اختبار كفاءة بكتريا *Bacillus circulans* في حماية نبات الحنطة من الاصابة بالفطـــــر *Pythium aphanidermatum*

ابتهال معز عبد المهدي الحسيني **سامي عبد الرضا علي الجميلي**

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بابل **قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الكوفة**

الخلاصة :

اجريت سلسلة من التجارب المختبرية والحقلية لاختبار كفاءة بكتريا *Bacillus circulans* في حماية نبات الحنطة من الفطر *P. aphanidermatum* ومن خلال النتائج تبين ان استخدام بكتريا *B.circulans* مع حبوب الحنطة قد اعطى نسبة انبات عالية بلغت 91.3 % مع اقل نسبة لموت البادرات بلغت 5.1 % عن معاملة السيطرة (حبوب حنطة وحدها) والتي بلغت 80.3 % و 12% على التوالي . كما اكدت نتائج هذه التجربة قدرة البكتريا بتوفير حماية عالية لنبات الحنطة ضد تاثير الفطر *P. aphanidermatum* حيث اعطت معاملة البكتريا اعلى نسبة انبات لحبوب حنطة مزروعة بترب ملوثة بالفطر الممرض والتي بلغت 86% في حين كانت نسبة الانبات في معاملة السيطرة (62%) . كما اظهرت تلك المعاملة قدرة عالية في حماية النباتات بتقليل نسبة موتها اذ بلغت 17.96 % مقابل 58.03% بمعاملة السيطرة.كما تبين النتائج حصول زيادة معنوية في مؤشرات النمو (ارتفاع النبات ومعدل عدد الاشطاء / نبات والوزن الطري والجاف لكل من المجموع الخضري والجذري للنبات) وذلك عند معاملة الحبوب بالبكتريا *B.circulans* ، فضلا عن قدرتها على تحسين مؤشرات انتاج الحنطة المتمثلة باطوال السنابل واعدادها وعدد الحبوب لكل سنبله ووزن 1000 حبة .

المقدمة :

يعود نبات الحنطة .*Triticum aestivum* L للعائلة النجيلية (Graminae) ويأتي في المرتبة الاولى بين محاصيل الحبوب في العالم .فهو من اهم المصادر الغذائية للانسان والحيوان وللحنطة القابلية على النمو في اغلب درجات الحرارة خاصة في المناطق شبه القطبية من العالم وان موطنه الاصلي شمال العراق . يصنع من اصنافه الناعمة الطحين وهو مصدر الخبز بانواعه اما اصنافه الخشنه فلها العديد من الاستخدامات في الصناعات الغذائية مثل المعكرونه والبرغل وغيرها ، اضافة الى استخدام مخلفات الحصاد كغذاء للماشية .كل هذا جعل من الحنطة محصولا إستراتيجيا مهما (FAO,2002).يتعرض محصول الحنطة للكثير من الامراض الناتجة عن العديد من المسببات المرضية خصوصا عند زراعته بالتربة (Agrios ,2005) وتمثل الفطريات احد هذه المسببات لما تملكه من مميزات ساعدتها على البقاء والمنافسة بسبب نوع احتياجاتها الغذائية وانتاجها للعديد من الانزيمات المحلله وعدد من السموم الفطرية (حسن،1982 ;Koch,1999) .ومن بين اهم المسببات المرضية الفطرية التي تصيب الحنطة هي فطريات تعفن الجذور (Prescott *etal.*, 2007 ; Cook *etal.*, 2002) ومنها فطر *Gaeumannomyces gramini var-tritici* المسبب لمرض الفناء Take-all (Moor & cook, 1984) وفطر kuhu AG8 *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض تعفن الجذر الرايزوكتوني والعديد من الانواع التابعة لجنس الـ *Pythium* ومنها الانواع *P. irregulare* و *P. aphanidermatum* و *P. ultimum* المنتشرة في مزارع الحنطة والشعير في بقاع مختلفة من العالم والتي تسبب مرض تعفن الجذور البثيومي(Kim *et al.*,1997 ; Ingram & Cook ,1987).بدء الاهتمام بالسنوات الاخيرة حول ايجاد بدائل عن المبيدات الكيمياوية لما لها من اثر سلبي في صحة الانسان والنبات والحيوان مع تفاقم مشكلة التلوث البيئي وظهور بعض الاصناف الفطرية المقاومة لتلك المبيدات والكلفة وصعوبة رشها واستخدامها وغيرها من الاسباب الغير مشجعة لاستخدام تلك المبيدات (Den Hond *etal.*, 2003) .فبرز مفهوم المكافحة الاحيائية كوسيلية ناجحة في المكافحة سواء استعملت بمفردها او بمعية طرف اخر (Pal & McSpadden , 2006) في السنوات الاخيرة اختبار كفاءة بعض الانواع التابعة للجنس *Bacillus* ومنها *B. cereus* التي اثبتت كفاءة عالية للسيطرة على بعض الممرضات الفطرية في العراق (ديوان و البهادلي ، 1985 ؛ الخفاف ،2006) .وكذلك استخدام بكتريا *Bacillus circulans* للحد من تاثيرات الفطريات الممرضة للنبات ومنها المستوطنة في التربة والمسببة لامراض تعفن الجذور في المحاصيل الحقلية كالفطر *Pythium* وحماية محصول الحنطة من الفطر الممرض . ولغرض تحقيق ذلك تم اجراء هذه الدراسة التي تضمنت المحاور التالية :

