

تأثير معاملة بذور الحنطة بالبكتيريا *Azospirillum* و *Azotobacter chroococcum* و *brasilense* والاشعة فوق البنفسجية في حماية نبات الحنطة من الاصابة بمرض الندبة

السوداء

* احمد نوري حميد	صباح لطيف علوان	علاء عيدان حسن
قسم وقاية النبات	قسم وقاية النبات	قسم التربة والموارد المائية
كلية الزراعة - جامعة الكوفة	كلية الزراعة - جامعة الكوفة	كلية الزراعة - جامعة الكوفة
جمهورية العراق	جمهورية العراق	جمهورية العراق

المستخلص

أجريت هذه الدراسة في احد حقول الحنطة في ناحية الحيرة / محافظة النجف الاشرف بهدف استخدام تقنية صديقة للبيئة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV-C) ذات الطول الموجي القصير 253nm في تعقيم البذور، بالإضافة الى بكتيريا المقاومة الاحيائية *Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum* لحماية نباتات الحنطة من الإصابة بمرض الندبة السوداء ، وأظهرت نتائج المسح الحقل في بعض حقول محافظة النجف الاشرف أن نسبة الإصابة بمرض الندبة السوداء على الحنطة المتسبب عن الفطر *Alternaria alternata* تراوحت بين 13 – 70 % ، وأوضحت نتائج اختبار تأثير عزلات الفطر *Alternaria alternata* على نسبة انبات بذور الحنطة ان عزلات الفطر اثرت سلبا على انبات البذور حيث انخفضت نسبة الانبات في البذور المعاملة بالعزلة 3AS-Kufa الى 71% والعزلة Najaf الى 66% والعزلة ASAAQEE الى 76% مقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغت نسبة الانبات فيها 80% ، بينت نتائج الدراسة ان للأشعة فوق البنفسجية تأثير تثبيطي على عدد الوحدات الحية في واحد مل من عزلات الفطر *Alternaria alternata* وعاملي المقاومة الحيوية *Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum* حيث بلغت  $10^6 \times 8.6$  و  $10^6 \times 8.5$  و  $10^6 \times 8.3$  و  $10^6 \times 315$  و  $10^6 \times 487$  و  $10^6 \times 752$  على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغت  $10^6 \times 9.4$  و  $10^6 \times 9.8$  و  $10^6 \times 9.1$  و  $10^6 \times 464$  و  $10^6 \times 424$  و  $10^6 \times 768$  على التوالي في ظروف المختبر ، وأثبتت هذه الدراسة قدرة عاملي المقاومة الاحيائية *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* على تثبيط نمو عزلات الفطر *Alternaria alternata* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط للعزلة 3AS-Kufa 80.35 % ، 80.58 % ، 80.35 % على التوالي وللعزلة Najaf 79.64 % ، 80.70 % ، 80.23 % على التوالي وللعزلة ASAAQEE 80.56 % ، 80.00 % ، 80.47 % على التوالي.

الكلمات المفتاحية : الندبة السوداء – الاشعة فوق البنفسجية – نبات الحنطة .

تاريخ استلام البحث: 2017/5/29

تاريخ قبول البحث: 2107/6/14

\* البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

## المقدمة

تعد الحنطة (*Triticum aestivum* L.) نبات حولي من الفصيلة النجيلية، وينتج الحنطة حبوباً مركبة على شكل سنابل اذ تعد هذه الحبوب الغذاء الرئيسي لكثير من شعوب العالم، لا ينافسها في هذا المجال إلا الذرة والأرز، حيث تتقاسم هذه الحبوب غذاء البشر على وجه الأرض وتزرع الحنطة في أكثر بلاد العالم مرة واحدة في السنة وفي بعض البلدان تزرع مرتين (3).

بلغت المساحة الكلية المزروعة بمحصول الحنطة في العراق لعام 2016 حوالي 3697000 دونم وبانخفاض نسبته 10.9% عن الموسم السابق والتي كانت 4147000 دونم وكان الإنتاج الكلي من المحصول 3053000 طن بارتفاع نسبته 15.4% عن انتاج السنة السابقة والذي بلغ 2645000 الف طن اذ بلغ متوسط الإنتاج للدونم الواحد 825.7 كغم / دونم ، بلغت المساحة الكلية المزروعة بمحصول الحنطة في محافظة النجف لعام 2016 حوالي 213528 ألف دونم وكان الإنتاج الكلي من المحصول 188156 ألف طن اذ بلغ متوسط الإنتاج للدونم 881.2 كغم . دونم<sup>1</sup> (2).

إن احد أسباب انخفاض إنتاجية محصول الحنطة في العراق يعود إلى انتشار العديد من الآفات الزراعية كالأدغال والحشرات والمسببات المرضية فضلاً عن الأساليب غير العلمية المتبعة في زراعة محصول الحنطة ، وقلة استعمال الأسمدة كماً ونوعاً ، و يصاب محصول الحنطة بالعديد من مسببات الأمراض النباتية في مراحل

نمو النبات المختلفة ومن بين أهمها مرض الندبه السوداء المتسبب عن الفطر *Alternaria alternata* على الحبوب (14) .

فقد هدفت الدراسة إلى استخدام تقنية صديقة للبيئة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV-C) ذات الطول الموجي القصير 253nm في تعقيم البذور، ضلاً عن بكتيريا المقاومة الاحيائية *Azotobacter* و *Azospirillum brasilense* لحماية هذه النباتات من الإصابة بالمرض وتحسين صفات التربة ، فضلاً عن تأثيراتها الايجابية في مؤشرات النمو وزيادة الإنتاج .

