التحميل مجانى
مجلد 14(1) 2017
مجلة بغداد للعلوم

DOI: http://dx.doi.org/10.21123/bsj.2017.14.1.0022

التحري عن الفطريات المسببة لمرض سقوط البادرات وتعفن جذور نباتات الحنطة ومكافحتها احيائيا بالبكتريا *pseudomonas fluorescens*

اسماعيل عباس جديع*
عادل طه امين**

*الجامعة العراقية، كليه التربية، قسم علوم الحياة ، بغداد، العراق.
**وزارة العلوم والتكنلوجيا، دائرة البحوث الزراعية، بغداد، العراق

استلام البحث 17/ 1/2016
قبول النشر 23 /5 /2016

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivatives 4.0 International License

الخلاصة:

اجريت هذه الدراسة لتحديد الفطريات المسببة لمرض سقوط البادرات وتعفن جذور نباتات الحنطة ومكافحتها احيائيا باستعمال البكتريا *pseudomonas fluorescens* تحت ظروف البيت الزجاجي والحقل . اظهرت النتائج عزل ثمانية انواع فطريةمن تربة وجذور نباتات الحنطة لمناطق مختلفة من بغداد وكانت السيادة للفطرين *Rhizoctonia solani (Rs)* و*Fusarium solani (Fs)* وبنسب وجود 60 و 52%على التوالي. ادى استعمال البكتريا بتحضيرات المعلق الخام وراشح البكتريا النقي (الميتابولايت) والخلايا الحية النقية على الوسط الزرعي الى تثبيط جميع الفطريات وبنسب تراوحت من84 – 96 %، 80- 93 % و 75-88 % وعلى التوالي. اظهر الفطران Rs وFs قدرة إمراضيه عالية تحت ظروف البيت الزجاجي اذ بلغت نسبة الإصابة 80 و 68 % وشدة الإصابة 41.20 و 30.20 % على التوالي . اظهرت نتائج اختبار مستحضرات بكتيرية مختلفة (جاف ،سائل، راشح بكتيري نقي) وبثلاث طرائق للمعاملة (بذور، تربة، ماءسقي) فعاليةعالية لجميع المستحضرات الثلاثة في خفض نسبة الإصابة مع تفوق واضح لمعاملة البذور في الخفض اذ تراوحت المستحضرات الثلاثة من21 – 34 % مقارنة بمعاملة الشاهد الاول للفطرين Fs, Rs اذ بلغت 70 و 55 % على التوالي . اظهرت نتائج التجربةالحقلية تفوق معاملة بكترة البذور بالمستحضر الجاف مع وجود الفطرين بخفض نسبة الإصابة الى 38% مقارنة بمعاملة الشاهد الملوث بالفطرين التي بلغت 75%. وقد انعكس ذلك في زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري وبلغت الزيادة في الحاصل 63% مقارنة بمعاملة الشاهد الملوث بالفطرين .

الكلمات المفتاحية: سقوط البادرات، الحنطة، مكافحة احيائية .

المقدمه :

يحتل محصول الحنطة. *Triticum aestivum L* المرتبة الاولى في قائمة المحاصيل الاستراتيجية في العالم كونه المصدر الاساس للغذاء لاكثر من ثلثي سكان العالم لذلك باتت الحاجة مستمرة لزيادة انتاجة اذا ما علمنا ان سكان العالم يولدون بمعدل 160شخص/ دقيقة [1]. تستهلك الحنطة بشكل اساسي على هيئة خبز بأشكالها المختلفة فضلا عن منتجات غذائية اخرى [2] . يتعرض المحصول في العراق للعديد من الآفات الزراعية التي تؤدي دورا اساسيا في تدني الإنتاجية مقارنة بالمستويات العالمية [4,3] تسبب امراض الجذور عالميا خساره في الحاصل تصل الى10 – 15 % ويسبب الفطر *Rhizoctonia solane* خساره في الحاصل من 25 – 100 % [1]. لقد نالت المكافحة الكيميائية قائمة الصدارة بسبب فعاليتها وسهولة استعمالها وسرعة تأثيرها. استعملت العديد من المبيدات الكيميائية في مكافحة المسببات المرضية سواء المنقولة بالبذور او الموجودة في التربة[6,5] . الا ان التأثيرات السلبية لها لاسيما في البيئة وصحة الانسان والاحياء غير المستهدفة فضلا عن ظهور سلالات فطرية مقاومة لها[7] قد جعل منها مصدر قلق لكثير من الشعوب وحكوماتها، كون الحاجه ماسه الى منتجات زراعيه خاليه من السموم واضرارها [9,8] مما حفز الباحثين للبحث عن طرائق اكثر امانا للبيئة ومنها استعمال برامج المكافحة المتكاملة التي احدى ركائزها الأساسية هو استعمال عوامل المكافحة الأحيائية

الفطرية او البكتيرية[10] . وفي هذا المجال نالت البكتريا *Psendomonas fluorescens*اهتماما واسعا اذ استعملت بكفاءةعالية ضد فطريات التربة والبذور وبطرائق مختلفة منها معاملة البذور او التربة او مع ماء السقي او بمعاملة الشتلات لمحاصيل الخضر بتحضيرات سائله او جافه [12,11,10,6] ان الية عملها تتمثل اما بشكل مباشر من خلال التضاد واما المنافسة على الموقع واما افراز مركبات مثبطة واما مضادات حياتيه واما بشكل غير مباشر من خلال اذابه العناصر الغذائية وايصالها الى النبات او استحثاث المقاومة الجهازية في النبات او زيادة مقاومته للإجهادات الفسلجية [14,13,8,6] استعملت البكتريا في مكافحة العديد من مسببات امراض النبات الفطرية محليا وعالميا [17,16,15,13,12,11]. وفي العراق هنالك ظاهرة لدى اغلب المزارعين تتمثل باستعمال كميات من البذور للزراعة اكثر من الموصي به من قبل الجهات الرسمية وقد يعزى سبب ذلك الى فشل الانبات بسبب فطريات التربة او البذور مما يضطرهم الى التعويض بزيادة الكميه ، ولأجل الوقوف علميا على هذه الظاهرة فقد هدف البحث الى التحري عن مسببات فشل الانبات او تعفن الجذور في المراحل اللاحقة وتأثيرها على الانتاج ومحاولة مكافحتها احيائيا عن طريق استعمال البكتريا *pseudomonas fluorescens* وبطريقه سهله التطبيق يدويا وميكانيكيا .

