



جامعة دمشق  
كلية الهندسة الزراعية  
قسم وقاية النبات

## تأثير بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) في

### تشبيط مسببات عفن الجذور الشائع على القمح

### Effect of local plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in inhibiting wheat common root rot pathogens

أطروحة مقدمة لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية

(وقاية النبات)

إعداد المهندس :

وسيم محمد خير البلخي

المشرف المشارك

الدكتور فواز العظمة

أستاذ في قسم وقاية النبات

كلية الزراعة - جامعة دمشق

المشرف

الدكتور محمود أبو غرة

أستاذ في قسم وقاية النبات

كلية الزراعة - جامعة دمشق

## قرار لجنة الحكم :

قدمت هذه الأطروحة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الدكتوراه في قسم وقاية النبات من كلية الزراعة جامعة دمشق

This thesis was submitted in fulfillment of the requirements for the degree of **PHD** in the Department of Plant Protection at the Faculty of Agriculture, University of Damascus.

نوقشت هذه الأطروحة في جلسة علنية في كلية الزراعة بجامعة دمشق بتاريخ 2023/10/24

## لجنة الحكم

أ.د. صباح المغربي الأستاذ في قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة تشرين عضواً

أ.د. هدى قواص الأستاذ في قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة دمشق عضواً

أ.د. خالد العسس الأستاذ في قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة دمشق عضواً

أ.د. محمود أبو غرة الأستاذ في قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة دمشق عضواً مشرفاً

أ.د. أحمد مهنا الأستاذ في قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة دمشق عضواً

## The Board of Examiners

This thesis was discussed and approved on : 24 / 10 / 2023 at the Faculty of Agriculture-Damascus University:

Prof. Dr. Sabah Al-Maghribi, Professor in the Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Tishreen University, **Member**

Prof. Dr. Houda Qawas, Professor in the Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Damascus University, **Member**

Prof. Dr. Khaled Al-Assas, Professor in the Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Damascus University, **Member**

Prof. Dr. Mahmoud Abu Ghra, Professor in the Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Damascus University, **Chairman**

Prof. Dr. Ahmed Mahna, Professor in the Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Damascus University, **Member**

## تصريح

أصرح بأن هذا البحث الموصوف في هذه الرسالة تحت عنوان:

**تأثير بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) في تثبيط مسببات عفن الجذور الشائع على**

**القمح.** لم يسبق أن قُدم للحصول على أية درجة جامعية أخرى، وغير مقدم حالياً لذلك، وأن كافة الأعمال

والنتائج المذكورة هي نتائج جهودي الشخصية، وبتوجيه من المشرفين، وقد نسبتُ أيّة معلومات أو نتائج

أخرى في الأطروحة الى مصادرها ومؤلفيها، في متن النص وفي قائمة المراجع.

**المرشح:**

**وسيم محمد خير البلخي**

## Declaration

I declare that the present research entitled: " Effect of local plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in inhibiting wheat common root rot pathogens" is a new research work that has never been studied by any other researchers for any other degrees, and currently it is not submitted by any one for any degree. All the menthioned works and results are my own efforts, and done by the direct supervision of my guide, and any other information and results cited in this thesis are referred to their authors and well documented in the list of references.

**Candidate**

**Waseem Al Balkhi**

## شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الأطروحة، هو نتيجة بحث علمي قام به المرشح وسيم محمد خير البلخي تحت اشراف الأستاذ الدكتور محمود أبو غرة، الأستاذ في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة دمشق والأستاذ الدكتور فواز العظمة الأستاذ في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة دمشق. وإن أية مراجع أخرى بحثت في هذه الرسالة موثقة في النص.

|                      |                 |                  |
|----------------------|-----------------|------------------|
| المرشح               | الأستاذ الدكتور | الأستاذ الدكتور  |
| وسيم محمد خير البلخي | محمود أبو غرة   | فواز العظمة      |
|                      | (المشرف العلمي) | (المشرف المشارك) |

## Certificate

It is hereby certified that the work described in this Thesis: is the result of the author's own investigations **Waseem Mohammad Khair Al-Balkhi** under the supervision of **Pro.Dr.Mahmoud Abo Ghorra**, Professor of Plant Protection at the Faculty of Agriculture, Damascus University, and **Prof. Dr. Fawaz Al-Adma**, Professor of Plant Protection at the Faculty of Agriculture, Damascus University. Any references to other research work have been duly acknowledged in the text. And it is hereby certified this work has not submitted for any other degree.

|                         |                                   |                                |
|-------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| <b>Candidate</b>        | <b>Supervisor</b>                 | <b>Co- Supervisor</b>          |
| <b>Waseem Al Balkhi</b> | <b>Pro.Dr.Mahmoud Abu Ghorrah</b> | <b>Prof. Dr. Fawaz Al-Adma</b> |

## كلمة شكر

الحمد لله الذي وفقني ويسر أمري لأكمل مسيرتي وانهي رسالتي العلمية.  
وكما قال الله تعالى في كتابه الكريم: "ومن يشكر فإنما يشكر لنفسه".

