التأثير المضاد لعزلات بكتيرية من المحيط الجذري لنبات القمح في أنواع من فطر الفيوزاريوم المسبب لمرض تعفن الجذور

وسيم البلخي[1] محمود أبو غره[2] ريم قبرصلي[3]

الملخص

ينتشر مرض تعفن جذور القمح انتشاراً واسعاً في العالم، وقد سجل المرض في عدد من المحافظات السورية، ويعد مرض تعفن جذور القمح من أهم الأمراض التي تصيب محصول القمح، عُزِلَتْ 250 عزلة بكتيرية من منطقة المحيط الجذري للنبات خلال عامي (2009–2010) واِخْتُبِرَ التضاد على أهم المسببات الفطرية لعفن جذور القمح *Fusarium spp., graminearum Fusarium culmorum, Fusarium*، وقد بيّنت النتائج أن 8 عزلات منها فقط تنتمي للجنس *Bacillus* أعطت تأثيراً مضاداً لهذه الفطور في وسط الزرع، وقد تباين تأثيرها بحسب نوع الفطر الممرض المختبر. وكانت العزلات W4،Ba22:3 ،W أكثر فاعلية على الفطر *F.graminearum*، وبلغت مسافة التضاد (4-3.6-3.6) مم على التوالي؛ وذلك في اليوم السادس من الاختبار، وكانت أقل العزلات تأثيراً العزلة W7 (2)مم. أما باقي العزلات فكان تأثيرها يراوح بين (2–3) مم. أمَّا فاعلية العزلات البكتيرية على الفطر *F.culmorum* فكانت العزلات W6،W5،W4 هي الأكثر فاعلية، إذْ بلغت مسافة التضاد (3.3-4.7-3.7) مم، وأقلها فاعلية هي العزلة9:3 (1) مم. أمَّا باقي العزلات فكان تأثيرها يتراوح بين (1,3– 3,3) مم، وبالنسبة للفطر *Fusarium spp* فكانت أفضل العزلات هي W7،W6،W5،W4 حيث كانت مسافة التضاد (5.7-5.7-6-5.7) مم. أمَّا أقل العزلات تأثيراً كانت العزلتان 9:3 و Ba22:3 (0) مم . وباختبار 20 عزلة أخرى أبدت صفة التضاد على مرض العفن الأبيض على الثوم *Sclerotium cepivorum*، أعطت7عزلات منها تنتمي لجنس Pseudomonas،Bacillus ، Pantoea صفة التضاد على الفطور الممرضة للقمح المختبرة.

الكلمات المفتاحية: بكتريا Bactteria– المحيط الجذريRizosphere– أعفان جذور القمح Wheat root rot– الفيوزاريوم Fusarium – عزلة بكتيرية Bacterial isolate

(1) ماجستير هندسة زراعية، قسم وقاية النبات، جامعة دمشق
(2) أستاذ مساعد، قسم وقاية النبات، جامعة دمشق
(3) مدرسة، قسم وقاية النبات، جامعة دمشق

Effect of Bacterial Isolates from Wheat Plants Rizosphere On species of Fusarium Fungal which cause Root Rot

Waseem Al-Balkhi(1) Mahmoud AbuGhorrah(2) Reem Kobrosli(3)

Abstract

Wheat root rot has spread widely in the word; it has been recorded in a number of Syrian provinces . The root rot disease of wheat is the most important diseases affecting wheat crop .

250 bacterial strains were isolated from the wheat rizosphere. 8 bacterial isolates belonged to the genus Bacillus were antagonists in laboratory test to the most important casual wheat root rot *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* and *Fusarium spp.*

The results showed that the effect of bacterial isolates different from one fungus to the others .the bacterial isolates Ba 22: 3, W4, W8 showed height effect on fungal *F.graminearum* isolates .The antagonist distances were (4,3.6,3.6) mm respectively , after sixth day of the test , where as the W7 isolate showed the less effect which was(2) mm .The effective of the rest isolates were between (2-3) mm, The bacterial isolates W4, W5, W6 were the most effective on fungal *F.culmorum* .. As isolates whereby The antagonist distances were between (3.3,4.7, 3.7) and the less effective isolate is the isolation 9: 3 (1) mm. either the effect of the rest of the isolates were between (1.3 to 3.3) mm .

For the fungus *Fusarium spp*. was the best effect of isolates were W4, W5, W6, W7 The antagonist distances were(5.7,5.7,6,5.7) mm, the less effective of the isolates were 9: 3 and Ba 22: 3 (0) mm.