المواد وطرائق العمل:

اولا: التجارب المختبرية :

1- اجراء العزل والتشخيص

تم جلب نماذج من جذور النباتات التي تظهر عليها علامات الذبول او الاصفرار والتقزم وكذلك الترب المحيطه بها ومن مناطق ابوغريب واللطيفيةو الراشديةو خان بني سعد والتاجي والمدائن التي تمثل الجهات الاربع لمدينة بغداد . غسلت الجذور جيدا بماء الحنفية لإزالةالأتربةثم قطعت الى قطع صغيرة وعقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 1 % لمدة 2 دقيقه ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لمرتين ونشفت على ورق ترشيح . تم زرع 4 قطع / طبق بقطر 9 سم حاوي على الوسط الزرعي PDA. حضنت بدرجة حرارة27 م لمدة 3 ايام. فحصت تحت المجهر للتشخيص. اما العزل من التربة فقد اجري بطريقة التخافيف والزراعة في اطباق بقطر9 سم تحوي الوسط الزرعي PDA . نقيت العزلات بعد التشخيص وحفظت في الثلاجة (4 مْ) الى حين الاستعمال. اعتمدت المفاتيح التصنيفيةالخاصة بالفطريات[19,18] .

2- اختبار التضاد بين التحضيرات البكتيريةالمختلفة والفطريات المعزولة

نميت عزلة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* التي اثبتت كفاءتها في مقاومة العديد من المسببات المرضية [15,11] على الوسط الزرعي السائل King's broth medium [20] (KB) لمدة 48 ساعة وبدرجة حرارة 27مْ . رشحت البكتريا من خلال ورق ترشيح No.1 للتخلص من متبقيات الوسط الزرعي . حضرت اطباق بقطر 9 سم تحوي الوسط الزرعي PDA . نشر 1مل من راشح البكتريا (الخلايا الحية +النواتج الأيضية) بالتخفيف $2x10^8$ وحدة تكوين مستعمره/ مل على سطح الطبق بوساطة قضيب زجاجي وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 28 مْ وبعد48ساعة تم وضع قطعة بقطر0,5 سم من مزرعة الفطر النامي وسط كل طبق مع ترك اطباق للمقارنة (من دون بكتريا). اعيدت الاطباق الى الحاضنةوعند اكتمال نمو الفطر في معاملة المقارنة سجلت اقطار النمو. حسبت نسبة التثبيط وفقا للمعادلةالأتية [21] .

شدة التثبيط % = معدل قطر مستعمرة المقارنة–معدل قطر مستعمرة المعاملة/معدل قطر مستعمرة المقارنةx100

من جهة اخرى اخذت كمية من راشح البكتريا واجري له نبذ مركزي بسرعة 3000 دوره/دقيقة لمدة 10 دقائق تم فصل الراسب الذي يحوي الخلايا البكتريةعن الراشح الذي يحوي النواتج الأيضية . اضيف الى الراسب ماء مقطر معقم ثم اعيد النبذ المركزي وتم فصل الخلايا التي ستكون بدرجةعالية من النقاوة اما الراشح فقد مرر من خلال وحدة ترشيح ميكروبية دقيقة Millipore filtration unit باستعمال ورق ترشيح ذي مساميه 0,22 مايكروميترالمجهزه من شركة Millepore الانكليزيه للحصول على راشح خالي من الخلايا البكتريه . تم التاكد من نقاوة الراشح والخلايا البكتيريه من خلال اختبارهما على الوسط الزرعي (KM) Kings agar medium. اضيف من الراشح النقي التراكيز 100,75,50,25مل/لتر من الوسط الزرعي PDA المعقم سلفا والمبرد الى درجة حرارة40مْ . وزعت في اطباق ثم زرعت بالفطريات مع ترك معاملة خالية من الراشح البكتيري للمقارنة اما الخلايا الحية للبكتريا فقد اضيف اليها كمية مناسبة من الماء المقطر المعقم واستعملت تراكيز الراشح نفسه وبمقدار 1مل/طبق ولكل تركيز(تخفيف$2x10^8$ خليه/مل) واجري العمل نفسه كما في حالة استعمال المعلق الخام . سجلت نسب التثبيط بحسب المعادلةالسابقة واستعمل تصميم تام التعشية وبأربعة مكررات.