## المواد وطرائق العمل

1- وسط البطاطا سكروز آكار الطبيعي  
Potato Dextrose Agar (P.S.A.)

حضر الوسط بأخذ 200 غم من درنات البطاطا المقشرة والمقطعة إلى قطع صغيرة وغليها بالماء المقطر بحجم 500 سم<sup>3</sup> لمدة 20-30 دقيقة في دورق زجاجي وبعد انتهاء مدة الغليان رشح الخليط في دورق زجاجي بقطعة من القماش الشاش للحصول على الراشح، أذيب 10 غم من سكر السكروز و 17 غم من الاكار في 500 مل أخرى ثم أضيف إليها راشح البطاطا وأكمل الحجم إلى 1 لتر وخلط بصورة جيدة لكي يتجانس ، ثم وزع الوسط في دوارق زجاجية بحسب الحاجة وأغلقت فوهاتنا بسدادات من القطن وعقمت بجهاز الموصدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند .انج<sup>2</sup>- لمدة 20 دقيقة وبعد انتهاء مدة التعقيم تركت الدوارق لتبرد

حضر بإذابة 13 غم في 1 لتر ماء من الماء المقطر حسب تعليمات الشركة المصنعة (Himedia ، هندي المنشأ ) ثم عقم بجهاز الموصدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند /انج<sup>2</sup> لمدة 20 دقيقة وبعد انتهاء مدة التعقيم تركت الدوارق لتبرد ، ثم حفظت في الثلاجة لحين الاستعمال، استعمل هذا الوسط لتحضير عالق البكتيريا قيد الدراسة .

4- المسح الحقلي لنباتات الحنطة المصابة بمرض الندبة السوداء

تم المسح الحقلي لعشرة حقول مزرعة بالحنطة في محافظة النجف بمساحة 20 دونم للحقول العشرة خلال ربيع 2015 اذ تم اخذ 30 عينة لكل دونم وبطريقة تقاطع الأقطار الوهمية وبصورة عشوائية وتم حساب النسبة المئوية للإصابة في كل حقل حسب المعادلة التالية

عدد النباتات المصابة

$$100x \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} = \% \text{ للنباتات المصابة}$$

عدد النباتات الكلي

3 قطع في كل طبق وبثلاث مكررات ، حضنت الأطباق في درجة حرارة 25 ± 2 م لمدة 48 ساعة ثم تم تنقية الفطر الممرض *Alternaria alternata* على أوساط جديدة بعد فحصهما وتشخيصهما اعتمادا على الصفات المزرعية والمظهرية وبمساعدة أ.د. صباح لطيف علوان و أ.د. مجيد متعب ديوان وبأتباع المفتاح التصنيفي (10) .

قليلا ، ثم أضيف إليها 250 ملغم / 1 لتر من المضاد الحيوي Chloramphenicol، ثم صب الوسط في الأطباق البترية حسب التجربة المطلوبة أو حفظت في الثلاجة لحين الاستعمال ، استعمل هذا الوسط لتنمية الفطريات قيد الدراسة .

2- وسط الاكار المغذي Nutrient Agar

حضر بإذابة 28 غم في 1 لتر ماء من الماء المقطر حسب تعليمات الشركة المصنعة (Himedia ، هندي المنشأ ) ثم عقم بجهاز الموصدة بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند /انج<sup>2</sup> لمدة 20 دقيقة وبعد انتهاء مدة التعقيم تركت الدوارق لتبرد ، ثم صب الوسط في الأطباق البترية حسب التجربة المطلوبة أو حفظت في الثلاجة لحين الاستعمال، استعمل هذا الوسط لتنمية البكتيريا قيد الدراسة .

3- وسط المرق المغذي Nutrient Broth

5- عزل وتشخيص الفطر الممرض *Alternaria alternata*

جلبت العينات إلى المختبر وتم غسل السنابل المصابة ، ثم فصلت الحبوب المصابة عن وتم تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 2% لمدة دقيقتين ، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم مرتين ، وجففت بورق ترشيح معقم ثم زرعت في أطباق بترية تحوي على P.D.A. بواقع

وتم حساب النسبة المئوية لوجود عزلات الفطر في الأطباق حسب المعادلة التالية :-

$$\% \text{ لوجود الفطر} = \frac{\text{عدد القطع في الأطباق التي ظهر فيها الفطر}}{\text{العدد الكلي للقطع المستعملة في كل عينة}} \times 100$$

رج الدوارق كل 2-3 أيام لضمان توزيع الفطر على جميع البذور والتهوية وتجنب تكثف البذور مع الغزل الفطري ، بعد 20 يوما استعملت بذور الدخن النامي عليها للفطر كل على انفراد بحسب التجربة المراد تنفيذها (4).

7- البذور المستخدمة في الدراسة واختبار النسبة المئوية لإنباتها

استخدمت في الدراسة بذور الحنطة الصنف ( إباء 99 ) وتم الحصول عليها من محطة أبحاث الرز/ محافظة النجف الأشرف / طريق قضاء المشخاب وقد اختبرت حيوية بذور الحنطة وذلك بزراعة 25 بذرة في كل طبق قطر 9 سم وبأربعة مكررات، بعد أن وضع في كل طبق قطعة من القطن الطبي المشبعة بالماء لتوفير الرطوبة اللازمة لإنبات البذور وحضنت بدرجة حرارة 25م لمدة 72 ساعة ، وأجريت هذه التجربة لمعرفة كفاءة البذور المستعملة في الدراسة وتم حساب النسبة المئوية لإنبات البذور وفق المعادلة التالية :

عدد البذور النابتة

$$\% \text{ للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور الكلي}}{100} \times$$

عدد البذور الكلي

6- إكثار لقاح الفطر الممرض *Alternaria alternata* المعزول من سنابل الحنطة المصابة .

استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لغرض تحضير لقاح الفطر إذ نقعت بذور الدخن بالماء لمدة ستة ساعات ثم تركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد عنها ووضع كل 100 غم منها في دورق زجاجي سعة 250 مل وعقمت البذور بجهاز الموصدة في درجة حرارة 121 م وضغط 15 باوند.انج<sup>2</sup> لمدة ساعة واحدة ثم أعيد التعقيم في اليوم التالي تحت درجة الحرارة والضغط والوقت نفسه. وتركت لمدة 48 ساعة ثم لقت الدوارق كل على حده وذلك بوضع خمس أقراص من حافة المستعمرة الفطرية قطر 0.5 سم لكل دورق من المستعمرات النقية النامية على الوسط الأزرعي P.S.A. وبعمر 7 أيام للفطر الممرض *Alternaria alternata* وحضنت الدوارق في درجة حرارة 25±2 م لمدة 20 يوما مع مراعاة

2% ولمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لإزالة آثار المادة المعقمة ووضعت البذور على ورق ترشيح لإزالة الماء الحر منها ثم زرعت في الأطباق بمعدل 15 بذرة للطبق على حواف النمو للمستعمرات الفطرية وبشكل دائري ، أما معاملة السيطرة فقد زرعت البذور المعقمة في أطباق تحوي على P.D.A. فقط وبمعدل 15 بذرة للطبق أيضا ، حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±2 م° وبعد سبعة أيام تم حساب النسبة المئوية للبذور النابتة والبذور المتعفنة وحسب المعادلات التالية :

عدد البذور النابتة

$$\% \text{ للبذور السليمة} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{100x}$$

عدد البذور الكلي

عدد البذور المتعفنة

$$\% \text{ للبذور المتعفنة} = \frac{\text{عدد البذور المتعفنة}}{100x}$$

عدد البذور الكلي

عالق البكتريا إلى 200 مل من وسط المرق المغذي والمحضن عند درجة حرارة 35 ± 2 م° ، تم إذابة الوسط الزراعي N.A. وترك ليبرد قليلا ثم صببت في 24 طبق معقمة قطر 9 سم ولكل طبق 20 مل من الوسط N.A. وبعد أن تصلب الوسط لاحت بالفطر الممرض *Alternaria alternata* وحضنت الأطباق في درجة حرارة 25 ± 2 م° ، وبعد 24 ساعة عملت حفر بواسطة ثاقب فلين قطرة 0.5 سم وعلى بعد واحد سنتيمتر من حافة

8- اختبار القدرة الامراضية للفطر الممرض *Alternaria alternata* في الوسط الزراعي P.S.A. في درجة حرارة 25±2 م° .

تم تحضير 18 طبق قطر 9 سم يحوي كل منها على 20 مل من الوسط Potato Dextrose Agar ، أذ تم تلقيح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم من حافة مستعمرة الفطر الممرض *Alternaria alternata* والنامية على الوسط الغذائي P.D.A. ويعمر سبعة أيام ، كل على انفراد وبواقع ثلاث مكررات لكل عزله مع مراعاة تنفيذ معاملة سيطرة أيضا بثلاث مكررات من دون زراعة أي فطر ، وبعد 48 ساعة تم تعقيم بذور الحنطة سطحيا بهايوكلورات الصوديوم تركيز

9- كفاءة عاملي المقاومة الاحيائية *Azotobacter* و *Azospirillum brasilense* في تثبيط نمو الفطر *chroococcum* في الوسط الزراعي *Alternaria alternata* في درجة حرارة 25±2 م° .

نميت عزلتا البكتريا *Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum* في وسط المرق المغذي المحضر مسبقا في دوارق لمدة 48 ساعة وذلك من خلال إضافة واحد مل من

وأعيد حضن جميع الأطباق لمدة 48 ساعة و بدرجة الحرارة  $27 \pm 2$  م ° ثم قيست مسافة التنشيط من حافة الحفرة ومنطقة تنشيط الفطر الممرض واستخرجت النسبة المئوية للتنشيط حسب المعادلة الاتية .

الطبق وبشكل دائري حول المستعمرة ، ثم ملئت الحفر بالعالق البكتيري لكل من البكتريا *Azotobacter* و *Azospirillum brasilense* *chroococcum* بثلاثة مكررات كل على حده اما معاملة السيطرة فقد ملئت بالماء المقطر المعقم

معدل النمو الفطري في المقارنة - معدل النمو الفطري في المعاملة

$$\% \text{ للتنشيط} = \frac{\text{معدل النمو الفطري في المقارنة}}{100 \times \text{معدل النمو الفطري في المعاملة}}$$

