

استخدام بكتريا *Bacillus subtilis* في حماية حبوب ونباتات الحنطة من الإصابة بفطري *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* حقليا

زهراء كاظم الموسوي

جامعة بابل

بشير عبد الحمزة العلواني

جامعة بابل -كلية العلوم -قسم علوم الحياة

ابتهال معز الحسيني

الخلاصة

أجريت عدد من التجارب الحقلية لتقييم كفاءة بكتريا *Bacillus subtilis* في حماية نبات الحنطة من الإصابة بالفطرين *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus*. وشمل البحث دراسة تأثير بكتريا *B. subtilis* وبتراكيز مختلفة في حماية حبوب ونباتات الحنطة من الإصابة بالفطرين الممرضين قيد الدراسة في الأصص، وذلك من خلال حساب تأثيراتها في نسب الانبات وموت البادرات وحساب عدد من مؤشرات النمو لنبات الحنطة صنف مكسباك وعلى إعداد البكتريا في المنطقة الجذرية لنبات الحنطة. برهنت نتائج التجربة الحقلية قدرة بكتريا *B. subtilis* العالية على حماية النباتات بتقليل نسبة موت البادرات بوجود الفطر *A. niger* ٩.٥٢ % وعند معاملة الحبوب بلقاح البكتريا بتركيز ٥٠ مل/لتر. كذلك سبب الفطر *A. flavus* موت البادرات بنسبة ٤٨.٣٣ % وعند معاملة الحبوب بلقاح البكتريا بتركيز ٢٠ مل/لتر انخفضت نسبة موت البادرات إلى ٩.٥٢ %، ولوحظ زيادة أعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري المعاملة بلقاح البكتريا الغير مخفف وبوجود الفطرين الممرضين *A. niger* و *A. flavus* إذ بلغت (٣.٥١ × ١٠^٨ ، ٣.١٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرة /غم) على التوالي في حين انخفضت إلى (٢.٩٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرة /غم) ولكلا المعاملتين في التربة الخالية من الفطرين الممرضين.

كذلك أثبتت الدراسة الحالية أن إعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري Rhizosphere لنبات الحنطة وبعمر ٣٠ يوماً كان أكثر من إعداد البكتريا للنباتات بعمر ٧٠ يوم. إما بالنسبة إلى مؤشرات النمو فقد كان لمعاملات البكتريا الأثر الإيجابي في معظمها إذ بلغ طول النبات في معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف وفي التربة غير الملوثة بالفطرين الممرضين ب ٤٨.٩ سم والذي تفوق على معاملة السيطرة إذ بلغ طول النبات ٣١.٣٦ سم كذلك بلغ الوزن الجاف للمجموع الخضري بوجود لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/لتر مع الفطر *A. niger* ب ٠.٧٢ غم/نبات. أما عدد الاشطاء فقد أعطت معاملة لقاح البكتريا تركيز ٢٠ مل/لتر مع الفطر *A. flavus* عدد اشطاء قدره ٣.٦٦ /نبات في حين كان عدد الاشطاء لمعاملة الفطر *A. flavus* لوحده ١.٦٦ /نبات. وكان هناك تفوق واضح لكمية الكلوروفيل المقاسة للنباتات المعاملة بلقاح البكتريا وبتراكيز المستخدمة عن معاملات الفطر لوحده.

المقدمة

تعد الحنطة *Triticum aestivum* L. المحصول الاقتصادي الأول بين محاصيل الحبوب في العالم من حيث الطلب والمساحة المزروعة والإنتاج والذي يبلغ حوالي (٦١٦.٨) مليون طن حسب إحصائية منظمة الزراعة والأغذية العالمية (FAO , 2006) .يصنع الخبز بأنواعه من طحين الأصناف الناعمة (المجموعة الصلبة) الخبز بأنواعه والذي يمثل جزءاً رئيساً من غذاء الإنسان. أما أصنافه الخشنة فيصنع منها المعكرونة والبرغل وغيرها (FAO , 2002).

هنالك العديد من المسببات المرضية مثل البكتريا والفطريات والفيروسات والحشرات التي تصيب محصول الحنطة مسببة تدهور المحصول خصوصاً عند زراعته بشكل متكرر في التربة نفسها (Agrios , 2005)، وتعد الفطريات المسببات المرضية الرئيسية لما تملكه من ميزات ساعدتها على البقاء والمنافسة فمعظم أفرادها ذات قدرة تنافسية عالية بسبب عدم حاجتها لمتطلبات غذائية خاصة بها وقدرتها على إنتاج انزيمات محللة (Koch , 1999 ; حسن , 1982). ومن أهم المسببات المرضية التي تصيب محصول الحنطة هي فطريات التعفن الجذرية (Prescott et al., 2007). ومنها فطر *Gaeumannomyces gramini* المسبب لمرض الفناء Take-all (Liu et al., 2009) وفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض تعفن الجذور الرايزوكتوني (Paulitz , 2004 ; Smiley & Suddin , 1993) والعديد من الأنواع

التابعة لجنس *Pythium* المسبب لمرض تعفن الجذور البثيومي (Ingram & Cook, 1987). وتعد أنواع الجنس *Aspergillus* مسبباً ثانوياً لإمراض تعفن بذور وجذور النباتات وموت البادرات وكذلك تنتشر بشكل كبير في أغلب ترب الأراضي الزراعية ولها القابلية على تحمل الظروف المتطرفة من حرارة ورطوبة وإنتاجها لإعداد كبيرة من الكونيدات كل ذلك جعلها من الممرضات المهمة للنبات (Bburrows *et al.*, 2010 ; Bhat & Fazal , 2011). كما أشار الورشان وآخرون (٢٠٠٢) إلى أن أكثر الفطريات الملوثة للفواكه المجففة كالعنب والمشمش والتين والخوخ هي أنواع الجنس *Aspergillus* تليها أنواع جنس *Penicillium* ثم *Rhizopus*.

ويعد فطر *A.niger* من أكثر الأنواع شيوعاً لجنس *Aspergillus* الذي يسبب مرض العفن الأسود لبعض المحاصيل الحقلية والفواكه والخضراوات مثل العنب والبصل والفاصوليا السوداني (Samson *et al.*, 2001). كما تكون بعض أنواع الفطر *Aspergillus* فطريات انتهازية مثل *A.flavus* و *A.fumigatus* و *A.niger* إذ تسبب أمراضاً للأشخاص ضعيفي المناعة تدعى داء الرشاشيات (Aspergillosis). تضمنت الدراسة الحالية تقويم كفاءة عدد من برامج السيطرة الإحيائية المتمثلة باستخدام بكتريا *B.subtilis* للسيطرة على الفطرين *A.flavus* و *A.niger* المسببة لمرض تعفن الجذور وموت بادرات الحنطة تحت ظروف الحقل وقد تم إجراء الدراسة وفقاً للمحاور الآتية :-

- ١- تقييم الكفاءة التضادية لبكتريا *B.subtilis* ضد الفطرين *A.flavus* و *A.niger* مختبرياً.
- ٢- تقويم كفاءة عدد من برامج السيطرة الحيوية للحد من إضرار الفطرين الممرضين *A.niger* و *A.flavus* وتشجيع زيادة النمو لنبات الحنطة في الأصص تحت ظروف الحقل.

المواد وطرائق العمل

الأحياء المجهرية المستخدمة في التجربة:

استخدمت بكتريا *Bacillus subtilis* والتي تم الحصول عليها من مختبر الأحياء المجهرية لقسم علوم الحياة / جامعة الكوفة كما استخدم عزلتي الفطرين *A. niger* و *A. flavus* المعزولة من التربة.

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

استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliceum* لتحضير لقاح الفطرين الممرضين *A. flavus* , *A. niger*. إذ غسلت البذور جيداً بالماء لإزالة الأتربة والشوائب منها ثم نقعت لمدة ٦ ساعات بالماء وحضرت مجموعة من الدوارق بحجم ١٠٠ مل ووضع ٥٠ غم من بذور الدخن في كل دورق وسدت فوهتها بإحكام ومن ثم عقت بجهاز الموصدة لمدة ٣٠ 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 الدوارق بدرجة حرارة 28 ± 2 م لمدة ١٥ يوم وعرضت للرج والتحرك كل (٢-٣) أيام وذلك لتوزيع اللقاح الفطري على جميع البذور بشكل متجانس (Dewan , ١٩٨٨) ثم حفظت الدوارق في الثلاجة لحين الاستعمال.

