مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (33) العدد (1) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (33) No. (1) 2011

# انتشار وتوزع بكتيريا *Bacillus thuringiensis* Berliner في ترب نظم بيئية وزراعية مختلفة في سورية

**الدكتور محمد أحمد** *
**الدكتور عيسى كبيبو** **
**مايسة مهيار** ***

**(تاريخ الإيداع 1 / 9 / 2009. قبل للنشر في 17 / 1 / 2011)**

## □ ملخّص □

توجد البكتيريا الممرضة للحشرات *Bacillus thuringiensis* بشكل طبيعي في ترب الساحل السوري. عزلت *B. thuringiensis* ولأول مرة من 20 موقعاً على طول الساحل السوري ومن منطقة النبك ودرعا وتم تشخيص 219 عزلة على أنها تابعة لبكتيريا *B. thuringiensis* حيث تبين أنها تحتوي على الأجسام البلورية البروتينية وبأشكال متعددة. أشارت النتائج أن بكتيريا *B. thuringiensis* تنتشر بشكل واسع في جميع النظم البيئية الزراعية المختلفة وأنها أكثر وجوداً في تربة الغابات والشاطئ وتربة الأراضي المزروعة منها في تربة الأراضي غير المزروعة وتربة المناطق الداخلية الجافة. توجد بكتيريا *B. thuringiensis* في التربة السورية بنسبة 97% من مجموع العينات المختبرة. ترتبط وفرة وتعداد بكتيريا *B. thuringiensis* بعوامل متعددة منها نسبة المادة العضوية في التربة وحموضة التربة.

**الكلمات المفتاحية:** *B. thuringiensis*، النظم البيئية والزراعية، الأجسام البلورية البروتينية، سورية.

* أستاذ – قسم وقاية النبات . كلية الزراعة – جامعة تشرين . اللاذقية . سورية.
** أستاذ – قسم علوم التربة والمياه . كلية الزراعة – جامعة تشرين . اللاذقية . سورية.
***طالبة دكتوراه – قسم وقاية النبات . كلية الزراعة – جامعة تشرين . اللاذقية . سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (33) العدد (1) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (33) No. (1) 2011

# The Spread and Distribution of *Bacillus thuringiensis* Berliner bacteria in Different Ecosystem and agricultural Soils in Syria

**Dr. Mohammad Ahmad***
**Dr. Eisa Kebebo****
**Maysa Meihiar*****

**(Received 1 / 9 / 2009. Accepted 17 / 1 /2011 )**

## □ ABSTRACT □

The entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* was found to be naturally present in the Syrian coastal plain soils. *B. thuringiensis* was isolated for the first time from 20 sites examined and 219 isolates were identified as *B. thuringiensis* which contain different crystalline inclusion bodies. Results showed that *B. thuringiensis* was spread in all different ecosystems. Forest, beaches and the cultivated soil samples were more rich in *B. thuringiensis* isolates than uncultivated and interior arid areas. The *B. thuringiensis* isolates were distributed in soils at frequency of 97%. The abundance of *B. thuringiensis* was partially dependant on soil organic matter and pH value.

**Keywords**: *B. thuringiensis*، ecosystems. crystalline inclusion bodies, Syria.

***Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen Universiy, Lattakia, Syria.**
****Professor, Department of Pedelogy and Hydrology, Faculty of Agriculture, Tishreen Universiy, Lattakia, Syria.**
*****postgraduate student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

**مقدمة:**

اكتشفت البكتيريا الممرضة للحشرات *Bacillus thuringiensis* (*B. thuringiensis*) لأول مرة في اليابان عام 1901م كمسبب لمرض Sotto–Disease على دودة القز (*Bombyx mori* )، ثم سجلت عام 1911 من قبل العالم Berliner في ألمانيا كمسبب مرضي على عثة طحين البحر الأبيض المتوسط (*Anagasta kuehniella* ) في مخازن الحبوب، كما أثبت وجود بلورات البروتينات السامة للحشرات (Berliner, 1915; ) Delucca *et al.*, 1981 وحتى عام 1977م تم اكتشاف 13 تحت نوع لبكتيريا *B. thuringiensis* سامة ليرقات حشرات رتبة حرشفية الأجنحة، وفي عام 1977م و1983م تم إكتشاف تحت نوعين سامين لحشرات كل من رتبة ثنائية وغمدية الأجنحة على التوالي وأما الآن فهناك أكثر من 67 تحت نوع تم تعريفها وتسجيلها وأكثر من 150 حشرة تابعة لرتبة حرشفية وثنائية وغمدية الأجنحة عرفت بأنها حساسة لبكتيريا *B. thuringiensis* (Bajwa and Kogan, 2001 ).

تتميز البكتيريا الممرضة للحشرات *B. thuringiensis* بأنها موجبة لصبغة الجرام، عصوية الشكل، هوائية إختيارية، متحركة، تكون الأجسام البلورية البروتينية (الكريستالات) أثناء عملية تكوين الأبواغ ( Delucca *et al.*,1981 )، والتي تختص بفاعليتها السامة ضد الحشرات التابعة لرتبة حرشفية وثنائية وغمدية الأجنحة (Schnepf *et al.*, 1998)، مما أدى الى الاهتمام بها تجاريا". استخدمت في فرنسا لأول مرة كمبيد حشري عام 1938م وسجلت تجاريا" في الولايات المتحدة عام 1961م (Bajwa and Kogan, 2001 )، كما سمحت الولايات المتحدة أيضا" باستخدام حوالي 410 مركبا" تجاريا" مسجلاً من *B. thuringiensis* وبأشكال مختلفة ضد الآفات الحشرية (Aronson *et al*., 1986) وأصبحت الآن أكثر المبيدات الحيوية شيوعا" واستخداما" في العالم حيث يوزع 13000 طن من مستحضرات *B. thuringiensis* سنويا (WHO, 2000 ).

تنتشر بكتيريا *B. thuringiensis* طبيعيا" في جميع أنحاء العالم ( Martin and Travers,1989). عزلت بكتيريا *B. thuringiensis* من بيئات مختلفة منها: الحشرات المصابة (Chilcott and Wigley, 1993 )، وأسطح النباتات (Smith and Couche, 1991 )، والحبوب المخزونة (Delucca *et al*., 1982)، ومن التربة ( Travers *et al.*, 1987). وفي دراسة شملت 80 دولة تم الحصول على 5303 عزلة من *B. thuringiensis* 45% منها عزلت من المواد المخزونة و25% عزلت من التربة و10% عزلت من بقايا الحشرات و3% عزلت من أجزاء النباتات و15% عزلت من مواد مختلفة أخرى (Bernhard *et al.*, 1997 )، وفي نيجيريا تم الحصول على 6 عزلات لبكتيريا *B. thuringiensis* من التربة كانت جميعها سامة ليرقات البعوض (Ogunjimi *et al.*, 2000). وفي كندا تم الحصول على 102عزلة من *B. thuringiensis*، 33% عزلت من عينات التربة و66% عزلت من الحبوب المخزونة ( Morris *et al.*, 1998). وخلال اجراء مسح في 12 بيئة مختلفة من 17 موقعاً في شمال الأردن تم الحصول على 80 عزلة من بكتيريا *B. thuringiensis* (Obeidat *et al*., 1999). وفي دراسة في تايلاند تم الحصول على 299 عزلة من *B. thuringiensis* من عينات تربة جمعت من مناطق زراعة القمح ومطاحن الحبوب ( Chanpaisaen, 1995 ). وتم في كوريا حصر 58 عزلة من *B. thuringiensis* من التربة لمناطق مختلفة ووجد أن 35% من العزلات ممرضة للحشرات حرشفية الأجنحة و20% ممرضة للحشرات ثنائية الأجنحة و9% غير سامة ( Kim *et al.*, 1998 ). ذكر (Martin and Travers, 1989) أن بكتيريا *B. thuringiensis* لا تؤثر على يرقات الحشرات التي تقطن التربة.

