عزلت منه، قسمت العزلات النقية مظهرياً حسب اللون وقوام المستعمرة (محببة أو غير محببة) وأقطارها وحافتها فضلا عن بعض الصفات البايوكيميائية إلى مستوى الجنس حسب دراسات [12، 13].

# الفطريات الممرضة

تم الحصول على عزلة نقية من الفطر P. aphanidermatum من مختبر امراض النبات – قسم وقاية النبات/كلية الزراعة – T. laevis عن الموسم تكريت، فيما حضرت الابواغ التيلية للفطريين T. caries و T. laevis عن الموسم السابق وبنسبة النوع الاول الى الثاني T. بواقع T. عم بوغ تيلي/كغم من بذور الحنطة اذ تم المزج في كيس نايلون واغلق فوهته بإحكام ومزج بحركة رحوية لمدة T. دقائق لضمان التصاق الابواغ بالبذور T.

# تأثير التضاد لبكتريا داخل النبات مختبرياً:

أستخدم لهذا الاختبار وسط أكار مستخلص الشعير (MEA) Malt Extract Agar with Peptone (MEA)، لإختبار تأثير عزلات البكتريا داخل النبات في تثبيط الفطر الممرض P. aphanidermatum كونه اختياري المعيشة إذ وضعت قطعة من مستعمرة هذا الفطر (قطر 0.5 سم) في مركز كل طبق وتم تخطيط الوسط بثلاثة خطوط بكتيرية (3 سم طولاً) على بعد 3 سم من الفطر، تم التخطيط من ثلاثة اتجاهات بواسطة عروة التلقيح Inoculation loop من مستعمرات البكتريا المعزولة بعمر 48 ساعة بينما كان في الإتجاه الرابع خط مسحة بكتيرية مقتولة بالحرارة (عرضت إلى لهب مصباح بنزن) بنفس بُعد الخطوط الثلاثة عن الفطر والذي يمثل خط السيطرة والذي عند وصول نمو المستعمرة الفطرية إليه يتم حساب منطقة التثبيط بإستخدام مسطرة رقمية بين حافة مستعمرة الفطر الممرض والخطوط البكتيرية الثلاثة ثم حسب معدل منطقة التثبيط للخطوط الثلاثة (ملم) [14]. شخصت عزلة البكتريا الأعلى كفاءة في تثبيط الفطر الممرض الى مستوى النوع حسب الاختبارات البايوكيميائية والجزيئية المعتمدة على تتابعات الجين 16S rRNA [15].

#### تجربة الأصص

شملت التجربة معاملتين الأولى المعاملة بالبكتيريا والثانية حالة الاصابة بمرضي موت البادرات والتفحم المغطى بثلاثة مكررات لكل معاملة. شملت المعاملة بالبكتيريا معاملة البذور بثلاث تراكيز (108، 1010 و 1012 خلية بكتيرية/مل) و رشت النباتات بعد اسبو عين من الإنبات بنفس التراكيز الثلاثة ومعاملة (البذور +الرش) بإستخدام التراكيز نفسها، فضلا عن معاملة السيطرة (معاملة بالماء المقطر المعقم فقط)، اجريت معاملة البذور بالبكتيريا عن طريق تغطيس البذور حسب كل تركيز وبواقع 1 وزن

بذور (غم): 1 حجم معلق البكتيريا (مل) ولغاية امتصاص كل معلق البكتيريا في حين اجري الرش بواقع 20 مل من كل تركيز لكل الصيص (يحوي على 20 نبات) بإستخدام مرشة يدوية. طبقت هذه المعاملات للأصيص المعاملة بالفطر الممرض aphanidermatum

فضلا عن تطبيق المعاملات نفسها لمرض التفحم المغطى) وتمت زراعة الأصص بتاريخ 13/11/2019 بواقع 20 بذرة لكل أصيص وحسب المعاملات أعلاه وأجري التسميد والري حسب توصيات زراعة الحنطة [16].

# تقدير محتوى الكلوروفيل

تم قياس محتوى الأوراق من الكلوروفيل بجهاز قياس الكلوروفيل Chlorophyll meter، إذ تم قياس نسبة الكلوروفيل لتسع أوراق أخذت بصورة عشوائية في كل وحدة تجريبية [14].

#### تقدير ارتفاع النبات

تم قياس إرتفاع النباتات في نهاية الموسم وكان ذلك عن طريق أخذ خمسة نباتات من كل مكرر بشكل عشوائي وفصل المجموع الجذري عن الخضري وقيس إرتفاع المجموع الخضري بإستخدام شريط القياس من منطقة اتصال كل نبات مع الجذر إلى أعلى قمة من النبات [27].