تجارب مكافحة الحيوية في الأصص تحت ظروف الحقل

- إعداد الأصص والتهيئة للزراعة

نفذت هذه التجربة في حقل قرب البيت الزجاجي التابع لكلية العلوم جامعة بابل حيث تم تهيئة ٤٠ أصيصاً ذات قطر ١٥ سم وملئ كل أصيص بـ ١ كغم تربة مزيجية وبكميات متساوية وتم توزيعها إلى عشر

معاملات كل منها تحتوي على أربع أصص (مكررات) وتم تلوين مكررات المعاملات بلقاح الفطر الممرض النمى على بذور الدخن بواقع ٥ غم دخن / ١ كغم تربة وذلك بوضع التربة واللقاح في كيس نايلون ورجت جيدا لتجانس اللقاح مع التربة وتركت بعض الأصص بدون تلوين بلقاح الفطر بوصفها معاملات مقارنة. سقيت الأصص بالماء وبقيت التربة رطبة مدة ٤٨ ساعة.

نعتت حبوب الحنطة في N.broth المعقم المحضر من تنمية ٥ مستعمرات بكتيرية من *B.subtilis* في N.broth مدة ٤٨ ساعة في الحاضنة على درجة حرارة ٣٥° تم تنقيع قسم من حبوب الحنطة في N.broth الأصلي (غير المخفف) مدة ١٠ دقائق والقسم الآخر من الحبوب تم تنقيعه في N.broth ذات بكتريا مخففة بإضافة Normal Saline إذ إن للفطر *A.flavus* استخدمت بكتريا ذات تركيز ٢٠ مل/لتر في حين استخدمت للفطر *A.niger* بكتريا ذات تركيز ٥٠ مل/لتر حسب اختبار الكفاءة التضادية لبكتريا *B.subtilis* ضد الفطرين الممرضين *A.flavus* و *A.niger* وبقيت بعض حبوب الحنطة غير المعاملة بالبكتريا لغرض معاملات السيطرة وغيرها من المعاملات. تم زراعة حبوب الحنطة بمعدل ١٠ حبة لكل أصيص. والمعاملات التي جرى تنفيذها هي:-

- ١- معاملة سيطرة . ٢- حنطة + بكتريا *B.subtilis* (غير المخففة) . ٣- حنطة + بكتريا *B.subtilis* :
- ٤- حنطة + بكتريا *B.subtilis* . ٥- حنطة + *A.niger* . ٦- حنطة + بكتريا *A.niger + B.subtilis* .
- ٧- حنطة + بكتريا *A.niger + B.subtilis* . ٨- حنطة + *A.flavus* . ٩- حنطة + بكتريا *A.flavus + B.subtilis* .
- ١٠- حنطة + بكتريا *A.flavus + B.subtilis* .

استعملت المعايير الآتية لتقويم نتائج التجربة

١- النسبة المئوية للإنبات

تم حساب النسبة المئوية للإنبات بعد خمسة عشرة يوما من البذار وذلك بحساب عدد الحبوب النابتة وفقاً للمعادلة الآتية :-

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

٢- النسبة المئوية لموت البادرات

حسبت هذه النسبة بعد مرور شهر واحد على البذار وذلك بحساب عدد البادرات الميتة ومن ثم حساب النسبة المئوية لموت البادرات وفقاً للمعادلة الآتية :-

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

٣- تقدير أعداد البكتريا *B.subtilis* في منطقة المحيط الجذري Rhizosphere خلال مراحل نمو النبات المختلفة

تم اخذ كمية من التربة العالقة بالجذر لثلاث نباتات من كل مكرر ولجميع المعاملات وبعد ذلك وزن ١ غم من التربة العالقة بجذر كل نبات وأضيف إلى أنبوية اختبار حاوية ٩ مل من الماء المقطر المعقم للحصول على تخفيف 10^{-1} وتم عمل تخفيفات لغاية 10^{-8} ، بعدها نقل (١ مل /طبق) من التخفيف الأخير وكذلك من التخفيف 10^{-6} من العالق البكتيري إلى إطباق بتري معقمة حاوية على وسط P.D.A. وبثلاث مكررات

حضنت الإطباق بدرجة حرارة ٣٥ م مدة ٤٨ ساعة (Raaijmakers , 1994) اختبرت الإطباق المحتوية على عدد مستعمرات من ٣٠ إلى ٣٠٠ مستعمرة بكتيرية وحسبت أعداد البكتيريا في اغم تربة (Rhizosphere) على وفق معادلة (1965) Clark الآتية :-
عدد البكتيريا/غم = عدد المستعمرات في كل طبق × مقلوب التخفيف
كررت التجربة على مراحل عمرية مختلفة بعمر ٣٠ يوماً وعمر ٧٠ يوماً
٤- مؤشرات النمو

حسبت مؤشرات النمو في جميع المعاملات المدروسة لثلاث نباتات من كل مكرر بعد مرور ٦٠ يوماً من عمر النبات وشملت المعايير ارتفاع النبات واوزان المجموع الخضري واوزان المجموع الجذري وقياس كمية الكلوروفيل وعدد الاشطاء والمساحة الورقية وشملت المعايير الآتية :
أ- ارتفاع النبات : تم قياس اطوال المجموع الخضري لثلاث نباتات من كل مكرر ولكل معاملة عشوائياً، وقياس طول المجموع الخضري من منطقة اتصال الساق بالجذر إلى قمة النبات بوحدة السنتمتر ثم استخراج معدل طول النبات في المكررات الثلاثة لكل معاملة.
ب- أوزان المجموع الخضري: قيس الوزن الطري للمجموع الخضري (الساق والأوراق) باستخدام ميزان كهربائي حساس ثم قيس الوزن الجاف بعد تجفيف النباتات في فرن كهربائي في درجة حرارة ٧٠ م مدة يومين وحسب معدل أوزان ثلاث نباتات لكل مكرر في المعاملة الواحدة.
ج - أوزان المجموع الجذري: تم حساب الوزن الطري للمجموع الجذري باستخدام ميزان كهربائي و تم قياس الوزن الجاف للمجموع الجذري باستخدام ميزان كهربائي بعد تجفيف النباتات في فرن كهربائي في درجة حرارة ٧٠ م مدة يومين ثم حسب معدل أوزان ثلاث نباتات لكل مكرر في المعاملة الواحدة.
د- قياس كمية الكلوروفيل : تم قياس كمية الكلوروفيل بأخذ ورقة نباتية طازجة لثلاث نباتات لكل مكرر وقياس مستوى الكلوروفيل لها بواسطة جهاز (Chlorophyll meter) ثم استخراج معدل الكلوروفيل لكل معاملة.
هـ- عدد الاشطاء : تم قياس عدد الاشطاء لثلاث نباتات من كل مكرر ثم استخراج المعدل لكل معاملة.
و- المساحة الورقية: اعتمدت الورقة الثالثة حسب الظهور في النبات لثلاث نباتات من كل مكرر حيث تم قياس المساحة الورقية بقياس أولاً طول وعرض الورقة النباتية بوحدة السنتمتر (Khalafallah & Sallam,) (2009).

المساحة الورقية = الطول × العرض × ٠.٧٨٥ .

النتائج

تجارب المكافحة الحيوية في الأصص تحت ظروف الحقل

تم اختبار كفاءة عدد من برامج المكافحة الحيوية في حماية محصول الحنطة من الإصابة بنوعي الفطر *Aspergillus* ودورها في تحفيز نمو النبات وشملت الدراسة حساب عدد من المعايير وهي كالآتي :-
١- نسبة الإنبات

أوضحت نتائج التجربة وجود تأثير معنوي في معاملات بكتريا *B.subtilis* وحدها من دون الفطريات الممرضة إذ أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير المخفف نسبة إنبات عالية لحبوب الحنطة تمثلت ب ٩٣.٣٣ % تلتها معاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر ٨٦.٦٦ % مقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغت ٧٦.٧ % في حين أن معاملة لقاح بكتريا تركيز ٢٠ / لتر لم تؤثر معنويًا (جدول ١) ، وأن معاملات بكتريا *B.subtilis*

أظهرت تأثير معنوي عند استخدامها بالتربة الملوثة بالفطر *A.niger* حيث بلغت نسبة إنبات حبوب الحنطة في معاملة لقاح البكتريا الغير المخفف مع الفطر *A.niger* ٨٠ % مقارنة مع معاملة *A.niger* وحده والتي أعطت نسبة إنبات مقدارها ٤٠ %، كما أن استخدام بكتريا *B.subtilis* سواء كانت لقاح بكتريا غير المخفف أو لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر مع الفطر *A.flavus* ذات تأثير معنوي في رفع نسبة الإنبات إلى ٨٣.٣٣% و ٧٦.٦٦% مقارنة مع معاملة الفطر *A.flavus* حيث بلغت ٤٦.٦٦ %.