## أهمية البحث وأهدافه:

أصبح التوجه العالمي في السنوات الأخيرة نحو العمل على تقليل استخدام المبيدات الكيميائية والتحول الى تطوير واستخدام المبيدات الحيوية، وقد حظيت المكافحة الحيوية بامتيازات أكثر من المكافحة الكيميائية، لذلك تم القيام بالعديد من الدراسات والأبحاث لتخفيض أعداد الآفات الحشرية باستخدام الوسائل الحيوية ومنها استخدام المبيد الحيوي الحشري *B. thuringiensis* فهو يشكل 1% من مجموع المبيدات الكيميائية (الحشرية والفطرية والعشبية)، وقد تم الاهتمام بها وبشكل تجاري كمبيد حيوي حشري لمكافحة الحشرات التابعة لرتبة حرشفية وثنائية وغمدية الأجنحة حيث يمكن استخدامها مع الأعداء الطبيعية الأخرى كالمفترسات والطفيليات لأنها ذات تخصص عالي ولا تؤثر على الحشرات النافعة غير المستهدفة، وهي آمنة جدا" على البيئة والإنسان والحيوان، وتقدر نسبة المبيعات من المستحضرات التجارية لبكتيريا *B. thuringiensis* في العالم 80- 90% من مجموع المستحضرات التجارية للمبيدات الحيوية الحشرية. تجدر الإشارة إلى الافتقار لوجود أبحاث متعلقة في مجال عزل سلالات محلية مختلفة من البكتيريا الممرضة للحشرات *B. thuringiensis* من البيئة السورية واستخدامها في برامج المكافحة الحيوية.

يهدف هذا البحث الى التحري عن وجود البكتيريا الممرضة للحشرات *B. thuringiensis* في تربة البيئة السورية المحلية وتعريفها ودراسة مدى انتشارها في النظم البيئية الزراعية المختلفة في المنطقة الساحلية من سورية، وسيتم تعريف تحت النوع لسلالات *B. thuringiensis* المعزولة من التربة وتقييم فعاليتها على بعض الحشرات التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة في مرحلة لاحقة.

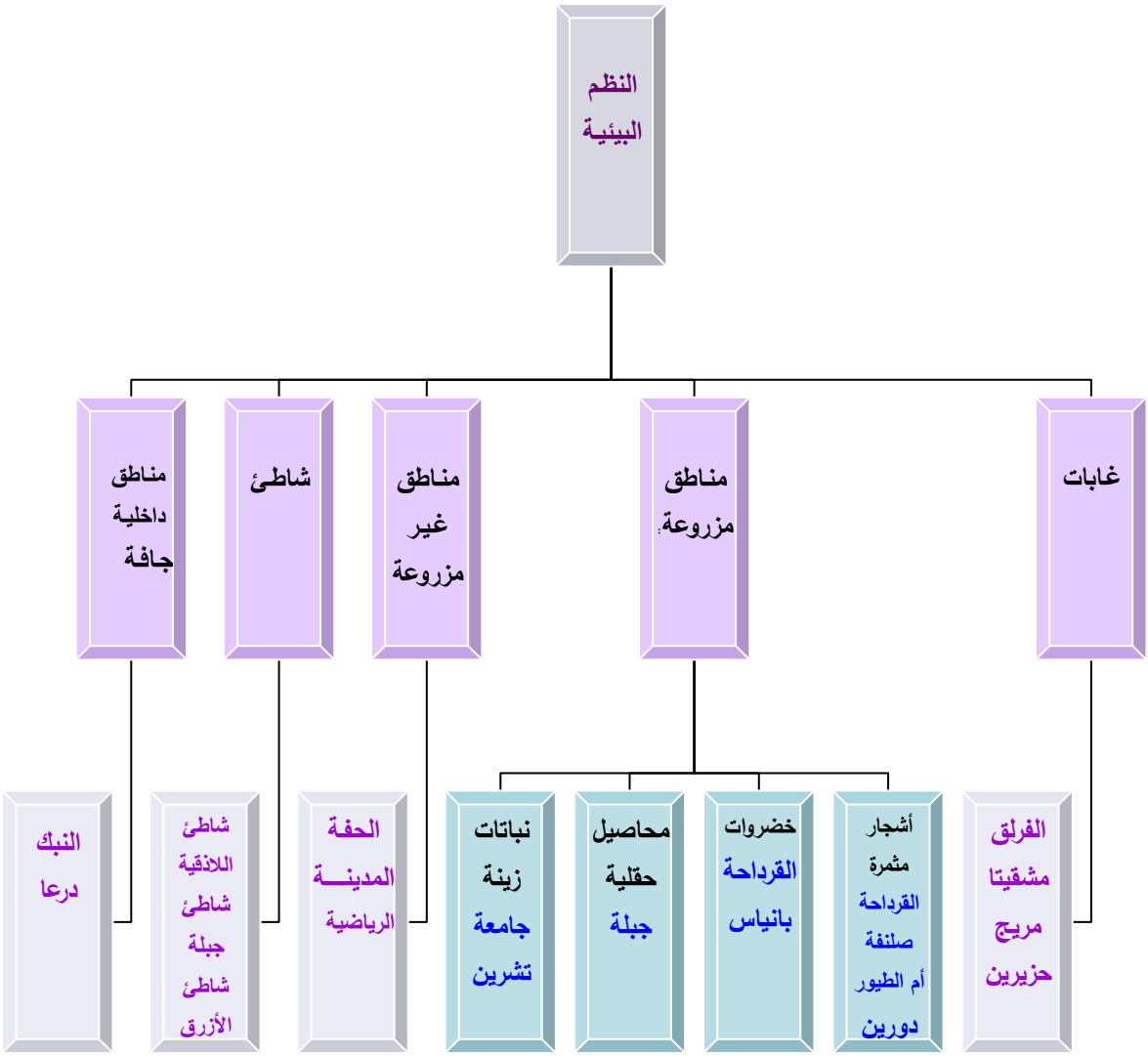
## طرائق البحث ومواده:

### جمع عينات التربة:

**تم** جمع 33 عينة مركبة من ترب نظم بيئية وزراعية مختلفة شملت 20 موقعاً في المنطقة الساحلية من سورية ومن منطقتي النبك ودرعا خلال شهري نيسان وأيار لعام 2008. يتضمن الشكل (1) النظم البيئية والزراعية المختلفة والمواقع التي تم أخذ عينات التربة منها والمحاصيل المزروعة فيها وعدد العينات لكل موقع.