# تقدير نسبة الإصابة

قدرت نسبة الإصابة حسب المعادلة:

% للإصابة = عدد النباتات المصابة / عدد النباتات الكلية x 100 x

# تقدير وزن النبات الكلي (الحاصل البايولوجي):

بعد نضج السنابل وجفاف كافة النباتات تم وزن 3 نباتات كاملة من كل مكرر بإستخدام الميزان الحساس وأستخرج المعدل.

# دليل الحصاد

أستخرج دليل الحصاد وفقاً للمعادلة الآتية:

$$100 imes \frac{ ext{حاصل الحبوب}}{ ext{وزن النبات الكلي( الحاصل البايولوجي )}} دليل الحصاد$$

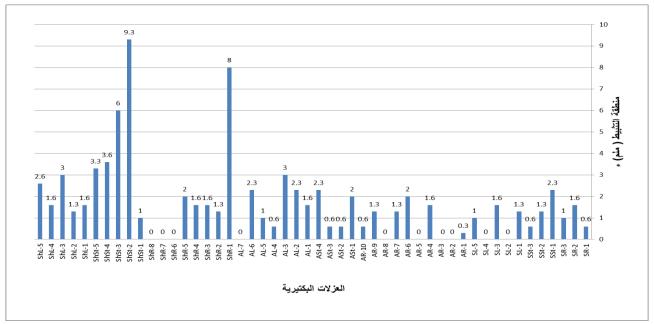
# التحليل الإحصائي

نفذت تجارب هذه الدراسة بتصميم تام التعشية Completely Randomized Design (CRD) وأجري تحليل التباين حسب المتعادي المتوسطات حسب اختبار الفرق المعنوي الأصغر SPSS وتمت المقارنة بين المتوسطات حسب اختبار الفرق المعنوي الأصغر (LSD) عند مستوى احتمالية 0.05 [17].

# النتائج والمناقشة

# التضاد المباشر

يوضح الشكل 1 تـأثير العـزلات البكتيريـة المعزولـة مـن أجـزاء مختلفـة مـن نبـات الحنطـة علـي تثبيط الفطـر SHR1 إذ بلغت منطقة التثبيط 9.3 ملم، تليها العزلـة SHSt2 إذ بلغت منطقة التثبيط 9.3 ملم، تليها العزلـة 1 و SHSt2 إلا معدل تثبيط بلغ 8 ملم. وبالرغم من وجود تباين في تثبيط البكتريا المعزولـة من داخل نباتات الحنطـة بمدى (0.3 – 9.3 ملم) إلا بمعدل تثبيط بلغ 8 ملم. وبالرغم من وجود تباين في تثبيط البكتريا المعزولـة من داخل نباتات الحنوليـة SL4 ،AR2 ،AR3 ،AR5 ،AR8 ،AL7 ،SHR8 و SL2 لم تسجل أي تثبيط النبات المفر الممرض P. aphanidermatium . إن إختلاف قابلية التضاد يعزى إلى الإختلاف الوراثي لعزلات البكتريا داخل النبات الذي ينعكس على جميع الفعاليات الحيوية والمواد الأيضية والمواد المضادة لتلك العزلات ضد نمو الفطر الممرض، تنتج البكتريا داخل النبات العديد من مضادات نمو الفطريات. فقد ذكر [18] أن سلالات بكتريا Pseudomonas fluorescens و Pyrrole-type و Pyrrole-type النبات.



الشكل 1: تأثير العزلات البكتيرية المعزولة من الأنسجة الداخلية لنباتات الحنطة من مناطق مختلفة من محافظة صلاح الدين في تثبيط الممرض LSD 0.05= 0.37) P. aphanidermatium).

# تقدير محتوى الكلوروفيل

تشير نتائج الجدول 1إلى تأثير العزلة SHSt2 في محتوى نباتات الحنطة من الكلوروفيل، فقد أعطت معاملة البكتريا (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/مل) أعلى محتوى كلوروفيل بوجود المسببات الممرضة P. aphanidermatum و T. caries / T. laevis إذ بلغت 40.94 و 38.41 سباد على التوالي، تليها معاملة (بذور + رش 1010 خلية بكتيرية/مل) بمحتوى كلوروفيل بلغ 38.02 و 37.03 سباد على التوالي. مقارنة بأدني مستويات الكلوروفيل في معاملة الفطريات الممرضة فقط P. aphanidermatum و T. caries / T. laevis و 18.24 سباد على التوالي. إن إرتفاع محتوى الكلوروفيل في جميع المعاملات البكتيرية مقارنة بمعاملة السيطرة يعود إلى كون بكتريا داخل النبات تعمل على تعزيز نمو النبات وتعزيز محتوى الكلوروفيل بشكل ملحوظ [19]، و أن محتوى الكلوروفيل يزداد نتيجة إفراز إندول حامض الخليك Indole acetic acid (IAA) بفعل بكتريا داخل النبات [20].