The other 20 isolates were tested and showed antagonism to white rot disease on garlic *Sclerotinia cepivorum*. 7 isolates of which belong to the genus Bacillus, pseudomonas, pantoea showed antagonist on wheat fungus . the antagonism distances were measured a between bacterial culture and fungals and they were (2) mm for isolate (T131) and (3.3) mm for tow isolates (G 11: 1 and 39) for the fungus *F.graminiarum*,(1) mm for isolate (G11: 1) and (4) mm for isolate (H) for fungus *F. culmorum*.

(1)Doctora student Department of Plant Protection ,Faculty of Agriculture, Damascus University
(2) Associate professor, Department of Plant Protection ,Faculty of Agriculture, Damascus University,
(3) professor, Department of Plant Protection ,Faculty of Agriculture, Damascus University

مقدمة:

يعدَّ القمح من أهم المحاصيل الحقلية التي استخدمها الإنسان منذ القدم في تأمين غذائه، حتى غدا يشكل وحده الغذاء الرئيس لأكثر من نصف سكان العالم (الفارس، 1986)، وفي سورية عرفت زراعته منذ القدم، وازدهرت ازدهاراً عظيماً جعل الرومان يطلقون عليها مخزن روما (الفارس، 1986)؛ إلَّا أنَّه في الأعوام الأخيرة تراجع إنتاج القمح تبعاً لمواسم الأمطار والإصابة بالآفات والأمراض كعام 2013 حيث انخفض الإنتاج إلى3182 طن/هـ بعد أن كان 4537 طن/ه بعام 2004 (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2013). ويتعرض نبات القمح إلى عدد هائل من الإجهادات الإحيائية واللاإحيائية التي تؤثر سلباً في الإنتاج، ويعدُّ 50 منها فقط ذا أهمية اقتصادية (Jalaluddin و Jenkyn, 1996). ويعدُّ مرض تعفن جذور القمح من أهم الأمراض التي تصيب هذا المحصول. وقد أمكن عزل أكثر من ثلاثين نوعاً فطرياً من جذور نباتات القمح المصابة وتاجها. وكان أكثر تلك الأنواع تردداً هي *F. Fusariumculmorum* ، *oxysporum*، *F. graminearum* ،*F.solani* ،*Rhizoctonia solani (AG-4)* ،*Alternaria solani*، *Macrophomina phaseolina* ،*Gaeumannomces graminisvar .graminis*، *Helminthosporium sativum*.(Jenkyn and Jalaluddin ،1996).

ومع هذا العدد الكبير من المسببات فإن معظم الدراسات تتفق على أن المسببات الرئيسة لتعفن جذور القمح هي أنواع تتبع الجنسين *Fusarium* و *Helminthosporium*.

(Clarke وزملاؤه، 1994؛ EL-Meleigi ،1988).

وفي سورية دُرِسَ مقدار الخسارة في الإنتاج حقلياً بسبب مرض تعفن الجذور، إذْ بلغت النسبة 33% عند الأصناف القابلة للإصابة (الأحمد وزملاؤه، 2005).

وتعدُّ مكافحة مرض تعفن جذور القمح من أكثر الأمراض صعوبة، وتعتمد على:

- الطرائق الزراعية إذْ يؤدي التسميد المتوازن من الآزوت والفوسفور دوراً مهماً في تقليل حدوث المرض خاصة في الحقول المزروعة سابقاً بمحاصيل الحبوب

(Piening وزملاؤه،1983)؛ علماً أن التسميد المفرط بالآزوت يؤدي إلى زيادة المرض (Mergoum وزملاؤه،1994؛stack and McMullen ،1988).

- استخدام الأصناف المقاومة، ويجري عادة تجميع المورثات المسؤولة عن المقاومة في النبات عن طريق التهجين بين آباء تحمل الصفة المقاومة، وأخرى تحمل صفة الإنتاجية العالية، ومن ثمّ إجراء غربلة للنسل الناتج بوجود ضغط عالٍ من المرض، وانتخاب المقاوم أو المتحمل منها (Pink and Crute،1996)