أخذت كل عينة تربة مركبة من خمسة عينات تربة بسيطة من مواقع مختلفة وبشكل عشوائي من الحقل على عمق 2- 5 سم بعد ازالة الطبقة السطحية للتربة لازالة التلوث باستخدام المجرفة اليدوية (Hand shovel)، تم تعقيمها بالكحول الايثيلي وبتركيز 70% بعد أخذ كل عينة تربة مركبة حيث وضعت العينة في داخل كيس بلاستكي وسجل عليها الموقع الذي أخذت منه العينة وتاريخ أخذ العينة ونوع المحصول المزروع في الحقل وعمره ثم وضعت عينة التربة في صندوق بلاستيكي حافظ للتبريد(Ice box) ونقلت الى مخبر الأحياء الدقيقة في كلية الزراعة بجامعة تشرين وحفظت في البراد على درجة حرارة 4م° حتى يتم تجهيز العينة لعزل بكتيريا *B. thuringiensis* منها.

تم اجراء التحاليل المخبرية لعينات التربة لمعرفة الخصائص التالية: نسبة المادة العضوية بطريقة الترميد في مرمدة على درجة حرارة 550م° لمدة ثلاث ساعات، ودرجة الحموضة pH بوساطة جهاز pH/mv meter Paqualab، اجريت تحاليل التربة في محطة البحوث الزراعية بالهنادي التابعة لمركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية.




**الشكل ( 1 ): النظم البيئية والزراعية المختلفة والمواقع التي تم أخذ عينات التربة منها والمحاصيل المزروعة فيها.**

**عزل بكتيريا *Bacillus thuringiensis* من التربة:**

عزلت بكتيريا *B. thuringiensis* حسب الطريقة الموصوفة من قبل الباحثين (Travers *et al.*, 1987; Ohba and Aizawa, 1986). حيث تم أخذ 1غ من كل عينة تربة مركبة بعد حساب نسبة الرطوبة وأضيفت التربة الى أنابيب اختبار تحتوي على 10 مل ماء مقطر معقم ووضعت أنابيب الاختبار بعد خلطها جيداً في حمام مائي ( 80م°) لمدة 30 دقيقة وذلك لقتل كل أنواع البكتيريا (غير المكونة للأبواغ) تم أخذ 1مل من كل معلق وأضيف الى انبوب اختبار يحتوي على 10مل من بيئة LB broth: (10 g tryptone, 5 g yeast extract, 5 g NaCl and 1 ml 1 N NaOH) وأسيتات الصوديوم بتركيز 0.25M ( التي تمنع نمو أبواغ بكتيريا *B. thuringiensis* حصراً)، ثم نقلت أنابيب الاختبار الى الحاضنة وحضنت على درجة حرارة 30م° لمدة 4

ساعات، وبعد اخراجها من الحاضنة وضعت أنابيب الاختبار التي تحتوي على المعلق البكتيري في الحمام المائي على درجة حرارة 80م° لمدة 3 دقائق لقتل البكتيريا المكونة للأبواغ التي نمت بعد عملية التحضين. وبعد ذلك تم اخراج أنابيب الاختبار من الحمام المائي ومن ثم خفف المعلق البكتيري وزرع في أطباق بتري تحتوي على بيئة غذائية (3g tryptone, 2g tryptose, 1.5g yeast extract, 0.05M sodium phosphate 0.005g MnCl2 T3) وحضنت الأطباق المعداة لمدة 48 ساعة على درجة حرارة 30م° في الحاضنة لحين ظهور المستعمرات البكتيرية.

**الفحص المجهري:**

تم انتقاء 225 عزلة بكتيرية نمت على البيئة الغذائية T3 وفحصت تحت المجهر الضوئي للكشف عن وجود الأبواغ والكريستالات المميزة لبكتيريا *B. thuringiensis* باستخدام صبغة Carbol fuchsin (Stahly *et al.*, 1992 ) وهذه الصفة المعتمدة لتشخيص العزلات على أنها بكتيريا *B. thuringiensis* ( Travers *et al.*, 1987 ).

تم حساب تكرار (*B. thuringiensis* frequency) حسب المعادلة التالية:

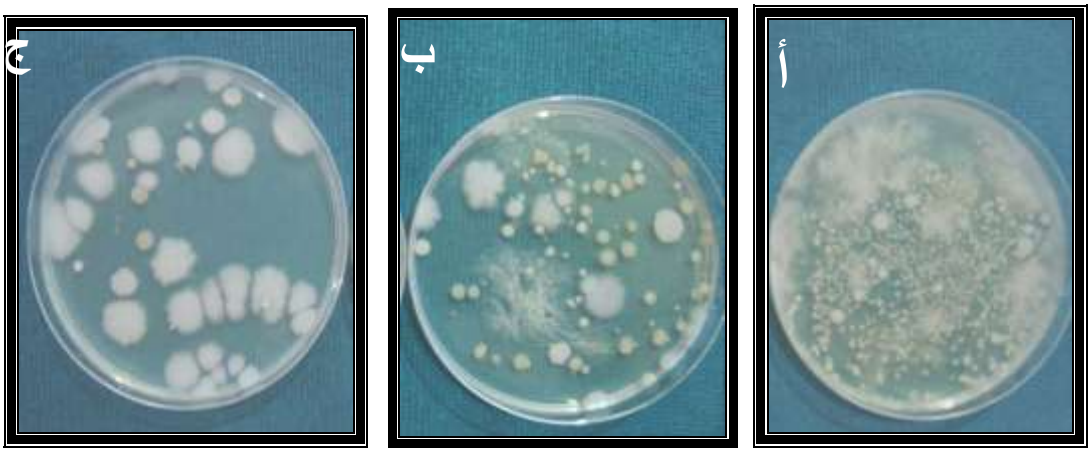
$$\text{تكرار } \textbf{\textit{B. thuringiensis}} = \frac{\text{عدد عزلات } \textbf{\textit{B. thuringiensis}}}{\text{عدد عزلات البكتيريا المكونة للأبواغ}} \times 100\%$$

## النتائج والمناقشة:

### 1. عزل البكتيريا من التربة

تم عزل البكتيريا *B. thuringiensis* لأول مرة من عينات التربة في سورية، حيث تعد التربة البيئة الطبيعية التي توجد فيها بكتيريا *B. thuringiensis* (Dulmage and Aizawa, 1982 ). ويبين الشكل رقم (2) ظهور المستعمرات البكتيرية بأشكال مختلفة وبأعداد كثيرة قبل عملية البسترة وظهور المستعمرات البكتيرية التي تكون الأبواغ بعد عملية البسترة وظهورالمستعمرات البكتيرية التي تشبه بالشكل المورفولوجي بكتيريا *B. thuringiensis* بعد استخدام طريقة Acetate selection method (Travers *et al.*, 1987).