جدول 1: تأثير المعاملة ببكتريا Pseudomonas flavescens في محتوى الكلوروفيل تحت ظروف الإصابة بالفطرين P. anhanidermatum و T caries / T laevis و T caries / T laevis على نيات الحنطة صنف شاه 6

		6	على نبات الحنطة صنف سام	i. caries /	apnaniaermatum و 1. iaevis
ملات	متوسط المعا	T. caries / T. laevis	P.	النبات السليم	المعاملات
			aphanidermatum		
,	22.03	18.24	17.21	30.63	السيطرة
	32.53	30.34	32.22	35.03	بذور $10^8$ خلية بكتيرية/مل
	34.63	32.39	35.02	36.47	بذور $10^{10}$ خلية بكتيرية/مل
	36.06	34.68	36.17	37.32	بذور $10^{12}$ خلية بكتيرية/مل
	31.18	29.07	30.90	33.57	رش النبات 10 <sup>8</sup> خلية بكتيرية/مل
	32.77	31.05	32.39	34.87	رش النبات $10^{10}$ خلية بكتيرية/مل
	34.51	33.08	34.10	36.35	رش النبات $10^{12}$ خلية بكتيرية/مل
	36.24	34.97	36.37	37.37	بذور $+$ رش $10^8$ خلية بكتيرية/مل
	38.42	37.03	38.02	40.23	بذور $+$ رش $10^{10}$ خلية بكتيرية/مل
· •	40.60	38.41	40.94	42.45	بذور $+$ رش $10^{12}$ خلية بكتيرية/مل
	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	31.93	33.34	36.43	متوسط حالة الإصابة
,	1.62	حالة الإصابة × المعاملات=	= 0.51 للمعاملات= 0.93	حالة الإصابة =	LSD 0.05

# تقدير إرتفاع النبات:

تبين نتائج الجدول 2 تأثير العزلة SHSt2 في إرتفاع نباتات الحنطة، فقد سجلت المعاملة (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/مل) أعلى إرتفاع بوجود المسبب الممرض P. aphanidermatum إذ بلغ 73.47 سم، تليها معاملة (بذور 1012 خلية بكتيرية/مل)

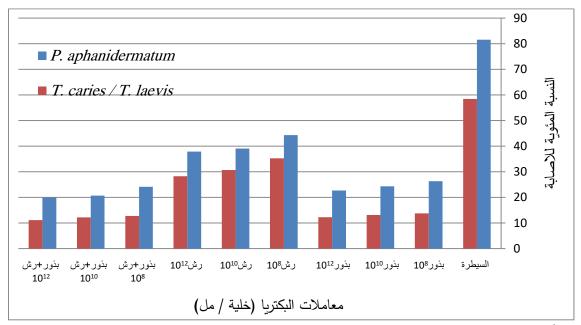
إذ بلغ الإرتفاع 70.77 سم مقارنة بأدنى إرتفاع في معاملة السيطرة بوجود الممرض P. aphanidermatum إذ بلغ 40.27 سم. أما ما يخص الإصابة بفطري التفحم T. caries / T. laevis في معاملة (بذور + رش ما ما يخص الإصابة بفطري التفحم 1012 خلية بكتيرية/مل) بإرتفاع بلغ 67.11 سم مقارنة مع أدنى إرتفاع في معاملة السيطرة بوجود فطري التفحم T. caries / T. laevis و البالغ 36.16 سم . تعزى الزيادة الحاصلة في إرتفاع النبات إلى دور البكتريا في التأثير على العمليات الأيضية داخل النبات بالإضافة إلى تحفيز ها لإنتاج العديد من منظمات النمو النباتية مثل الأوكسينات، السايتوكاينينات والجبرلينات مع زيادة جاهزية العناصر الضرورية للنبات [21].