ويجري التوجه عالمياً إلى استخدام الأحياء الدقيقة كعوامل مكافحة حيوية، وتعتمد المقاومة الحيوية اعتماداً أساسياً على خفض كثافة لقاح الكائن الممرض بواسطة كائنات حية دقيقة مضادة له تسمى مضادات الممرضات النباتية أو الكائنات الصديقة، وإحداث حالة عدم توافق فسيولوجي بين العائل النباتي والكائن الممرض عن طريق الهندسة الوراثية، أو تلقيح النبات بكائن ممرض أقل شدة، أو كائن غير ممرض على الإطلاق (Mamluk،1992). واستخدم في مكافحة أعفان جذور القمح كثير من الكائنات الحية الدقيقة وكان أكثرها نجاحاً : *Bacillus subtilis*، *Pseudomonas florescens*، *Trichoderma.spp* (Javad وزملاؤه، 2006). وبيّنت الدراسة التي أجراها Cavaglieri وزملاؤه (2005) أن أنواع بكتيريا *Bacillus* تتفوق في قدرتها الحيوية على كثير من الأنواع البكتيرية الأخرى في الحماية والمكافحة الحيوية للعوامل الممرضة الجذرية، وقد عزوا ذلك إلى قدرتها على تشكيل الأبواغ الداخلية (endospores)، وأيضاً إلى النشاط والطيف الواسع من المضادات الحيوية التي تنتجها. وقد أُخْتُبِرَتْ 10 سلالات من *Bacillus* وكانت أفضل سلالة هي *B. subtilis* CE1 لمكافحة أعفان جذور الذرة الناتجة عن *F.verticillioide* . وتأتي أهمية هذا البحث في الحدّ من الإصابة بهذا المرض ومن ثَمَّ الحدّ من تلك الخسائر في الإنتاج بطريقة حيوية دون اللجوء إلى المواد الكيماوية التي تسبّب تلوثاً للتربة والنبات والبيئة فضلاً عن تكاليفها المرتفعة .

هدف البحث الى :

1- عزل بكتريا من المحيط الجذري للقمح مضادة لمسببات أعفان جذور القمح .
2- دراسة قدرة العزلات البكتيرية على منع نمو أنواع من فطر الفيوزاريوم في المختبر.

مواد البحث وطرائقه:

أولا: جمع العينات

جُمِعَتْ خلال الجولات الحقلية النباتات التي تبدو عليها أعراض المرض كتلون بني على السلاميات تحت التاجية فضلاً عن ظهور بعض الأعراض على أغماد الأوراق السفلية. وذلك بهدف عزل المسبب المرضي. كما تم جُمِعَتْ نباتات سليمة ظاهرياً بجوار نباتات تبدو عليها أعراض الإصابة، أو جُمِعَتْ النباتات السليمة من حقول تبدو سليمة ظاهرياً، وذلك لعزل البكتريا المحيطة بالجذور التي يمكن أن تكون السبب في حماية النبات من الإصابة. وأُخِذَتْ النباتات المطلوبة مع جزء من التربة المحيطة بالجذور ووضعت في أكياس نايلون، وسجل عليها المعلومات الخاصة عن الموقع والتاريخ، وملاحظات أخرى، مثل: حقل مروي أو بعلي ونوع القمح المزروع إنْ عرف ....الخ.

نُفِذَتْ جولات حقلية في عدة مناطق من سورية؛ وذلك خلال عامي (2009–2010) شملت حقول قمح مروية وبعلية . وجُمِعَتِ العينات على مرحلتين، المرحلة الأولى: امتدت من نيسان إلى نهاية شهر حزيران وشملت الجولات المحافظات درعا – واللاذقية – ودير الزور جدول (1). والمرحلة الثانية: نُفِّذَتْ خلال المدة من أيلول إلى شهر شباط، حيث جمعت عينات تربة من (35) حقلاً مختلفاً (اللاذقية 13، وبانياس 13، وطرطوس 3، ودمشق 3، وحمص 3) بهدف زراعة بذور القمح فيها، وعزل البكتيريا من منطقة المحيط الجذري.

جدول رقم (1) عدد الحقول والمناطق التي جُمِعَتِ العينات النباتية منها .

المحافظة	المنطقة	عدد الحقول
درعا	بصرى الشام– الجيزة – جمرين – السهوة	27
اللاذقية	صلنفة – كسب – فيديو	13
دير الزور	–	3

ثانياً: العزلات الفطرية المستخدمة:

استخدمت عزلة من كل من الفطرين *Fusarium graminearum* و *Fusarium culmorum* تتميز بعدوانيتها العالية المنتشرة في سورية، التي عزلت وصنفت من قبل (خليفة،

2006). واستخدامت عزلة من فطر *Fusarium spp.* أُخِذَتْ من مختبر الأمراض في كلية الزراعة جامعة دمشق.

ثالثاً: عزل البكتيريا وحفظ العزلات:

عُزِلَت البكتيريا من منطقة المحيط الجذري لنباتات مزروعة حقلياً، ومن المحيط الجذري لنباتات زرعت مخبرياً ووضعت الترب التي جُمِعَتْ ضمن كؤوس بلاستيكية سعة 250 مل زرعت ببذور القمح بواقع خمسة كؤووس لكل عينة تربة، وعُزِلَتْ من منطقة المحيط الجذري بفصل الجذور وغسلها بماء الصنبور، ثمّ بالماء المقطر غسلاً جيداً؛ وذلك للتخلص من الكثافة العالية للبكتريا الموجودة بالتربة، ثم قطعت الجذور إلى قطع صغيرة 2–3 سم ووضعت في أنابيب تحوي 10مل ماءً مقطراً معقماً، ثم رجت الأنابيب مدة 5 دقائق بواسطة رجاج كهربائي، وذلك لفصل البكتريا الموجودة في منطقة المحيط الجذري، ثم اخذ 1مل من المعلق البكتيري، ومُدِّدَ 3 مرات بمعدل (1/10 – 1/100– 1/1000). وبعدها أُخِذَتْ قطرة بحجم 30 ميكروليتراً وتركيزاً 10^7 وحدة مكونة للمستعمرة نشرت بواسطة إبرة زراعة على سطح طبق بتري يحتوي على مستنبت (YPGA) (Y: مستخلص خميرة 7غ–P: بيبتون7غ– – G: غلوكوز 7غ – A: أغار 14غ) أُضِيفَ إليها لتر ماء معقم، أو على مستنبت (KINGB) (ببتون 20غ– غليسرول 10غ– سلفات المغنيزيوم 1,5غ– آغار 18غ)، أُضِيفَ إليها لتر من الماء المقطر المعقم عند درجة حرارة 120^0 مدة 30 دقيقة بالأوتوغلاف، وحُضِّنَتْ الأطباق عند درجة حرارة 25س°$\pm 1^0$ ومدة 3 أيام ،ثم عُزِلَتْ مستعمرات منفردة مختلفة من الأطباق بحسب لونها وقطرها وشكلها (محدبة – مسطحة – منتظمة – غير منتظمة)، وزرعت على أطباق جديدة للحصول على مستعمرة نقية ،حيث أُخِذَ جزء من المستعمرة بواسطة إبرة الزرع ونشرت على كامل طبق البتري وبواقع ثلاثة مكررات لكل مستعمرة . فُحِصَتْ 180 عينة على أطباق بتري بواقع 3 مكررات لكل عينة (أبو غرة،1997)، إذْ عُزِلَتْ 250 عزلة بكتيرية جدول رقم(2)، ثماني عزلات منها أعطت صفة التضاد، وحُفِظَتِ العزلات المختارة في بيئة حافظة (Stok) تتألف من (ملح NaCl80غ– .$Na_2HPO412H_2O$ 92/32غ K_2HPO4، 1.08 غ – ماءً مقطراً ومدد

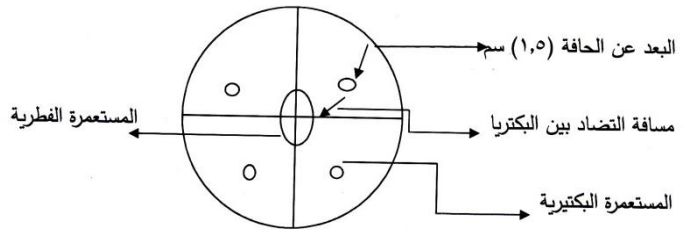
المحلول عند الاستخدام 10 مرات، ثمَّ وزع بأنابيب أبندورف وأُضِيفَ إليها 30% غليسرين.

جدول رقم (2) يوضّح عدد العزلات البكتيرية من كل محافظة

المحافظة	عدد الحقول	عدد العزلات البكتيرية
درعا	40	128
اللاذقية	26	78
بانياس	3	10
طرطوس	3	12
دمشق	3	6
حمص	3	8
دير الزور	3	8

رابعاً: اختبار قدرة البكتيريا المضادة لأعفان جذور القمح:

استخدم في هذا الاختبار مستنبت (KINGB+ PDA) مزيج بنسبة 1:1 عُقِمَ في درجة حرارة 120 س° مدة 30 دقيقة، ثم صُبَّ في أطباق بتري بلاستيكية بقطر 9سم. وُضِعَتْ قطعة من الفطر الممرض في مركز الطبق بقطر 0,5 سم، وقُسِّمِ الطبق إلى 4 أقسام، وضع في كل قسم وعلى بعد 1.5سم من حافة الطبق قطرة من المعلق البكتيري المختبر (25) مكروليتراً بتركيز 10^8 وحدة مكونة للمستعمرة، وبواقع ثلاثة مكررات لكل نوع فطري، كما في الشكل رقم (1):



الشكل (1) شكل تخطيطي يوضّح توزع المستعمرات البكتيرية حول الفطر الممرض ومقياس مسافة التضاد

حُضِّنَتِ الأطباق في درجة حرارة 25 س° مدة 7 أيام أُخِذَتِ القراءات يومياً حتى اليوم السابع، وسجلت النتائج بقياس مسافة التضاد من حافة المستعمرة الفطرية إلى حافة