بلغت نسبة وجود بكتيريا *B. thuringiensis* في الترب المدروسة 97% في مجموع العينات المختبرة وهي أعلى من نسبة وجودها في آسيا حيث وصلت الى 85% (Martin and Travers, 1989 ). وفي كندا كانت نسبة وجود *B. thuringiensis* في الترب المدروسة 26- 39% (Morris *et al.*,1998). وفي نيوزيلاندا وصلت نسبة وجود *B. thuringiensis* في التربة 70% (Chilcott and Wigley, 1993 )، وفي الأردن 63% (Obeidat *et al.*, 2000). ويرجع هذا الاختلاف في نسبة وجود *B. thuringiensis* في ترب المواقع المدروسة الى الاختلاف في جغرافية الموقع والاختلاف في البيئات التي أخذت منها العينات ونوع التربة المدروسة والظروف البيئية المحيطة بها (Ohba and Aizawa,1985; Obeidat *et al.*, 2004)




**الشكل (2):**

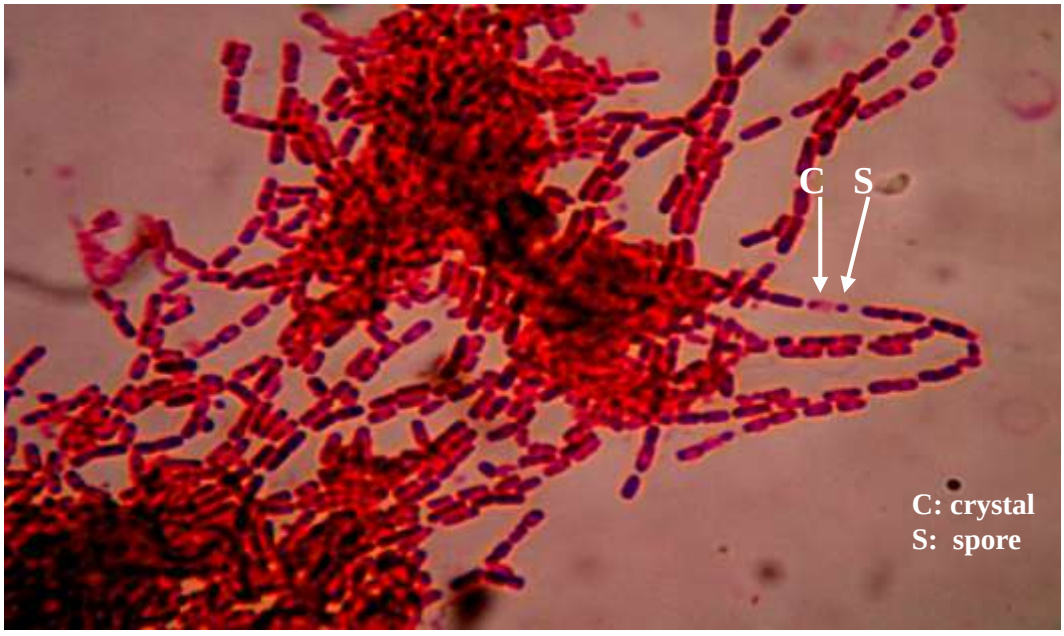
**أ- ظهور المستعمرات البكتيرية بأعداد كبيرة وأشكال مختلفة قبل عملية البسترة.**

**ب- ظهور المستعمرات البكتيرية التي تكون الأبواغ بعد عملية البسترة.**

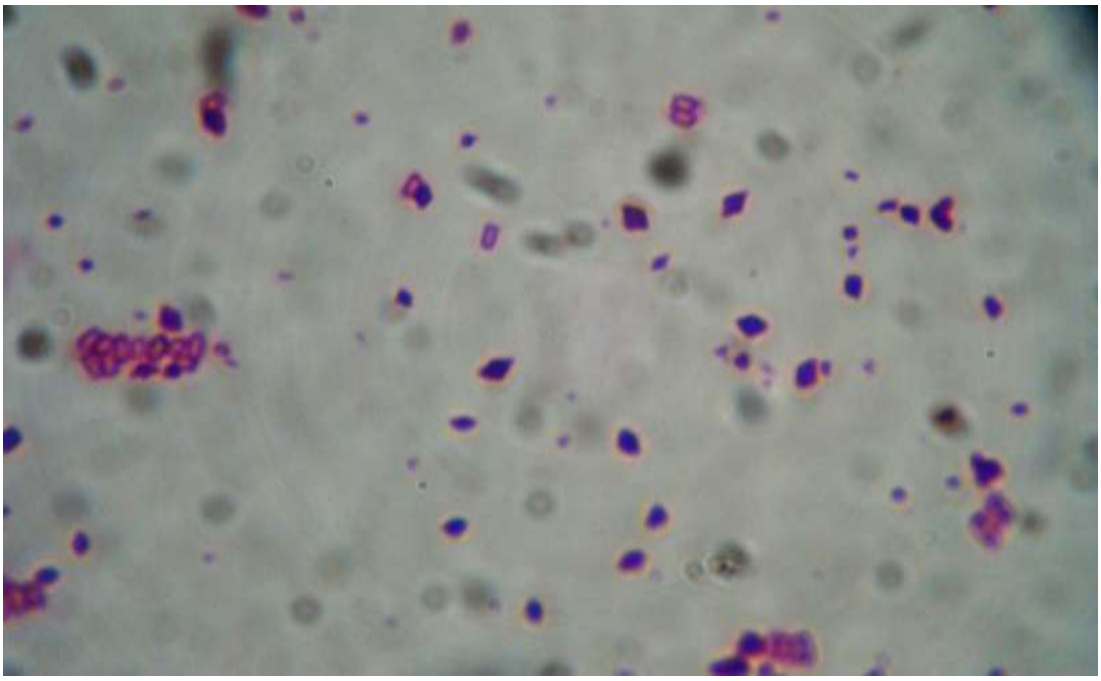
**ج- ظهور المستعمرات التي تشبه بالشكل المورفولوجي بكتيريا *B. thuringiensis*.**

**الفحص المورفولوجي**

تبين بعد الفحص المجهري بأن 219 عزلة (97%) من أصل 225 عزلة عزلت من عينات التربة شخصت بأنها تابعة لبكتيريا *B. thuringiensis* حيث ظهرت الأبواغ والأجسام البلورية (الكريستالات) بأشكال متعددة ومختلفة، ووجود الكريستالات تميز بكتيريا *B. thuringiensis* عن غيرها من البكتيريا المكونة للأبواغ كما في الشكل (3، 4).