جدول 2: تأثير المعاملة ببكتريا Pseudomonas flavescens في إرتفاع النبات تحت ظروف الإصابة بالفطرين P. aphanidermatum و aphanidermatum على نبات الحنطة صنف شام 6

		. —	,	- L
متوسط المعاملات	T. caries / T. laevis	Р.	النبات السليم	المعاملات
		aphanidermatum		
46.55	36.16	40.27	63.22	السيطرة
66.10	64.19	65.87	68.23	بذور 10 <sup>8</sup> خلية بكتيرية/مل
67.79	65.35	67.70	70.33	بذور $10^{10}$ خلية بكتيرية/مل
70.19	67.11	70.77	72.70	بذور 10 <sup>12</sup> خلية بكتيرية/مل
63.34	61.03	63.12	65.87	رش النبات 10 <sup>8</sup> خلية بكتيرية/مل
64.74	63.18	64.02	67.01	رش النبات 10 <sup>10</sup> خلية بكتيرية/مل
66.77	65.18	65.67	69.46	رش النبات 10 <sup>12</sup> خلية بكتيرية/مل
66.63	64.34	65.26	70.28	بذور $+$ رش $10^8$ خلية بكتيرية/مل
69.95	66.55	70.23	73.06	بذور $+$ رش $10^{10}$ خلية
				بكتيرية/مل
73.52	69.51	73.47	77.60	بذور + رش 10 <sup>12</sup> خلية
				بكتيرية/مل
	62.26	64.64	69.78	متوسط حالة الإصابة
حالة الإصابة = $0.34$ للمعاملات = $0.62$ حالة الإصابة $ imes$ المعاملات = $0.34$				LSD 0.05

# تقدير نسبة الإصابة:

يبين الشكل 2 نتائج تأثير بكتريا Pseudomonas flavescens في نسبة إصابة نباتات الحنطة بالفطريات الممرضة .P aphanidermatum و T. caries / T. laevis و المعاملة (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/مل) أعلى تأثير في المسببات المرضية بالمعاملة (بذور + رش 11.13 و 19.94 و 11.13 % على التوالي، تليها المعاملة (بذور + رش 1010 خلية بكتيرية/مل) بنسبة إصابة بلغت 20.67 و 12.17 % على التوالي، بالمقارنة مع أدنى تأثير في معاملتي السيطرة للممرضين بنسبة بلغت 81.57 و 58.47 % على التوالي. ربما يعزى هذا إلى إن تثبيط المرض يرجع بصورة رئيسية إلى إفراز Siderophores و Calicylic acid 'Siderophores و المعروف عنها تمنع تطور الأعراض وتقلل حدوث المرض [22]. أو إلى إزالة وتثبيط عوامل الضراوة للمسبب الممرض بفعل بكتريا داخل النبات [23]. كما أن زيادة مقاومة مرض التفحم مرتبطة بزيادة مستوى انشطة بيروكسيد الهيدروجين H202 وإنزيم البيروكسيديز PO وأنشطة النسخ لجين الكايتينيز الكايتين الكايتينيز الكايتين الكايتينيز الكايتينيز الكايتينين الكايتينيز الكايتينيز الكايتينين الكا



الشكل 2: تأثير المعاملة ببكتريا P. flavescens في نسبة الإصابة بالفطرين P. aphanidermatum وT.caries/T.laevis على نبات الحنطة صنف شام 6

# وزن النبات الكلي

يوضح الجدول 3 تأثير العزلة البكتيرية SHSt2 في الوزن الكلي لنباتات الحنطة، إذ سجلت المعاملة (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/مل) أعلى وزن بوجود الممرضين P. aphanidermatum و P. aphanidermatum إبوزن بلغ على التوالي، تليها المعاملة (بذور 1012 خلية بكتيرية/مل) في حالة الإصابة بالممرض maphanidermatum بوزن بلغ 57.04 غم، والمعاملة (بذور + رش 1010 خلية بكتيرية/مل) في حالة الإصابة بفطري التفحم T. caries / T. laevis بوزن بلغ 54.46 غم، مقارنة مع معاملة السيطرة بوجود الممرضين P. aphanidermatum و T. caries / T. laevis بوزن بلغ 26.47 و 20.56 غم على التوالي . إن زيادة أوزان النباتات المعاملة بالبكتريا مقارنة بمعاملات السيطرة بعود إلى المواد المعززة للنمو التي تفرزها بكتريا داخل النبات إذ تزيد من كثافة المجموعين الخضري والجذري و كذلك في إرتفاع النباتات مثل زيادة جاهزية العناصر إذ أن بكتريا Seudomonas تزيد من جاهزية عنصر الفسفور في محيط الجذور وتسهيل امتصاصه زيادة جاهزية العناصر إذ أن بكتريا والجبرلين إذ تعمل هذه المواد على تعزيز الكتلة الحيوية للنبات كزيادة طول الجذر ومساحته [25]