جدول (١) تأثير مستويات مختلفة من لقاح بكتريا *B.subtilis* و تداخلها مع الفطرين *A.niger* و *A.flavus* في معدلات نسب إنبات الحنطة حقلياً.

المعاملات	نسبة الإنبات %
السيطرة	76.7
لقاح البكتريا الغير مخفف	93.33
لقاح بكتريا تركيز 50 مل/ لتر	86.66
لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر	83.33
الفطر <i>A.niger</i>	40.00
لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A.niger</i>	80.00
لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر + <i>A.niger</i>	73.33
الفطر <i>A.flavus</i>	46.66
لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A.flavus</i>	83.33
لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر + <i>A.flavus</i>	76.66
L.S.D.(0.05)	10.77

٢-موت البادرات

تشير نتائج جدول (٢) إلى أن استخدام بكتريا *B.subtilis* في الترب غير الملوثة بالفطرين الممرضين *A.niger* و *A.flavus* بجميع التراكيز المستخدمة لم تؤثر معنوياً في خفض نسبة موت نباتات الحنطة مقارنة بمعاملة السيطرة حيث بلغت نسبة موت البادرات فيها ١٠.٣١ %.

في حين أظهرت بكتريا *B.subtilis* في التربة الملوثة بالفطر *A.niger* تفوقاً معنوياً واضحاً في حماية النباتات حيث أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير المخفف ومعاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر مع الفطر *A.niger* نسبة موت بادرات بلغت ٨.٩٠ % ، ٩.٥٢ % على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر *A.niger* والتي أعطت اعلي نسبة موت بادرات قدرها ٥٠ % .

أما في الترب الملوثة بالفطر *A.flavus* فإن معاملات البكتريا أعطت تفوقاً معنوياً واضحاً حيث سجلت معاملة لقاح البكتريا الغير المخفف مع الفطر *A.flavus* اقل نسبة موت بادرات بلغت ٨.٣ % في حين أعطت معاملة لقاح البكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر مع الفطر *A.flavus* ٩.٥٢ % مقارنة مع معاملة الفطر *A.flavus* وحده حيث بلغت نسبة موت بادرات الحنطة فيها ٤٨.٣٣ %.

جدول (٢) تأثير تراكيز مختلفة من لقاح بكتريا *B.subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A.niger* و *A.flavus* في معدلات موت بادات الحنطة.

المعاملات	موت البادات %
السيطرة	10.31
لقاح البكتريا الغير مخفف	3.70
لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر	7.40
لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر	7.87
الفطر <i>A.niger</i>	50.00
لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A.niger</i>	٨.٩٠
لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر + <i>A.niger</i>	9.52
الفطر <i>A.flavus</i>	48.33
لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A.flavus</i>	٨.٣٠
لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر + <i>A.flavus</i>	9.52
L.S.D(0.05)	28.14

٣- تقدير أعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري *Rhizosphere* في تربة ملوثة وغير ملوثة بالفطرين *A.niger* و *A.flavus*.

إن هناك فروقاً معنوية في أعداد بكتريا *B.subtilis* لنباتات نامية في ترب غير ملوثة بالفطرين حيث تفوقت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف على جميع المعاملات الأخرى إذ بلغت أعداد البكتريا بعد ٣٠ يوماً من الزراعة (٢.٩٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرة /غم) في حين قلت الأعداد كلما قل تركيز البكتريا إذ أظهرت معاملة لقاح البكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر أعداد بكتريا قدره (١.٧١ × ١٠^٨ و.ت. م /غم) وتناقصت هذه الأعداد بعد مرور ٧٠ يوم في معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف إذ بلغت (٢.٥٣ × ١٠^٨ و.ت. م /غم) وذلك باستخدام تخفيف ١٠^{-٦} من لقاح البكتريا و أوضحت النتائج (جدول ٣) أن أعداد البكتريا في التربة الملوثة بالفطر *A.niger* زادت عن أعدادها الموجودة في التربة غير الملوثة بالفطر حيث أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف أعلى معدل لأعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري بعد ٣٠ يوماً من الزراعة بلغ (٣.٥١ × ١٠^٨ و.ت. م /غم) مقابل (٢.٧٦ × ١٠^٨ و.ت. م /غم) في تربة الـ *Rhizosphere* للمعاملة بلقاح البكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر والمزروعة في تربة ملوثة بالفطر *A.niger* وتراجعت أعداد البكتريا بعد مرور ٧٠ يوم إذ أظهرت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف مع الفطر *A.niger* أعداد للبكتريا قدره (٢.٨٧ × ١٠^٨ و.ت. م /غم) وينطبق ذلك أيضاً في الترب الملوثة بفطر *A.flavus* إذ أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف أعلى معدل لإعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري لنباتات الحنطة النامية بهذه التربة قدره (٣.١٥ × ١٠^٨ و.ت. م /غم).

جدول (٣) تأثير المعاملات وعمر النبات على إعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري لنباتات الحنطة عند التخفيف ^{-٦} ١٠.

المعاملات	عمر النبات/يوم		معدل المعاملات
	٣٠	٧٠	
لقاح البكتريا الغير مخفف	⁸ 10×2.95 (8.46)	⁸ 10×٢.53 (8.40)	⁸ 10×2.74 (8.43)
لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر	⁸ 10×1.92 (8.28)	⁸ 10×1.70 (8.23)	⁸ 10×1.81 (8.25)
لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر	⁸ 10×1.71 (8.23)	⁸ 10×1.41 (8.14)	⁸ 10×1.56 (8.18)
لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A. niger</i>	⁸ 10×3.51 (8.54)	⁸ 10×2.87 (8.45)	⁸ 10×3.19 (8.49)
لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ + <i>A. niger</i> لتر	⁸ 10×2.76 (8.44)	⁸ 10×2.50 (8.39)	⁸ 10×2.63 (8.41)
لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A. flavus</i>	⁸ 10×3.15 (8.49)	⁸ 10×2.73 (8.43)	⁸ 10×2.94 (8.46)
لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ + <i>A. flavus</i> لتر	⁸ 10×2.71 (8.43)	⁸ 10×2.30 (8.36)	⁸ 10×2.50 (8.39)
معدل عمر النبات	(8.41)	(8.34)	
L.S.D (0.05) لعمر النبات	0.008		
L.S.D (0.05) للتداخل	0.022		

واختلفت أعداد البكتريا *B. subtilis* في منطقة المحيط الجذري (Rhizosphere) تبعاً لوجود الفطر من عدمه وذلك عند تخفيف (١٠^{-٨}) من لقاح البكتريا (جدول ٤) حيث بلغت أعداد لقاح البكتريا الغير مخفف في تربة غير ملوثة بالفطرين بعد ٣٠ يوماً من الزراعة (٢.٨٠ × ١٠^{١١} و. ت. م/غم) وأن هذه الأعداد تناقصت بزيادة عمر النبات إذ بلغت (٢.٤٥ × ١٠^٨ و. ت. م /غم) أما بالنسبة إلى التربة الملوثة بالفطر *A. niger* فإن معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف مع الفطر *A. niger* أعطت أعلى معدل لأعداد البكتريا قدره (٣.١٨ × ١٠^{١١} و. ت. م /غم) وأن هذه الأعداد تناقصت بعد مرور ٧٠ يوماً من نمو النبات إذ بلغت (٢.٧٣ × ١٠^{١١} و. ت. م/غم) وأن أعداد البكتريا في التربة الملوثة بالفطر *A. flavus* بلغت (٢.٩٥ × ١٠^{١١} و. ت. م/غم). لقد أوضحت نتائج التداخل أن أفضل المعاملات هي معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف مع الفطر *A. niger* وان هناك فروقاً معنوية في أعداد البكتريا باختلاف عمر النبات.

جدول (٤) تأثير المعاملات وعمرالنبات على إعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري لنباتات الحنطة عند التخفيف 10^{-8} .

