

تقييم كفاءة بكتريا *B.subtilis* في حماية بذور وبادرات الحنطة من الفطرين *A.flavus* و *A.niger*

ابتهاال معز الحسيني بشير عبد الحمزة العلواني زهراء كاظم الموسوي
جامعة بابل / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

الخلاصة :

تناول البحث الحالي دراسة تأثير بكتريا *Bacillus subtilis* على نسب الانبات وموت البادرات وعفن الجذور المتسبب عن الفطرين *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* من خلال معاملة حبوب الحنطة صنف مكسباك. اثبتت النتائج قدرة بكتريا *Bacillus subtilis* على تثبيط نمو الفطرين المرضيين بنسبة وصلت الى 100% على وسط P.D.A. . اذ ثبتت البكتريا نمو الفطر *A. flavus* عند استخدام 20 مل /لتر بينما تطلب 50 مل /لتر من البكتريا لتثبيط نمو الفطر *A. niger* . كما تبين قدرة البكتريا على زيادة نسب الانبات لنبات الحنطة وصلت الى 93.3% في التربة المعقمة مقارنة بالتربة غير المعقمة ، كما كان لوجود البكتريا مع الفطر *A. niger* اثر كبير في زيادة نسب الانبات وصلت الى 80.0% في حين كانت النسبة 73.3% في التربة غير المعقمة لنفس المعاملة . كذلك تبين أهمية بكتريا *B. subtilis* ووجود الفطر *A. flavus* في زيادة نسب الانبات الى 86.7% مقارنة مع 40.0% في معاملة الفطر لوحده وفي تربة معقمة. كذلك تبين دور البكتريا في خفض معدل نسب موت البادرات والتي بلغت 6.7% مقارنة بمعاملة السيطرة والتي كانت 16.7% لتربة معقمة، وكان لوجود البكتريا مع نوعي الفطر اثر كبير في خفض معدل موت البادرات للتربة المعقمة وغير المعقمة مقارنة بمعاملة الفطر لوحده ولكلا النوعين.

Abstract:

This experiment was implemented to study the effect *Bacillus subtilis* on the death rates of germination and seedling root rot caused by fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* by treating grain wheat products Maxbak.

Results proved the ability of bacteria *Bacillus subtilis* to inhibit the growth of fungi both species to 100% on the media P.D.A. . Inhibited the growth of bacteria as the fungus *A. flavus* when using 20 ml /liter, while requests 50 ml / liter of bacteria to inhibit the growth of fungus *A. niger*. It also shows the ability of bacteria to increase the rates of germination of the plant and wheat reached 93.3% compared to sterile soils with non-sterile soils, as was the presence of bacteria with the fungus *A. niger* after a large increase in germination rates reached 80.0% while the ratio was 73.3% in non-sterile soil to the same treatment. Also shows the importance of bacteria *B. subtilis* and the presence of fungus *A. flavus* increase in germination rates to 86.7% compared with 40.0% in the treatment of fungus alone and in sterile soils. The result shows the role of bacteria in reducing rates of death of seedling, which reached 6.7% compared to the treatment of control, which was 16.7% for the soil sterile and had the presence of bacteria with both types of fungus a major impact in reducing the rate of death of seedling of the soil sterile and non sterile compare to the treatment of fungus alone and for both types.

المقدمة :

يعود نبات الحنطة إلى العائلة النجيلية *Graminae* وهي من النباتات الحقلية المنتجة للحبوب وتعد الغذاء الرئيسي لكثير من شعوب العالم لا ينافسها في هذا المجال الا الذرة والرز حيث تتشارك هذه الحبوب غذاء البشر ويزرع القمح في اكثر بلاد العالم مرة واحدة في السنة وفي بعض البلدان يزرع مرتين للقمح أنواع متعددة جداً فمنها ما يصلح كعمل الخبز ومنها ما يصلح لعمل المعجنات والمكرونة وغيرها (FAO, 2002).