	`	٠ . ن	Trearies /	Tracers Japhamacimacam
متوسط المعاملات	T. caries / T. laevis	P.	النبات السليم	المعاملات
		aphanidermatum		
31.54	20.56	26.47	47.59	السيطرة
49.52	40.01	53.03	55.53	بذور 10 <sup>8</sup> خلية بكتيرية/مل
52.89	44.87	55.03	58.78	بذور 10 <sup>10</sup> خلية بكتيرية/مل
56.14	49.92	57.04	61.46	بذور 10 <sup>12</sup> خلية بكتيرية/مل
39.87	28.84	41.12	49.64	رش النبات 10 <sup>8</sup> خلية بكتيرية/مل
44.20	33.13	45.38	54.11	رش النبات 10 <sup>10</sup> خلية بكتيرية/مل
48.65	38.06	51.36	56.54	رش النبات 10 <sup>12</sup> خلية بكتيرية/مل
54.48	49.60	51.72	62.12	بذور + رش 10 <sup>8</sup> خلية بكتيرية/مل
58.34	54.46	56.77	63.81	بذور $+$ رش $10^{10}$ خلية بكتيرية/مل
61.68	58.71	60.40	65.93	بذور + رش 10 <sup>12</sup> خلية بكتيرية/مل
	41.81	49.83	57.55	متوسط حالة الإصابة
0.95 =	حالة الإصابة × المعاملات	0.30 للمعاملات = 0.54	حالة الإصابة =	LSD 0.05

#### دليل الحصاد

يبين الجدول 4 نتائج تأثير العزلة البكتيرية SHSt2 في دليل الحصاد، إذ أعطت المعاملة (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/مل) أعلى نسبة تأثير في معاملة الفطر 36.5 P. aphanidermatum بكتيرية/مل) بنسبة بلغت 34.2% بالمقارنة مع أدنى نسبة في معاملة السيطرة بوجود المسبب الممرض P. بكتيرية/مل) بنسبة بلغت aphanidermatum و البالغة 22.42%. كما بلغت أعلى نسبة في النباتات المصابة بفطري التفحم aphanidermatum و البالغة 1012 خلية بكتيرية/مل) تليها المعاملة (رش النبات 2011 خلية بكتيرية/مل) بنسبة بلغت 31.72% في المعاملة (رش النبات 1018 خلية بكتيرية/مل) بنسبة بلغت الخضرية لنبات المقارنة مع أدنى نسبة في معاملة السيطرة بوجود فطري التفحم والبالغة 18.42%. إنعكس تأثير إرتفاع المعايير الخضرية لنبات الحنطة تحت تأثير جميع المعاملات وبشكل خاص معاملة (بذور + رش 1012 خلية بكتيرية/مل) على زيادة التاجية النبات، فزيادة محتوى الكلوروفيل و إرتفاع النبات بوجود تلك المعاملات والتي أثبتت في هذه الدراسة يعطي للبكتريا دور مهم في إرتفاع مؤشرات إنتاجية النبات فضلاً عن دور هذه البكتريا في إختزال ضرر الفطريات الممرضة. و إن إستحثاثها لمقاومة النبات المهرشة. و إن إستحثاثها لمقاومة النبات الجهازية يعد من المؤشرات المهمة التي تخفض من ضرر الممرضات و بالتالي زيادة الإنتاجية [27].

جدول 4: تأثير المعاملة ببكتريا Pseudomonas flavescensفي دليل الحصاد تحت ظروف الإصابة بالفطرين P. aphanidermatum و T. caries / T. laevis على نبات الحنطة صنف شام 6

متوسط المعاملات	T. caries / T. laevis	Р.	النبات السليم	المعاملات
		aphanidermatum		
28.62	18.42	22.42	45.01	السيطرة
33.15	26.75	30.65	42.05	بذور $10^8$ خلية بكتيرية/مل
33.19	26.97	31.56	41.04	بذور $10^{10}$ خلية بكتيرية/مل
33.72	27.26	33.17	40.74	بذور $10^{12}$ خلية بكتيرية/مل
35.52	31.72	30.94	43.91	رش النبات 10 <sup>8</sup> خلية بكتيرية/مل
34.69	31.23	31.83	41.00	رش النبات 10 <sup>10</sup> خلية بكتيرية/مل
34.06	31.61	30.28	40.28	رش النبات 10 <sup>12</sup> خلية بكتيرية/مل
33.26	26.59	34.20	39.00	بذور $+$ رش $10^8$ خلية بكتيرية/مل
33.78	26.51	34.19	40.64	$\phantom{aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa$
35.26	28.75	36.50	40.52	بذور + رش 10 <sup>12</sup> خلية بكتيرية/مل
	27.58	31.57	41.42	متوسط حالة الإصابة
3.02 =	حالة الإصابة × المعاملات	0.95 للمعاملات = 1.74	حالة الإصابة =	LSD 0.05