ثانيا: تجارب البيت الزجاجي :

1-اختبار القدرة الإمراضية للفطريات المعزولة

نميت الفطريات المعزولة على بذور الدخن المحلي *Panicum miliceum* المعقم بجهاز المؤصدة [3,1]. عقمت تربة مزيجية بالمؤصدة مرتين ووزعت في اصص بلاستيكية سعة 3كغم. اضيف اللقاح لكل فطر بمقدار 1غم /اصيص وخلط

مع التربة بشكل جيد اما معاملة المقارنة فقد وضعت بذور دخن مقتولة فقط. سقيت جميع الاصص وغطيت لمدة 3 ايام ثم زرعت بذور الحنطة صنف مكسيبا كالمعقمة بهايبوكلورات الصوديوم 1% لمدة 5 دقائق. سجلت اعداد البذور النابتة وغير النابتة والبادرات الساقطة بعد 7و14 يوما من الزراعة . سجلت شدة الإصابة بعد 60 يوما من الزراعة باتباع الدليل المرضي الاتي :

0= نبات سليم ,1= تلون الشعيرات الجذرية بلون بني مصفر ، 2= تلون الجذور الرئيسة بلون بني فاتح ،3= تلون المجموع الجذري بلون بني فاتح ،4 = تلون المجموع الجذري بلون بني مسود ،5 = موت النبات بالكامل . حسبت شدة الاصابةبحسب المعادلةالاتية:

شدة الاصابة %=عدد النباتات من الدرجة 1x1....+عدد النباتات من الدرجة 5x5 \ العدد الكلي المفحوص x100 [22].

2-اختبار تحضيرات مختلفة من البكتريا وطرائق معاملة لاهم مسببين مرضيين

عقمت التربة بالمؤصدة ووزعت في اصص بلاستيكية حجم 3 كغم . استعمل لقاح الفطرين Fsو Rsكما في الفقرة ثانيا -1. استعملت البكتريا بثلاثة تحضيرات هي مستحضر جاف (بكتريا محملة على مادة النشا) ومستحضر سائل (بتنمية البكتريا على الوسط KB بالتخفيف $2x10^{8}$ وحدة تكوين مستعمرة/مل) والراشح النقي (كما في الفقرة اولا – 2 وبالتركيز 100مل / لتر ماء). استعملت ثلاث طرائق للمعاملة هي :

أ- معاملة التربة وذلك بإضافة 1 غم من المستحضر الجاف للبكتريا / اصيص اما المستحضر السائل والراشح النقي فقد اضيف 100 مل من كل مستحضر / اصيص .

ب- معاملة البذور رطبت البذور بمحلول سكري او بصمغ الزانثان لمدة عشر دقائق ثم اضيف اليها كمية مناسبة من المستحضر الجاف ووضع المزيج داخل دورق لغرض التحريك ثم زرعت في الاصص . اما المستحضر السائل والراشح النقي فقد نقعت البذور بهما مدة عشر دقائق ثم زرعت في الاصص .

جـ - المعاملة مع ماء السقي ، اخذ 3غم من المستحضر الجاف واضيف اليه 300 مل ماء رج المزيج جيدا وسقيت المكررات بالمعلق بالتساوي (100 مل / اصيص) مع ماء السقي . اما المستحضر السائل والراشح النقي فقد استعمل 100 مل / اصيص مع ماء السقي مع ترك معاملات من دون بكتريا بوجود الفطرين او من دونهما . سجلت البيانات كما في الفقرة ثانيا -1. استعمل التصميم العشوائي الكامل وبثلاثة مكررات.

ثالثا: التجربةالحقلية

نفذت تجربة حقلية بتصميم القطاعات العشوائيةالكاملة (RCBD) وبثلاثة مكررات لكل معامله ، قسم الحقل الى الواح بأبعاد 2x1م وبشكل خطوط بطول 1م. اعتمدت افضل طريقةللمعاملةبالبكتريا بحسب نتائج الفقرة ثانيا -2 وهي طريقة تعفير البذوربالمستحضر الجاف مع اضافة محلول سكري او صمغ الزانثان بكمية قليلة لزيادة التصاق البكتريا بالبذور[16]. اضيف لقاح الفطرين الى الخطوط بحسب المعاملات وبمقدار 2غم/خط مع ترك معاملةمن دون بكتريا او فطر للمقارنة. زرعت الخطوط ببذور الحنطة بمقدار 1غم/$م^2$بحسب توصيات وزارة الزراعة واجريت المعاملات الأتية : مقارنة (دون اي اضافة) ، مقارنة الفطرين Fs وRs بمفردهما او كليهما معا ، بذور مبكترة مع الفطر Fs اوRs او كليهما معا . سجلت البيانات الخاصةباصابات البذور والبادرات وكذلك تاثيرها في بعض معايير النمو الخضري والجذري والحاصل .

النتائج والمناقشة:

اولا- التجارب المختبرية

1-المسح الحقلي : اظهرت نتائج التحليل المختبري (جدول 1) وجود ثمانية انواع فطرية يمكن تصنيف وجودها بثلاث مجاميع ، المجموعة الاولى نسبة وجودها اكثر من 50% سواء في الجذور او التربة وهما الفطران *F.solani* و*R.solani* والثانية نسبة وجودها اكثرمن 20% وتشمل الفطرين *B.sorokinon* و*F.avenaceum* والثالثة بنسبة وجود اقل من 10% وتشمل بقية الفطريات . ان عزل الفطرين *F.solani* و *R.solani*بنسبه عالية من الجذور قد يعودالى حساسية البادرات والى القدرة الامراضية والمدى العائلي الواسع لهذين الفطرين خاصة وان عزلها قد تم من جميع مناطق المسح وبنسبة عالية ومن التربة ايضا مما يدل على قدرتها على البقاء في مخلفات النبات والمواد العضوية[24,23,3] . وفي العراق اجريت بعض الدراسات التي اختلفت في تحديد سيادة الفطريات المعزولة من نباتات الحنطة[4,3] وهذا قد يعود الى طبيعة الاختلاف بين مناطق المسح وسنوات اجرائه وتغاير الظروف البيئية والعمليات الزراعية التي قد تزيد او تقلل من سيادة فطر على اخر [25,23] .