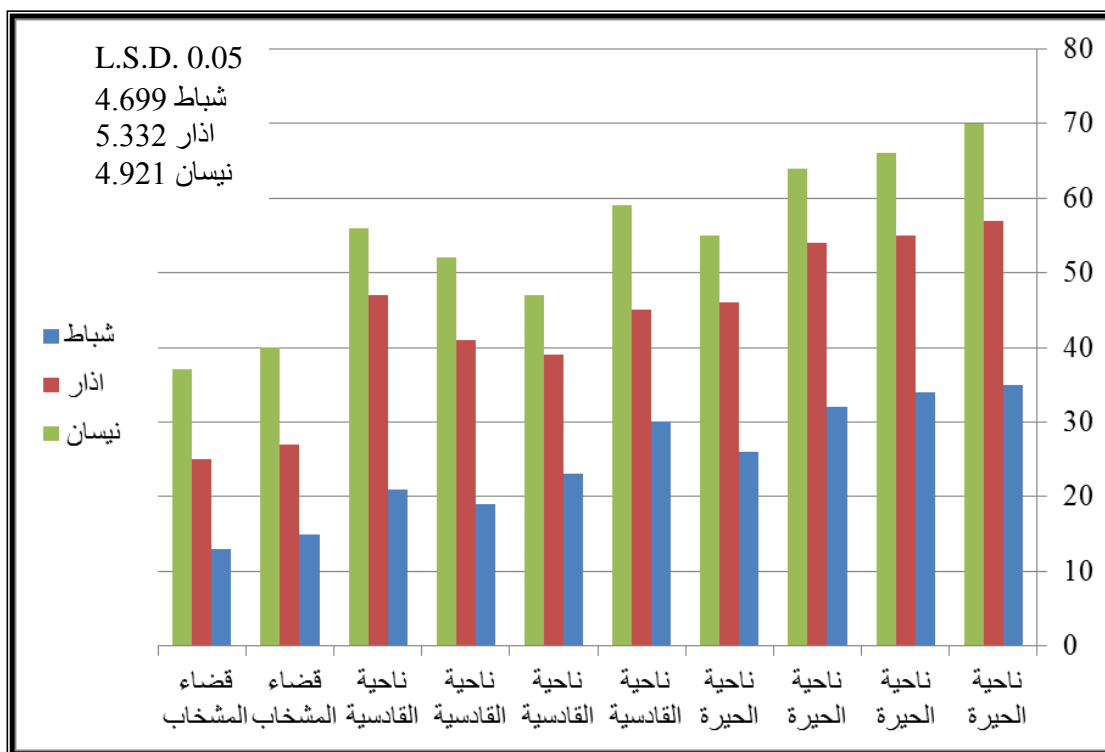
معدل النمو الفطري في المقارنة

الجنين وجزء قليل من السفا المتصل بغلاف الحبوب وعند تطور الإصابة يصيب الفطر حامل الحبوب على السنبل مما يؤدي الى اتلاف الجزء الموجود اعلى منطقة الإصابة ، اما بالنسبة للإصابة على الحبوب فيظهر تلون بلون الزيتوني الغامق على نهايات الحبوب في منطقة انبات الجنين وقد يمتد التلون على طول قناة الحبة فيسمى باللفحة الداكنة وكذلك يؤدي الى تجعد البذور المصابة ونهايات الحبوب ايضا ، إذ بلغت اعلى نسبة مئوية لظهور الفطر *A. alternata* في حقل ناحية المناذرة إذ بلغت 90.253 % ، أما اقل نسبة مئوية لظهور الفطر *A. alternata* كانت في حقل ناحية القادسية إذ بلغت 58.516 % يعود التذبذب في نسب الإصابة بالفطر إلى اختلاف الظروف البيئية من درجة حرارة ورطوبة ففي الحقول التي تسقي مرتين او ثلاث بالإضافة الى الامطار خلال مدة نمو المحصول تكثر فيها إصابة النباتات بالفطر *A. alternata* وهذا يتفق مع Fernandez وآخرون (6).

## النتائج والمناقشة

### 1- المسح الحقل

يشير الشكل (1) إلى النسبة المئوية لإصابة الحقول التي تمت فيها عملية المسح ، ان أعلى نسبة للإصابة في حقل ناحية الحيرة خلال شهر نيسان التي بلغت 70% ، أما اقل نسبة للإصابة فظهرت في حقل قضاء المشخاب خلال شهر شباط التي بلغت 13% على التوالي ، ويعود ذلك إلى ان الفطر *A. alternata* يكون جراثيم كونيدية تنتشر بكثرة وان الفطر يتحمل الاختلاف في الرطوبة ودرجة الحرارة اذ يمكنه العيش في مدى حراري من 10 الى 30 م ° كما ان الرطوبة العالية يكون احد الاسباب المهيأة لحدوث الإصابة وان نسبة الإصابة ترتبط ارتباط مباشر بالعوامل البيئية اثناء فترة نضوج الحبوب Fernandez وآخرون (6). 2- عزل وتشخيص الفطر *Alternaria alternata* بينت نتائج العزل من بذور نباتات الحنطة التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بالفطر الممرض *A. alternata* إذ تمثلت الإصابة بظهور تلون زيتوني على اغلفة الحبوب المصابة في منطقة



شكل (1) المسح الحقلّي لنسبة اصابة نباتات الحنطة بمرض الندبة السوداء المتسبب عن الفطر الممرض *Alternaria alternata* في محافظة النجف .

فقد بلغت (23% و37% و32% و29% و33% و36%) على التوالي ويعود السبب في ذلك الى ان السموم المفترزة من الفطر *A. alternata* داخل الحبوب المصابة تؤدي الى موت جنين الحبة اضافة الى ان الفطر *A. alternata* يستخدم الجنين والمادة النشوية داخل الحبوب كوسط ملائم لنمو وتكاثر الفطر مما يؤدي الى انخفاض نسبة اصابة الحبوب المصابة وردائه النوعية وانخفاض الوزن وقلة القيمة الغذائية والتسويقية مقارنة مع الحبوب السليمة وهذا يتفق مع Solanki وآخرون (14) و Fernandez وآخرون (6)

### 3- القدرة الامراضية للفطر *Alternaria*

*alternata* على اصابة بذور نبات الحنطة

في الأطباق بدرجة حرارة  $25 \pm 2$  م

يشير الجدول (2) إلى النسبة المئوية للإصابة والنسبة المئوية للبادرات المتعفنة وقد اذت معاملة البذور بالعزلات الفطرية قيد الدراسة الى خفض نسبة اصابة بذور نبات الحنطة إذ إن معاملة السيطرة تفوقت على جميع المعاملات إذ بلغت نسبة الاصابة والنسبة المئوية للبادرات المتعفنة (85% و0.0%) على التوالي مقارنة مع عزلات الفطر *A. alternata* التي بلغت نسبة الاصابة فيها (71% و66% و68% و69% و75% و77%) على التوالي ، اما النسبة المئوية للبادرات المتعفنة

جدول (1) النسبة المئوية لتواجد الفطر *Alternaria alternata* في حبوب نبات الحنطة على الوسط الزراعي P.S.A. في درجة حرارة 25±2 م .