إن وجود البكتريا مع البذور وتكاثرها ونموها وإفرازها للمواد المثبطة سيجعل منها عامل حماية ضد المسببات المرضية الموجود في المحيط الجذري لذلك فإن معاملة البذور قد أثرت بالفطر P. aphanidermatum أكثر من معاملة الرش لكون لقاح البكتريا في البذور يتيح لها النمو والتكاثر في موقع المعاملة لذلك فإن وجودها في الجذور يكون أعلى رغم إمكانية إنتقال نسبة قليلة من البكتريا إلى المجموع الخضري عبر أوعية الخشب مع الماء والعصارة النباتية [15]. لكن تأثيرها كان أقل من معاملة الرش في السيطرة على فطري التقحم T. laevis ، وعليه فإن معاملة الرش تجعل البكتريا بتماس مباشر مع الساق والأوراق خلال الرش إذ يمكن أن تتوغل داخل المجموع الخضري من خلال الثغور أو مباشرة بإفرازها الإنزيمات الهاضمة، مما يجعل بكتريا داخل النبات في موقع قريب لإنتشار الفطر الذي ينمو مع نمو النبات المواد الأيضية إذ يؤدي لإضعاف نمو الفطر الذي يكون بشكل مايسيليوم ومنع إكمال دورة حياته من خلال التنافس أو إفراز المواد الأيضية المحللة لجدران خلايا الفطر الأمر الذي يؤدي إلى تثبيط نمو وتطور المسبب المرضي[28]. مما تقدم يتضح تقوق المعاملة المزدوجة (بذور +رش) على المعاملة المفردة (بذور أو رش) تبعاً لزيادة اللقاح البكتيري إذ لوحظ من خلال النتائج وجود عكسية بين تركيز المعاملة ونسبة الإصابة بالفطريات الممرضة، إذ أن لكثافة لقاح بكتريا داخل النبات الأثر في تثبيط مسببات الأمراض النباتية [29].

#### الإستنتاجات

أدت المعاملة ببكتريا داخل النبات إلى تثبيط نمو المسبب المرضي P. aphanidermatum مختبرياً، كما خفضت من نسبة و شدة الإصابة بمرضي التفحم المغطى وتعفن الجذور وموت البادرات حقلياً، إضافة إلى زيادة في المعايير الخضرية من خلال تحسين نمو النبات، كما أن زيادة تأثير بكتريا داخل النبات يتناسب طردياً مع زيادة تركيز اللقاح البكتيري.