يتعرض محصول الحنطة للإصابة بكثير من المسببات المرضية التي يعزى اليها تدهور الحاصل خصوصاً عند زراعته في التربة نفسها بشكل متكرر (Agrios, 2005) وتمثل الفطريات احد هذه المسببات لما تملكه من مميزات ساعدتها على البقاء والمنافسة فمعظم افرادها ذو مقدرة تنافسية عالية بسبب عدم حاجتها لمتطلبات غذائية خاصة بها وامتلاكها المقدرة العالية على إنتاج الأنزيمات المحللة فضلاً عن تحملها المضادات الحياتية والسموم التي تنتجها الاحياء المجهرية المنافسة الاخرى (حسن، 1982 ; Koch, 1999)

من أهم المسببات المرضية الفطرية التي تصيب محصول الحنطة هي فطريات التعفن الجذرية (Prescott et al, 2007 ; al, 2002 : Cook et al, 2000 : Schroeder&Paulizl) ومنها فطر *Gaeumannmyces graminis* المسبب لمرض الفناء take-all وفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض تعفن الجذور الرايزو كتوني (2004)، والعديد من الانواع التابعة لجنس *Pythium* المسبب لمرض تعفن الجذور البيثومي (Smiley&Suddin1993;Paltiz)

(Ingram & Cook 1987) وكذلك انواع الجنس *Aspergillus* المسبب لموت بادرات الحنطة (Kim & weller , 1997).

برز الاهتمام بمفهوم مكافحة الاحيائية كوسيلة ناجحة في هذا المجال عوضاً عن المكافحة بالمبيدات الكيميائية لما لها من خطورة على صحة الإنسان والبيئة (Pal & Mcs padden – Gardener, 2006). حيث تم في السنوات الاخيرة استخدام بعض الانواع جنس *B. subtilis*, *B. cereus* والتي أثبتت كفاءة عالية للسيطرة على بعض الممرضات الفطرية في العراق (العاشر، 2005 و الخفاف، 2006).

أن آليات بكتريا *Bacillus* في مقاومة السبب المرضي والسيطرة عليه هي التطفل المباشر وافرازها المضادات الحيوية زيادة على قدرتها على استحثاث المقاومة الجهازية مما يجعلها مختلفة عن المبيدات الفطرية الكيميائية التركيبية في برنامج السيطرة على الامراض خاصة ان الفعاليات الاحيائية لبكتريا *B.subtilis* قد بينت اما عن طريق إنتاجها المضادات الحيوية المضادة للفطر مثل مادة Subtilin و Bacitracin و Bacillin وكذلك المادة Bacillomycin أو عن طريق التغيرات الأيونية لوسط النمو (Jacobesen et al , 2004).

يعد الفطر *Aspergillus* من أوسع الفطريات انتشاراً في التربة والهواء وعلى جميع البقايا النباتية والحيوانية الرطبة وينمو الكثير من أنواعه على الخضروات والفواكه واللحوم. وغيرها من المواد الغذائية (أبو هيله، 1987). حيث يصيب الفطر *A. flavus* نبات الذرة ونبات فستق الحقل كما يصيب محصول الحنطة من خلال إفراز سموم Aflatoxin وكذلك الفطر *A.niger* الذي يسبب مرض العفن الاسود في البصل والعنب وثمار الرمان وثمار التين حيث تتعرض جميع الثمار والاجزاء النباتية من الفاكهة والخضر وكرومات أبيض الزينة لهذا المرض (ميخائيل، 1980).

في الدراسة الحالية تم اجراء تقويم كفاءة عدد من برامج السيطرة الاحيائية المتمثلة باستخدام بكتريا *B.subtilis* للسيطرة على الفطر *Aspergillus* المسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات الحنطة تحت ظروف الحقل وقد تم اجراء هذه الدراسة وفقاً للمحاور الآتية:

1. اختبار القدرة المرضية للفطر *A. flavus* والفطر *A. niger*.
2. تقييم الكفاءة التضادية لبكتريا *B. subtilis* للفطرين *A. niger* و *A. flavus* تحت الظروف المختبرية.
3. حساب نسب الإنبات وموت البادرات لنبات الحنطة مختبرياً وحقلياً المزروعة في تربة ملوثة وتربة غير ملوثة بالفطرين *A. niger* و *A. flavus*.

المواد وطرق العمل :

1. الأحياء المجهرية المستخدمة في التجربة:
استخدمت بكتريا *B. subtilis* والتي تم الحصول عليها من مختبر الاحياء المجهرية لقسم علوم الحياة / جامعة الكوفة كما استخدم عزلتي الفطرين *A. niger* و *A. flavus* المعزولة من التربة المزيجية المستخدمة في الدراسة حيث تم عمل تخافيف وهي (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) وتم الحصول على الفطرين الممرضين ثم عمل تنقية المزرعة للحصول عليها بصورة نقية.