جدول(1) : الفطريات المعزولة من جذور نباتات الحنطة والترب المحيطة بها (%)

الفطريات المعزولة	الوجود النسبي %		الموقع الجغرافي
	الجذور*	التربة**	
Fusarium solani	52	55	جميع المواقع
Fusarium avenaceum	23	25	ابو غريب - اللطيفيه
Fusarium graminearum	8	11	المدائن - ابو غريب
Rhizoctonia sp.	10	14	الراشدية - اللطيفيه
Rhizoctonia solani	60	64	جميع المواقع
Sclerotium rolfsii	6	8	الراشدية
Pythium spp.	3	6	التاجي
Biopolaris sorokinon	20	23	المدائن - خان بني سعد

* النسبة المئوية لمعدل تكرار الفطر لجميع المواقع محسوبا على اساس مجموع القطع التي ظهر فيها الفطر من مجموع قطع الجذور الكليةالمفحوصة .

** النسبة المئوية لمعدل تكرار الفطر لجميع المواقع محسوبا على اساس مجموع مستعمرات الفطر من مجموع مستعمرات الفطريات المعزولة.

2-التضاد المختبري بين البكتريا والفطريات المعزولة

اظهرت النتائج المعروضة في جدول (2) ان معلق البكترياالخام (الخلايا الحية والنواتج الايضية) قد ثبط نمو الفطريات بنسب تراوحت من 84-95% وبفروق معنوية احصائيا , اما عند استعمال الراشح النقي (الميتابولايت) فقد لوحظ ان هنالك زيادة معنوية احصائيا في نسب الثبيط ولجميع الفطريات مع زيادة تركيز الراشح التي بلغت ذروتها عند التركيز 100مل/لتر من الوسط الزرعي وبنسب تثبيط تراوحت من 80-93% وبفروق معنوية احصائيا . اما في حالة استعمال الخلايا الحية النقية فقد لوحظ انه بزيادة تركيزها في المحلول تزداد نسبة التثبيط وتصل ذروتها عند استعمال 100مل/لتر ماء اذ تراوحت نسب التثبيط من 75-88% . نلاحظ من الجدول ان معلق البكتريا الخام كان الاعلى في نسب التثبيط وهذا قد يعود الى ان وجود الخلايا الحية مع النواتج الأيضية يجعلها تستمر في افراز بعض المواد وتكون بكمية كافيةلإحداث التثبيط ومنها المضادات الحياتية والانزيمات المحللة وغيرها وقد وجد من الدراسات , [26,17]ان نسبة التثبيط باستعمال معلق البكتريا ضد الفطريات المسببةلأمراضالحنطة تراوحت بين 70-88% مختبريافي حين عند استعمال الراشح لوحده ستكون كمية المضادات الحياتيةمحدودة ومن ثم تحتاج الى تراكيز عاليةلا عطاءفعاليةتثبيطية وهذا ما تم الحصول عليه من الجدول ، كما ان الخلايا الحيه لوحدها قد لا يعطي نموها وقتا كافيا لإفراز المضادات الحياتية او ان طبيعة الوسط الزرعي الصلب غير ملائم لإنتاج كمية كافيةللتثبيط من هذه المضادات اوان عدد الخلايا غير كاف ، فقد وجد ان هنالك ارتباطا بين عدد الخلايا وانتاج المضاد الحياتي 2,4-diacetyl phloroglucinol (phl) اذ وجد انه لإنتاج0,62ملغم من المضاد نحتاج الى 10^5 وحدة تكوين مستعمره/غم من الجذور[1] . وقد اثبت الباحثون ان البكتريا بكل اشكالها فعالة في تثبيط الفطريات المعزولة مختبريا وهذه النتائج تتفق مع ماوجده[22,21,20,17,11,8] .

جدول(2) تأثيرمعلق البكتريا الخام و الراشح النقي(الميتابولايت) والخلايا الحية النقية للبكتريا *Pseudomonas fluorescens*في الفطريات المعزولة % تحت ظروف المختبر.

الفطريات المعزولة	التثبيط %								
	معلق البكتريا الخام (1مل/طبق)	تراكيز الراشح النقي مل/لتر وسط زرعي				تراكيز الخلايا الحيه النقية مل/لتر ماء (1مل/طبق)			
		25	50	75	100	25	50	75	100
F.solani	85	60	66	73	80	60	65	70	75
*F.*avenaceum	84	60	63	75	80	60	63	69	76
*F.*graminearum	*85	60	65	75	80	60	65	70	75
Rhizoctonia *.spp.*	95	70	78	86	92	60	68	76	82
*R.*solani	95	70	77	85	90	55	67	77	83
S.rolfsii	95	70	77	85	90	55	67	77	83
pythium.spp.	95	70	78	87	93	67	73	80	88
B.sorokinon	86	60	67	74	82	60	66	70	75
L.S.D. 0.05	8	5				5			