#### References

- 1. FAO. (2020). Record global cereal production forecast boosts stock-to-use ratio to a twenty-year high, July.
- 2. Campuzano, G.E., Slafer, G.A. and Miralles, D.J., (2012), Differences in yield, biomass and their components between *triticale* and wheat grown under contrasting water and nitrogen environments. *Field Crops Res.* 128, 167-179.
- 3. Bodah, E. T. (2017). Root rot disease in plants: A review of common causal agents and management strategies. *Agri. Res. Tech.* 5(3):1-8
- 4. Horst R. K., (2013) Damping-off. Westcott's plant disease handbook. Springer Netherlands, Dordrecht, p 177.
- 5. Poole, G. J., Harries, M., Hüberli, D., Miyan, S., MacLeod, W. J., Lawes, R., & McKay, A. (2015). Predicting cereal root disease in Western Australia using soil DNA and environmental parameters. *Phytopathology*, 105(8), 1069–1079. doi.org/10.1094/PHYTO-07-14-0203-R
- 6. Torres, M. J., Pérez Brandan, C., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., & Audisio, M. C. (2016). Antagonistic effects of *Bacillus Subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. *Microbiological Research*, 182, 31–39.
- 7. Rajković, S., Dolovac, N., (2006). Common bunt (*Tilletia tritici*) in different wheat genotypes. Czech J. Genet. Plant Breed. 42, 16–19 Special Issue.
- 8. Xiaodong, Bao. (2010). Host specificity and phylogenetic relationships among *Tilletia* species Infecting wheat and other cool season grasses. Doctor of philosophy, Washington state University, Department of Plant Pathology. 154 pp.
- 9. Rai, M., Ingle, A.P., Paralikar, P., Anasane N., Gade R., Ingle P.,(2018). Effective management of soft rot of ginger caused by *Pythium* spp. and *Fusarium* spp.: emerging role of nanotech-nology. Appl Microbiol Biotechnol 102, 6827–6839 <a href="https://doi.org/10.1007/s00253-018-9145-8">https://doi.org/10.1007/s00253-018-9145-8</a>
- 10. Huang, L. Q., Niu, Y. C., Su, L., Deng, H., & Lyu, H. (2020). The potential of endophytic fungi isolated from cucurbit plants for biocontrol of soilborne fungal diseases of cucumber. *Microbiological Research*, 231, 126369. English. <a href="https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126369">doi.org/10.1016/j.micres.2019.126369</a>
- 11. Coutinho, B.G., Licastro, D., Mendonc, a-Previato, L., Cámara, M., Venturi, V., (2015). Plant-influenced gene expression in the rice endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. Molec. *Plant-Microbe Interact*. 28, 10–21.
- 12. Holt, J. C.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.: Stahley, J. T. & Willa, S. T.(1994). Berge's manual of determinative bacteriology,9<sup>th</sup> ed. USA.
- 13. Mac Faddin, J.F. (2000). Biochemical tests for identification of medical microbio-logy. Lippincott Williams and Wilkins Publisher.
- 14. Hassan, A. A., saba, A. E., Yousef, H. M. .(2017). Isolation and Identification of Active Compounds From Pseudomonas fluorescens Isolated from Iraqi Soils and Evaluation of Their Efficiency on Growth of Pathogenic Fungus *Macrophomina phaseolina*. Journal of Tikrit University For Agriculture Sciences. 169-181.Proceedings of the sixth Agricultural Scientific Conference. 28-29 March 2017 College of Agriculture University of Tikrit
  - 15. حسن، عبد الله عبدالكريم و أحمد، هارون رشيد. (2020) التشخيص الجزيئي لعز لات بكتريا داخل نباتات الحنطة العراقية وإختبار كفاءتها في مقاومة بعض الامراض الفطرية وإستحثاث مقاومة النبات وتحسين معايير نموه الخضرية والإنتاجية. مرسل للنشر إلى مجلة وقاية النبات العربية.

- 16. MSU(Michigan State University).(2018). Michigan State University Extension .Improving wheat yields depends on achieving uniform wheat stands this fall. canr.msu.edu/news/winter wheat planting recommendations