ت	اسم الحقل	النسبة المئوية لوجود الفطر <i>A. alternata</i>
1	ناحية الحيرة	76.423
2	ناحية الحيرة	68.143
3	ناحية الحيرة	90.253
4	ناحية الحيرة	85.537
5	ناحية القادسية	87.540
6	ناحية القادسية	84.440
7	ناحية القادسية	58.516
8	ناحية القادسية	69.626
9	قضاء المشخاب	62.330
10	قضاء المشخاب	71.220
	L.S.D. 0.05	5.741

جدول (2) تأثير الفطر *Alternaria alternata* على إنبات البذور ونمو بادرات الحنطة في الأطباق بدرجة حرارة 25±2 م .

المعاملات	% للإنبات	% للبادرات المتعفنة
Control	85	0.0
عزلة 1	71	23
عزلة 2	66	37
عزلة 3	68	32
عزلة 4	69	29
عزلة 5	75	33
عزلة 6	77	36
L.S.D. 0.05	9.33	9.78



اقل نسبة تثبيط سجلت بعد مرور 72 ساعة من تلقح الأطباق كانت للعزلة Najaf مع البكتيريا *Azotobacter chroococcum* والتي بلغت 79.64 % ، ويعود السبب في هذا التفوق الواضح إلى عدة آليات يمكن أن يستخدمها بكتيريا المقاومة الاحيائية في المقاومة الممرضات كالمنافسة على الموقع والغذاء والتضاد الحياتي مع المسبب المرضي وإفراز الكثير من الأنزيمات المحللة لجدر خلايا العائل الممرض ، وتحفيز مقاومة العائل النباتي ضد المسبب وهذا يتفق مع Mali و Karthikeyan و Bodhankar (12) و Sakthivel (11) و Herter و اخرون (7).

4- كفاءة البكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* في تثبيط نمو الفطر *Alternaria alternata* مع في الاطباق بدرجة حرارة 25±2 م° يشير الجدول (3) إلى كفاءة البكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* في تثبيط نمو الفطر *Alternaria alternata* اذ سجلت اعلى نسبة تثبيط للعزلة 3AS-Kufa مع البكتيريا *Azospirillum brasilense* بعد مرور 72 ساعة من تلقح الأطباق حيث بلغ 80.58 % مقارنة مع

جدول (3) اختبار القدرة التضادية للفطر *Alternaria alternata* مع البكتيريا *Azotobacter*

*Azospirillum brasilense* و *chroococcum* في الاطباق بدرجة حرارة 25±2 م°

% للتثبيط للفطر <i>A. alternata</i>			المعاملات
العزلة 3AS-Kufa	العزلة ASAAQEE	العزلة Najaf	
80.35	80.56	79.64	<i>A. chroococcum</i>
80.58	80.00	80.70	<i>A. brasilense</i>
80.35	80.47	80.23	<i>A. + A. chroococcum</i> <i>brasilense</i>
3.584	3.199	3.627	L.S.D. 0.05

*alternata* ادت المعاملة ب (254 nm) UV-C الى خفض في معدل عدد الوحدات الحية في واحد مل للفطر *A. alternata* وكذلك خفض في اعداد الابواغ البكتيرية في العالق البوغي ولجميع المعاملات حيث بلغت 8.6 x 10<sup>6</sup> ، 8.5 x 10<sup>6</sup> ، 8.3 x 10<sup>6</sup> ، 315 ، 10<sup>6</sup> x 487 ، 10<sup>6</sup> x 752 و 10<sup>6</sup> على التوالي مقارنة مع عدم

5- تأثير ( 254 nm ) UV-C على نمو البكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* و الفطر *Alternaria alternata*

يوضح الجدول (4) تأثير الاشعة فوق البنفسجية UV-C على نمو البكتيريا *A. chroococcum* و *A. brasilense* و للفطر *A.*

المعاملة ب UV-C (254 nm) ولنفس المعاملات  
اذ بلغت  $10^6 \times 9.4$  ،  $10^6 \times 9.8$  ،  $10^6 \times 9.1$   
 $10^6 \times 464$  ،  $10^6 \times 624$  ،  $10^6 \times 953$   
 $10^6$  على التوالي وهذه النتائج تتفق مع دراسة  
اجريت لتقويم فاعلية UV-C (254 nm) في تثبيط  
وقتل الفطريات المرافقة لحبوب الحنطة المحلية  
والرز صنف ياسمين في صوامع الحبوب في  
محافظة بابل والنجف بينت نتائج الدراسة إن

المعاملة ب UV-C (254 nm) ولنفس المعاملات  
اذ بلغت  $10^6 \times 9.4$  ،  $10^6 \times 9.8$  ،  $10^6 \times 9.1$   
 $10^6 \times 464$  ،  $10^6 \times 624$  ،  $10^6 \times 953$   
 $10^6$  على التوالي وهذه النتائج تتفق مع دراسة  
اجريت لتقويم فاعلية UV-C (254 nm) في تثبيط  
وقتل الفطريات المرافقة لحبوب الحنطة المحلية  
والرز صنف ياسمين في صوامع الحبوب في  
محافظة بابل والنجف بينت نتائج الدراسة إن