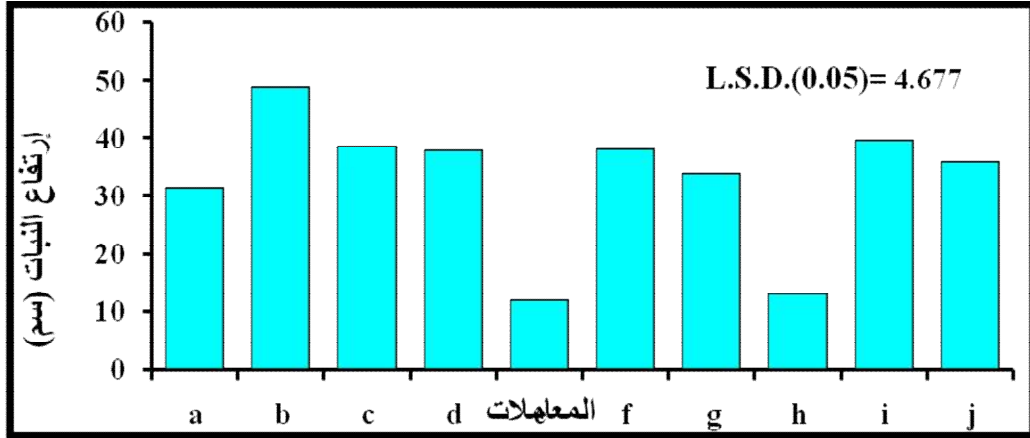
معدل المعاملات	عمر النبات/يوم		المعاملات
	٧٠	٣٠	
$10^{10} \times 2.62$ (10.41)	$10^{10} \times 2.45$ (10.39)	$10^{10} \times 2.80$ (10.44)	لقاح البكتريا الغير مخفف
$10^{10} \times 1.65$ (10.21)	$10^{10} \times 1.50$ (10.17)	$10^{10} \times 1.81$ (10.25)	لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر
$10^{10} \times 1.34$ (10.11)	$10^{10} \times 1.10$ (10.04)	$10^{10} \times 1.58$ (10.19)	لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر
$10^{10} \times 2.95$ (10.46)	$10^{10} \times 2.73$ (10.43)	$10^{10} \times 3.18$ (10.50)	لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A.niger</i>
$10^{10} \times 2.52$ (10.40)	$10^{10} \times 2.39$ (10.38)	$10^{10} \times 2.66$ (10.42)	لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ <i>A.niger</i> + لتر
$10^{10} \times 2.78$ (10.43)	$10^{10} \times 2.61$ (10.41)	$10^{10} \times 2.95$ (10.46)	لقاح البكتريا الغير مخفف + <i>A.flavus</i>
$10^{10} \times 2.35$ (10.36)	$10^{10} \times 2.11$ (10.32)	$10^{10} \times 2.59$ (10.41)	لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ <i>A.flavus</i> + لتر
	(10.30)	(10.38)	معدل عمر النبات
	0.0128		L.S.D (0.05) لعمر النبات
	0.033		L.S.D (0.05) للتداخل

٤ - ارتفاع نبات الحنطة

يوضح الشكل (١) أن النباتات المعاملة بالبكتريا *B.subtilis* أعطت استجابة جيدة في زيادة معدل ارتفاع النبات إذ أن استخدام هذه البكتريا في الترب غير الملوثة بالفطرين الممرضين أعطى زيادة معنوية لجميع التراكيز في هذه الصفة إذ بلغ معدل ارتفاع النباتات في معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف ٤٨.٩ سم ومعاملة لقاح البكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر ومعاملة تركيز ٢٠ مل/ لتر بلغ طول النبات ٣٨.٦٥ سم ، ٣٧.٦٣ سم على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة والذي بلغ ٣١.٣٦ سم.

أما في الترب الملوثة بالفطر *A.niger* فقد أعطت معاملات البكتريا المستخدمة توفراً معنوياً واضحاً في معدل ارتفاع النباتات حيث أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف ومعاملة لقاح البكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر معدل ارتفاع نباتات بلغ ٣٨.١٦ سم و٣٣.٨٣ سم على التوالي مقارنة مع معدل ارتفاع النباتات النامية في تربة ملوثة بالفطر *A.niger* حيث انخفض معدل طول النبات إلى ١٢.٣ سم.

وبلاحظ في نفس الشكل أن معاملات البكتريا أظهرت زيادة معنوية في معدل ارتفاع النباتات النامية في تربة ملوثة بالفطر *A.flavus* حيث تفوقت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف في ارتفاع النبات إذ بلغ (٣٩.٦ سم) أما معاملة لقاح البكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر فقد بلغ طول النباتات ٣٥.٦٦ سم مقارنة مع معاملة الفطر *A.flavus* وحده حيث بلغ طول النبات ١٣.٠٣ سم.



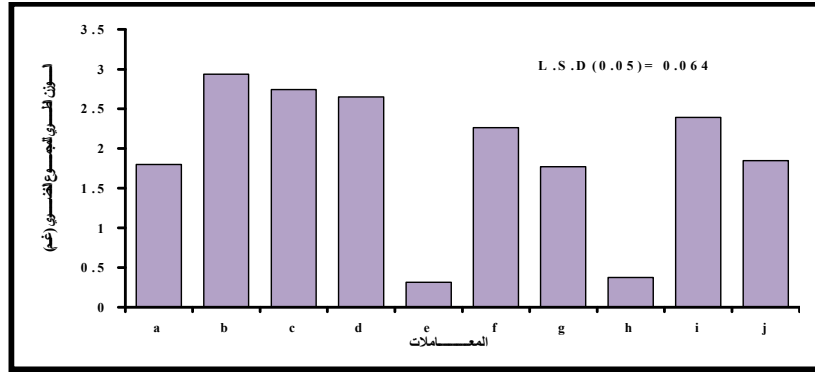
شكل (١) تأثير تراكيز مختلفة من لقاح بكتريا *B. subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A. niger* و *A. flavus* في معدلات ارتفاع النبات تحت الظروف الحقلية.

a: معاملة السيطرة. b: معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف c : معاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل / لتر. d: معاملة لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل / لتر. e: معاملة الفطر *A. niger* f: معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف + معاملة الفطر *A. niger* g: معاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل / لتر + معاملة الفطر *A. niger* h: معاملة الفطر *A. flavus* i: معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف + معاملة الفطر *A. flavus* j: معاملة لقاح بكتريا تركيز 20 مل / لتر + معاملة الفطر *A. flavus* .

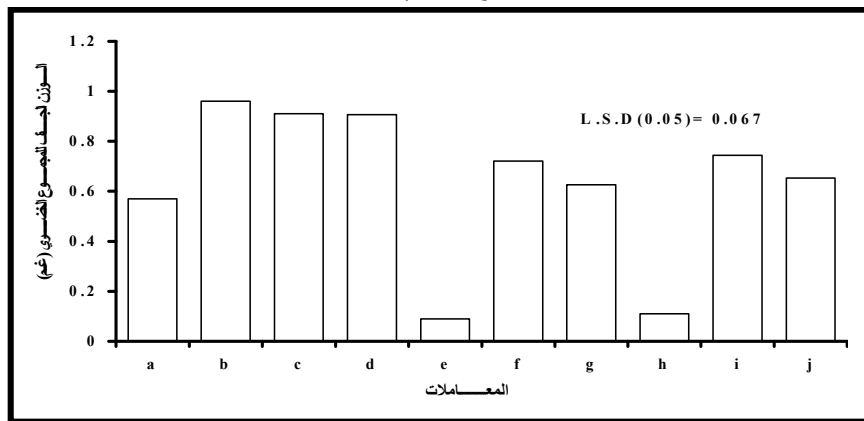
٥- الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري

أكدت نتائج هذه الدراسة الموضحة في الشكلين ٢ و ٣ أن نباتات الحنطة أظهرت استجابة كبيرة لمعاملات بكتريا *B. subtilis* في الترب غير الملوثة بالفطر بين الممرضين في زيادة معدل وزن المجموع الخضري الطري والجاف، إذ كانت أعلى قيمة للوزن الطري قد بلغت ٢.٩٣غم/نبات أما الجاف فكان ٠.٩٦ غم/نبات في معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف. كذلك فإن معاملات لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر و لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر أعطت زيادة معنوية مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغ قيم الوزن الطري والجاف لها ب ١.٨٠ و ٠.٥٧ غم/نبات أما في الترب الملوثة بالفطر *A. niger* فقد أعطت جميع معاملات البكتريا زيادة معنوية في قيم الوزنين الطري والجاف حيث بلغت قيم الوزن الطري ٢.٢٦ غم/نبات (شكل ٢) والوزن الجاف ٠.٧٢ غم/نبات (شكل ٣) في معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف مع الفطر *A. niger* مقارنة مع معاملة الفطر *A. niger* وحده والتي بلغ فيها قيم الوزن الطري والجاف ٠.٣١ و ٠.٠٩ غم/نبات.