* كل رقم يمثل معدل اربعة مكررات

ثانيا: تجارب البيت الزجاجي

1- القدرةالأمراضية

اظهرت نتائج جدول (3) وجود تفاوت في نسبة الإصابة قبل وبعد البزوغ، تفوق الفطر Rs في احداث خسارة في البذور بمقدار 70% مقارنة بمعاملة الشاهد اذ بلغت 2% وبفروق معنوية احصائيا . تلاه الفطر Fsالذي ادى الى خسارة في البذور بمقدار 60% وبفروق معنوية مقارنةبمعاملة الشاهد (بذور غير ملوثة). كذلك وجدت فروق معنوية احصائيا بين الفطرين. وبعد 14 يوما من الزراعة لوحظ انخفاض في نسبة الإصابةللفطرين Fs,Rsفي البادرات بلغت 8 و 10% على التوالي مقارنة بمعاملة الشاهد 1% ولم تكن الفروق معنوية احصائيا بينهما وهذا يشير الى ان هذين الفطرين يعدان من المسببات المرضية التي تؤدي دورا مهما في تعفن البذور قبل البزوغ مما يدفع بالمزارعين الى زيادة كميةالبذور المطلوبةللزراعة ، وقد يعود السبب الى قدرة الفطريات على افراز السموم الفطرية التي تعمل بوصفها مثبطات لنمو البذور وهذا ما اكدته العديد من الدراسات [24,22,3]. واظهرت النتائج ان شدة الإصابة بالفطر Fs كانت اعلى من شدة الإصابة بالفطر Rs اذ بلغت 41,20%، 3,20% وعلى التوالي بفروق معنوية احصائيا الا ان كليهما متفوقان احصائيا على معاملةالشاهد 23% وهذا ما اكدته العديدمن الدراسات من ان الفطر Fs يعمل على تعفن الجذور ومنطقة التاج واصفرار وتقزم النبات وافراز الانزيمات المحطمة اكثر من الفطر Rs الذي يعد من الفطريات التي تسبب تعفن البذور بشكل كبير [28,27,24] . ان الضرر كبير خاصة اذا ماوجد الفطران معا في التربةفالخسارة في البذور او التأثيرفيالحالةالفسلجية للنبات لاحقا ستنعكس على الحاصل النهائي واعتمادا على هذه التجربة فقد اختير الفطران Fs,Rs للدراسات اللاحقة .

جدول (3) تأثير الفطريات المعزولةفي بذور نباتات الحنطة تحت ظروف البيت الزجاجي .

الفطريات المعزولة	نسبه الاصابة %			شده الإصابة (60 يوما)
	قبل البزوغ (7 يوما)	بعد البزوغ (14 يوما)	مجموع قبل وبعد البزوغ	
F. solani	60	8	68	41.20
*F.*avenaceum	30	10	40	22.90
F. graminearun	6	5	11	11.10
Rhizostonia spp.	36	8	44	23.70
R.solani	70	10	80	30.20
S. rolfsii	7	6	13	12.86
Pythium Spp.	10	6	16	14.70
P. sorokinon	20	6	26	22.80
Contnol	2	1	3	2,3
L.S.D. 0.05	9	6	8	8.20

*كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات .

2- تأثير المستحضرات وطرائق المعاملة ضد الفطرين Fs,Rs

اظهرت نتائج جدول (4) فيما يخص معاملة البذور ان جميع تحضيرات البكتريا قد ادت الى خفض نسبة الإصابة خلال سبعةايام من الزراعة اذ تراوحت بين 21-34% مقارنة بمعاملة الشاهد للفطرين Fs و Rsالتي بلغت 55%و75% وعلى التوالي بفروق معنوية احصائيا . لوحظ ان راشح البكتريا كان اقل فعالية من بقية التحضيرات البكتيرية اذ تراوحت نسبة الإصابة من 32-34% بفروق معنوية احصائيا عن بقية التحضيرات ، وقد يعود السبب الى ان الراشح قد خف تاثيره عند عملية سقي التربة مما ادى الى قلة تأثيره في البذور او تأثره بالعمليات الفسيولوجية في اثناء انبات البذور او تأثره بعوامل التربة الكيميائية والفيزيائية[21,16,5] . اما بعد 14 يوما من الزراعة فقد لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين جميع المعاملات البكتيريةمما يشير الى ان الراشح الذي امتص من قبل البذور ربما احدث استحثاث للمقاومة الجهازية في البادرات مما وفر حماية لها وهذا ما اشارت اليه العديد من البحوث [29,22,16]. واستمر تأثير البكتريا بتحضريتي المعلق والمستحضر الجاف بالفعالية ضد الفطرين الممرضين وبتفوق معنوي احصائيا على معاملة الراشح عند معاملة البذور فقد بلغت اقل شدة اصابة 23% لمعاملة المستحضر الجاف مع الفطر Rs في حين ان معاملة الراشح البكتيري مع الفطر Fs بلغت 43% ، وقد يعزى انخفاض فعالية الراشح ضد الفطريات الممرضة في مراحل متقدمة من عمر النبات الى انه يعمل لمدة محدودة بسبب تعرضه الى الظروف الكيميائية والفيزيائية والبيئية المحيطة بالبذور .ان موضوع استحثاث المقاومةالجهازية يتطلب استمرار استحثاث المواد داخل الخلية بفعل افرازات البكتريا المستمر مما يعني ضرورةوجود الخلايا الحيه للبكتريا وهذا عكس ما يحدث بمعاملة المعلق السائل والمستحضر الجاف اللذين يكونان فعالين في خفض نسبة الاصابة وشدتها [30,16,8,1] . اما عند استعمال تحضيرات البكتريا بطريقة معاملة التربة فلوحظ وجود زياده طفيفة في نسب الإصابةوشدتها قبل وبعد البزوغ . كما لوحظ من الجدول (4) ان جميع التحضيرات البكتيرية كانت فعالة في خفض نسبة وشدة

الإصابةخلال سبعةايام . كانت اعلى نسبة اصابة هي 37% لمعاملة الراشح مع الفطر Fs مقارنة بمعاملة الشاهد للفطرFs اذ بلغت 55% وبفروق معنوية احصائيا . كما لوحظ ان الراشح لم يكن فعالا بمستوى تحضيرتي البكتريا السائلة والجافة نفسها والتي فسرت سابقا . وهذا يتوافق مع المعاملةبماء السقي . نستنتج من هذا الجدول ان معاملةالتربة والمعاملة مع ماء السقي متقاربتان واقل فعالية من معاملة البذور وربما يعود هذا الى ان البكتريا ستكون متوزعة في التربة بعيدا عن موقع البذور مما يقلل من كثافتها العددية حول الجذور اذا ما علمناان كثافة البكتريا لها علاقة مهمة في الكميات المفرزة من المضادات الحياتية والانزيمات المحللة والمواد الاخرى [17,14,1] . استنادا الى هذه التجربة ولسهولة التطبيق الميداني لاحقا فقد اعتمدت طريقة تعفير البذور بالمستحضر الجاف للدراسةالحقلية.