1- اختبار القدرة المرضية للفطر *P.aphanidermatum* .
2- تقييم الكفاءة التضادية لبكتريا *B.cirulans* للفطر الممرض *P. aphanidermatum* المسبب لتعفن الجذور على نبات الحنطة .

3- تقويم كفاءة بكتريا *B.circulans* للحد من اضرار الفطر الممرض وذلك من خلال حساب نسب الانبات وموت البادرات وبعض مؤشرات النمو الخضري لنبات الحنطة في الاصص .

المواد وطرائق العمل : الاحياء المجهرية المستخدمة في الدراسة :

تم الحصول على عزلات الاحياء المجهرية المستعملة في الدراسة وهي بكتريا *B. circulans* وعزلة *P. aphanidermatum* من مختبر ابحاث الاحياء المجهرية في قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة الكوفة

1- تحضير لقاح الفطر الممرض *P. aphanidermatum*:

حمل فطر *P. aphanidermatum* على حبوب الدخن *Panicum miliceum* حسب ما ورد في(علوان ، 2005) وذلك بتنقية حبوب الدخن من الشوائب ثم غسلها جيدا ونقعها لمدة 6 ساعات في ماء مقطر ثم تركت على اوراق ترشيح لمدة 30 دقيقة لازالة الماء الحر منها بعدها وزعت الحبوب على دوارق حجمية سعة 250 مل بمقدار 50غم /دورق ثم احكم غلقها بسداد من القطن ورقائق الالمنيوم وعقمت بالموصدة بدرجة 121مo وضغط 5.1 كغم /سم^2 ولمدة ساعة كاملة واعيد التعقيم بنفس المدة مرة ثانية وبعد اخراج الدوارق من الموصدة وتبريدها لقحت بالفطر بواقع خمسة اقراص قطر 5ملم لكل دورق ومن كل فطر ثم حضنت بدرجة حرارة 25 ±2 مo لمدة عشرة ايام مع مراعاة الرج اليومي للدوارق لمنع التكتل وتوزيع الفطر على الحبوب . وبعد ذلك حفظ في الثلاجة لحين الاستعمال .

2- اختبار القدرة المرضية للفطر *P. aphanidermatum* :

نقلت حبوب الدخن المحملة بالفطر موضوع الدراسة الى تربة مزيجية عقمت بالموصدة(بدرجة حرارة 121مo وضغط 1.5 كغم/سم^2 لمدة ساعة واحدة) بمعدل 5 غم حبوب دخن ملقحة لكل 1 كغم تربة (Dewan & Sivasithamparam, 1974) وضعت التربة واللقاح في كيس نايلون ورجت جيدا لتجانس اللقاح مع التربة ثم قسمت التربة الملوثة باللقاح على ثلاث اصص بلاستيكية قطرها 17 سم وارتفاعها 15 سم يحتوي كل اصيص 2كغم تربة مع اضافة النسبة نفسها من حبوب الدخن المعقمة الى تربة غير ملوثة بالفطر الممرض لكونها مقارنه بثلاث اصص زرع في كل اصيص 25 بذرة حنطة صنف مكسيباك بعد تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 1% لمدة دقيقتين ثم غسلها بماء معقم . سقيت الاصص ثم تركت في المحيط الخارجي وحسبت النسبة المئوية للانبات بعد 14 يوما من الزراعة والنسبة المئوية لموت البادرات بعد مرور 45 يوما من زراعة الحبوب (العاشور 2005 ؛ علوان 2005) وذلك وفق المعادلات التالية :

$$\text{النسبة المئوية للانبات} = \frac{\text{عدد الحبوب النابتة}}{\text{العدد الكلي للحبوب المزروعة}} \times 100$$