  17. الراوي, خاشع محمود ، خلف الله، عبد العزيز محمد, 1980 . تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة
- 17. الراوي, حاسع محمود ، حلف الله، عبد العرير محمد, 1980 . نصميم وتخليل النجارب الرراعيـه. دار الكتب للطباعـه والنشر, جامعة الموصل.
- 18. Dwiredi, D., & Johri, B. N. (2003). Antifungals from fluorescent *pseudomonads*: Biosynthesis and regulation. Current Science, 85, 1693–1703.
- 19. Ma, Y., Rajkumar, M., Moreno, A., Zhang, C., and Freitas, H. (2017). Serpentine endophytic bacterium *Pseudomonas azotoformans* ASS1 accelerat phytoremediation of soil metals under drought stress. Chemosphere 185, 75–85.
- 20. Yuan Z. S., Liu, F., Xie, B. G., Zhang, G.F. (2018). The growth-promoting effects of endophytic bacteria on Phyllostachys edulis. Arch Microbiol. 2018;200(6)921-927. Doi:10.1007s00203-018-1500-8
- 21. Sharma, p., (2011) . Evaluation of diseases control and plant growth promoting potention of biocontrol agents on pisum sativum and comparison of their activity with popular chemical control agentbcarbendazin. *Journal of Toxicology and invironmental Health Sciences*: 3(5). 127-138.
- 22. Muthukumar, A., Nakkeeran, S., Eswaran, A., & Sangeetha, G. (2010). In vitro efficacy of bacterial endophytes against the chilli damping-off pathogen *Pythium aphanidermatum Phytopathol. Méditerranée*, 49, 179–186.
- 23. Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., & Ait Barka, E. (2005). Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium Burkholderia sp. Strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 1685–1693.
- 24. Yarullina, L. G., Borkhanova, G. F. & Tsvetkov, V. O. (2020). Effects of *Bacillus* Bagteria on activity of Pathogen-Induced Proteins and Wheat Resistance to Bunt caused by *Tilletia caries* (DC.) Tul.. Russ J Plant Physiol 67,564-571. <a href="https://doi.org/10.1134/S1021443720030218">doi.org/10.1134/S1021443720030218</a>
- 25. Ahemad M.,& Khan M.S.(2011). Pseudomonas aeruginosa strain PS1 enhances growth parameters of greengram [*Vigna radiata*(L.) Wilczek] in insecticide-stressed soil. *J.Pest.Sci.*, 84:123-131.
- 26. Ali, S., Charles, T. C., and Glick, B. R. (2017). "Endophytic phytohormones and their role in plant growth promotion," in Functional Importance of the Plant Microbiome: Implications for Agriculture, Forestry and Bioenergy, ed. S. L. Doty (Cham: Springer International Publishing), 89–105
  - 27. حسن، عبدالله عبدالكريم، محمود، عبير رؤوف ، محمد، لينة قاسم .(2020). تشخيص عزلات محلية من بكتيريا Lactobacillus plantarum و تقويم كفاءتها في مكافحة مرض ذبول فيوزاريوم على البندورة/ الطماطم . مجلة وقاية النبات العربية، 28(2): 141-161
- 28. Chen, F., Wang, M., Zhang, Y., Luo, J., Yang, X., and Wang, X., (2010). Quantitative changes of plant defense enzymes and phytohormone in biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by *Bacillus subtilis* B579, J. *Microbiol.Biotechnol.*, vol. 26, p. 675.
- 29. Abdelrazek S, Simon P, Colley M, Mengiste T, Hoagland L (2020). Crop management system and carrot genotype affect endophyte composition and *Alternaria dauci* suppression. *PLoS ONE* 15(6): e0233783. <a href="https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233783">https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233783</a>



# Samarra Journal of Pure and Applied Science



www.sjpas.com

ISSN:2663-7405

# Isolating and identification of endophytic bacteria and evaluation of its effectiveness in control of Smut and Damping-off diseases on wheat

#### Abdullah Abd Al-kareem Hassan, Haroon Rashid Ahmed\*

Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Tikrit, Iraq (24h.rasheed@gmail.com)

#### **Article Information**

# Received: 25/09/2020 Accepted: 20/11/2020

#### **Keywords:**

Endophytic bacteria, biological control, wheat Pythium aphanidermatum, Tilletia caries/Tilletia laevis

#### **Abstract**

The study was conducted to assess the effectiveness of Endophytic bacteria in controlling of *Pythium aphanidermatum* and *Tilletia caries/Tilletia laevis*. 50 isolates of bacteria were isolated from wheat plant tissues from different regions of Salahaddin province. The results of the direct antagonist test of the isolated bacteria with the pathogen P. aphanidermatum indicated that the extent of inhibition ranged from (0.3-9.3 mm) with the highest inhibition rate in SHSt2 isolate with a inhibition zone of 9.3 mm, this isolate diagnosed to the species level of Pseudomonas flyescens (SHSt2. In the field experiment, the treatment of P. flyescens (SHSt2. (seeds + spraying 10<sup>12</sup> bacterial cells/ml) showed a significant superiority in the vegetative markers such as chlorophyll content and height of the plant. Treatment of P. flvescens (SHSt2) has affected the infection rate of pathogens P. aphanidermatum and T. laevis/T. caries with the lowest infection rate in the treatment (seeds + spraying 10<sup>12</sup> bacterial cells/ml) resulting in 19.94 and 11.13% respectively, compared to the highest infection rate in the of the presence of pathogens, resulting in 81.57 and 58.47% respectively. In the productivity markers, the same treatment of P. flvescens (SHSt2) increased the total weight of the plant by reaching the highest weight in the presence of pathogens *P. aphanidermatum* and *T.* laevis/T. caries resulting in 60.4 and 58.71 g respectively, compared to the lowest weight in the control of pathogens at 26.47 and 20.56 g, respectively. In addition, the effect of *P. flvescens* (SHSt2) (seeds + spraying 10<sup>12</sup> bacterial cells/ml) was reflected on the index of harvest, in presence of pathogens P. aphanidermatum and T. laevis / T. caries which reached to 36.5 and 28.75%, respectively, compared to the lowest harvest index 22.42 and 18.42% in present of both pathogens, respectively.