2. تحضير لقاح الفطرين الممرضين *A. niger* , *A. flavus* :

استعملت بذور المحلي *Panicum miliceum* لتحضير لقاح الفطرين الممرضين *A. niger* و *A. flavus*. اذ غسلت البذور جيداً بالماء لإزالة الأتربة والشوائب منها ثم نقعت لمدة 6 ساعات بالماء وحضرت مجموعة من الدوايق بحجم 100 مل ووضع 50 غم من بذور الدخن في كل دورق وسدت فوهتها بإحكام ومن ثم عقت بجهاز الموصدة لمدة 30 دقيقة ثم تركت لتبرد بعدها لقع كل دورق بخمس أقراص من مستعمرة الفطر النامي على وسط P.D.A (المحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة) بعمر أربعة أيام، حضنت الدوايق بدرجة حرارة 28 ± 2 م لمدة 15 يوم وعرضت للرج والتحرك كل (2-3) أيام وذلك لتوزيع اللقاح الفطري على جميع البذور بشكل متجانس (Dewan, 1988) ثم حفظت الدوايق في الثلاجة لحين الاستعمال.

3. اختبار القدرة المرضية لعزلتي الفطرين *A. niger* و *A. flavus* :

تم اجراء اختبار القدرة المرضية لعزلتي الفطرين *A. niger* و *A. flavus* بحسب طريقة (Carling and Leinner, 1986). زرعت حبوب الحنطة غير المعفزة صنف مكسباك بعد تعقيمها بمحلول هايوكلورايت الصوديوم 1% لمدة (3) دقائق وغسلها بالماء المقطر مرتين في اطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي المعقم (P.D.A) بمعدل 10 حبه لكل طبق وبشكل دائري بعد ان تم تلقيح مركز الطبق بقرص قطره 10 ملم من مستعمرة كل من الفطرين *A. niger* و *A. flavus* وبواقع ثلاث مكررات لكل فطر وفي الوقت نفسه زرعت حبوب الحنطة بدون فطر على الوسط الغذائي بالطريقة نفسها كمعاملة مقارنة حضنت الأطباق على درجة 28 م لمدة 6 ايام بعدها حسبت نسبة انبات حبوب الحنطة حسب المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100^*$$

كما تم حساب نسبة موت البادرات على وفق المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية لموت البادرات} = \frac{\text{عدد البادرات الميتة}}{\text{عدد البادرات الكلي}} \times 100.$$

4. اختبار كفاءة تراكيز مختلفة من بكتيريا *B. subtilis* على نمو الفطرين *A. niger* و *A. flavus*
 حضر الوسط الزراعي P.D.A في اربعة عشر دورق حجم كل منها 500 مل حاوية على 250 مل من الوسط الزراعي وقد عقرت بجهاز الموصدة وبعد تبريدها أضيفت إليها تراكيز مختلفة من بكتيريا *B. subtilis* (0.5، 1، 2، 3، 4، 5 مل / لتر) أما الدورق السابع فترك بدون اضافة بوصفه معاملة سيطرة، رجت الدوارق جيداً ثم صببت في اطباق بتري سعة 9 سم وبواقع ستة اطباق لكل تركيز وكذلك معاملة السيطرة. حضنت جميع الاطباق بدرجة حرارة 35 م° ولمده 48 ساعة وبعد نمو البكتيريا على الأطباق لقحت جميع الاطباق باقراص قطر كل منها 10 ملم كل من مستعمرين الفطرين *A. niger* و *A. flavus* على وسط P.D.A في وسط الطبق وحضنت هذه الاطباق بدرجة حرارة 28 ± 2 م° حيث تم قياس النمو القطري للفطر بأخذ قطرين متعامدين من ظهر المستعمره يمران بمركز القرص وبعد وصول النمو في معاملة السيطرة لحافة الطبق حسبت النسبة المئوية لتنشيط النمو الفطري وفقاً لمعادلة (Abbott, 1925).

$$\text{تنشيط النمو الفطري \%} = \frac{\text{معدل النمو الفطري في معاملة السيطرة} - \text{معدل النمو الفطري في المعاملة}}{100} \times 100$$

5. تقييم كفاءة بكتيريا *B. subtilis* و الفطرين *A. niger* و *A. flavus* في أنبات بذور ونمو بادرات الحنطة في الأصص تحت ظروف المختبر وفي تربة معقمة وغير معقمة .
1. تهيئة البذور : تم تعقيم حبوب الحنطة بمحلول هايوكلورايبت الصوديوم 1 % لمدة ثلاث دقائق وغسلت بالماء المقطر و تم جففت على ورق الترشيح بعد ذلك نقعت الحبوب في Nutreint broth المحضر من تنمية 5 مستعمرات بكتيرية من بكتيريا *B. subtilis* في N.broth لمدة 48 ساعة في الحاضنة بعد ذلك تم تنقيع قسم من حبوب الحنطة في N.broth لمدة 10 دقائق والتي استخدمت في زراعة الأصص قيد التجربة (5 حبوب لكل أصص).
2. تقييم كفاءة بكتيريا *B. subtilis* في أنبات بذور ونمو بادرات الحنطة في الأصص تحت ظروف المختبر