أظهرت نتائج نفس الشكلين أن قيم الوزن الطري والجاف لنباتات الحنطة قد انخفضت معنوياً بوجود الفطر *A. flavus* وحده والتي بلغت ٠.٣٧ ، ٠.١١ غم/نبات مقارنة مع معاملات البكتريا مع الفطر حيث أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف أعلى قيم للوزن الطري والجاف ٢.٣٩ و ٠.٧٤ غم/نبات.



شكل (٢) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B.subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A.flavus* و *A.niger* في معدلات الوزن الطري للمجموع الخضري لنباتات الحنطة.

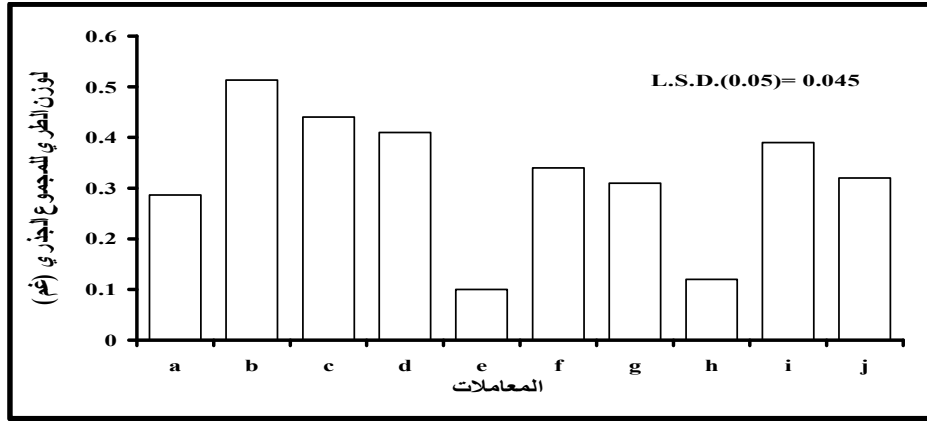


شكل (٣) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B.subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A.flavus* و *A.niger* في معدلات الوزن الجاف للمجموع الخضري لنباتات الحنطة.

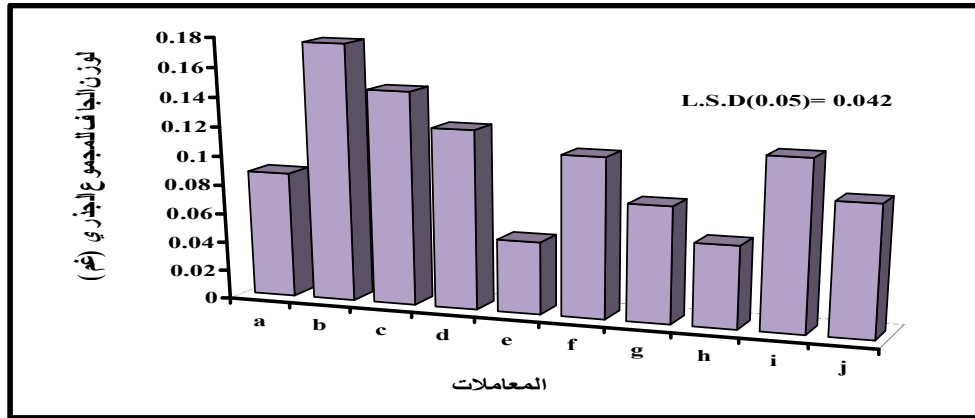
٦- الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري

يتضح من الشكلين ٤ و ٥ وجود فعالية ايجابية لبكتريا *B.subtilis* بزيادة الأوزان الطرية والجافة للمجموع الجذري لبادرات نبات الحنطة. حيث أظهرت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف في التربة غير الملوثة بالفطر أعلى قيم للوزن الطري والجاف للمجموع الجذري بلغت ٠.٥١ غم/نبات و ٠.١٧ غم/نبات وكذلك معاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر أعطت زيادة في قيم الوزن الطري والجاف تمثلت ٠.٤٤ غم/نبات و ٠.١٤ غم/نبات مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغ قيم الوزن الطري والجاف لها ب ٠.٢٨ غم/نبات و ٠.٠٨ غم/نبات ، إما معاملة لقاح البكتريا ٢٠ مل/لتر فهي لم تختلف معنوياً عن معاملة السيطرة.

أما في التربة الملوثة بالفطر *A.niger* فقد كانت لجميع تراكيز البكتريا المستخدمة اثر معنوي في زيادة وزن المجموع الجذري الطري والجاف حيث بلغت ٠.٣٤ غم/نبات و ٠.١١ غم/نبات في معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف مقارنة مع معاملة الفطر وحده والتي بلغ قيم الوزن الطري والجاف ٠.١٠ غم/نبات و ٠.٠٥ غم/نبات . وكذلك بالنسبة إلى التربة الملوثة بالفطر *A.flavus* فإن قيم الوزن الطري والجاف قد انخفضت معنوياً حيث بلغت ٠.١١ غم/نبات و ٠.٠٧ غم/نبات مقارنة مع معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف مع الفطر والتي بلغت قيم الوزن الطري والجاف لها ٠.٣٩ غم/نبات و ٠.١١ غم/نبات .



شكل (٤) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B.subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A.flavus* و *A.niger* في معدلات الوزن الطري للمجموع الجذري لنباتات الحنطة.

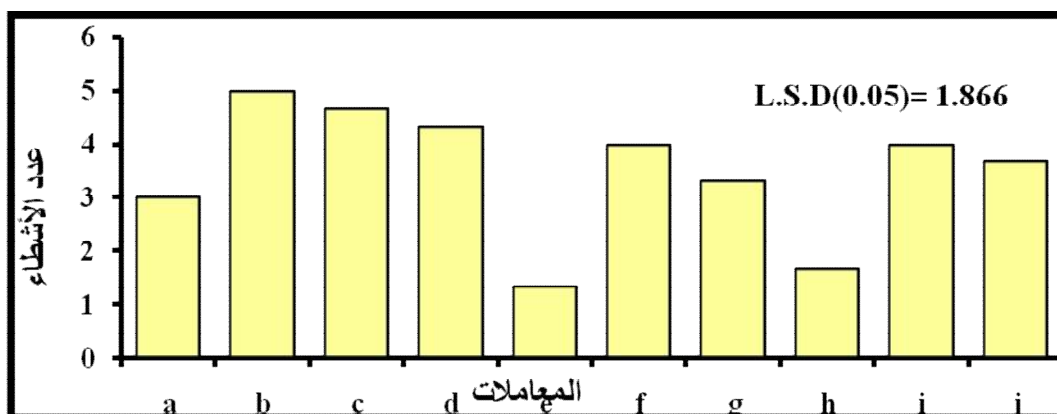


شكل (٥) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B.subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A.flavus* و *A.niger* في معدلات الوزن الجاف للمجموع الجذري لنباتات الحنطة.

٧- عدد الاشطاء

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي في الشكل (٦) أن هنالك تبايناً في تأثير معاملات البكتريا في عدد الاشطاء للنبات حيث أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف في التربة غير الملوثة بالفطرين الممرضين أكثر عدد للاشطاء لنبات الحنطة حيث بلغ ٥.٠ /نبات وتوقفت معنوياً على معاملة المقارنة والتي بلغ عدد الاشطاء لها ٣.٠ /نبات، أما بالنسبة إلى معاملات لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر و لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر فهي لم تؤثر معنوياً.

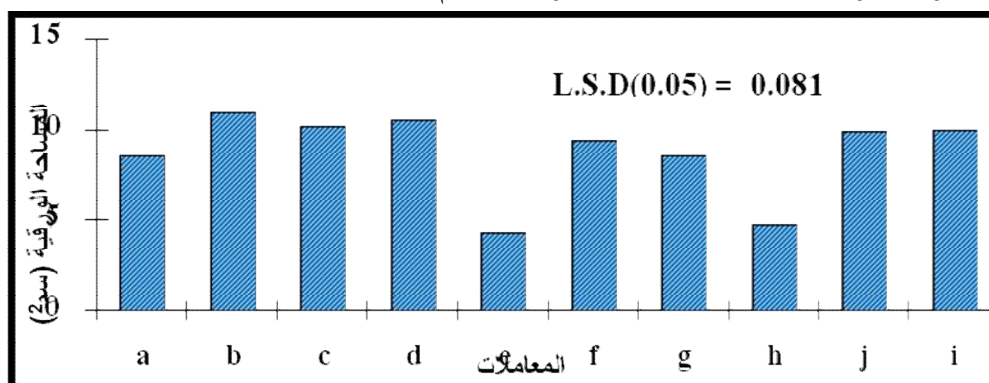
أما بالنسبة إلى التربة الملوثة بالفطر *A.niger* فقد أعطت جميع المعاملات تفوقاً معنوياً واضحاً حيث كان عدد الاشطاء لمعاملة لقاح البكتريا الغير مخفف ومعاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/ لتر هو ٤.٠ /نبات و ٣.٣٣ /نبات على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر وحده والذي بلغ عدد الاشطاء لها ١.٣٣ /نبات. أما بالنسبة إلى معاملات البكتريا مع الفطر *A.flavus* فقد كانت هناك زيادة معنوية في عدد الاشطاء مقارنة مع معاملة الفطر *A.flavus* وحده حيث بلغ معدل عدد الاشطاء ١.٦٦ /نبات.