أتوجه بالشكر والامتنان لكل من الدكتور محمود أبو غرة والدكتور فواز العظمة حفظهما الله ورعاهما وأطال في عمرهما، فقد كان لإشرافهما ومنحهما الكثير من الوقت لي اليد الطولى في خروج هذه الرسالة العلمية بالشكل الذي ظهرت عليه، كما كان لتوجيههما ونصائحهما دور أساسي في إتمام دراستي العلمية وإنجاز أطروحتي .

كما أتوجه بالشكر للدكتور رائد أبو قبع الباحث في معهد وقاية النبات، المجلس الوطني للبحوث العلمية في إيطاليا على مساعدته في الإختبارات الجزيئية لبعض العزلات البكتيرية التي كانت ذات فائدة كبيرة لهذا البحث.

وايضاً الشكر للدكتورة عايذة جلول للدعم العلمي والمساعدة في التصنيف الجزيئي للعزلات البكتيرية المطلوبة.

والشكر موصول لأعضاء لجنة المناقشة الكرام على تفضلهم بتوجيه الملاحظات والتعديلات القيمة للوصول بالأطروحة الى افضل شكل ممكن .

وايضاً أتوجه بالشكر لوزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك ممثلةً بمديرية المواصفات الفنية والمخابر على الدعم اللوجستي والمعنوي الذي قدموه لي والى زملائي في هذه المديرية الذين كانوا خير معين وداعم .

والشكر كل الشكر لأصدقائي وأخوتي الذين ساندوني في هذا العمل بدعمهم الفني او العملي.

## الإهداء

الى ملهمتي، الى نعمة الله التي من بها عليّ، الى من زرعت بذور الأمل والطموح  
في نفسي، الى من صبرت وصبرتني على طول الطريق وصعوبات الحياة  
أمي

الى قدوتي ومعلمي وسندي، الى أنبل الناس، الى من كان العلم هدفه فزرع حبه  
في قلبي وكان التفوق والنجاح حليفه فكان القدوة والملهم لطريقي والنبراس لحياتي  
أبي

الى الحبيبة، والشريكة لحياتي الى من دعمتني في مسيرتي وحملت عني بعض  
أعبائي  
زوجتي

الى صديقاتي وملاذي. الى اسرتي وملجأ بعد الله الى من ساندوني في  
طريقي وفرحوا لإنجازي أكثر مما فرحت  
أخواتي

الى الذين أعدمهم للمستقبل وآمل ان يكونوا أفضل مما أنا عليه، الى ذخري  
في الدنيا والآخرة، الى الذين أتمنى ان يكونوا قدوة بالاخلاق والعلم  
أولادي

الى اخوتي ورفاقي وأنصاري الى من ساندوني وشجعوني وصبروني  
في أوقات ضعفي وانكساري  
أصدقائي

## الملخص:

هدفت هذه الدراسة إلى اختبار تأثير بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) في تثبيط مسببات عفن الجذور الشائع على القمح، وتحسين نمو وإنتاجية النباتات المصابة. عُزلت 66 عزلة بكتيرية من جذور القمح المصابة والسليمة من عدة مناطق في سورية إضافةً إلى 3 عزلات مقارنة مأخوذة من مخبر الأمراض النباتية البكتيرية، لاختبار قدرتها في تثبيط نمو فطرين من الفطور المسببة لعفن الجذور الشائع على القمح *C. sativus*، *F. graminearum* في الظروف المخبرية وفي الأصص. أظهرت النتائج أن ست عزلات بكتيرية كان لها تأثير تضادي قوي على الفطور المدروسة، حيث تراوحت مسافة التضاد مخبرياً بين 1.75-5.75 مم للفطر *F. graminearum*، و 4.12-8.6 مم للفطر *C. sativus*، وذلك عن طريق إنتاج مواد مضادة، كما وجد تأثير مضاد لبعض العزلات الأخرى بإنتاجها لغاز سيانيد الهيدروجين (HCN)، كما أثبتت تجارب الأصص أن استخدام هذه العزلات كمعاملات زراعية يؤدي إلى زيادة في إنبات البذور، وزيادة في طول نبات القمح، ومقاومة الإصابة بالأعفان بنسبة وصلت 82.8% للفطر *F. graminearum* و 89.1% للفطر *C. sativus* مقارنة مع الشاهد. كما أظهرت النتائج انتماء هذه العزلات إلى مجموعة PGPR، حيث تمتلك 58 عزلة صفات معززة للنمو مثل تثبيت الآزوت، وإذابة الفوسفات، إذابة البوتاس و كربونات الكالسيوم، وإنتاج حمض الأندول الخلي، والسيدروفور، والأمونيا وبعض العزلات تميزت بجمع أكثر من صفة مع بعضها. بينت التجارب الحقلية أن استخدام هذه العزلات كمعاملات زراعية يؤدي إلى زيادة في طول النبات وصلت إلى 41.6% وزيادة غلة نباتات القمح وصلت 114% مقارنة مع الشاهد. صُنفت عزليتين فعاليتين (10.2-16.2) في تثبيط أعفان جذور القمح وتحمل الصفات المختلفة للـ PGPR بالطرق البيوكيميائية والجزيئية التي بينت شجرة القرابة ومصفوفات التشابه للعزلتين انتمائهما إلى عائلة *Enterobacteriaceae* حيث تبين أن العزلة 10.2 هي *Serratia liquefaciens* والعزلة 16.2 هي *Enterobacter hormaechei*. خلصت الدراسة إلى وجود ثباتية لدى العزلات المدروسة في صفاتها المضادة لأعفان جذور القمح مخبرياً، وفي الأصص، ولدى البكتيريا المعززة لنمو نباتات القمح حقلياً لموسمين متتاليين كما