تهيئة تربة الزراعة:

أخذت عينات من التربة المزيجية المستخدمة وتم تعقيم نصف كمية التربة بجهاز auto- cleave لمرتين متتاليتين لغرض عمل مقارنة بين التربة المعقمة وغير المعقمة وتم تهيئة (36) اصيصاً ذي قطر (9) سم قسم منها ملئت بتربة مزيجية معقمة والقسم الآخر بتربة غير معقمة وتم توزيعها إلى 12 معاملة كل منها تحتوي على ثلاث أصص (مكررات) تم تلويث مكررات المعاملات بلقاح الفطرين الممرضين *A. niger* و *A. flavus* على بذور الدخن بواقع 5 غم دخن/1 كغم تربة كما تركت بعض الأصص بدون تلويث بلقاح الفطرين بوصفها معاملات مقارنة ، سقيت الأصص بالماء وبقيت التربة رطبة لمدة 48 ساعة ثم جرى تنفيذ المعاملات الآتية:

أ. معاملات التربة المعقمة.

1. معاملة السيطرة. تم زراعة حبوب الحنطة غير المنقعة بالبكتيريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية غير ملوثة بلقاح الفطرين *A. niger* و *A. flavus*
2. معاملة البكتيريا (*B. subtilis*) : تم زراعة حبوب الحنطة المنقعة بالبكتيريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية غير ملوثة بلقاح الفطرين *A. niger* و *A. flavus*.
3. معاملة الفطر *A. niger* : زرعت حبوب الحنطة غير المنقعة بالبكتيريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A. niger*
4. معاملة الفطر *A. flavus* : تم زراعة حبوب الحنطة المنقعة بالبكتيريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A. flavus*
5. معاملة بكتيريا *B. subtilis* + *A. niger* : تم زراعة حبوب الحنطة المنقعة بالبكتيريا في أصص تحتوي على تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A. niger*.
6. معاملة بكتيريا *B. subtilis* + *A. flavus* : تم زراعة حبوب الحنطة المنقعة بالبكتيريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A. flavus*.

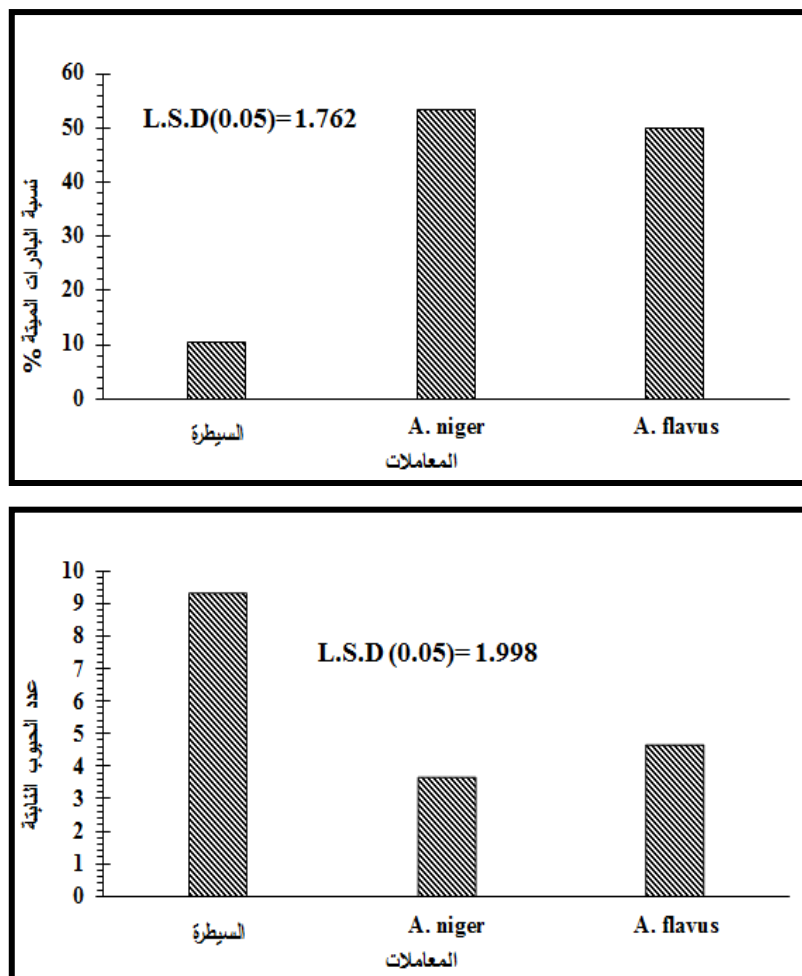
ب. معاملات التربة غير المعقمة.