جدول (4) : تأثير مستحضرات بكتريا Pseudomonas fluorescensوطرائق المعاملة في نسب الإصابة وشدتها (%) للفطرين *Rhizoctonia solani*و*Fusarium solani*تحت ظروف البيت الزجاجي.

مستحضرات البكتريا	طرائق المعاملة: البذور – نسبه الإصابة% – قبل البزوغ 7 يوما	البذور – نسبه الإصابة% – بعد البزوغ 14 يوما	البذور – شده الاصابة بعد 60 يوما %	التربه – نسبه الإصابة% – قبل البزوغ 7 يوما	التربه – نسبه الإصابة% – بعد البزوغ 14 يوما	التربه – شده الاصابة بعد 60 يوما %	ماء سقي – نسبه الإصابة% – قبل البزوغ 7 يوما	ماء سقي – نسبه الإصابة% – بعد البزوغ 14 يوما	ماء سقي – شده الاصابة 60 يوما %
مستحضر جاف+Rs	*23	5	23	26	7	26	27	8	26
مستحضر جاف Fs+	22	6	30	25	8	33	25	7	32
معلق بكتيري Rs+	24	5	24	27	7	27	28	8	26
معلق بكتيري Fs+	21	6	31	26	8	34	28	9	35
راشح بكتيري نقي Rs+	32	9	40	35	10	42	37	12	41
راشح بكتيري نقي Fs+	34	10	43	37	11	45	40	13	46
مقارنه (بدون اي فطر)	2	2	4	2	2	4	2	2	4
مقارنه الفطر Rs	75	12	45	75	12	45	75	12	45
مقارنه للفطر Fs	55	13	50	55	13	50	55	13	50
L.S.D. 0.05	8	6.4	8	7	4.8	8.3	8.4	3.8	8.5

*كل رقم في الجدول يمثل معدل 3مكررات .

ثالثاً - التجربةالحقلية

اظهرت نتائج جدول (5) ان نسب الإصابة قبل البزوغ (10 ايام من الزراعة) كانت اقل لجميع معاملات البكتريا سواء كانت في تربة ملوثة بالفطرين بشكل منفرد او خليطهما اذ سجلت معاملةالبذور المبكترة مع الفطر Fs نسبة اصابة 25% مقارنةبمعاملة الشاهد للفطر نفسه اذ بلغت 50% وكذلك التأثير مع الفطر Rs ولوحظ ان نسبة الإصابة للبذور المبكترةوالمزروعة في خليط الفطرين كانت مرتفعة (38%) مقارنة بالبذورالمبكترةوالمزروعة في تربة ملوثة بالفطرين Fs و Rs على انفراد(25و30 % وعلى التوالي) وبفروق معنوية احصائيا مما يشير الى القابليةالامراضيةالعالية لهما خصوصا عند وجودهما معا والمنافسة مع البكتريا على مواقع الإصابة على الشعيرات الجذرية ومن ثم نحتاج الى زيادة اضافات البكتريا بعد الزراعة اذا اردنا رفع مستوى المقاومة للنبات [13,12,5] . كما لوحظ ان نسب الإصابة بعد البزوغ ب 15 يوما كانت واطئة سواء في معاملات الفطرين لوحدهما اومع استعمال البكتريا كون انسجة النبات قد تصبح اكثر تغلظا ويصبح النبات اكثر مقاومة لحاله الذبول وعندها يتحول الفطران من مسببات ذبول الى مسببات تعفن الجذور والمنطقةالتاجية [32,31,28,1]. عند تقدير شدة الإصابة لوحظ انه لا توجدفروق معنوية بين معاملات البذور المبكترة والمزروعة في تربة ملوثة بالفطرين بشكل منفرد او خليط اذ تراوحت شدةالإصابة من 30-38% وبفروق معنوية عن معاملات الفطرين Rs و Fs او خليطهما اذ بلغت النسب 48و50 و 58 % على التوالي وهذا ما اكدته العديد من الدراسات من ان الفطرينRsوFs يسببان تعفن الجذور والمنطقة التاجية[26,16,1]. انعكس استعمال البكتريا في مقاومة الفطرين على معايير النمو الخضري اذ سجلت معاملة البذور المبكترة في تربة ملوثة بالفطرين وزنا للمجموع الخضري الجاف بلغ 17غم/نبات مقارنة بمعاملة الشاهد للفطرين التي بلغت 4,3غم/نبات وبفروق معنوية احصائيا كذلك سجلت المعاملة نفسها 18.3غم/نبات بوصفها وزنا للمجموع الجذري الجاف مقارنة بمعاملة الشاهد للفطرين اذ بلغت 5,3غم /نبات. وبشكل عام فان جميع

معاملات البكتريا قد اعطت زيادة في الاوزان الجافة للمجموع الخضري والجذري مقارنة بمعاملتي الفطرين لوحدهما وبفروق معنوية احصائيا . انعكس ذلك ايجاباً على زيادة الحاصل التي بلغت 63% عند الزراعة في تربة ملوثة بالفطرين معا في حين بلغت 80% عند الزراعة في تربة ملوثة بالفطر Rs لوحده. لقد اشارت العديد من الدراسات الى ان البكتريا pf تعمل على زيادة الحاصل من خلال زيادة مقاومة النبات باليات مختلفةفضلا عن افرازمنظمات النمو وادت الى زيادات كبيرة في الحاصل وصلت الى اكثرمن 100%[34,33,29] . وهنا يمكن ان نؤكد امكانية استعمال البكتريا المحملة بشكل مستحضر جاف مع البذور في الباذرات الميكانيكية لتوفير الحماية للبذور والنبات في المساحات الواسعة .