المستعمرة البكتيرية (أبو غرة،1997). كما اِخْتُبِرَتْ 20عزلة بكتيرية أظهرت في دراسات سابقة (الحمدية،2002) بأنها تملك صفات تضاد على الفطر *Sclerotium cepivorum*، مصدرها مخبر أمراض النبات في كلية الزراعة – جامعة دمشق. وهي : , 57, J , 63:1 39, M4:2 , M,92, 6, M10:1, B5, B, H , 95, M4:1 ,T131, 32, G30:5, G11:1 , A3:1 , S30:1

عُرِّفَتْ وصُنِّفَتِ بعض العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً مضاداً على نمو الفطور الممرضة:

تمّ تعريف وتصنيف العزلات البكتيرية الـ (8)، وهي : w5،w4 ، w6، w7، w8 ، Ba22:،9:3،w11 التي تمتلك صفة التضاد للفطور المختبرة بإجراء بعض الاختبارات للوصول إلى الجنس البكتيري وهذه الاختبارات هي:

أ- اختبار صبغة غرام حسب طريقة RYV (Suslow وزملاؤه،1982) .

ب- اختبار الاوكسيداز : (MacFaddin، *2000*).

ت- اختبار متطلبات البكتيريا من الأوكسجين الحر (Hugh و Leifson،1953) .

ث- اختبار مقدرة البكتيريا على تشكيل الأبواغ الداخلية Endospores (Philipp وزملاؤه، 1981).

ج- اختبار مقدرة البكتيريا على إنتاج الصبغات الوميضية (Philipp وزملاؤه،1981).

النتائج والمناقشة:

أولاً: اختبار تأثير العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً مضاداً في أعفان جذور القمح:

بيّنت نتائج اختبار التضاد بين العزلات البكتيرية والفطور الممرضة المدروسة أن 8 عزلات بكتيرية فقط كان لها تأثير مضاد في الفطور الممرضة من أصل 250 عزلة وهي: w5،w4، w6، w7، w8، w11، Ba22:3،9:3 . ويوضح الجدول(3) تأثير العزلات البكتيرية في الفطور الممرضة حيث تباين هذا التأثير فوجد أن العزلة W8Ba،W4،22:3 كانت أكثر العزلات تأثيراً في الفطر *F.graminearum* ، وكانت مسافة التضاد (4-3.6-3.6) ملم على التوالي؛ وذلك في اليوم السادس من الاختبار .أمَّا باقي العزلات فراوح

تأثيرها بين (2–3.3) ملم إذْ كانت أقل هذه العزلات تأثيراً هي العزلة W7 (2) ملم، أما باقي العزلات فكان تأثيرها متقارباً (2–3) ملم.

أمَّا الفطر *F.culmorum* فكانت العزلات الأكثر تأثيراً فيه هي W6،W5،W4، وكانت مسافة التضاد (3.3-4.7-3.7) على التوالي، وأقل العزلات تأثيراً هي العزلة 9:3 (1) ملم. أمَّا باقي العزلات فكان تأثيرها متقارباً بين (1,3– 3,3) ملم، وبالنسبة إلى الفطر *Fusarium spp* كان أفضل تأثير للعزلات W5W W7،W4، وكانت مسافة التضاد (5,7-5,7-6-5,7) ملم، أمَّا أقل العزلات تأثيراً في العزلة 9:3 و 22:3 Ba(0) ملم .

وبالمقارنة بين العزلات البكتيرية وتأثيرها في جنس الفيوزاريوم لوحظ أنَّ العزلة W4 هي العزلة الأكثر تأثيراً فيه بشكلٍ عام، وبالنسبة إلى الفطرين، *F.culmorum* و F.spp فإن العزلتين W5 و W6 كان لهما تأثيراً قوياً على الفطرين وكانت أقل العزلات تأثيرا 9:3.

جدول(3) متوسط مسافات التضاد بالسنتميتر بين العزلات البكتيرية المعزولة من جذور القمح والفطور الممرضة من الفيوزاريوم في اليوم السادس.

رمز العزلة البكتيرية	Fusarium. graminiarium	Fusarium. culmorum	Fusarium. spp	المصدر	المحافظة
W8	**3.6**	**1.7**	**1.0**	تربة مزروعة مخبرياً بالقمح	درعا
W11	**3.3**	**1.3**	**0.7**	تربة مزروعة مخبرياً بالقمح	درعا
W4	**3.6**	**3.3**	**5.7**	تربة مزروعة مخبرياً بالقمح	درعا
W5	**3.3**	**4.7**	**5.7**	تربة مزروعة مخبرياً بالقمح	درعا
W6	**2.6**	**3.7**	**6.0**	تربة مزروعة مخبرياً بالقمح	درعا
W7	**2**	**2.7**	**5.7**	تربة مزروعة مخبرياً بالقمح	درعا
9:3	**3**	**1.0**	**0.0**	جذوررنبات قمح مزروع حقلياً	اللاذقية
Ba 22:3	**4**	**2.7**	**0.0**	تربة مزروعة مخبرياً بالقمح	حمص

واعتمدت قراءة اليوم السادس لمناقشة النتائج؛ وذلك كون شاهد الفطر في اليوم السابع نما خارج حدود الطبق.