a. اختبار القدرة التضادية لبكتريا *Bacillus circulans* ضد الفطر *P. aphanidermatum*: نميت عزلة بكتريا *B.circulaus* في وسط Nutrient broth السائل المحضر في انابيب اختبار سعة 25 مل وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة 35 م^o حضرت 8 اطباق معقمة تحتوي 20 مل من وسط nutrients broth لكل طبق ولقحت 4 اطباق منها بطريقة التخطيط (Streak) باخذ عالق بكتيري (بطرف الـ Loop) من الوسط Nutrient broth المنمى فيه البكتريا مع ترك اربعة اطباق من دون تلقيح كمعاملة سيطرة . حضنت الاطباق بدرجة حرارة 35م^o لمدة 24 ساعة ، ثم لقحت مراكز الاطباق الثمانية بالفطر الممرض *P. aphanidermatum* بقرص قطره (10 ملم) من حافة مستعمرة الفطر الممرض المنماة على وسط P.A.D بعمر 6 ايام ، ثم حضنت الاطباق الملقحة بدرجة حرارة (25 ±2)م^{o}سجلت النتائج عند وصول الغزل الفطري في معاملة السيطرة الى حافة الطبق، وحسب مقدار التثبيط لنمو الفطر باخذ معدل قطرين متعامدين واحتسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفقا لمعادلة (Abbott,1925)

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

3- تقييم كفاءة بكتريا *B. circulaus* تحت ظروف الحقل .

أ- **تهيئة الحبوب :** تم تهيئة حبوب الحنطة صنف ماكسيباك بتعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصديوم بتركيز 2% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم .وعوملت الحبوب بالبكتريا *B.circulaus* المنمى على وسط Nutrient broth لمدة 48 ساعة وذلك بتنقيعها بالعالق البكتيري لمدة (10-15) دقيقة قبل الزراعة .

ب- **تهيئة تربة الزراعة** :تم تهيئة (12) اصيص ملئت بتربة مزيجية بكميات متساوية وتم توزيعها الى 4 معاملات كل منها تحتوي على ثلاث اصص (مكررات) تم تلويث مكررات المعاملات بلقاح الفطر الممرض المنمى على حبوب الدخن بواقع 5 غم دخن/اكغم تربة كما تركت بعض الاصص بدون تلويث بلقاح الفطر باعتبارها معاملات مقارنة .سقيت الاصص بالماء وبقيت التربة رطبة لمدة 48 ساعة. زرعت حبوب الحنطة في الاصص الحاوية على التربة وبواقع (50بذره) لكل اصيص وخفت النباتات الى 7 نباتات لكل اصيص بعد 6 اسابيع (جبر ، 2004) ثم جرى تنفيذ المعاملات الاتية :

1- معاملة السيطرة : تم زراعة حبوب غير معاملة بالبكتريا وغير ملوث بالفطر .
2- حبوب الحنطة ملوثة بالفطر *P. aphanidermatum* غير معاملة بالبكتريا *B.cireulaus*
3- حبوب حنطة غير ملوثة بالفطر الممرض معاملة بالبكتريا *B.cireulaus*
4- حبوب حنطة ملوثة بالفطر الممرض معاملة بالبكتريا *B.circulaus*

سقيت جميع الاصص باستمرار حسب الحاجة بكميات متكافئة من الماء العادي وبعد مرحلة من نمو النبات استعملت المعايير الاتية لتقويم نتائج التجربة .

1- النسبة المئوية للانبات :

تم حساب النسبة المئوية للانبات بعد 10 ايام من الزراعة وفقا للمعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للانبات} = \frac{\text{عدد الحبوب النباتية}}{\text{العدد الكلي للحبوب المزروعة}} \times 100$$

2- النسبة المئوية لموت البادرات :

بعد مرور 6 اسابيع من الزراعة حسبت النسبة المئوية لموت البادرات على وفق المعادلة الاتية:

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

3- مؤشرات النمو وشملت الاتي :

أ- عدد الاشطاء : تم حساب عدد الاشطاء لخمس نباتات لكل مكرر لكل معاملة عشوائيا واستخرج معدلها .

ب- الوزن الطردي والجاف للمجموع الخضري والجذري : اخذ ثلاث نباتات عشوائيا من كل مكرر لكل معامله اذا قطع المجموع الخضري من منطقة التاج وسجل وزنه الطري ثم اخذ معدلها كما سجل الوزن الطري للمجموع الجذري . جفف كل من المجموع الخضري والجذري (كل على حده) بفرن كهربائي عند درجة حرارة 70 م^{o} وسجل وزنها الجاف ثم اخذ معدلها .

4- بعد مرور 160 يوما من الزراعة حسبت المعايير الاتية :

أ- ارتفاع النبات : اخذ ارتفاع ثلاث نباتات من كل مكرر ولكل معاملة عشوائيا وتم قياس ارتفاع النبات من سطح التربة الى القمة النامية .

ب- مكونات الحاصل : وشملت حساب (عدد السنابل وطول السنبلة وعدد الحبوب / سنبلة ووزن 1000 حبة).