جدول (5): تأثير معاملة البذور بالمستحضر الجاف للبكتريا *Pseudomonas fluorescens* في نسبالإصابة وشدتها للفطرين *Rhizoctonia solani* و*Fusarium solani* وعلاقتها في بعض معايير النمو الخضري والجذري والحاصل تحت ظروف الحقل .

المعاملات	نسبة الاصابة % قبل البزوغ 10 يوما	نسبة الاصابة % بعد البزوغ 15 يوما	شدةالإصابةنهاية الموسم %	وزن المجموع الخضري الجاف غم/نبات	وزن المجموع الجذري الجاف غم/نبات	الحاصل غم/م^2	زياده في الحاصل %
المقارنة	15	7	10	14.4	14.3	180	_
التربه ملوثه بالفطر Rs	60	10	48	7.4	8.5	150	*17-
تربه ملوثه بالفطر Fs	50	11	50	5.4	7	160	11-
تربه ملوثه بالفطرين Rs+Fs	75	20	58	4.3	5.3	120	33-
بذور مبكتره مع الفطر Rs	30	8	30	18.5	19	270	** 80
بذور مبكتره مع الفطر Fs	25	6	36	18.3	19.3	265	66
بذور مبتكره مع الفطرين Rs+Fs	38	12	38	17	18.3	195	63
L.S.D. 0.05	7.5	6.4	8	1.6	1.4	12.5	

*الإشارةالسالبة تمثل نقصا في الحاصل اعتمادا على معاملة المقارنة

** الزيادة في الحاصل % = (B / B - A) X 100

A = حاصل معاملة البذور المبتكرة مع الفطر Rs او Fs او خليطهما

B = حاصل معاملة التربة الملوثة بالفطر Rs او Fs او خليطهما

المصادر:

[1] Pooja,S.; prashant, S. and Singh, M. P. 2015. Assessment of antifungal activity of PGPR (plant growth promoting rhizobacterial) isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat, Internat. J. of advanced Res. 3 (10): 803-812.

[2] Curtis, B. C.; Rajaram, S. and Macpherson, H. G. 2002. Food and agriculture Organization of the United Nation FAO-plant pritection series (30).

[3] ديوان، مجيد متعب و علوان، صباح لطيف و الكعبي، نزار. 2008. تأثير الفطريات المعزولة من جذور الحنطه على مرض موت البادرات ونمو النبات مجلة البصره للعلوم الزراعيه. 21 (عدد خاص): 91-101 .

[4] صالح، محمد محي الدين وعبود، هادي مهدي وعبد الكريم، محمد خلف وكشمر، حسين نعيمه . 2009 . التحري عن مسببات سقوط بادرات وتعفن جذور وذبول نباتات الحنطه في واسط والانبار. 14 (9): 182-189.

[5] Dhara, P. S.; Swaranjits, C. 2012. Bio surfactants in agriculture, World J. Microb. Biot. 28:1327-1350.

[6] Stokwell, V. O. and Stack, G. P. 2007. Using *Pseudomonas spp.* For integrated biological control, Phytopath. 97.244-249.

[7] Lugtenbrg, B. and Kamilova, F. 2009. Plant growth rhizobacteria ,Annu. Rev. Microbiol.63 : 541-556.

[8] Gnanamenickkan, S. S.2002. Biological control of crop diseases.Marcel Dekker Inc. newyork, pp.468.

[9] Lisansky, S.G. and Coombs, J. 1994. Development in the market for

biopesticides. Proceedings of the British crop protection conference, Pests and Dis.3:1049-1054.

[10] Paulitz, T. C.; Okubara, P. C. and Schroeder, L. K. 2009. Integrated control of soil-borne pathogens of wheat. PP:229-245 in:recent developments in management of plant diseases. Plant pathology in the 21st century V.I.I.C.U. Gisi and M.Galliro,eds. springer, Dordrecht, the Netherlands.

[11] الدليمي، اسماعيل عباس و موسى، شيماء عبداللطيف و احمد، سمير محمد. 2003 . تطوير وتقويم مستحضر جاف من البكتريا *Pseudomonasfluorescens*. مجلة الزراعة العراقية ، 8 (3): 104-110 .

[12] Haas, D. and Defago, G. 2005. Biological control of soil-born pathogens by fluorescent pseudomonas, Nat. Rev. Microb. 3:307-319.

[13] Compant, S.; Duffy, B. and Barka, E. 2005. Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases : principles, Mechanisms of action and future prospects , Minireview Appl. and Environ . Microb. 71 (9): 4951-4959.

[14] Daes, J.; DeMeyer, K.; Pauwelyn, E. and Hofte, M. 2010. Bio surfactant in plant- Pseudomonas interactions and their importance to bio control , Environ. Microb. 2:359-372.

[15] جديع، اسماعيل عباس و موسى، شيماء عبد اللطيف و علي ، عفراء عبد الوهاب وعباس، بلاسم احمد . 2009. المكافحه المتكامله لمرض الذبول الفيوزارمي على الطماطه بالتوافق بين البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والفطر *Trichoderma harzianum* تحت الظروف الحقلية . مجلة الزراعة العراقية ، 14 (3) : 1-10 .

[16] Moussa, A. A.; Almaghrabi, O. A. and Abdel-Moneium, T. S. 2013. Biological control of the wheat root rot Caused by *Fusarium graminearum* using some P G P R strains in Saudi Arabia, Annals of Appl. Biol. 163, (1) : 72-81.