**الشكل (3): ظهور الأبواغ (S) والكريستالات (C) داخل الخلايا البكتيرية العصوية باستخدام المجهر الضوئي بتكبير (X1000).**



**الشكل (4): ظهور الأبواغ (S ) والكريستلات (C) على شكل معين باستخدام المجهر الضوئي بتكبير ( X 2000 ).**

**توزع البكتيريا في النظم البيئية الزراعية**

قسمت عينات التربة التي جمعت من المواقع المختلفة إلى مجموعات بالاعتماد على النظم البيئية الزراعية المختلفة التي تمثلها كما في الجدول (1) حيث عزلت البكتيريا من جميع عينات التربة وتبين غنى ووجود بكتيريا *B. thuringiensis* في جميع ترب النظم البيئية الزراعية المختلفة. وهذا يتوافق مع نتائج الباحثين (Martin and Travers, 1989 ) عندما قاما بدراسة انتشار وتوزع *B. thuringiensis* في خمس قارات (أفريقيا وآسيا وأوروبا و شمال وجنوب أمريكا) والتي أخذت منها عينات التربة ووجدت بأنها تنتشر في جميع أنحاء العالم وفي جميع النظم البيئية الزراعية وأنها أكثر انتشارا وغزارة في قارة آسيا.

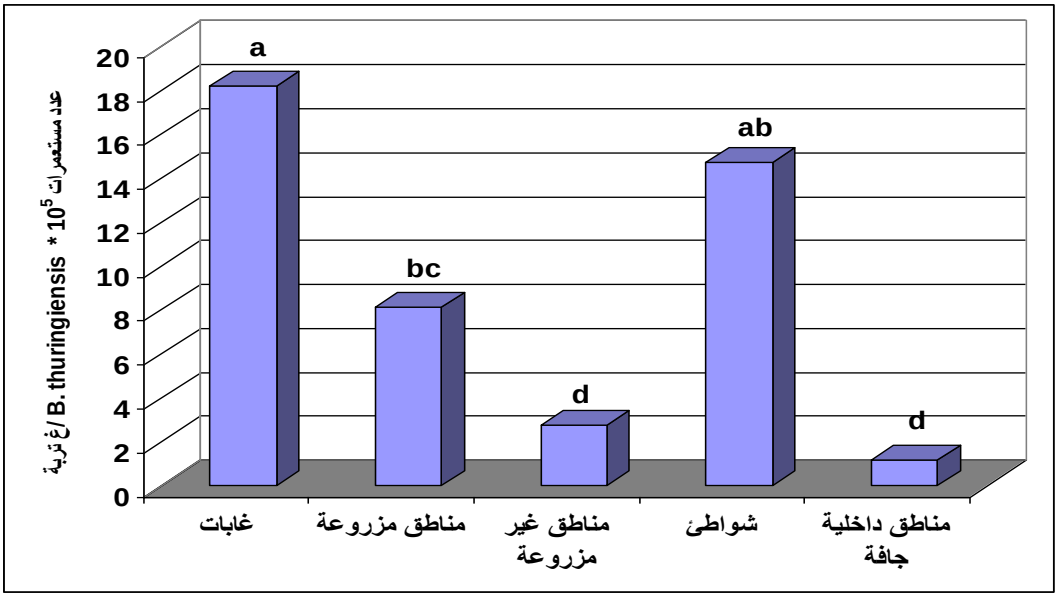
أظهرت النتائج أن تربة الغابات ( كنظام بيئي طبيعي ) غنية جدا ببكتيريا *B. thuringiensis* فبلغ اقصى عدد لبكتيريا *B. thuringiensis* في تربة غابات الفرلق ( 34× $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) ، كما وجدت أيضا تربة غابات شلالات حزيرين وغابات مشقيتا وغابات مريج غنية ببكتيريا*B. thuringiensis* (30 ×$10^5$ كائن مكون للمستعمرة) و (13.1 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) و ( 26.35 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) على التوالي. وبلغ متوسط أعداد بكتيريا *B. thuringiensis* في بيئة الغابات ( 18.2 x $10^5$ كائن مكون للمستعمرة ) الجدول (1).

كما يبين جدول (1) التفاوت في أعداد البكتيريا *B. thuringiensis* في بيئة المناطق المزروعة ( بساتين فاكهة، خضروات، محاصيل حقلية، نباتات زينة )، حيث بلغ متوسط أعدادها في بيئة المناطق المزروعة (8.1 x $10^5$ كائن مكون للمستعمرة). بينما نجد أن عدد البكتيريا *B. thuringiensis* في حقول الخضروات بلغ قيمة أعلى في حقل البندورة المزروع تحت البيوت البلاستيكية (14.4 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) مقارنةً مع حقل الكوسا وحقل الفول ( زراعة مكشوفة) (4.2 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) و(2.2 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) على التوالي. وبلغت أعداد *B. thuringiensis* (2 ×$10^5$ كائن مكون للمستعمرة) في التربة المزروعة بأشجار

الزيتون في القرداحة أقل من عدد *B. thuringiensis* (8,2 ×$10^5$ كائن مكون للمستعمرة) في التربة المزروعة بأشجار الزيتون في دمسرخو. كما وجد أن عدد بكتيريا *B. thuringiensis* في حقل مزروع بأشجار الكرز في صلنفة (20.6 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة). وفي حقل مزروع بالقمح في جبلة بلغ عدد البكتيريا (25 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) و بلغ عدد البكتيريا في حقل مزروع بنباتات زينة في جامعة تشرين (21.9 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة).

ووجد أن متوسط أعداد البكتيريا في تربة الشاطئ (14.8 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة). وفي المناطق غير المزروعة كان متوسط أعداد بكتيريا *B. thuringiensis* منخفضاً ويبلغ حوالي (2.8 × $10^5$ كائن مكون للمستعمرة). وكذلك في المناطق الداخلية الجافة ( النبك ، درعا ) حيث كان متوسط أعداد *B. thuringiensis* هو الأقل حوالي (1.2 x $10^5$ كائن مكون للمستعمرة) .

وبمقارنة وفرة أعداد بكتيريا *B. thuringiensis* في الأنظمة البيئية المختلفة . اتضح خلال التحليل الإحصائي للبيانات نظام الاقتطاعات العشوائية المتكاملة (برنامج التحليل الإحصائي، MSTATC) ان انتشار البكتيريا كان الأعلى في بيئة الغابات شكل (5) والشاطئ والمناطق المزروعة مقارنة مع بيئة المناطق غير المزروعة وبيئة المناطق الداخلية الجافة حيث وجد أن هناك فروقاً معنوية بين بيئة الغابات وسائر البيئات الأخرى ما عدا بيئة الشاطئ. وهذا يتوافق مع ما أشار اليه الباحثان (Martin and Travers,1989) بانتشار بكتيريا *B. thuringiensis* بشكل أكبر في الغابات والسهول والمناطق الزراعية مقارنة مع المناطق غير المزروعة والصحراوية. وخلال التحليل الإحصائي تبين أن هناك فروقاً معنوية بين عدد بكتيريا *B. thuringiensis* في بيئة الشاطئ وبين العدد في كل من بيئة المناطق غير المزروعة وبيئة المناطق الداخلية الجافة. كما تبين ان هناك فروقاً معنوية في أعداد بكتيريا *B. thuringiensis* بين بيئة المناطق المزروعة وبيئة المناطق غير المزروعة وبيئة المناطق الداخلية الجافة.