أكد Javad وزملاؤه (2006) من خلال دراسة المكافحة الحيوية لمرض تعفن جذور القمح المتسبب عن الفطر *F.graminearum* باستخدام السلالتين البكتيريتين(*B.subtiles* 53-71) والسلالتين البكتيريتين(3–32) biov1 *Pseudomonas fluoresens* أنّ لهذه

السلالات القدرة على مقاومة الفطر *F.graminearum* إذْ انخفض نمو الميسليوم الفطري بفعل الخلايا الحرة والمواد الأيضية التي تنتجها البكتيريا كمضادات حيوية للفطر، وشكلت هالة تضاد بين البكتيريا المضادة والفطر الممرض. وكانت نسبة انخفاض نمو الهيفات الفطرية 87.5-97-97 % على التوالي وهذا يتوافق مع نتائج هذا البحث، كما بينت نتائج اختبار 20 عزلة بكتيرية أثبتت في دراسات سابقة أنَّها مضادة للفطر *Sclerotium cepivorum* أنّ 7عزلات منها، وهي (G11:1، H، T95،32، T131، J، 39) أعطت صفة التضاد على فطور أعفان جذور القمح المدروسة (جدول 4).

جدول (4) متوسط مسافات التضاد بين العزلات البكتيرية المضادة لفطر .S Cepivorum وأنواع من فطر الفيوزاريوم المسببة لأعفان جذور القمح مقيسة بالسنتيمتيتر في اليوم السادس.

الرقم	رمز العزلة البكتيرية	Fusarium. graminiarium	Fusarium. culmorum	Fusarium. spp	تعريف العزلة
1	H	3	3.0	4.0	*Pantoea* sp
2	**32**	**2.3**	**2.7**	**3.3**	*Bacillus* sp
3	**T131**	**2**	**2.3**	**2.3**	*Pseudomonas. florescens*
4	**J**	**2.6**	**2.0**	**1.0**	*Bacillus* sp
5	**39**	**3.3**	**3.3**	**2.7**	*Bacillus* sp
6	**G11:1**	**3.3**	**1.3**	**1.0**	*Pseudomonas. florescens*
7	**T95**	**2.6**	**3.0**	**2.3**	*Bacillus* sp

وراوحت مسافات التضاد بين المزارع البكتيرية والفطر (2 مم للعزلة T131) و3.3مم للعزلتين (G 11:1 و39) بالنسبة إلى الفطر *F.graminiarum* و(1مم للعزلة G11:1 و4مم للعزلة H) مم للفطر *F.culmorum.*

التحليل الإحصائي لقياس متوسط مسافات التضاد بين العزلات البكتيرية وأنواع فطر الفيوزاريوم:

حُلِّلتْ النتائج للعزلات البكتيرية المستخدمة ومعنوية تأثير العزلات البكتيرية في أنواع فطر الفيوزاريوم في اليوم السادس باستخدام برنامج التحليل الاحصائي SPSS الجدول رقم (5).

جدول (5) نتائج التحليل الإحصائي لقياس مسافات التضاد بين العزلات البكتيرية وأنواع فطر الفيوزاريوم ومعنوية تأثير العزلات البكتيرية في الفطور الممرضة في اليوم السادس

F. spp		*F.culmorum*		*F.graminiarum*	
A	W6	A	W5	A	Ba22:3
A	W7	B	W6	Ab	W4
A	W5	Bc	W4	Ab	W8
A	W4	Bc	39	Abc	W5
B	H	Bcd	95	Abc	G11:1
B	32	Bcd	H	Abc	W11
Bc	39	Bcdf	22:3Ba	Abc	39
Bcd	T131	Bcdf	W7	Abc	9:3
Bcd	95	Bcdf	32	Abc	H
Bcd	G11:1	Cdfe	T131	Abc	W6
Cdf	W8	Dfeh	J	Abc	J
Cdf	J	Feh	W8	Abc	95
Cdf	W11	Eh	G11:1	Bc	32
F	22:3Ba	Eh	W11	C	W7
F	9:3	H	9:3	C	T131

العزلات التي تشترك فيما بينها برموز متشابهة لاتختلف معنوياً في تأثيرها في الفطور لممرضة عند مستوى 5%.