جدول (4) تأثير UV-C (254 nm) على نمو البكتيريا *Azotobacter chroococcum* و

*Azospirillum brasilense* و الفطر *Alternaria alternata* ( $10^6 \times$ )

المعاملات	مع UV-C $10^6 \times$	بدون UV-C $10^6 \times$
<i>A. alternata</i> (3AS-Kufa)	8.6	9.4
<i>A. alternata</i> (Najaf)	8.5	9.8
<i>A. alternata</i> (ASAAQEE)	8.3	9.1
<i>A. chroococcum</i>	315	464
<i>A. brasilense</i>	311	424
<i>A. brasilense</i> + <i>A. chroococcum</i>	652	768
L.S.D. 0.05	7.502	9.48

الدراسة حيث حققت معاملة السيطرة للعزلة  
( Najaf ) اعلى معدل في الوزن الطري والجاف  
اذ بلغت 7.52 و 0.603غم على التوالي فيما  
حققت معاملة UV-C (254 nm) للعزلة  
اقل معدل في الوزن الطري  
والجاف حيث بلغت 5.16 و 0.39غم على التوالي  
في حين لم ينمو الفطر عند استخدام البكتيريا  
*Azotobacter chroococcum* و  
*Azospirillum brasilense* ويعود السبب في

تأثير كل من البكتيريا *Azotobacter*  
*chroococcum* و *Azospirillum brasilense*  
على وزن الكتلة الاحيائية  
Biomass الرطب والجاف للفطر *Alternaria*  
*alternata* بعد 21 يوما من التلقيح في وسط  
P.S.B. في درجة حرارة  $25 \pm 2$  م

يوضح الجدول (5) إلى معدل أوزان الكتلة  
الاحيائية Biomass الرطب والجاف للفطر قيد

صنف ياسمين في صوامع الحبوب في محافظتي بابل والنجف بينت نتائج الدراسة إن UV-C (254 nm) لها تأثيرات في تثبيط و قتل الفطريات المرافقة لحبوب الحنطة اذ بلغت النسبة المئوية للظهور 33.40 و 20.00 و 13.40 % عند تعريضها لمدة 2 و 4 و 6 دقيقة على التوالي و 26.60 و 16.66 و 13.40 % بالنسبة للفطريات المرافقة للرز صنف ياسمين قياسا بمعاملة السيطرة التي بلغت فيها نسبة الظهور للفطريات 100% لكلا النوعين من الحبوب البكري ( 1 ) .

ذلك الى ان بكتيريا المقاومة الاحيائية *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* قادرة على انتاج الانزيمات والمضادات الحياتية التي تمنع نمو المسببات المرضية وهذا يتفق مع Agrawal و Singh (5)، Hillel (8) و Hofte و Bakker (9). اما UV-C (254 nm) فلها تأثير على الفطريات حيث تقلل من نمو الفطريات و انتاج الابواغ الفطرية و هذا يتفق مع دراسة اجريت لتقويم فاعلية UV-C (254 nm) في تثبيط و قتل الفطريات المرافقة لحبوب الحنطة المحلية والرز

جدول (5) اختبار تأثير البكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* و UV-C (254 nm) على وزن الكتلة الاحيائية Biomass الرطب والجاف للفطر *Alternaria alternata* بعد 21 يوم من التلقيح في وسط P.S.B. في درجة حرارة 25±2 م

معدل وزن الكتلة الاحيائية (غم) للفطر <i>Alternaria alternata</i>						المعاملات
العزلة 3AS-Kufa		العزلة ASAAQEE		العزلة Najaf		
جاف	طري	جاف	طري	جاف	طري	
0.578	7.32	0.593	7.22	0.603	7.52	Control
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<i>A. chroococcum</i>
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<i>A. brasilense</i>
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<i>A. + A. chroococcum brasilense</i>
0.40	5.23	0.39	5.16	0.42	5.86	UV
0.837	0.186	0.183	1.961	0.159	1.352	L.S.D. 0.05

جدول (6) تأثير معاملة البذور بالبكتيريا *Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum* و الفطر *Alternaria alternata* و UV-C (254 nm) في اطوال واعداد السنابل في المتر المربع.

معدل اعداد السنابل	معدل اطوال السنابل (سم)	المعاملات
58.67	8.30	Control
48.67	6.20	<i>A. alternata</i>
62.33	10.40	<i>A. chroococcum</i>
82.67	10.83	<i>A. brasilense</i>
76.67	9.07	UV
86.00	8.60	UV+ <i>A. alternata</i>
90.00	9.10	UV+ <i>A. chroococcum</i>
91.00	9.40	UV+ <i>A. brasilense</i>
87.67	9.43	<i>A. chroococcum</i> + <i>A. alternata</i>
92.33	9.97	<i>A. brasilense</i> + <i>A. alternata</i>
100.67	11.83	<i>A. brasilense</i> + <i>A. chroococcum</i>
84.67	10.30	<i>A. brasilense</i> + <i>A. chroococcum</i> + <i>A. alternata</i>
5.8309	1.251	L.S.D. 0.05

بلغت 11.83 سم و 100.67 سنبله م<sup>2</sup> على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغ معدل اطوال السنابل واعدادها فيها 8.30 سم و 58.67 على التوالي ، في حين سجل اقل معدل اطوال السنابل واعدادها في المعاملة *Alternaria* إذ بلغ 6.20 سم و 48.67 سنبله م<sup>2</sup> على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغ معدل اطوال السنابل واعدادها فيها 8.30 سم و 58.67 سنبله م<sup>2</sup> على التوالي ، ويعود ذلك الى ان البكتيريا المستعملة قيد الدراسة لها القدرة على إنتاج العديد من منظمات النمو مثل الجبرلين ( Gibberellin ) و السايونوكانين ( Cytokinin ) و الاوكسينات مثل

7- تأثير معاملة البذور بالبكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* و الفطر *Alternaria alternata* و UV-C (254 nm) في اطوال واعداد السنابل في المتر المربع.