النتائج والمناقشة :

1- اختبار القدرة المرضية للفطر *P. aphanidermatum* :

اثبتت النتائج الموضحة في الجدول (1) ان الفطر *P. aphanidermatum* ادى الى خفض نسبة انبات حبوب الحنطة وبفروق معنوية مقارنة بمعادلة السيطرة ، اذا بلغت نسبة الانبات 36.40% للفطر مقابل 86.20 % في معاملة السيطرة (دون فطر) . كما ان للفطر *P. aphanidermatum* تاثيرا متميزا في زيادة معدلات النسبة المئوية لموت البادرات في الحنطة فقد بلغت 69.36% في الفطر *P. aphanidermatum* وبفروق معنوية بينها وبين معاملة السيطرة التي بلغت فيها النسبة المئوية لموت البادرات 8.6% . تتفق هذه النتائج في اطارها العام مع ما وجده كل من (جبر ،2004 ؛ العاشور، 2005 ؛ علوان ،2005) من ارتفاع نسبة تعفن الحبوب وانخفاض نسبة انباتها وموت البادرات بعد البزوغ في محصول الحنطة بفعل الفطر *P. aphanidermatum* ان الفطر *P. aphanidermatum* يصيب الحبوب بعد زراعتها مسببا تعفنها وتلفها حيث يصيب الحبوب بواسطة الاختراق المباشر بفعل الضغط الميكانيكي والاذابة بواسطة الانزيمات المحلله التي يفرزها هذا الفطر ومنها الانزيمات الحالة Lytic enzymes في انسجة العائل النباتي (Martin, 1995) والتي تسبب الانهيار والتحطم التام لجدران الخلايا حيث تتحول الحبوب المصابة الى كتله متفسخة وتصيب ايضا البادرات مؤدية الى موتها حيث يهاجم الفطر خلايا البشرة والقشرة للساق القريبة من سطح التربة ويخترقها مباشرة ويستهلك جزءا من او كل محتوياتها ويحلل جدرانها فيؤدي الى انهيار الخلايا والانسجة ومن ثم عدم استطاعتها حمل البادرات فتسقط على سطح التربة (الشكري ،1991) .كما يهاجم الفطر اطراف الجذور والشعيرات الجذرية مسببا تلفها واضعاف النبات وبتقدم الاصابة تموت النباتات (Higginbotham *etal.*, 2004) .

جدول(1) القدرة المرضية للفطر *P.aphanidermatum* على اساس النسبة المئوية لانبات حبوب الحنطة والنسبة المئوية لموت البادرات

المعاملات	نسبة انبات حبوب الحنطة %	موت البادرات الحنطة %
السيطرة (من دون فطر)	86.20	8.60
فطر *P.aphanidermatum*	36.40	69.36

2- اختبار القدرة التضادية لبكتريا *B.ciralaus* ضد فطر *P.aphanidermatum*

اظهرت نتائج هذا الاختبار فعالية بكتريا *B. circulaus* في تثبيط النمو الاشعاعي للفطر *P.aphanidermatum* حيث كانت نسبة التثبيط للفطر 91.48 (جدول 2).ان سيادة بكتريا *B.circulaus* في المزرعة المزدوجة (وجود البكتريا والفطر معا) يعود الى قدرتها على انتاج المضادات الحياتية مثل Zwittermicim A و Kanosamine (Mcspadden-Cardener,2004; Lumsden *et al.*, 1995) والتي تعمل على تثبيط نمو الفطريات ، فقد اشار (Muhamed & Amussa,2003) الى قدرة مادة Zwittermicim A على تثبيط العديد من انواع الفطريات الممرضة للنبات منها *Fusarium spp.* و*R.solani* و *P.aphanidermatum* ، فضلا عن انتاجها العديد من الانزيمات المحلله Lytic enzymes التي تعمل على تحطيم مكونات جدران الفطر وخاصة انزيمات الـglucanase وchitinase و cellulase وprotease حيث ان البكتريا التي لها القابلية على انتاج مثل هذه الانزيمات لها القدرة على تحطيم المركبات التي تعمل عليها هذه الانزيمات خاصة وان جدران الفطر الممرض مكونة من β-1,3-glucan (laminarin) وchitin والسليلوز (Tanaka & watanabe ,1995 ; Bartnicki-Garcia,1973) كما يضاف الى ذلك القدرة العالية لهذه البكتريا على التكاثر والنمو السريع بدرجة تغلب الفطر الممرض في ذلك وانتشار الخلايا على مساحة واسعة في الوسط الزرعي مكونة المستعمرات الثانوية Sub colonies (Komoto *etal.*, 2003).