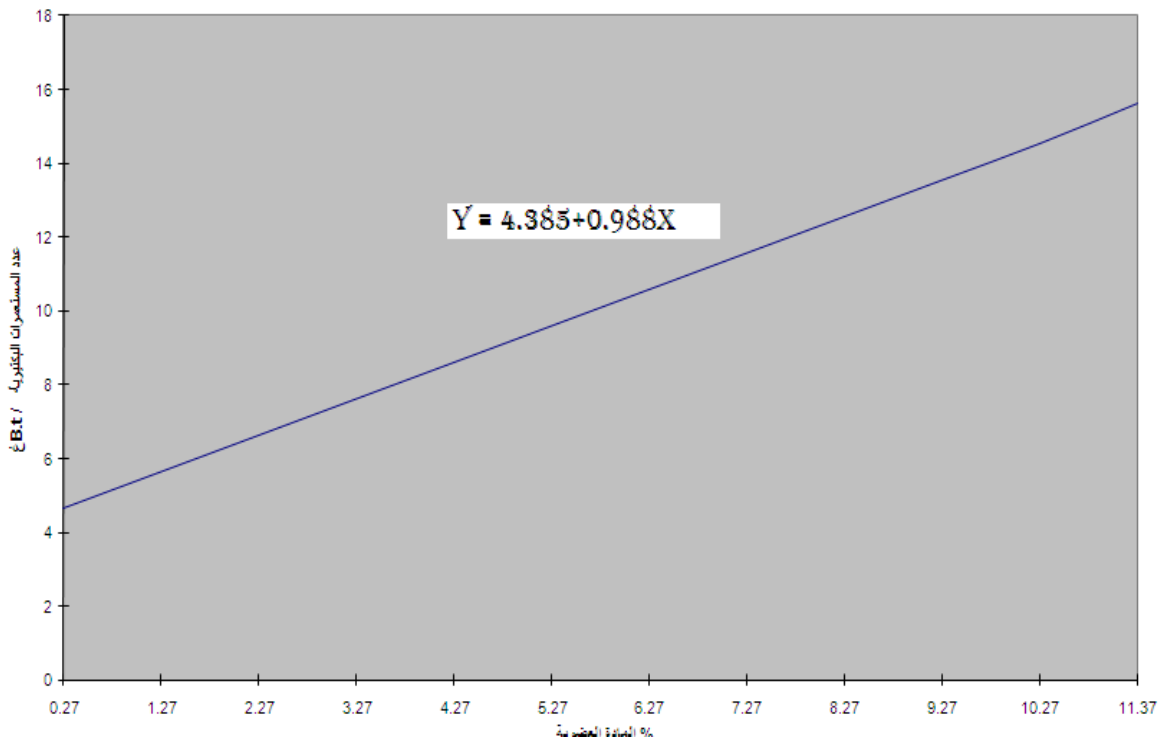



**شكل 5 : إنتشار البكتيريا *B. thuringiensis* في النظم البيئية المختلفة في سورية**

* الأعمدة التي تحمل حروف متماثلة لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى 5% – LSD (قيمة LSD= 4,696).

ويعزى سبب إنتشار بكتيريا *B. thuringiensis* في الأنظمة البيئية المختلفة كونها تشكل الأبواغ المتحملة للظروف الجوية غير الملائمة من درجات الحرارة المنخفضة والتي تصل إلى −20 م° (Adison, 1993). وارتفاع في درجات الحرارة تصل الى 80م° (Petras and Casida, 1985). كما يمكن لهذه الأبواغ أن تتحمل الجفاف وتستطيع أن تتكاثر في التربة الرملية التي تكون نسبة الرطوبة فيها أكثر من 10% و تنمو جيدا" عندما تكون نسبة الرطوبة 36% فما فوق (Adison, 1993). كما يمكن أن توجد في الأنواع المختلفة من الترب حيث عزلت بكتيريا *B. thuringiensis* من ترية طينية (Clay) وترية طينية غروية (Clay loam) وترية رملية غروية ( Sandy loam) في مصر ( Salama *et al*., 1986).

وفي محاولة تفسير التباين في وفرة بكتيريا *B. thuringiensis* وإنتشارها في الأنظمة البيئية المختلفة تم تحليل التربة من مواقع أخذ العينات حيث تراوحت نسبة المادة العضوية في البيئات المختلفة بين 0.27−11.37%، وحموضة التربة ( pH ) من 6.89−8.41. وبتحليل معامل الارتباط بيرسون بين تعداد بكتيريا *B. thuringiensis* والنسبة المئوية للمادة العضوية وجد ان هناك علاقة طردية متوسطة معنوية ( معامل الأرتباط = 0.58 ) بين نسبة المادة العضوية وأعداد البكتيريا . وعلاقة ارتباط عكسية ضعيفة ولكنها معنوية بين درجة حموضة التربة (pH ) وأعداد بكتيريا *B. thuringiensis* ( معامل الارتباط = − 0.37 ). وهذا يعني انه كلما ارتفعت نسبة المادة العضوية واتجهت التربة إلى التعادل والقلوية الخفيفة إرتفع عدد *B. thuringiesis* والعكس بالعكس جدول (1) وشكل (6).




**شكل (6 ): منحنى معادلة الإنحدار الذي يبين العلاقة بين عدد المستعمرات البكتيريه B.t. ونسبة المادة العضوية في التربة.**

إن الكثير من العوامل تتداخل في أسباب وفرة وإنتشار البكتيريا ويعزى سبب وجود بكتيريا *B. thuringiensis* بغزارة وخصوصا في ترية الغابات الى غناها بالمادة العضوية ، حيث يعتقد بأنها تعيش في

التربة بشكل رمي (Charles *et al*., 2000)، ولتوفر الرطوبة العالية ولأن البيئة مناسبة لنشاط الحشرات المختلفة ولعدم استخدام المبيدات الكيميائية في مكافحة الحشرات في الغابة الا اذا اقتضت الضرورة، وهذا يتوافق مع ما ذكر في دراسة في السويد ( Landen *et al*., 1994) بأن عينات التربة التي جمعت من الغابات كانت أكثر احتواء ببكتيريا *B. thuringiensis* من عينات التربة التي جمعت من المناطق الزراعية، كما أظهرت دراسة في الأردن بكثافة تواجد بكتيريا *B. thuringiensis* وأنواع أخرى من *Bacillus* في التربة الملوثة بجثث الحيوانات المتحللة ومخلفات الحيوانات لتوفر المادة العضوية بشكل أكثر ونشاط الحشرات بشكل أكبر ( Meadows *et al*., 1992; Obeidat *et al*., 2000).