1. معاملة السيطرة: تم زراعة حبوب الحنطة غير المنقعة بالبكتيريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية غير ملوثة بلقاح الفطرين الممرضين *A. niger* و *A. flavus*
2. معاملة البكتيريا *B. Subtilis* : تم زراعة حبوب الحنطة المنقعة بالبكتيريا وفي أصص تحتوي على تربة غير ملوثة بلقاح الفطرين الممرضين *A. niger* , *A. flavus*

3. معاملة الفطر *A.niger* : تم زراعة حبوب الحنطة غير المنقعة بالبكتريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A.niger*
4. معاملة الفطر *A.flavus* : تم زراعة حبوب الحنطة غير المنقعة بالبكتريا وفي أصص تحتوي تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A.flavus*.
5. معاملة البكتريا *A.niger + B. subtilis* : تم زراعة حبوب الحنطة المنقعة بالبكتريا وفي أصص تحتوي على تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A.niger*.
6. معاملة البكتريا *A.flavus + B.subtilis* : تم زراعة حبوب الحنطة المنقعة بالبكتريا وفي أصص تحتوي تربة مزيجية ملوثة بلقاح الفطر الممرض *A.flavus*.

النتائج والمناقشة:

1- اختبار القدرة المرضية للفطرين *A.niger* و *A.flavus* تبين من نتائج هذه التجربة جدول (1) ان لحبوب الحنطة نسبة أنبات عالية وصلت الى 93.3 % مما يدل على ان الحبوب ذات حيوية جيدة مقارنة بالحبوب المعاملة بالفطر الممرض *A.niger* والتي كانت 37.2 في حين وصلت النسبة بوجود الفطر *A.flavus* إلى 47% هذا يدل على القدرة المرضية العالية للفطر *Aspergillus* (Agrios, 2005)، إما بالنسبة لموت البادرات فقد سجلت أعلى نسبة في معاملة *A.niger* تلتها معاملة *A.flavus* والتي بلغت 53.33 % و 50 % على التوالي.



شكل (1) القدرة المرضية للفطرين *A.niger* و *A.flavus* في نسبة انبات حبوب الحنطة وموت البادرات.



صورة (1) تأثير المعاملة بالفطر *A. flavus* على نسبة إنبات حبوب الحنطة بعد عشرة أيام من التلقيح

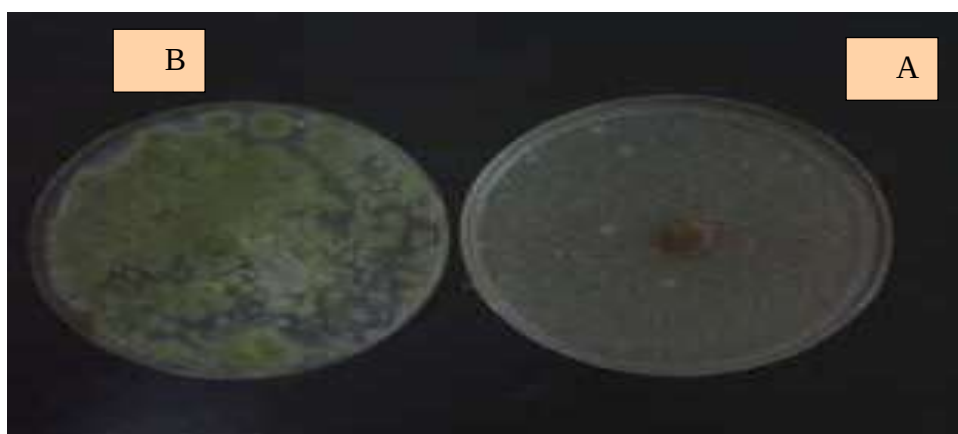
A- معاملة السيطرة B- معاملة الفطر *A. nig*

2. اختبار كفاءة تراكيز مختلفة من بكتريا *B. subtilis* على نمو الفطرين *A. niger* و *A. flavus*. اثبتت النتائج المبينة في جدول (2) قدرة بكتريا *B. subtilis* على تثبيط نمو الفطرين الممرضين وبتراكيز مختلفة فقد اعطت البكتريا نسبة تثبيط عالية للفطر *A. flavus* عند التركيز 1 مل وصلت الى 81.8 % وقد كانت نسبة التثبيط 100 % للفطر نفسه في تركيز 2 مل / لتر اما بالنسبة للفطر *A. niger* فلم يسجل له تثبيط عند التركيز نفسه حيث زادت نسبة التثبيط بزيادة التركيز فقد سلتر من هذا يتضح ان العلاقة طردية في تأثير التراكيز المستعملة في نمو الفطرين الممرضين فقد ازداد التأثير التثبيطي مع زيادة التراكيز المختبرة.