جدول (2) القدرة التضادية لبكتريا *B.circulans* ضد النمو الشعاعي للفطر *P.aphanidermatum*

المعاملات	قطر المستعمرة (سم)	نسبة التثبيط %
الفطر *P.aphanidermatum*	9.00	0
الفطر *P.aphanidermatum* + بكتريا *B.circulans*	0.77	91.44

3- تاثير بكتريا *B.ciculans* في نسبة انبات الحبوب وموت نباتات الحنطة المزروعة في تربة ملوثة وغير ملوثة بالفطر *P.aphanidermatum* في الاصص تبين من نتائج هذا الاختبار المدرجة في جدول (3) وجود تاثير معنوي في معاملة البكتريا لوحدها من دون الفطر الممرض في نسبة الانبات (91.33%) على معاملة السيطرة والتي بلغت 80.33% تلتها في نسبة الانبات العالية معاملة بكتريا *B.circulans* + الفطر *P.aphanidermatum* حيث وصلت الى 86.00% . كما تفوقت معاملة البكتريا على بقية المعاملات في معدل نسبة موت البادرات والتي بلغت 5.10% مقابل 12% في معاملة السيطرة . وقد تعود هذه النتيجة الى انتاج بكتريا *B.circulans* الهرمونات النباتية وخاصة الجبرلين والذي يلعب دورا مهما في انبات الحبوب والسيطرة على عملية الانبات حيث ان الجبرلين هو الاساس في تحفيز انزيمات التحلل Hydrolytic enzymes داخل

البذرة والتي تقوم بتحليل المواد الكربوهيدراتية والبروتنية والمواد الدهنية الى مواد ابسط يحتاجها الجنين للانبات ، اضافة الى انتاج البكتريا لانزيمات الاميليز (Ajayi & Fagade , 2006) التي تؤدي دورا رئيسا في مراحل انبات الحبوب (Hartman *et al* , 1997) فضلا عن اتصال ابواغ البكتريا بالبذرة وتجهيزها بالمضادات الحياتية المثبطة لنمو الفطريات ان وجدت في التربة . كما ان للبكتريا قدرة على توفير الحماية لحبوب الحنطة من الفعل الممرض للفطر *P.aphanidermatum* من خلال انتاجها المضادات الحياتية المثبطة لنمو هذا الفطر .

جدول (3) تاثير بكتريا *B.circulans* في النسبة المئوية للانبات الحبوب وموت نباتات الحنطة المزروعة في ترب ملوثة وغير ملوثة بالفطر *P.aphanidermatum* بعد 6 اسابيع من الزراعة تحت ظروف الحقل في الاصص .

المعاملات	نسبة الانبات %	نسبة موت البادرات %
السيطرة (حبوبحنطة فقط)	80.33	12.00
حبوب حنطة + فطر *P.aphanidermatum*	62.00	58.03
حبوب الحنطة + بكتريا *B.circulans*	91.33	5.10
حبوب الحنطة + الفطر *P.aphanidermatum* + بكتريا *B.circulans*	86.00	17.96
L.S.D(0.05)	8.20	7.59

4 -تاثير بكتريا *B.ciculans* في بعض مؤشرات نمو الحنطة المزروعة في اصص بعد 6 اسابيع من الزراعة

يتضح من النتائج المدونة في الجدول (4) ان معاملة البكتريا *B.ciculans* قد تفوقت معنويا على المعاملات الاخرى في الترب الملوثة وغير الملوثة بالفطر الممرض .فقد اعطت تلك المعاملة اعلى معدل لعدد الاشطاء وقدره 4.66/ نبات قياسا بعددها في معاملة الفطر لوحده والتي كانت فيه 1.55 /نبات كذلك اظهرت معاملة البكتريا تفوقا على بقية المعاملات لمعدل ووزن المجموع الخضري الطري والجاف اذ كانت اعلى قيمة للوزن الطري والجاف والتي بلغ 2.662 و 0.918 غم /نبات ..كما ان معاملة بكتريا *B.circulans* + الفطر *P.aphanidermatum* ادت الى زيادة في الوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري والتي بلغت 2.60 و 0.87 غم / نبات قياسا بمعاملة السيطرة ومعاملة الفطر لوحده 1.36 و0.51 و 0.52 و0.16 غم / نبات على التوالي .كما ان استخدام البكتريا *B.circulans* في الترب غير الملوثة بالفطر الممرض قد اثرت معنويا في زيادة المجموع الجذري الطري والجاف (جدول 4) . فقد اعطت اعلى المعدلات ، اذا بلغ الوزن 0.37 و 0.14 غم للوزنين الطري والجاف على التوالي . قياسا بمعاملة الفطر لوحده والتي بلغت 0.10 و 0.02 غم / نبات. ان التفوق الواضح لمعاملة البكتريا في تحسين مؤشرات نمو الحنطة المزروعة في ترب ملوثة وغير ملوثة بالفطر الممرض المتمثلة في زيادة عدد الاشطاء/ نبات والوزنين الطري والجاف لكل من المجموعين الخضري والجذري قد يعود الى واحدة او اكثر من الاليات التي تعمل بها البكتريا والتي من بينها توفير البكتريا الحماية للنبات من مهاجمة المسببات المرضية بفعل انتاجها للمضادات الحياتية والانزيمات المؤثرة في نمو الممرضات وتثبيط نموها او تحفيز النبات على انتاج الهرمونات النباتية واستثمارها في النمو او ان هذه البكتريا تقوم بانتاج الهرمونات بنفسها ومنها الاوكسين IAA والجبرلين GA وتجهيزها الى النبات لاستغلالها في العمليات المرتبطة بنموه Tilak & Reddy) (2006, .حيث ان من المعروف عن هذين الهرمونين دورهما الكبير في نمو النبات خلال مراحل حياته المختلفة.فالاول يؤثر باتجاه نمو الجذور بزيادة الجذور الثانوية واعداد الشعيرات الجذرية ومن ثم كتلة الجذر مما يعمل على زيادة انتشار الجذور ونموها في حجم اكبر من التربة مما يزيد من السعة الامتصاصية للنظام الجذري للعناصر الغذائية فيها وهذا ما لاحظه كل من(van Vasude ,2002 ; Thakuria *et al.*,2004) من زيادة في نمو جذور الرز النامية في الاصص بعد اضافتهما للعديد من المستحضرات الاحيائية الحاوية على احد انواع البكتريا من جنس *Bacillus* ومنها النوع *Bacillus circulans* اما الجبرلين فيؤدي دورا اساسيا في زيادة ارتفاع النبات عن طريق زيادة استطالة الساق بفعل دوره في اتساع الخلايا النباتية (Davies , 1995) .