شكل (٦) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B. subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A. niger* و *A. flavus* في معدلات عدد الأَشْطَاء لنباتات الحنطة.

٨- المساحة الورقية

أوضح الشكل (٧) أن وجود البكتريا من دون الفطريات الممرضة في المعاملات لها تأثير معنوي حيث تفوقت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف ومعاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/لتر ومعاملة لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/لتر وبالبلغة المساحة الورقية فيها ١٠.٩٥ سم^٢ و ١٠.٢٠ سم^٢ و ١٠.٥٠ سم^٢ على التوالي ويفارق معنوي عن السيطرة (٨.٥٢ سم^٢). أما في التربة الملوثة بالفطر الممرض *A. niger* فقد أظهرت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف تفوقاً معنوياً على جميع المعاملات الأخرى (شكل ٧) إذ بلغت المساحة الورقية ٩.٣٩ سم^٢ أما معاملة الفطر *A. niger* وحده فقد بلغت المساحة ٤.٣١ سم^٢ وفي التربة الملوثة بالفطر *A. flavus* فقد بلغت المساحة الورقية لأوراق النباتات المعاملة بهذا الفطر ٤.٧١ سم^٢.

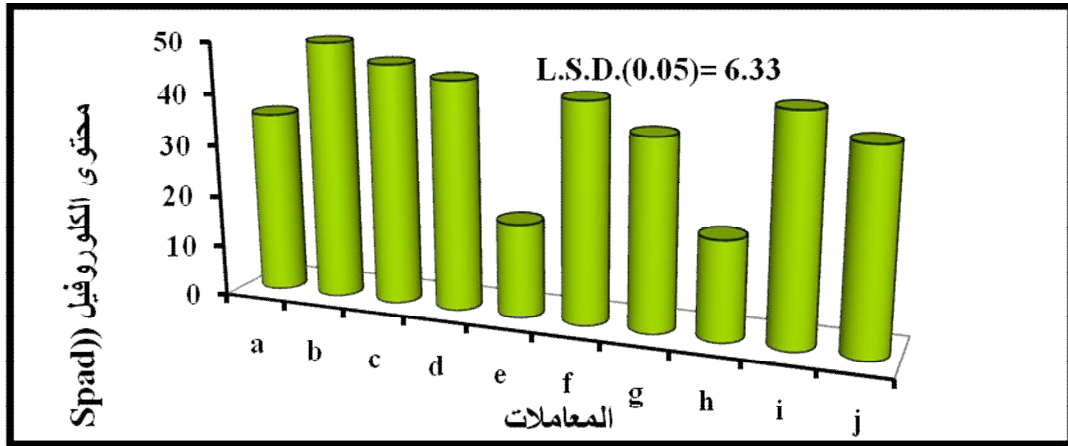


شكل (٧) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B. subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A. niger* و *A. flavus* في المساحة الورقية (سم^٢) في أوراق نباتات الحنطة تحت الظروف الحقلية.

٩- تقدير كمية الكلوروفيل

أن جميع معاملات بكتريا *B. subtilis* أثرت ايجابياً في زيادة كمية الكلوروفيل في أوراق نباتات الحنطة النامية في تربة غير ملوثة بالفطرين الممرضين حيث أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف أعلى كمية للكلوروفيل والتي بلغت ٤٩.٩٦ (Spad unit) وكذلك معاملة لقاح بكتريا تركيز ٥٠ مل/لتر ومعاملة لقاح بكتريا تركيز ٢٠ مل/لتر أظهرت قيم عالية للكلوروفيل تمثلت بـ ٤٦.٤ و ٤٤.٢٦ (S) على التوالي (شكل ٨) مقارنة مع معاملة السيطرة والتي كانت قيمة الكلوروفيل فيها ٣٥.٢٦ (S) أما بالنسبة إلى التربة الملوثة بالفطر *A. niger* حيث انخفضت كمية الكلوروفيل في هذه النباتات عن جميع المعاملات الأخرى والتي بلغت ١٨.٢٦

(S) وأن معاملات البكتريا أظهرت زيادة معنوية عالية بالنسبة إلى التربة الملوثة بالفطر *A.flavus* حيث أعطت معاملات البكتريا تأثير إيجابي مقارنة مع كمية كلوروفيل لمعاملة الفطر *A.flavus* والتي بلغت ١٩.٢٣ (S).



شكل (٨) تأثير تراكيز مختلفة من بكتريا *B.subtilis* وتداخلها مع الفطرين *A.flavus* و *A.niger* على معدل كمية الكلوروفيل الكلي لنباتات الحنطة.

المناقشة

تم إجراء تقويم كفاءة بكتريا *B.subtilis* حقلياً في السيطرة على تعفن جذور وموت بادرات الحنطة بفعل الفطرين *A.niger* و *A.flavus* . وتبين تفوق معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف في نسبة إنبات الحبوب عن معاملة السيطرة حيث كانت نسبة الإنبات لمعاملة لقاح البكتريا الغير مخفف ٩٣.٣٣ % بينما كانت في معاملة السيطرة ٧٦.٧ % (جدول ١)، إن هذه الدراسة تتفق مع ما توصلت إليه الحسيني (٢٠٠٧) في رفع نسبة إنبات الطماطة باستخدام بكتريا *B.cereus* إلى ٨٨.١ % مقابل معاملة وجود الفطر وحده والتي بلغت ٣٧.٢ % . كما أكدت دراسة (Soleimani et al., 2005) زيادة نسب إنبات الحنطة بوجود بكتريا *B.subtilis* ويعود سبب ذلك إلى إن بكتريا *B.subtilis* لها القدرة على إنتاج الهرمونات المحفزة للنمو والتي لها الأثر الفعال في إنبات الحبوب إذ تحاط الحبوب بطبقة بروتينية (Aleruon layer) . وتعمل هذه الهرمونات على تحفيز هذه الطبقة لتكون الإنزيمات الحالة للمواد الكربوهيدراتية والبروتينية مثل إنزيمات amylase و protease والتي تعمل على تحليل المواد النشوية إلى مواد بسيطة وذائبة يحتاجها الجنين (محمد واليونس، ١٩٩١).

أما بالنسبة إلى موت البادرات فقد بينت الدراسة الحالية ومن خلال الجدول (٢) أن معاملة لقاح البكتريا بتركيز ٥٠ مل/ لتر مع الفطر الممرض *A.niger* أعطت زيادة معنوية عن معاملة الفطر وحده وكذلك معاملة لقاح البكتريا تركيز ٢٠ مل/ لتر مع الفطر *A.flavus* . وهذا يتفق مع ما توصل اليه العميدي (٢٠٠٩) من كفاءة المستحضر الحيوي لبكتريا *B.subtilis* في خفض نسبة موت البادرات لنبات الذرة بوجود الفطرين *A.niger* و *A.flavus* إلى ٠.٠٠٠ % في حين كانت نسبة موت البادرات للفطرين *A.niger* و *A.flavus* ٨٣ % و ٦٦.٥ % على التوالي. أن ارتفاع نسبة موت البادرات لنبات الحنطة بوجود الفطرين *A.niger* و *A.flavus* يعود إلى إفراز الإنزيمات الحالة مثل pectinase و cellulose وغيرها والتي تسبب التحطم التام لجدران الخلايا النباتية (Vries & Visser , 2001) والتي تصيب البادرات مؤدية إلى تعفن الجذور واختزال حجمها وبالتالي إضعاف المجموع الخضري ومن ثم موت البادرات (Bhat & Fazal , 2011) . أن التفوق الواضح لبكتريا *B.subtilis* في تحسين مؤشرات نمو الحنطة المزروعة في تربة ملوثة بالفطرين الممرضين