قد يعود الاختلاف في تأثير البكتريا على نمو الفطرين *A. niger* و *A. flavus* في تراكيز مختلفة إلى التغيرات في الخلايا البكتيرية (ألحيه) في وحدة الحجم (مل) من البكتريا وطبيعة المضادات الحيوية المنتجة من قبل البكتريا *B. subtilis* وقدرتها على استهلاك مصادر الغذاء (العاشور ، 2005 ; Mcs padden Gardener , 2004 ; عبد الجليل, 2004) كما ذكرها Moutealegre et al (2003) أهمية ودور نوعي الجنس *Bacillus* وهما *B. subtilis* و *B. lentimorbus* في اختزال نسبة اصابة الطماسة بالفطر *Rhizoctonia* اذ بينت نتائجهم ان بكتريا *B. subtilis* لها القابلية على افراز مواد ايسية مضادة للفطر مثل مادة Subtiline و Bacitracin و Bacillin وكذلك المادة Bacillomycin وان لهذه البكتريا القابلية على تغيير لون المستعمرة الفطرية نتيجة حصول تغيرات فسلجية في عملية النمو.

جدول (2) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B. subtilis* في تثبيط النمو ألسعاعي للفطرين *A. niger* و *A. flavus*

4.210 = التراكيز L.S.D 0.05	معدل تركيز العالق البكتيري	نسبة التثبيط %		تركيز العالق البكتيري (مل/لتر)
		<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	
	0.00	0.00	0.00	0
	57.42	75.93	38.90	0.5
	70.93	81.87	60.00	1
	84.45	100.00	68.90	2
	90.92	100.00	81.83	3
	92.97	100.00	85.93	4
	100.00	100.00	100.00	5
		79.69	62.22	معدل نوع الفطر
		2.250 = لنوع الفطر L.S.D 0.05		
		5.954 = للتداخل L.S.D 0.05		



صورة (2) تأثير بكتيريا *B.subtilis* في النمو الشعاعي للفطر *A.flavus* على الوسط الزراعي P.D.A معاملة A معاملة B بكتيريا *B.subtilis* معاملة السيطرة

3.تقييم كفاءة بكتيريا *B.subtilis* تحت ظروف المختبر باختبار تراكيز مختلفة من البكتيريا في نسبة انبات البذور في تربة ملوثة وغير ملوثة بنوعي الفطر *Aspergillus* في الأصص:

تبين من نتائج الاختبار المدرجة في جدول (3) وجود اختلاف واضح في نسب الإنبات بين المعاملات وبين التربة المعقمة وغير المعقمة حيث أظهرت معاملات التربة المعقمة تفوق واضحاً في نسب الانبات عن المعاملات لتربة غير معقمة بصورة عامة وقد كانت افضل المعاملات هي معاملة البكتيريا سواء في التربة المعقمة وغير المعقمة والتي بلغت 93.33 % و 90 % على التوالي حيث كان للبكتيريا دور مهم في زيادة نسب الإنبات تلتها معاملة السيطرة والتي بلغت في التربة المعقمة 86.66 %.

كم أظهرت معاملة وجود البكتيريا مع الفطر *A.flavus* نسبة أنبات عالية تمثلت بنسبة 66.66 % مقارنة مع معاملة الفطر لوحده والتي بلغت 50% كذلك تبين النتائج جدول (3) إن الفطر *A.niger* ذو امراضية عالية تفوقت عن امراضية الفطر *A.flavus* بوجود تربة معقمة وغير معقمة فقد كانت النسبة 40 % و 33.33 % على التوالي من هذا يتضح دور البكتيريا في زيادة نسبة الإنبات والعمل ضد امراضية الفطرين الممرضين . ان للبكتيريا *Bacillus* دوراً مهماً في انبات الحبوب والسيطرة على عملية الانبات حيث تعمل على تحفيز انزيمات التحلل hydrolytic داخل البذرة والتي تقوم بتحليل المواد الكربوهيدراية والبروتينية والمواد الدهنية الى مواد ابسط يحتاجها الجنين (Ajayi and Fagade , 2006)

جدول (3) تأثير معاملات مختلفة من بكتيريا *B.subtilis* مع الفطرين *A.niger* و *A.flavus* في النسبة المئوية لإنبات بذور الحنطة في تربة معقمة وغير معقمة.