كما يعزى سبب انتشار ووفرة *B. thuringiensis* في بيئة الشاطئ رغم انخفاض مستوى المادة العضوية إلى النشاط البشري الذي يشهده الساحل السوري من حركة لنقل البضائع من منتجات زراعية ومواد غذائية وحبوب مخزونة بين الدول المطلة على البحر الأبيض المتوسط والتي عادة ما توجد فيها بكتيريا *B. thuringiensis* بوفرة، وبالإضافة الى قرب الشاطئ الساحلي السوري وتداخله مع المناطق الزراعية والغابات والمناطق السكنية حيث تساعد الرياح ومياه الري والأمطار ونشاط الحشرات ومنها البعوض في هذه المناطق في توفرها وإنتشارها وهذا ما أشار إليه (Bernhard *et al*., 1997) من أن نقل المواد الغذائية والحبوب الزراعية المخزونة والعوامل الطبيعية كالمياه والرياح والحيوانات المهاجرة من الأسباب المؤدية الى دخول وانتشار بكتيريا *B. thuringiensis* في المناطق والدول المختلفة وعلى مدى واسع.

## الاستنتاجات والتوصيات:

عزلت البكتيريا الممرضة للحشرات *B. thuringiensis* لأول مرة من التربة السورية، كما أثبتت هذه الدراسة وفرة" وإنتشارا" طبيعيا" لها في جميع النظم البيئية المختلفة والتي تقع على طول الساحل السوري، حيث أظهرت النتائج تبايناً في أعداد البكتيريا يتبع اختلاف الأنظمة البيئية ومستوى المادة العضوية في التربة وحموضة التربة.

ويتم حالياً تحديد تحت الأنواع لبكتيريا *B. thuringiensis* من خلال الاختبارات البيوكيميائية والسيرولوجية ودراسة مدى سميتها على عدد من الحشرات التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة مخبريا" وذلك كمقدمة لتشكيل قاعدة بيانات خاصة للإستفادة من العزلات الأكثر سمية في مكافحة الآفات الحشرية الاقتصادية.

**جدول (1): إنتشار البكتيريا والبكتيريا المكونة للأبواغ والبكتيريا الممرضة للحشرات *Bacillus thuringiensis* في ترب النظم البيئية الزراعية المختلفة.**

| النظم الزراعية | المواقع | رقم عينة التربة | عدد المستعمرات البكتيرية $\times 10^9$/غم تربة جافة | عدد المستعمرات البكتيرية المكونة للأبواغ $\times 10^7$/غم تربة جافة | عدد المستعمرات *B. thuringiensis* $\times 10^5$/غم تربة جافة | * *B. thuringiensis* index | نسبة المادة العضوية | درجة الحموضة |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| غابات | | | | | | | | |
| | غابات الفرلق | 1 | 13.4 | 22.7 | 25.1 | (22/23)0.96 | 11.37 | 6.89 |
| | | 2 | 75.7 | 48.2 | 34 | (21/22)0.95 | 11.30 | 6.90 |
| | | 3 | 25 | 38 | 16 | (15/16)0.94 | 8.56 | 7.00 |
| | مشقيتا | 4 | 8.2 | 2.2 | 13.1 | (9/9)1 | 6.85 | 7.18 |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | غابات مريج | 5<br>6 | 7.8<br>30 | 2.3<br>24 | 3.3<br>26.3 | (10/10)1<br>(4/4)1 | 5.48<br>8.7 | 7.68<br>7.2 |
| | شلالات<br>حزيرين | 7<br>8<br>9 | 9.6<br>22.4<br>36 | 7.8<br>2.5<br>25 | 1.2<br>15<br>30 | (5/5)1<br>(2/2)1<br>(4/4)1 | 7.70<br>6.7<br>6.85 | 7.56<br>7.43<br>7.61 |
| المتوسط الحسابي | | | 25.34 | 19.19 | 18.2 | 0.983 | | |
| مناطق مزروعة | | | | | | | | |
| حمضيات | أم الطيور | 10 | 17.6 | 13.9 | 2.8 | (6/6)1 | 2.33 | 7.7 |
| كرز | صلنفة | 11 | 26.6 | 1.1 | 20.6 | (8/8)1 | 5.34 | 7.58 |
| تفاح<br>جوز | دورين | 12<br>13 | 6.2<br>25 | 7.7<br>1.3 | 3.2<br>1.2 | (8/8)1<br>(8/8)1 | 1.78<br>2.09 | 7.16<br>7.21 |
| دراق | قبر العبد | 14<br>15 | 0.5<br>22.3 | 30<br>31 | 0.3<br>6.3 | (2/2)1<br>(1/1)1 | 3.43<br>3.40 | 7.39<br>7.40 |
| زيتون | دمسرخو | 16 | 5.1 | 2.1 | 8.2 | (9/9)1 | 9.32 | 7.16 |
| زيتون<br>فول<br>فول | القرداحة | 17<br>18<br>19 | 5.3<br>38<br>33 | 1.6<br>7.7<br>22 | 2<br>2.2<br>1.3 | (9/9)1<br>(4/4)1 | 3.01<br>3.23<br>1.56 | 7.36<br>7.7<br>7.43 |
| كوسا<br>بندورة محمي | بانياس | 20<br>21 | 2.5<br>25.3 | 5.7<br>4.1 | 4.2<br>14.4 | (8/8)1<br>(8/8)1 | 7.26<br>6.50 | 7.77<br>7.45 |
| محاصيل (قمح) | جبلة | 22 | 0.7 | 22.9 | 25 | (10/10)1 | 2.74 | 7.2 |
| نباتات زينة | جامعة تشرين | 23 | 30 | 30 | 21.9 | (5/5)1 | 8.50 | 7.11 |
| المتوسط الحسابي | | | 17.00 | 12.93 | 8.1 | 1 | | |
| مناطق غير مزروعة | | | | | | | | |
| نباتات طبيعية | الحفة | 24 | 8.1 | 5.3 | 2 | (8/8)1 | 3.43 | 7.4 |
| أعشاب | المدينة الرياضية | 25 | 0.6 | 0.5 | 3.5 | (5/5)1 | 3.56 | 7.65 |
| المتوسط الحسابي | | | 4.35 | 2.9 | 2.8 | 1 | | |
| شاطىء | | | | | | | | |
| | شاطئ جبلة | 26 | 22 | 6.6 | 7.7 | (6/7)0.86 | 3.3 | 7.87 |
| | شاطئ اللاذقية | 27<br>28 | 30<br>19 | 20.4<br>19.4 | 25<br>26 | (2/3)0.67<br>(2/2)1 | 1.23<br>3.4 | 8.41<br>7.7 |
| | الشاطئ الأزرق | 29 | 0.8 | 3.3 | 0.3 | (2/3)0.67 | 0.27 | 8.06 |
| المتوسط الحسابي | | | 17.95 | 12.43 | 14.8 | 0.79 | | |
| مناطق داخلية جافة | | | | | | | | |
| تربة غير مزروعة | النبك | 30<br>31 | 2.3<br>1.7 | 3.6<br>4.2 | 1.1<br>1.6 | (4/4)1<br>(4/4)1 | 1.23<br>1.20 | 8.04<br>8.12 |
| تربة غير مزروعة | درعا | 32<br>33 | 2.8<br>1.2 | 3.1<br>0.1 | 0.7<br>1.4 | (4/4)1<br>(4/4)1 | 1.45<br>1.80 | 7.95<br>7.9 |
| المتوسط الحسابي | | | 2 | 2.75 | 1.2 | 1 | | |

* *B. thuringiensis* index: عدد عزلات *B. thuringiensis* / عدد عزلات البكتيريا المكونة للأبواغ.