زيادة ارتفاع النبات (شكل ١) حيث أعطت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف أعلى معدل لارتفاع النباتات ومقداره ٤٨.٩ سم مقارنة مع معاملة السيطرة والذي بلغ ٣١.٣٦ سم. إن سبب ذلك يعود إلى واحد أو أكثر من الآليات التي تعمل بها البكتريا بفعل إنتاجها للمواد المحفزة للنمو مثل الجبرلينات و الاوكسينات التي تزيد سرعة انقسام الخلايا واتساعها كذلك إنتاجها للمضادات الحياتية والإنزيمات المؤثرة في نمو الفطريات الأخرى (Swain et al. , 2007)، هذه النتائج تتفق مع ماتوصل اليه الربيعي (٢٠٠٨) في زيادة أطوال نبات الحنطة عند معاملة بكتريا *B.circulans* عند التركيز ٢٥ غم /كغم حبوب. أما بالنسبة إلى معدلات الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري (شكل ٤ ، ٥) فقد أثبتت الدراسة الحالية تفوق معاملة البكتريا على باقي المعاملات حيث أظهرت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف في الترب غير الملوثة بالفطرين الممرضين أعلى قيم للوزن الطري والجاف للمجموع الجذري بلغت ٠.٥١ و ٠.١٧ غم/نبات مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغت قيم الوزن الطري والجاف لها ب ٠.٢٨ و ٠.٠٨ غم/نبات كذلك معاملة لقاح البكتريا عند التركيز ٢٠ مل/ لتر مع الفطر *A.flavus* قد تفوقت معنوياً على معاملة الفطر *A.flavus* وحده وهذا ما لاحظته الخفاف (٢٠٠٦) والحسيني (٢٠٠٧) من ازدياد وزن المجموع الجذري عند استخدام بكتريا *B.cereus* ، ويرجع ذلك إلى أن بكتريا *B.subtilis* تقوم بإنتاج مادة siderophore (Grossman et al. , 1993) ومن ثم توفر عنصر الحديد الضروري لنمو النبات كذلك إنتاجها للمضادات الحياتية والإنزيمات المثبطة لنمو الفطريات الأخرى وتزيد من جاهزية بعض العناصر المعدنية التي يحتاجها النبات لنموه مثل النتروجين حيث تساعد على نمو البكتريا المثبتة للنتروجين (الخفاف ، ٢٠٠٦ و العاشور ، ٢٠٠٩ و الجبوري ، ٢٠١١).

أما بالنسبة إلى وزن المجموع الخضري فقد كانت معاملة لقاح البكتريا الغير مخفف هي الأفضل في زيادة الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري (شكل ٢ ، ٣)، كذلك كانت معاملة لقاح بكتريا عند التركيز ٥٠ مل/لتر مع الفطر *A.niger* ومعاملة لقاح بكتريا ٢٠ مل/لتر مع الفطر *A.flavus* جيدة في زيادة أوزان المجموع الخضري مقارنة مع معاملات الفطر لوحده ويعود ذلك إلى زيادة جاهزية العناصر وازدياد الهرمونات النباتية ومن ثمَّ زيادة المواد الغذائية والكاربوهيدرات المتوفرة للنبات وأن زيادة وزن المجموع الجذري بفعل البكتريا ينعكس ايجابياً في زيادة الوزن الطري وهذا ما لاحظته Hafeez et al.،(٢٠٠٦) في إن بكتريا *B.subtilis* تحسن النمو لنبات الحنطة وتزيد من طول الجذور ووزنها وتزيد من محتوى النتروجين والفسفور. وظهر عند حساب معدلات عدد الاشطاء تفوق النباتات المعاملة ببكتريا *B.subtilis* وبجميع التراكيز المستخدمة عن بقية النباتات غير المعاملة بها (شكل ٦) وهذا ما لاحظته الربيعي (٢٠٠٨) عند استخدام بكتريا *B.circulans* إلى زيادة عدد الاشطاء لنبات الحنطة فكان معدل عدد الاشطاء عند تركيز ٢٥ غم /كغم حبوب هو ٤.٦٦/نبات.

تبين الدراسة الحالية زيادة المساحة الورقية للنباتات المعاملة بالبكتريا (شكل ٧) إذ كان معدل مساحة الورقة لمعاملة لقاح البكتريا الغير مخفف ب ١٠.٩٥ سم^٢ مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغت النسبة ٨.٥٢ سم^٢ إن هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه الخفاف (٢٠٠٦) إذ أن أوراق نباتات الخيار المعاملة بالباسبولين والنامية في تربة خالية من الفطر الممرض وصلت إلى ١١٨.٩٣ سم^٢ ويفارق معنوي عن معاملة السيطرة والبالغة ٩١.٢٥ سم^٢. أن الزيادة في المساحة الورقية تعود أساساً إلى أن هذه البكتريا لها القدرة على إنتاج الهرمونات النباتية المحفزة للنمو مثل الاوكسينات (Kifle & Laing, 2010) إذ تؤدي الاوكسينات إلى إزالة تأثير بكتات الكالسيوم المسؤولة عن صلابة الجدران الخلوية ومن ثمَّ يؤدي إلى رخاوة الخلايا ومن ثم استطالتها كذلك تعمل على سرعة الانقسام الخلوي وزيادة عدد الخلايا الجديدة (أبو زيد ، ٢٠٠٠). أن استخدام بكتريا

B.subtilis سببت زيادة في كمية الكلوروفيل لأوراق نباتات الحنطة المعاملة بها مقارنة مع معاملة السيطرة ومعاملات الفطريات وحدها. إن هذه النتائج تقارب ما توصل اليه العاشور (٢٠٠٩) والجبوري (٢٠١١) حول كفاءة المستحضر الحيوي لبكتريا *B.subtilis* والذي اثر وبشكل معنوي في زيادة معدلات كلورفيل (A) وكلورفيل (B) مقارنة مع معاملة السيطرة. تقوم هذه البكتريا بتوفير الهرمونات المحفزة للنمو مثل السايبتوكينين cytokinine والذي يؤدي إلى زيادة محتوى كمية الكلوروفيل في الأوراق النباتية (Arkhipova et al. , 2006) إن زيادة مستويات عنصر النتروجين يزيد من تصنيع الكلوروفيل إذ أن ٧٠ % من نتروجين الورقة يدخل في تركيب صبغة الكلوروفيل كما إن البلاستيدات الخضراء تحتوي على أكثر من نصف المحتوى الكلي للنتروجين (الصحف ، ١٩٨٩).

أن سبب تفوق النباتات المعاملة بالتركيز الأعلى من بكتريا *B.subtilis* يعود إلى زيادة إعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري ومن ثمَّ زيادة تأثيراتها الايجابية على نمو النبات (العنسي ، ١٩٩٩) . تظهر نتائج إعداد بكتريا *B.subtilis* الموضحة في جداول ٣ ، ٤ أن أعدادها كانت عالية في منطقة المحيط الجذري Rhizosphere وهذا يؤشر على وجود ألفة بين نوع البكتريا من جهة وافرازات الجذور من جهة أخرى ، أن أعداد بكتريا *B.subtilis* في مراحل النمو الأولى من عمر النبات كان أعلى قياساً بإعدادها في الأعمار المتأخرة إذ كانت إعداد لقاح البكتريا الغير مخفف في المحيط الجذري للنباتات بعمر ٣٠ يوماً هي (٢.٩٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين المستعمرة/غم) في حين كانت بعمر ٧٠ يوماً (٢.٥٣ × ١٠^٨ وحدة تكوين المستعمرة /غم) وهذا ما اكدته دراسة الحسيني (٢٠٠٧) بأن إعداد البكتريا تتناقص بتقدم عمر النبات وان أعلى معدلات لإعداد البكتريا *B.cereus* سجلت في المراحل الأولى من عمر نبات الطماطة. ويرجع إلى أن النبات في المراحل الأولى من النمو يكون ذا نشاط فسلجي عالي وهذا ينعكس على زيادة الإفرازات الجذرية المفيدة للبكتريا وبالتالي ازدياد إعداد البكتريا. أن الدراسة الحالية يتفق مع ما توصل اليه الربيعي (٢٠٠٨) من ازدياد إعداد البكتريا *B.circulans* بازدياد تراكيز البكتريا المستخدمة وخصوصاً عند التركيز ٢٥ غم/كغم حبوب لنبات الحنطة وبوجود الفطرين الممرضين *R.solani* و *P.aphanidernatum* كذلك أن إعداد البكتريا *Bacillus* في منطقة المحيط الجذري Rhizosphere تختلف إذ بين (Vargas – Ayala et al. (2000) إن كثافة البكتريا *B.cereus* بلغت (٢.٦٤ × ١٠^{١١} وحدة تكوين مستعمرة /غم) من تربة المحيط الجذري Rhizosphere لنباتات الحنطة. أن زيادة إعداد البكتريا بوجود الفطرين الممرضين موضوعي الدراسة قد يعود إلى شدة المنافسة بين الفطر والبكتريا وبالتالي قدرة البكتريا على تحليل جدران الغزل الفطري للفطرين الممرضين المكون من أحماض امينية وكاربوهيدرات وبروتينات بفعل الانزيمات المحللة المفرزة من البكتريا مثل Lipase و Protase إما بالنسبة إلى تفوق التراكيز العالية من بكتريا *B.subtilis* في إعدادها في منطقة المحيط الجذري يرجع ذلك إلى زيادة أعداد الخلايا البكتيرية الحية في وحدة الوزن (غم) واستمرارها في النمو (العاشور ، ٢٠٠٥).