لوحظ من خلال الجدول أنّ العزلات w4,w8 متشابهتان في تأثيرهما في الفطر *F.graminiarum* وكذلك كان هناك تشابه في تأثير العزلات w5,G11:1,w11,39,9:3,H,w6,j,95، وكذلك العزلتين w7, T131 أمَّا العزلات 32,Ba 22:3 فقد بيّنت اختلافاً عن باقي العزلات في تأثيرها في الفطر السابق بالنسبة إلى الفطر *F.culmorum* ، فقد تباين تأثير العزلات البكتيرية بين متشابه ومختلف من حيث معنوية التأثير، فقد تشابهت العزلات w4,39 والعزلات 95,H والعزلات Ba22:3,w7,32 والعزلات G11:1,w11 في معنوية تأثيرها، في حين كانت هناك فروق معنوية في تأثير العزلات الأخرى، مثل: w5,w6,T131,j,w8,9:3, 5:1 الفطر.

Fusarium spp. فقد تشابهت مجموعات من العزلات البكتيرية في تأثيرها مثل: العزلات w6,w7,w5,w4 والعزلتين H,32، والعزلات T131,95,G11:1 والعزلات، w8, j,w11، والعزلات 22:3Ba,9:3,5:1، وقد اختلفت العزلة 39 عن باقي العزلات في تأثيرها المعنوي على الفطر الممرض.

وهذا يتوافق مع نتائج Javad وزملاؤه (2006) الذي أكد وجود فروق معنوية بين السلالات البكتيرية المختبرة في تأثيرها في أعفان جذور القمح المتسبب عن الفطر *F.graminearum*

ثالثاً: تعريف بعض العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً مضاداً تجاه أعفان جذور القمح وتصنيفها:

بيّنت نتائج الاختبارات البيو كيميائية التي أجريت على العزلات البكتيرية الثماني المراد تعريفها ما يأتي:

إن العزلات البكتيرية المختبرة هي موجبة لصبغة غرام، وهي هوائية لا هوائية اختيارياً. وكان تفاعل هذه العزلات سالباً تجاه اختبار الأوكسيداز، وهذه العزلات البكتيرية ليس لها قدرة على إفراز الصبغة الوميضية على الوسط المغذي (King B) ، واستطاعت هذه العزلات أن تكون جراثيم داخلية. وبمقارنة نتائج الاختبارات البيوكيميائية الخمسة السابقة للعزلات البكتيرية الثماني مع دليل تصنيف البكتيريا(Williams وزملاؤه ,1989)، نستنتج أن العزلات البكتيرية تنتمي إلى جنس *Bacillus* جدول رقم (7). وهذا يتوافق مع ما أكده Cavaglieri وزملاؤه (2005) أن أنواع بكتيريا *Bacillus* تتفوق في قدرتها الحيوية على كثير من الأنواع البكتيرية الأخرى في الحماية والمكافحة الحيوية للعوامل الممرضة الجذرية، وقد عزوا ذلك إلى قدرتها على تشكيل الأبواغ الداخلية (endospores) وأيضاً إلى النشاط والطيف الواسع من المضادات الحيوية التي تنتجها.

جدول (7) الاختبارات البيوكيميائية للعزلات البكتيرية المعزولة من المحيط الجذري للقمح التي أبدت تأثيراً مضاداً تجاه أنواع من فطر الفيوزاريوم المسبب لعفن جذور القمح

رمز العزلة البكتيرية	الاختبارات البيوكيميائية				
	صبغة غرام	اختبار التنفس	اختبار الأوكسيداز	إنتاج الصبغة الوميضية	تكوين الأبواغ الداخلية
W4	+	D	-	-	+
W5	+	+	-	-	+
W6	+	+	-	-	+
W7	+	+	-	-	+
W8	+	+	-	-	+
W11	+	-	-	-	+
Ba 22:3	+	+	-	-	+
9:3	+	D	-	-	+
مواصفات الجنس *Bacillus*	+	D	D	-	+

يشير حرف D أنَّ النتائج متباية بالنسبة إلى الاختبار

ونستنتج مما سبق:

1– أثبتت ثماني عزلات بكتيرية، وهي: (w4,w5,w6,w7,w8,w11,Ba 22:3,9:3) تأثيراً مضاداً في أنواع فطر الفيوزاريوم المسببة لمرض تعفن الجذور .

2– بعض العزلات أبدت تاثيراً مضاداً في أنواع فطر الفيوزاريوم المختبر كلّها، وهي (w4,w5,w6,w7,w8, w11).

3– بعض العزلات ليس لها تأثير مضاد على كل أنواع فطر الفيوزاريوم المختبرة مثل العزلتين 9:3,Ba22:3 على *Fusarium spp*.