الجدول (6) يبين تفوق جميع المعاملات في معدل اطوال السنابل و اعدادها على كل من معاملة السيطرة و معاملة الفطر الممرض *Alternaria alternata* و بفروقات معنوية إلى معدل اطوال السنابل و اعدادها في المتر المربع الواحد حيث سجل اعلى معدل لا طوال السنابل و اعدادها في المعاملة *Azospirillum + Azotobacter* إذ

8- تأثير معالجة البذور بالبكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* و الفطر *Alternaria alternata* و UV-C (254 nm) والتداخل فيما بينهم في مؤشرات الانتاج ( وزن الف حبة والحاصل البيولوجي و وزن الحاصل ) .

حامض الخليك ( IAA ) كذلك لها القدرة على تعديل مستوى الاثيلين في النبات وإنتاج كميات منخفضة من الاثيلين يمكن أن تكون مفيدة للنبات وينعكس دور منظمات النمو النباتية في تكوين سنابل اكثر واطول (11 و 12).

جدول (7) تأثير معالجة البذور بالبكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* و الفطر *Alternaria alternata* و UV-C (254 nm) في مؤشرات الانتاج ( وزن الف حبة والحاصل البيولوجي و وزن الحاصل ) .

الانتاجية طن.هـ <sup>-1</sup>	الحاصل البيولوجي (غم)	وزن الف حبة (غم)	المعاملات
2.16	108.33	28.80	Control
1.95	97.66	22.40	<i>A. alternate</i>
3.36	168.33	36.53	<i>A. chroococcum</i>
3.60	180.00	38.53	<i>A. brasilense</i>
3.22	161.00	39.47	UV
3.00	150.00	33.60	UV+ <i>A. alternate</i>
3.40	170.00	34.00	UV+ <i>A. chroococcum</i>
3.22	161.33	36.93	UV+ <i>A. brasilense</i>
3.58	179.33	36.13	<i>A. chroococcum</i> + <i>A. alternate</i>
3.52	176.00	37.60	<i>A. brasilense</i> + <i>A. alternate</i>
3.90	195.00	40.27	<i>A. brasilense</i> + <i>A. chroococcum</i>
3.24	162.33	38.10	<i>A. brasilense</i> + <i>A. chroococcum</i> + <i>A. alternate</i>
10.459	7.913	4.337	L.S.D. 0.05

UV-C (254 nm) إذ تفوقت جميع المعاملات معنويا على معاملة السيطرة ومعاملة الفطر الممرض *Alternaria alternata* إذ بلغ اعلى معدل وزن الف حبة والحاصل البيولوجي والانتاجية

يوضح الجدول (7) تأثير المعاملات المختلفة للبكتيريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilense* و الفطر الممرض *Alternaria alternata* و

- طن.هـ-1 لنبات الحنطة في المعاملة  
 Azospirillum + Azotobacter إذ بلغت  
 40.27 غم و 195 غم و 3.90 طن.هـ-1 على  
 التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغ معدل  
 جميع المؤشرات فيها 28.80 غم و 108.33 غم و  
 2.16 طن.هـ-1 على التوالي ، في حين سجل اقل  
 معدل وزن الف حبة والحاصل البايولوجي والانتاجية  
 في معاملة الفطر الممرض *A. alternata* إذ بلغ  
 22.40 غم و 97.66 غم و 1.95 طن.هـ-1 على ،  
 ويعود ذلك الى ان البكتيريا المستعملة قيد الدراسة  
 لها القدرة على إنتاج العديد من منظمات النمو مثل  
 الجبرلين ( Gibberellin ) والسايبتوكانين  
 ( Cytokinin ) والاوكسينات مثل حامض الخليك ( IAA )  
 كذلك لها القدرة على تعديل مستوى الاثيلين  
 في النبات وإنتاج كميات منخفضة من الاثيلين يمكن  
 أن تكون مفيدة للنبات والتي تؤثر على تكوين  
 السنابل وعددها وعدد الاشطاء في النبات الواحد ( 11 و 12 و 13 )  
 ، اضافة الى ان البكتيريا المستعملة  
 لها القدرة على انتاج عدداً من الانزيمات التي لها  
 اثر كبير في تحليل المخلفات العضوية واعادة  
 تدوير عناصرها وجاهزيتها للنبات من أهمها  
 Amylase ، Phosphatase ، Nitrogenase ،  
 Esterase ، Cellulase ، Catelase ، Phenol oxidase ، Peroxidase  
 و ان البكتيريا المستعملة لها القدرة على تثبيت النتروجين الجوي  
 مما يؤثر ايجابا في مؤشرات نمو النبات وانعكاسها  
 على مؤشرات الحاصل وبذلك يتجه المحصول في  
 إعطاء أفضل النتائج في زيادة حاصل الحبوب  
 Herter واخرون (7).
- 1- البكري ، علي حسن . 2016. مقاومة  
 الفطريات المرافقة لحبوب الحنطة والرز في  
 المخازن باستخدام الاشعة فوق البنفسجية  
 (UV-C) والمجال المغناطيسي . رسالة  
 ماجستير . كلية الزراعة - جامعة الكوفة .  
 جمهورية العراق .
- 2- الجهاز المركزي للإحصاء . 2011. تقرير  
 الثاني. وزارة التخطيط والتعاون الانمائي .  
 جمهورية العراق .
- 3- المليجي ، محمد عبدالستار وزكية محمود  
 حسن . 1992. امراض القمح ، مطابع  
 الحميض. المملكة العربية السعودية . 215  
 صفحة.
- 4- ديوان ، مجيد متعب ومحمد حمزة عباس.  
 2001. مقاومة مرض تعفن بذور وموت  
 بادرات الحنطة المتسبب عن الفطر  
*Rhizoctonia solani* باستخدام الفطر  
*Trichoderma harzianum* والمبيد  
 Benlate حقلياً. المؤتمر العلمي القطري الاول  
 لوقاية المزروعات 10-11 نيسان.
- 5- Agrawal , N. and H.P. Singh.  
 2002. Antibiotic resistance and  
 inhibitory effect of *Azotobacter*  
 on soil borne plant pathogens.  
 Indian Journal of Microbiology,  
 42: 245-246.
- 6- Fernandez, M.R. and R.L.  
 Conner. 2011 . Black point and