المصادر العربية

ابو زيد ، الشحات نصر . (٢٠٠٠). الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية. الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة.
الجبوري ، غفران فليح عبد الحسن . (٢٠١١). دراسة امكانية توظيف مخلفات معامل السمنت في الصناعات المايكروبية ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة الكوفة.

الحسيني ، ابتهاج معز عبد المهدي . (٢٠٠٧). مكافحة المتكاملة لمرض تعفن بذور وجذور نباتات الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* kuhm . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة بابل.

الخفاف ، آلاء عبد علي . (2006). مقاومة مرض موت بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitz بالمبيدين الحيويين فلوراميل وباسلين والمبيد الكيماوي بيلتانول ودورها في تحسين صفات النمو والإنتاج. أطروحة دكتوراه. كلية التربية للبنات.

الريبيعي ، أفراح عبد علي . (2008). تصنيع مبيد أحيائي من لقاح بكتريا *Bacillus circulans* لمكافحة بعض ممرضات تعفن جذور الحنطة. رسالة ماجستير . الكلية التقنية/ المسيب ، هيئة التعليم التقني. الصحاف ، فاضل حسين . (١٩٨٩). أنظمة الزراعة بدون استخدام تربة . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد.

العاشر ، علي جابر جاسم . (٢٠٠٥). إمكانية إنتاج مستحضر حيوي من بكتريا (*Bacillus cereus*) للسيطرة على بعض الفطريات المسببة لسقوط البادرات. رسالة ماجستير. كلية العلوم . جامعة الكوفة. صفحة ٧٧.

العاشر ، علي جابر . (٢٠٠٩). تقييم كفاءة بعض العزلات المحلية التابعة للجنس *Bacillus* في السيطرة على بعض الفطريات الممرضة لنباتي الحنطة و الباميا . أطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة الكوفة.

العميدي ، رمله احمد محمد . (٢٠٠٩) . تأثير البكتريا *Bacillus subtilis* في حماية حبوب الذرة الصفراء من الاصابة بالفطرين *Aspergillus niger* Vantieghem و *Aspergillus flavus* Link ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة الكوفة.

العنسي ، عادل عبد الغني لطف . (١٩٩٩). المقاومة المتكاملة لمرض الذبول الفيوزاري في الطماطة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* p.sp *lycopersici* وتأصيل أصناف الطماطة المقاومة للذبول رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد . ٤٨ صفحة.

الورشان ، سالم حسن و إسماعيل عباس الدليمي و كمال برزان ندا . (٢٠٠٢). التحري عن الفطريات السامة الملوثة للفواكه المجففة في الاسواق المحلية. مجلة القادسية-العلوم الصرفة ، المجلد ٧ ، العدد ١ . ٧ صفحات.

حسن ، محمد صادق . (١٩٨٢). استعمال الطاقة الشمسية في تعقيم البيوت البلاستيكية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد.

الورشان ، سالم حسن و إسماعيل عباس الدليمي و كمال برزان ندا . (٢٠٠٢). التحري عن الفطريات السامة الملوثة للفواكه المجففة في الاسواق المحلية. مجلة القادسية-العلوم الصرفة ، المجلد ٧ ، العدد ١ . ٧ صفحات.

محمد ، عبد العظيم كاظم و اليونس ، مؤيد أحمد . (1991). أساسيات فسيولوجيا النبات - الجزء الثالث . كلية الزراعة - جامعة بغداد - العراق.

المصادر باللغة الانكليزية

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

Arkhipova, T. N.; Veselov, S. Yu.; Melent'ev, A. I.; Martynenko E. V. and Kudoyarova G. R. (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.

Bhat, M. N. and Fazal, M. (2011). Effect of *Aspergillus flavus* Metabolites on Wheat Seed Germination and Seedlings Growth. J.of plant protection . 29(1).

Burrows, M.; Dyer, A .and Grey, W. (2010). Small Grain Root and Crown Diseases. <http://www.msuxtenslon.org>.

Clark, F. E. (1965). Agar-Plats method for total microbial (C. F: Black 1965 method of soil analysis. Part 2 Publisher Madeson, Wisconsin,U. S. A., PP. 1572).

- Dewan, M. M. (1988).** *Pythium* spp. In root of wheat and ryegrass in Western Australia and their effect on root rot caused by *Gaumannomyces graminis* var. tritic. Soil Biol. Biochemi., 20: 801-808.
- FAO. (2002).** Production year book food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome, Italy.
- FAO. (2006).** World wheat market at a glance Food Outlook ,No 1 .
- Hafeez, F. Y.; Yasmin, S.; Ariani, D.; Zafar, Y. and Malik, K. A. (2006).** Plant growth promoting bacteria as biofertilizer. Agron. Sustain. Dev., 26: 143-150.
- Ingram, D.M.,andCook,R.J.(1987).** Pathogenicity of four *Pythium* species to wheat, barley and lentils. Plant Pathol.9:10-117.
- Khalafallah, A. A. and Sallam, S. M. (2009).** Response of Maize seedlings to microwaves AT945MH₂. Romanian, J. Bio-phys., 19: 49-62.
- Kifle , M. H. and Laing , M. D.(2010).** Determination of optimum dose and frequency of application of free-living diazotrophs (FLD) on lettuce. African Journal of Agricultural Research. 6: 671-675.
- Koch,E. (1999).** Evaluation of commercial products for microbial control of soil borne plant disease. Crop port., 18: 119-125.
- Liu, B.; Qiao, H.; Huang, L.; Buchenauer, H.; Han, Q.; Kang, Z. and Gong, Y. (2009).** Biological control of take-all in wheat by endophytic *Bacillus subtilis* E1R-j and potential mode of action. [Biological Control](#) 49: 277-285.
- 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.; Burnett, P. A.; Saari, E. E.; Ranson, J.; Bowman, J.; de Milliano, W.; Singh, R. P. and Bekele, G. (2007).** Wheat Diseases and Pests a guide for field identification. International Maize and Wheat Improvement. Center, <http://greengens.cit.cornell.edu/wpest>.
- Raaijmakers, J. M. (1994).** Microbial interaction in the rhizosphere root colonization by *Pseudomonas* spp. and suppression of Fusarium wilt. Univ. Utrecht Press. Netherland. PP. 126.
- Samson, R.A.; Houbraken,; Summerbell, R.C.; Flannigan, B. and Miller, J.D. (2001).** Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments In: Microorganisms in Home and Indoor work Enviro. New York: Taylor & Francis. 287-292.
- Smiley, R. W. and Suddin, W. (1993).** Influence of soil temperature on *Rhizoctonia* root rot (*R. solani* AG-8 and *R. oryzae*) of winter wheat. Phytopathology, 83: 777-785.
- Soleimani, M. J; Shamsbahsh, M.; Taghavi, M. and Kazemi, S. H. (2005).** Biological control of stem and root rot of Wheat caused by *Bipolaris* spp. by using antagonistic bacteria, *Pseudomonas fluorescense* and *Bacillus* spp. Journal of biological sciences 5: 347-353.
- Swain, M. R.; Naskar, K. S. and Ramesh, C. R. (2007).** Indole-3-acetic acid production and effect on sprouting of Yam (*Dioscorea rotundata* L.) minisetts by *Bacillus subtilis* isolated from culturable cow dung micro flora .Polish Journal of microbiology. 56: 103-110.
- Vargas-Ayala, R.; Rogriguez-kaban, R.; Morgan-Jones, G.; Mcinroy, J. A. and Klopper, J. W. (2000).** Shifts in soil microflora induced by velvet bean (*Mucuna deeringiana*) cropping systems to control root-knot nematodes. Biol. Control., 17: 11-22.
- Vries, R. P. and Visser, J. (2001).** *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. Microbiol Mol. Biol. Rev; 65: 497–522.