	المعاملات	النسبة المئوية للإنبات	
		تربة غير معقمة	تربة معقمة
14.59 = L.S.D للمعاملات	سيطرة	80.0	86.7
	<i>B.subtilis</i>	90.0	93.3
	<i>A.niger</i>	33.3	40.0
	<i>A.flavus</i>	50.0	53.3
	<i>B. subtilis</i> + <i>A.niger</i>	73.3	80.0
	<i>B.subtilis</i> + <i>A.flavus</i>	80.0	86.7
	معدل نوع التربة	67.8	73.3
	L.S.D 0.05 لنوع التربة = 8.43		
	L.S.D 0.05 للتداخل = 20.64		

4. اختبار كفاءة بكتريا *B.subtilis* في نسب موت بادرات نبات الحنطة في الاصص:

ان جدول (4) يشير إلى وجود اختلافات واضحة في معدل موت البادرات بين المعاملات وبين التربة المعقمة وغير المعقمة حيث وفرت معظم المعاملات المستخدمة حماية جيدة للبادرات من تأثيرات الفطرين الممرضين *A.niger* و *A.flavus* حيث تصدرت معاملة البكتريا عن بقية المعاملات في الترب المعقمة وغير المعقمة في خفض معدل موت البادرات حيث تمثلت بـ % 6.7 , 8.3 على التوالي تلتها معاملة السيطرة والتي بلغت 16.7 % . كما اظهرت معاملة وجود البكتريا مع الفطر *A.flavus* نسبة موت بادرات تمثلت 16.7 بينما كانت نسبة موت البادرات للفطر *A.flavus* 50% وان الفطر *A.niger* بوجود البكتريا اظهرت دور فعال في خفض نسبة موت البادرات بلغت 16.7 % وان الفطر لوحده سجل معدل موت البادرات 72 %.

ان هنالك عدد في الدراسات تتفق مع النتائج التي توصلت اليها هذه الدراسة فقد وجد مقدرة بكتريا الجنس *Bacillus* في كبح العديد من الممرضات التي تصيب النباتات المختلفة كمرض الذبول وسقوط البادرات لنبات الطماطة والسيطرة على مرض تعفن الخيار (*Smith et al*, 1999 ; *Smith et al* , 1993) ومرض الذبول لنبات الجت (*Raffel ; stabbet et al*, 1994) كما اشارت الدارسة الحديثة استخدام بكتريا *B.circulaus* بنجاح في مكافحة تبقع الأوراق المتأخر في فستق الحقل الناجم عن الفطر *Phaeoisariopsis personata* (Krishna Kishore et al, 2005).

جدول (4) فعالية مكافحة الحيوية باستخدام بكتريا *B.subtilis* في معدلات نسب موت بادرات نباتات الحنطة في تربة معقمة وغير معقمة.

المعاملات	نوع التربة		معدل المعاملات
	تربة معقمة	تربة غير معقمة	
سيطرة	16.7	17.8	17.2
<i>B. subtilis</i>	6.7	8.3	7.5
<i>A. niger</i>	72.2	66.7	69.4
<i>A. flavus</i>	50.0	44.4	47.2
<i>A. niger + B. subtilis</i>	16.7	22.2	19.4
<i>A. flavus + B. subtilis</i>	15.0	16.7	15.8
معدل نوع التربة	29.5	29.4	
L.S.D 0.05 لنوع التربة = 11.99			
L.S.D 0.05 للتداخل = 29.37			

المصادر :

العاشر، علي جابر جاسم. (2005). أمكانية إنتاج مستحضر حيوي من بكتريا (*Bacillus cereus*) للسيطرة على بعض الفطريات المسببة لسقوط البادرات. رسالة ماجستير- كلية العلوم - جامعة الكوفة. صفحة 77.

عبد الجليل، عدنان. (2004). مقاومة مرض تعفن بذور وموت بادرات الطماطة المتسبب عن فطر *Pythium aphanidermatum* باستخدام تداخل بين بعض المبيدات الكيماوية والمبيد الإحيائي فلورا ميل. رسالة ماجستير- كلية الزراعة - جامعة الكوفة.

حسن، محمد صادق. (1982). استعمال الطاقة الشمسية في تعقيم البيوت البلاستيكية. رسالة ماجستير- كلية الزراعة - جامعة بغداد.