المصادر

- Azotobacter chroococcum* in rooting and growth of *Eucalyptus camaldulensis* stem cuttings. Res. Journal of Microbiology, vol 3, 1-7.
- 12- Mali, G. V. and M. G. Bodhankar. 2009. Anti fungal and Phyto hormone production potential of *Azotobacter chroococcum* isolates from groundnut(*Arachis hypogea*) Rhizosphere. Asian J.Exp.Science,23(1):293-297.
- 13- Mussavi,S.H;K. Alamisaeid; G. Fathi; M.H. Gharineh; M.R. Moradi-telavat and.siahpoosh. A 2009. Optimum rice density and herbicide application in direct seeding in ahwas region. Asian Journal.1(1):58-62.
- 14- Solanki .V.A, N. Augustine and Patel .A.A. 2006. Impact of black point on wheat trade and its management. Wheat Research Station, S.D. Agricultural University, Vijapur Pp:382, 870.
- smudge in Wheat. Prairie Soils and Crops Journal , Insects and Diseases , Volume 4.pages 158-164 .
- 7- Herter, S. , M. Schmidt , M. L. Thompson , A. Mikolasch and Schauer F., 2011. Study of enzymatic properties of phenol oxidase from nitrogen- fixing *Azotobacter chroococcum*. ABM Express2,1-14.
- 8- Hillel , D. , 2005. Plant Growth Promoting Bacteria. Elsevier, Oxford , U.K.,103-115.
- 9- Hofte, M. and P. A. H. M. Bakker. 2007. Competiton for Iron and Induced Systemic Resistance by Siderophores of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Soil Biological 12:121-133.
- 10- John, I. Pitt and Ailsa D. Hocking. 2009. Fungi and food spoilage. Pages 60-63 Primary Keys and Miscellaneous Fungi , *Alternaria alternate*. Australia , Library of Congress Control Number: 2009920217.
- 11- Karthikeyan, A. and K. M. Sakthivel. 2011. Efficacy of

**Effect of wheat seed treatment with *Azotobacter chroococcum*,  
*Azospirillum brasilense*, and ultraviolet ray in the protection of wheat  
plant from the disease of black point**

Ahmed Noori Hameed	Sabah Lateef Alwan	Alaa Eadan Hasan
Department of Plant Protection	Department of Plant Protection	Department of Soil and Water Resources
Faculty of Agriculture University of Kufa	Faculty of Agriculture University of Kufa	Faculty of Agriculture University of Kufa

Republic of Iraq

**Abstract**

This study was conducted in one of the wheat fields in Al-Hira / Najaf governorate with the aim of using environment-friendly technology using UV-C with short wavelength 253nm in seed sterilization, as well as *Azospirillum brasilense* and *Azotobacter chroococcum* bacteria to protect wheat plant from incidence of black scar. The results of field survey in the some fields of Najaf province showed that the rate of infection with a black scar on wheat caused by fungus *Alternaria alternata* ranged between 13-70% , The results of the test of the effect of isolates of the fungus *Alternaria alternata* on the proportion of germination of wheat seeds that the isolation of the fungus negatively affected the seed germination where the proportion of germination in seeds isolated treatment 3AS-Kufa was decreased to 71% and Al-Najaf isolate to 66% and ASAAQEE isolate to 76% compared to control treatment which the percentage of germination was 80%. The results of the study showed that UV radiation has an inhibitory effect on the number of live units in one ml of *Alternaria alternaria* and *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* where it reached  $8.6 \times 10^6$ ,  $8.5 \times 10^6$ ,  $8.3 \times 10^6$ ,  $315 \times 10^6$ ,  $487 \times 10^6$  and  $752 \times 10^6$  respectively. Compared with control treatment where it reached  $9.4 \times 10^6$ ,  $9.8 \times 10^6$ ,  $9.1 \times 10^6$ ,  $464 \times 10^6$ ,  $424 \times 10^6$  and  $768 \times 10^6$  respectively. Laboratory conditions, this study demonstrated the ability of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* to inhibit the growth of *Alternaria alternata* where the percentage of



inhibition for the isolate 3AS-Kufa was 80.35%, 80.58%, 80.35%, respectively, and Al-Najaf isolate 79.64%, 80.70%, 80.23% respectively, and for the ASAAQEE isolate was 80.56%,% 80.00 and 80.47% respectively .

Keywords : Black point – Ultraviolet - Wheat plant

Receiving date:29/5/2017

Acceptance date: 14/6/2017

---

\*Part of Ph.D dissertation of the first author