4– تفوق العزلات البكتيرية الثماني المعزولة من منطقة المحيط الجذري للقمح على العزلات البكتيرية المضادة لمرض العفن الأبيض على الثوم، مثل العزلة W6 على F.spp ، و w5 على *F.culmorum* و W4 على *F.graminearum*.

5– انتماء العزلات البكتيرية الثماني المعزولة لجنس الـ Bacillus بنتيجة الاختبارات البيوكيميائية.

6– إنَّ النتائج الأولية لاستخدام التضاد بين العزلات البكتيرية والفطريات الممرضة مؤشر جيد لاستكمال الاختبارات الحيوية ضمن برامج الإدارة المتكاملة لأمراض النبات.

المراجع

المراجع العربية:

1- الأحمد، أحمد؛ وميلودي نشيط؛ ومحمد موفق يبرق؛ ومحمد الخليفة.2005. تباين مسبب مرض تعفن الجذور الشائع على القمح تبعاً لدرجة حرارة التربة وأثره في الإنتاج. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية، سلسلة العلوم الزراعية: المجلد رقم 54.

2- أبو غرة، محمود؛ وزياد الدوجي.1997. أمراض النبات البكتيرية. كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية .

3- الحمدية، مجد. 2002. مكافحة مرض العفن الأبيض على الثوم بالطرق الحيوية بالمقارنة مع المكافحة الكيميائية للمرض، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة دمشق. سورية.

4- -الفارس، عباس منير. 1986. إنتاج المحاصيل الحقلية. كلية الزراعة، جامعة حلب، سورية.

5- -المجموعة الإحصائية الزرعية. 2013. جدول (10). وزارة الزراعة والإحصاء الزراعي. دمشق. سورية.

6- خليفة، محمد .2006. مرض تعفن الجذور الشائع على القمح في سورية والتباين الوراثي ضمن Fusarium spp كأحد مسبباته الرئيسية، رسالة دكتوراه، جامعة حلب. سورية.

المراجع الأجنبية

1. Clarke, P. J.; J. B. Thomas; and R. M. DePauw. 1994. Bluesky red spring wheat. Canadian Journal of Plant Science. 74: 135-136.
2. Crute, I. R; and D. A. C. pink. 1996. Genetics and utilization of pathogen resistance in plant .plant Cell, 8: 1747-1755.
3. Cavaglieri,l.; J. Orlando; M.I. Rodríguez; S. Chulze; and M. Etcheverry. 2005 .Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. Volume 156, Issues 5-6: 748-754.
4. El-Meleigi, M.A. 1988. Fungal diseases of spring wheat in centeral Saudi Arabic. Crop Protection . 4:207-209.

5. Hugh, R; and H. Leifson. 1953. The taxonomic signicance of fermenative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram-negative bacteria. Journal of Bacteriology 66:24-26.
6. Javad.N;H.Reza Etebarian; and G.Khodakaramian. 2006. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. Songk lanakarin J. Sci. Technol. 28:29-38
7. Jalaluddin M.; J.F.Jenkyn., 1996. Effects of wheat crop debris on the sporulation and survival of *Pseudocercosporella herpotrichoides*. *Plant Patholog* 45: 1052-1064.
8. MacFaddin J.F.2000., editor. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia :Lippincott Williams and Wilkins. P: 363-7
9. Mamluk, O.F. 1992. Durum wheat disease in West Asia and North Africa (WANA). Mexico, DF (Mexico). CIMMYT. P:89-107.
10. Mergoum, M., J. S. Quick; and N. Nsarllah. 1994. Root rots of wheat: inoculation techniques and effects on grain yield and its components under varying water and nitrogen levels in Morocco. Al-Awamia. 85: 49-63.
11. Gerhardt,P.1981. *American Society for Microbiology*, *Washington*, DC.P:524
12. 12- Piening, L. J.; D. R. Walker; and M. Dagenais. 1983. Effect of fertilizer on root rot of barley on stobble and fallow land. Canadian Journal of Plant Pathology. 5: 136-139.
13. Stack, R. W. and M. P. McMullen. 1988. Root and crown rots of small grains. NDSU Extension Service, Bulletin. Pp:785.
14. Suslow,T.V.; M.N. Schroth; and M.Isaka.1982. Application of a rapid method for Gram-differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology. 72:917-918.
15. Williams, S.T., M.E. Sharpe; and J.G. Holt . 1989. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.4: 211-224.
16. Wiese C., Bligny. 1991. Flexible coupling between light-dependent electron and vectorial proton transport in illuminated leaves of C-3 plants. Role of photosystem I-dependent proton pumping, Planta 210: 468–477.

Received	**2015/11/29**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2016/4/21**	**قبول البحث للنشر**