## المراجع:

1- ADDISON, T.A. *Persistence and nontarget effects of Bacillus thuringiensis in soil*: *a review*. Can. J. For. Res., Vol. 23, 1993, 2329- 2342.

2- ARONSON, A., W. BECKMAN, and P. DUNN, *Bacillus thuringiensis and related insect pathogens*. Microbiol. Rev. So., Vol. 1, 1986, 1- 24.

3- BAJWA W/.L., and M. KOGAN. *Bacillus thuringiensis Biological control insect pest.* Oregon State University, Corvalis. 2001.Websites: (www. Ippc. Orst. edu/ dir/ microbial/ bt).

4- BERLINER , E. *uber die Schlaffsucht der Mehlmottenraupe (Ephestia kuehniella, Zell.) ihren Erreger, Bacillus thuringiensis n. sp.* Z. Angew. Enotomol. Vol. 2, 1915, 29- 56.

*5*- BERNHARD, K., P. JARRETT, M. MEADOWS, J. BUTT, D.J. ELLIS, G.M. ROBERTS, S. PAULI, P. RODGERS and H. D. BURGES. Natural isolates of *Bacillus thuringiensis*: *Worldwide distribution, characterization, and activity against insect pests.* J. of Inverteb. Pathol. Vol. 70, 1997, 59- 68.

6- CHANPAISAEN J. Strain diversity of *Bacillus thuringiensis* in Thailand. Bangkok. Thailand, 1995. 141- 150. ( Abstract).

7- CHARLES, J.F., A. DELECLUSE and NIELSON C. N. *Entomopathogenic bacteria from laboratory to field application*. Paris, France. 2000, pp. 524.

8- CHILCOTT, C.N. and P.J. WIGLEY. *Isolaion and toxicity of Bacillus thuringiensis from soil and insect habitats in New Zealand*. Journal of Invertebrate Pathology, Vol. 61, 1993, 244- 247.

9- DELUCCA, A.J., J.G. SIMONSON and A.D. LARSON. *Bacillus thuringiensis distribution in soils of the United States*. Can. J. Microbiol., Vol. 27, 1981, 865- 870.

10- DELUCCA, A.J., M.S. PALMGREEN and A. CIEGLER. *Bacillus thuringiensis in grain elevator dusts*. Can. J. Microbiol., Vol. 28, 1982 , 452- 456.

11- DULMAGE, H.T. and K. AIZAWA. *Distribution of Bacillus thuringiensis in nature*. In Microbiol and viral pesticides. Edited by E. Kurstak Marcel Dekker, New York. 1982, Pp. 209- 237.

12- KIM, H.S., D.W. LEE, S.D. WOO, Y.M. YU, S.K. KANG. *Distribution, serological identification and PCR analysis of Bacillus thuringiensis isolated from soils of Korea*. Current- microbiology, Vol. 37, 1998, 195- 200.

13- LANDEN, R., M. BRYNE and A. ABDEL-HAMEED. *Distribution of Bacillus thuringiensis strains in Southern Sweden*. World Journal of Microbiology & Biotechnology, Vol. 10, 1994, 45- 50.

14- MARTIN P.A.W., and R.S. TRAVERS.. *Worldwide abundance and distribution of B. thuringiensis isolates.* Appl. Environ. Microbiol., Vol. 55, 1989, 2436- 2442.

15- MEADOWS, M., D. ELLIS, J. BUTT, P. JARRETT and H. BURGES. *Distribution, frequency, and diversity of Bacillus thuringiensis in an animal feed mill*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 58, 1992, 1344- 1350.

16- MORRIS, O.N., V. CONVERSE, and P. KANAGARATNAM.. *Isolation, characterization, and culture of Bacillus thuringiensis from Soil and Dust from Grain Storage Bines and their Toxicity for Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae) Canadian Entomolgist, Vol. 130, No. 4 , 1998, 515- 537.

17- OBEIDAT, M.S. *Characterization of Bacillus thuringiensis strains isolated from Northern Jordan and the insecticidal activity*. Jordan. M.Sc. Thesis, Jordan University of Science and Technology. Irbid, Jordan, 1999, pp. 84.

18- OBEIDAT, M., F. AL- MOMANI and I. SAADOUN. *Diversity of Bacillus thuringiensis in different habitats of northern Jordan*. J. Basic Microbiol., Vol. 40, No. 5- 6, 2000, 385- 388.

19- OBEIDAT, M., D. HASSAWI and I GHABEISH. *Characterization of Bacillus thuringiensis strains from Jordan and their toxicity to the Lepidoptera, Ephestia kuehniella* Zeller. African Journal of Biotechnology, Vol. 3, N0. 11, 2004, 622- 626.

20- OGUNJIMI, A. A., G. O. GBENLE, D. K. OLUKOYO and E. O. AKINRIMISI. PCR- *Based identification of Bacillus thuringiensis isolated from soil samples in Nigeria.* Z. Naturforsc, Vol. 55 , 2000, 987- 990. (Abstract).

21- OHBA, M. and K. AIZAWA. *Distribution of B. thuringiensis in soils of Japan*. Journal of Invertebrate Pathology, Vol. 47, 1985, 277- 282.

22- OHBA, M., YU, Y. M. and K. AIZAWA. *Insect toxicity of B. thuringiensis isolated from soils of Japan.* J. of Inverteb. pathol., Vol. 47, 1987, 12- 20.

23- PETRAS, S. F. AND L. E. CASIDA. *Survival of B. thuringiensis spores in the soil*. Appl. Enviorn. Microbiol., Vol. 50, 1985, 1495- 1501.

24- SALAMA, H.S., M. FODA, F. LAKI and M. RAGAEI. *On the distribution of B. thuringiensis and closely relaed Bacillus cereus in Egyption soils and their activity against cotton insects.* Angewandte Zoologie, Vol. 3, 1986, 257- 265.

25- SCHNEPF, E., N. Crickmore, J. Van Rie, D. Lerculus, J. Baum, J. Feitelson, D.R. Zeigler and D.H. Dean. *Bacillus thuringiensis and pesticidal Crystal Proteins.* Microbiol. Mol. Bio. Revi., Vol. 62, No. 3, 1998, 775- 806.

26- SMITH, R. and G. COUCHE. *The Phyloplane as a source of Bacillus thuringiensis variants*. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 57, No. 1 , 1991, 311- 315.

27- STAHLY, D., R. ANDREWS and A. YOUSTEN. *The genus Bacillus insect pathogens*. In: The Prokaryotes (ed. Balows, A., Truper, H., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.) New York: Springer-Verlag., 1992, PP. 1697- 1744.

28- TRAVERS, A. S., P. A. W. MARTIN and C. F. REICHELDERFER. *Selective process for efficient isolation of soil Bacillus sp*. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 53, 1987, 1263- 1266.

29- WHO. Environmental Health Criteria, *Bacillus thuringiensis* International Program on Chemical Safety, Switzerland. 2000.