جدول (4) تاثير بكتريا *B.circulans* في بعض مؤشرات نمو الحنطة المزروعة في اصص

المعاملات	معدل عدد الاشطاء / نبات	وزن المجموع الخضري (غم)		وزن المجموع الجذري (غم)	
		طري	جاف	طري	جاف

السيطرة (حبوب الحنطة فقط)	4.22	1.369	0.518	0.157	0.067
حبوب حنطة + الفطر *P.aphanidermatum*	1.55	0.526	0.164	0.106	0.022
حبوب حنطة +بكتريا *B.circulans*	4.66	2.662	0.918	0.376	0.142
حبوبحنطة + الفطر *P.aphanidermatum* + بكتريا *B.circulans*	4.67	2.600	0.871	0.398	0.182
L.S.D(0.05)	0.133	0.334	0.136	0.055	0.032

5 -تاثير بكتريا *B.circulans* في ارتفاع النباتات وحاصل الحنطة المزروعة في ترب ملوثة وغير ملوثة بالفطر *P.aphanidermatum* بعد 160 يوم من الزراعة اظهرت نباتات الحنطة استجابة جيدة عند معاملتها ببكتريا *B.circulans* حيث كانت هنالك زيادة معنوية في المعدل العام لارتفاع النبات اذ بلغ 82.3 في معاملة البكتريا وحدها و83.26سم في معاملة بكتريا + فطر *P.aphanidermatum* في حين كان معدل ارتفاع النبات في معاملة السيطرة 77.67 سم . وهذه النتائج تماثل في اطارها العام مع ما توصل اليه (العاشور ،2005) من قدرة المبيد الاحيائي الباسلين على زيادة اطوال نبات الحنطة بعد 45 يوما من زراعة الحبوب التي بلغت 22.5 سم في الوقت الذي كان فيه المعدل 14.5 سم في معاملة المقارنة.كذلك يلاحظ من نتائج جدول (5) ان استخدام بكتريا *B.circulans* كان لها تاثير كبير في زيادة اطول السنابل وعدد السنابل وعدد الحبوب بالسنبلة ووزن 1000 حبة سواء معاملة البكتريا لوحدها او معاملة بكتريا + فطر *P.aphanidermatum* قياسا بمعاملة السيطرة وقد تفوقت معاملة البكتريا على جميع المعاملات الاخرى حيث اعطت اعلى معدل لاطوال السنابل بلغ 10.65 سم قياسا بمعاملة السيطرة والتي كان بها طول السنبلة 9.83سم وكذلك الحال بالنسبة لاعداد السنابل والتي بلغ 5.36 سنبلة قياسا بمعاملة السيطرة التي كان معدل عدد السنابل فيها 3.55 سنبلة . كما ان التاثير الايجابي للبكتريا قد انعكس بشكل واضح في انتاجية نباتات الحنطة متمثلة بعدد الحبوب بالسنبلة ووزن الف حبة حيث تفوقت معاملة البكتريا على بقية المعاملات فقد اعطى 50.22 بذرة/سنبلة و 39.47 غم على التوالي .كما تبين النتائج ان معاملة البكتريا *B.circulans* + الفطر *P.aphanidermatum* قد اظهرت تفوقا معنويا ملحوظا في معدل اطوال السنابل (10.20 سم) واعداد السنابل (3.39 سنبلة) قياسا مع معدل اطوال السنابل (5.69 سم) واعداد السنابل (1.77 سنبلة) في معاملة الفطر الممرض لوحده . وكذلك الحال بالنسبة الى اعداد الحبوب ووزن 1000 حبة. قد تعزى نتيجة تفوق المعاملات التي استخدمها فيها البكتريا *B.cirulans* الى قدرة البكتريا في توفيرها الحماية للنبات وزيادة نموها الخضري والذي انعكس في الحصول على نباتات قوية وهذا بدوره انعكس على الانتاجية . فضلا عن ان البكتريا بانها احد الانواع التي لها قابلية تجهيز النبات بعنصر الفسفور عن طريق اذابة الفوسفات من التربة التي يكون فيها عنصر الفسفور غير جاهز للنبات(Khan *et al.*,2000 ; Tilak *et al.*,2006)وهذا يتفق معما ذكره(Giand & Gaur , 1991) من ان استخدام *B.subtilis* و *B. circulans* يؤدي الى زيادة في تكوين العقد الجذرية وحاصل الحبوب وحاصل المادة الجافة وامتصاص النتروجين والفسفور من قبل نباتات اللوبيا .