الخفاف، آلاء عبد علي. (2006). مقاومة مرض موت بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. بالمبيدين الحيويين فلورا ميل وباسلين والمبيد الكيماوي بيلثانول ودورها في تحسين صفات النمو والإنتاج . أطروحة دكتوراه - قسم علوم الحياة - كلية التربية للبنات - جامعة الكوفة.

ميخائيل ، د. سمير ميخائيل 1980 . أمراض البساتين والخضر .

ابوهيله ، د. ناصر ابوهيله 1987 . أساسيات علم الفطريات .

Abbot, W. S. (1925). A method of Computing the effectiveness of an insecticide. J. Ent., 18:265-267.

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology. 5th ed. Academic Press. pp.952.

Ajayi, A. O. and Fagade, O. E. (2006). Growth pattern and structural nature of amylases produced by some *Bacillus* species in starchy substrates. *African J. Biotech.* , 5 (5) 440-444.

Brent, K. J. and Hollomon, D. W. (1998). Fungicide resistance: The assessment of risk GCPE, FRAC Monograph No. 2. United Kingdom.

- Carling, D. E.; Leiner, R. H. (1986). Isolation and characterization of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia solani* like fungi from aerial stems and subterranean organs of potato plants. *Phytopathology*, 76:725-729.
- Cook, R. J.; Weller, D. M.; Youssef El-Banna, A.; Vakoch, D. and Zhang, H. (2002). Yield responses of direct-seeded wheat to rhizobacteria and fungicide seed treatments. *Plant Dis.*, 86:780-784.
- de Hond, F., P. Groenewegen and van Straalen, N. M. (2003). Questions Around the Persistence of the Pesticide Problem. In: den Hond, F. ; Groenewegen P. and van Straalen N. M. (eds) *Pesticides: Problems, Improvements, Alternatives*. Chapter 1. Blackwell Science Ltd.
- Dewan, M. M. (1988). *Pythium* spp. In root of wheat and ryegrass in Western Australia and their effect on root rot caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Soil Biol. Biochemi*, 20(6):801-808.
- FAO. (2002). Production year book food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome, Italy.
- Ingram, D. M., and Cook, R. J. (1987). Pathogenicity of four *Pythium* species to wheat, barley, peas and lentils. *Plant Pathol.*, 39:110-117.
- Jacobsen, J. Zidack, N. K. and Larson, B. J. (2004). The role of *Bacillus* based biological control agents integrated Pest management systems: Plant disease. *Phytopathology*, 94:1272-1275.
- Kim, D. S., Cook, R. J., and Weller, D. M. (1997). *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root diseases of wheat grown with reduced tillage. *Phytopathology*, 87:551-558.
- Koch, E. (1999). Evaluation of commercial products for microbial control of soil borne plant disease. *Crop port.*, 18:119-125.
- Krishna Kishore, G. ; Pande, S. and Podile, A. R. (2005). Biological control of late spot of peanut (*Arachis hypogaea*) with chitinolytic bacteria. *Phytopathology*, 95(10) 1157-1165.
- McSpadden-Gardener, B. B. (2004). Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in agricultural system. The American Phytopathological Society.
- Montealegre, J.R.; Reyes, R.; Perez, L.M.; Herrera, R.; Silva, P. and Besoain, X. (2003). Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Environ. Biotechnol.*, 6: 1-8
- Pal, K. K. and McSpadden-Gardener, B. (2006). Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor* DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Paulitz, T. C. (2004). Spatial distribution of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia oryzae* at three different scales in direct-seeded wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 26:419.
- Prescott, J. M.; P. A. Burnett; E. E. Saari; J. Ranson; J. Bowman; W. de Milliano; R. P. Singh, and G. Bekele. (2007). Wheat Diseases and Pests a guide for field identification. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico. <http://greengens.cit.cornell.edu/wpest>.
- Schroeder K. L. and Paulitz, T. C. (2006). Root diseases of wheat and barley during the transition from conventional tillage to direct seeding. *Plant Dis.*, 90: 1247-1253.
- Smiley, R. W., and Uddin, W. (1993). Influence of soil temperature on *Rhizoctonia* root rot (*R. solani* AG-8 and *R. oryzae*) of winter wheat. *Phytopathology*, 83:777-785.
- Smith, K. P. ; Handelsman, J. and Goodman, R. M. (1999). Genetic basis in plant for interaction with disease-suppressive bacteria. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 96:4786-4790.
- Smith, K. P. ; Havey, M. J. and Handelsman, J. (1993). Suppression of cottony leak of cucumber with *Bacillus cereus* strain UW85. *Plant Dis.*, 77:139-142.