[17] Yang, M. M.; Wen, S. S.; Marroidi, O. V. and Weller, D. M. 2014. Biological Control of Wheat root diseases by the CLP–Producing strain *Pseudomonas fluorescens*HCI-07,Phytopath. 104: 248- 256.

[18] Both, C. 1971. The Genus Fusarium, Commonwealth Mycological Institute , Kew, Surrey, England. 237P.

[19] Domsch, K. H.; Gams, W. and Anderson, T. 1980. Compendium of Soil fungi. Academic press. 859P.

[20] Mehdi, B.; Hhassan, R. E.; Gholam, K. and Mehrnoush, M. 2012 .Biological control of *Biopolaris specifera*, The causal agent of wheat root rot by *Pseudomonas fluorescens* isolates, Internat. J. of Agricul .and crop sci. 4-(8): 483-488.

[21] Fatima, Z.; Saleemi, M. and Aslam, M. 2009. Anti-fungal activity of plant growth promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat, Afri.J. Bio technol. 8(2):219-225.

[22] Mojibur, R. and Fiona, M. D. 2006. Biological control of Fusarium seedling Blight disease of wheat and Barley, Phytopath. 46(4):386-394.

[23] Paulitz, T. C.; Schroeder, K. L. and Schillinger, W. F. 2010. Soil-borne pathogens of cereals in an irrigated cropping system: effects of tillage, residue management, and crop rotation, Plant Dis.94:61-68.

[24] Smiley, R. W.; Gourlie, J. A.; Asley, S. A. and Patterson, L. 2005. Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington, Plant Dis.89(9):949-957.

[25] Chakraborty, S.; Liu, C.J.; Milter, V.; Scott, J. B. and Simpfendorfer, S. 2006. Pathogen population structure and epidemiology are keys to wheat crown rot and Fusarium head blight management, Aust. plant path. 35(6):643-655 .

[26] Swati, R. T. and preeti, T. 2015. *Invitro* antagonistic activity of *Pseudomonas spp.* against *Rhizoctonia solani*, Afr. J. of Micro. Res. 9 (25) : 1622-1628.

[27] Lozovaya, V. V.; lygin, A. V.; Zeruova, O. V. and Hartman, G. I. 2006. Lignin degradation by *Fusarium solanif.sp. glycines*, plant Dis.9:77-82.

[28] Palazin, J. M.; Groenenboom, B. H. and Chulze, S. N. 2013. Bio control and population dynamics of *Fusarium*spp. On wheat stubble in Argentina. Plant pathol.62(4): 859-866.

[29] James, C.; David, R.; Weller, M. and Haozhang, M. 2002.Yield responses of direct-seeded wheat to rhizobacteria and fungicide seed treatments .plant Dis. 86(7):780-784.

[30] Tahsein, A.; Zahra, O. and Chriswelch, H. 2008. Application and evaluation of *pseudomonas* Strains for bio control of wheat Seedling blight, Crop Protec. 27 (3-5): 532-536.

[31] Javad, N.; Hassan, R. E. and Gholam, K. 2006. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria, J.sci.Technol.28:29-38.

[32] Petra, N. G. 2003. bio control of Fusarium in wheat introducing bactera to a system of complex interactions. phD. thesis-swedish Universty of Agricultural science. Upsala. 98P.

[33] جديع، اسماعيل عباس وحسن، حيدر رشيد و محمد، ليث جاسم وموسى، شيماء عبد اللطيف. 2009 . استخدام البكتريا *Pseudomonas fluorescens*كمخصب حيوي لتحسين نمو وانتاجية نباتات الحنطة . مجلة الزراعه العراقيه ، 14 (7) :104 -112.

[34] جديع، اسماعيل عباس. 2011. تقويم استجابة خمسة تراكيب وراثية من الحنطة للتلقيح بالبكتريا *pseudomonas fluorescens* و *pseudomonas putida*، مجلة بغداد للعلوم 8(2) : 224-233.

Detection of wheat damping off and root rot disease pathogenic fungi and it bio control by *pseudomonas fluorescens*.

Adel T. Ameen* ***Ismael A. jdyea*****

*Department of Biology, College Of Education, Al-Iraqia University, Baghdad, Iraq.
**Ministry of science and technology, agriculture research office, Baghdad, Iraq.

Received 17 / 1/2016
Accepted 23/ 5/2016

Abstract:

This study was conducted to determine the fungal cause and bio control of damping off and root rot of wheat plants by using *pseudomonas fluorescens* under greenhouse and field conditions. Results showed isolation of eight species from the soil and roots to deferent region of Baghdad government. *Rhizoctonia solani* (Rs) and *Fusarium solani* (Fs) were the predominant damping off fungus with frequency 60 and 52% respectively. Led the using of bacteria formulations such as crud suspension , pure bacteria filtration and pure living cells in culture medium inhibit all type fungi with rates ranging from 84-96% , 80- 93% and 75-88% respectively. Rs and Fs were more pathogenesis under greenhouse conditions, with incidence of 80 and 68% and disease severity up to 41,20 and 30,20% respectively. The results of test bacterial formulation (dry, liquid and bacterial filtrate) with seeds, soil and water irrigation showed high effectiveness for all treatments with superiority of the treatment of seeds in reducing the incidence which reached for the three formulation 21-34% compared with the infested control of Fs, Rs which reached 70 and 55%, respectively. Field experiments results showed superiority of seeds bacterization with dry formulation to reduce the disease incidence to 38% compared with the infested control (75%).These results reflected on the increasing of the shoot and rot dry weight and increasing the productivity (63%) compared with the infested control treatment .

Key words: seedling damping off, wheat, bio control .