جدول (5)تاثير *B.circulans* في ارتفاع النباتات وحاصل الحنطة المزروعة في ترب ملوثة وير ملوثة بالفطر *P.aphanidermatum* في الاصص بعد 160 يوم من الزراعة

المعاملات	ارتفاع النبات (سم)	اطوال السنابل (سم)	عدد السنابل /نبات	عدد الحبوب / السنبلة	وزن 1000 حبة (غم)
السيطرة (حبوب حنطة فقط)	77.67	9.83	3.55	44.44	36.29
حبوب حنطة + الفطر *P.aphanidermatum*	58.43	5.69	1.77	19.55	20.57
حبوب حنطة +بكتريا *B.circulans*	82.30	10.65	5.36	50.22	39.47
حبوب الحنطة + فطر *P.aphanidermatum* + بكتريا *B.circulans*	83.26	10.20	3.89	49.44	39.31
L.S.D(0.05)	5.28	0.73	1.74	4.66	1.97

المصادر

- الخفاف ، الاء عبد علي .2006 . مقاومة مرض موت بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatun*(Edson fitz P.) بالمبيدين الحيوين فلوراميل وباسين والمبيد الكيمائي بيلتانول ودورها في تحسين صفات النمو والانتاج . اطروحة دكتوراه . قسم علوم الحياة – كلية التربية للبنات – جامعة الكوفة .

- الشكري ، مهدي مجيد .1991 ، اساسيات الفطريات وامراضها النباتية . جامعة بغداد .

- العاشور ، علي جابر جاسم .2005. امكانية انتاج مستحضر حيوي من بكتريا *Bacillus cereus* للسيطرة على بعض الفطريات المسببة لسقوط البادرات . رسالة ماجستير . قسم علوم الحياة –كلية العلوم –جامعة الكوفة.

- جبر ، سناء غالي .2004 . تقييم كفاءة بعض العوامل الحيوية والكيمياوية وتكامله في السيطرة على مرض موت بادرات الحنطة المتسبب عن الفطر *P.aphanidermatum* . رسالة ماجستير . قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة الكوفة .

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

- ديوان ، مجيد متعب واالبهادلي ، علي حسين ، 1982 . امراض النبات مؤسسة المعاهد الفنية – بغداد . العراق .(344 صفحة) .

- علوان ، صباح لطيف 2005. امكانية تصنيع مبيد احيائي من الفطر *Trichoderma harzianum* لمكافحة مرض تعفن الحبوب وموت البادرات في الحنطة .

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

- Agrios ,G.N. 2005 .Plant pathology . 5th ed . Academic press.PP.952.

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

- Bartnciki- Garcia ,S., 1973 .Fungal cell wall composition In: Hand book of microbiology ,2:201-214.

- 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.

- Davies ,P.J. 1995. Plant hormones .Kluwer Academic Publishers .

- Den Hond , F., P. Groenwegen and Van Straalen ,N.M.2003 . Questions Around the Persistence of the Pesticide Problem .In. : den Hond ,E.Groenewegen P.and Vanstraalen N.M.(eds) Pesticides: Problems Improvements , Alternatives .chapter I . Black well Science Ltd.

- Dewan, M.M.and Sivasithamparam, K.1989. Occurrence of species of Aspergillus and *Penicillium* in root of wheat and ryegrass and their effect on root rot caused by Gaeumannomyces graminis var. tritici. Aust. J.Bot., 36:701-710 .

- FAO, 2002. Production year book food and Agriculture organization of the United Nation ,Roma, Italy

- Giand, S. and Gaur, A.C.1991. thermotolereat phosphate solubiziing microorganisms & their interactions in mungbean . plant soil, 133:141-149.

- Hartmann , H.J.; D.E.Kester ; R.L. Geneve and Jr.F. T. Davies 1997 . Plant propagation : Principles and Practices .(6^{th} edn.) Prentice – Hall Inc. New Jersey ,USA.

- Higginbotham, R.W.; Paulitz, T.C.and Kidwell ,K.K. 2004 . Virulence of pythium species isolated from wheat field in eastern Washington .Plant Dis., 88 :1021 – 1026.

- Ingram ,D.M. and Cook , R.J. 1987. Pathogenicity of four Pythium species to wheat , barley ,peas & lentils . plant Pathol., 39: 110-117.

-Khan , M.S. : Zaidi , A. and Wani , P.A. 2006. Role of phosphate. Solubilizing microorganisms in suslainable agriculture – A review. Agron .Sustain . Dev., 26 : 1-15.

- Kim , D.-S. , Cook, R.J.and weller , D.M. 1997. *Bacillus sp.* L324-92 for biological control of three root disease of wheat grown with reduced tillage . Phtopathology , 87: 551-558.

- Koch ,E.1999. Evaluation of commercial products for microbial control of soil borne plant disease .Crop port ., 18:119-125.

- Komoto, A.; Hanaki ,K. ; Maenosono , S.; Wakane ,J.Y. ; Yamaguchi ,Yamamoto ,W.2003. Growth dynamics of *Bacillus circulans* colony . J. Theor,Biology ,225:91-97.

- Lumsden , R.D. ;Lewis ,J.A. and Fravel ,D.R.1995. Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soil born plant pathogens .In: Hall , F.R. and Barry ,J.W.(eds.)Biorational pest control Agents , Formulation and Delivery .PP.166-182. Whasington, Dc. Am.chem. Soc.

- Martin , F.N. 1995. pythium .In Kohmoto, K.; Singh ,U.S. and singh , R.P. (eds) .Eukaryotes (Pathogenesis and Host specificity in plant Disease: Histopathological ,Biochimical , Genetic and molecular Bases .Vol.2 . pp.17-36. Elsevier.

- McSpadden- Gardener, B.B.2004. Ecology of *Bacillus and Paenibacillus* spp. In agricultural systems. Phytopathology , 94 : 12452 – 1258 .

- Moore , K.J. ,and Cook ,R.J.1984 .Increased taken – all of wheat with direct drilling in the pacific North West .phytothology , 74 : 1044 – 1049 >

- Muamad. ,S.A.Amussa,J.L. 2003 . Biological control of some pathogenic plants (fungi and bacteria) African J. of Biotech . ,2:161-164 .

- Pal, K.K. and McSpadden – Gardener , B. 2006 ,Biological control of plant pathogens . The Plant Heath Instructor DOI: 10. 1094 / PHI-A-2006- 1117-02.

- 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 : aguide for field indemnification International maize and wheat Imorovement center , Maexico . http: greengenes .cit.cornell.edu/wpest.

- Tanaka , H.& watanabe ,T.(1995). Glucanases and chitinases of *Bacillus circulans* WL.12. Journal of Industrial Microbiology ,144:478 – 483 .

- Thakuria ,D.:Talukdar, N.C.; Hazarika,S. ; Baro,R.C.and Khan ,M.R.2004. Characterization & screening of bacteria from rhizospher of rice in acidic soils of Assam , Curr. Sci., 86(7)978-985 .

- Tilak, K., V. B.R. ; Rangana Yaki , N.; Pal, K.K. ; De,R. ; Saxena ,A.K. ; Shekhar Nautiyal ,C., Shilimittal , Tripath ., A.K.and Johri , B.N.2005 .Diversity of plant growth and soil heath supporting bacteria – Carr. Sci.,89(1): 136-150.

- Tilak, K., V. B.R. and Reddy ,B.S. 2006 . *Bacillus cereus* and *Bacillus circulans* – novel inoculants for crops. Curr.Sci., 90 (5) 642 - 644 .

- Vasudevan ,P. 2002 .Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield – Curr. Sci., 83: 1140-1143.

Test the efficiency of *Bacillus circulans* in protecting wheat plant from infection by *Pythium aphanidermatu*

Abstract A series of laboratory and field experiments to test the efficiency of the bacteria *Bacillus circulans* in controlling wheat root rot disease caused by *Pythium aphanidermatum* . The results showed that seed of wheat treated with *B.circulans* gave a high seed germination percentage reached 91.3% with the lowest number of seedling death of 5.1% for control treatment (wheat seed alone), which amounted to 80.3% and 12% respectively. The results of this experiment confirmed the ability of bacteria to provide high protection to plant wheat against the influence of *P. aphanidermatum* where treatment bacteria gave the highest percentage of germination of seeds of wheat planted wheat planted Petrb contaminated with pathogenic fungi, which amounted to 86% while the percentage of germination in the control treatment (62%) and the plant death percentage was at lowest level at same treatment which were 17.96% compare with control (58.03%) The results showed in significant increase in the growth indicators (plant height , tellaring number ,fresh weight and dry shoots and roots weight) as well as production parameter including number and length of spike, grain / spike and weight of 1000 grains.