بينت إمكانية التوجه لهذه البكتيريا للحفاظ على صحة النبات والتربة وتقليل انبعاث غازات الدفيئة كطريقة مستدامة في الزراعة.

#### الكلمات المفتاحية:

المحيط الجذري، بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات، *Serratia*، *F. graminearum*، *C. sativus*،  
*Enterobacter hormaechei*، *liquefaciens*

## فهرس المحتويات

| رقم الفقرة | المحتوى                           | الصفحة |
|------------|-----------------------------------|--------|
|            | الملخص                            | VII    |
|            | مقدمة                             | 1      |
| 1          | الإشكالية البحثية                 | 3      |
| 2          | تساؤلات البحث                     | 3      |
| 3          | فرضيات البحث                      | 3      |
| 4          | مسلمات البحث                      | 4      |
| 5          | أهمية البحث                       | 4      |
| 6          | مبررات البحث                      | 5      |
| 7          | محدوديات البحث                    | 5      |
| 8          | مصطلحات البحث                     | 6      |
| 9          | أهداف البحث                       | 6      |
|            | الفصل الأول: الدراسة المرجعية     | 7      |
| 1-1        | مرض تعفن جذور القمح:              | 8      |
| 1-1-1      | <i>Helminthosporium sativum</i>   | 8      |
| 2-1-1      | <i>Fusarium spp</i>               | 8      |
| 3-1-1      | <i>Rhizoctonia solani</i>         | 8      |
| 4-1-1      | <i>Alternaria spp</i>             | 8      |
| 5-1-1      | <i>Cercospora herpotrichoides</i> | 9      |
| 2-1        | الأعراض المرضية لأعفان جذور القمح | 10     |
| 3-1        | العوامل التي تؤثر في انتشار المرض | 11     |
| 1-3-1      | الحرارة والرطوبة                  | 11     |
| 2-3-1      | بقايا المحاصيل                    | 12     |
| 3-3-1      | الدورة الزراعية                   | 13     |
| 4-1        | مكافحة أعفان جذور القمح           | 14     |
| 1-4-1      | الطرائق الزراعية                  | 14     |
| 1-1-4-1    | الدورة الزراعية والتسميد          | 14     |
| 2-1-4-1    | إدارة بقايا المحاصيل              | 15     |
| 3-1-4-1    | مسافات وعمق الزراعة               | 15     |
| 4-1-4-1    | استخدام الأصناف المقاومة          | 16     |
| 2-4-1      | المكافحة الحيوية                  | 17     |
| 1-2-4-1    | مزايا استخدام المكافحة الحيوية:   | 18     |

|    |                                                                                                              |         |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 18 | أهم الكائنات المستخدمة في مكافحة الحيوية                                                                     | 2-2-4-1 |
| 23 | المكافحة الكيميائية                                                                                          | 3-4-1   |
| 24 | البكتيريا المعززة لنمو النبات (PGPR)                                                                         | 5-1     |
| 25 | الآليات المباشرة لتأثير PGPR على النبات                                                                      | 1-5-1   |
| 30 | الآليات غير المباشرة لتأثير PGPR على النبات                                                                  | 2-5-1   |
| 33 | البكتيريا الجذرية PGPR وأثرها على القمح                                                                      | 3-5-1   |
| 35 | الفصل الثاني: المواد والطرائق                                                                                |         |
| 36 | جمع العينات                                                                                                  | 1-2     |
| 37 | عزل البكتيريا                                                                                                | 2-2     |
| 38 | اختبار قدرة البكتيريا في تثبيط أعفان جذور القمح                                                              | 3-2     |
| 39 | دراسة صفة التضاد المتصالب بين البكتيريا                                                                      | 1-3-2   |
| 39 | اختبار انتماء العزلات الى مجموعة البكتيريا المعززة للنمو (PGPR)                                              | 4-2     |
| 39 | تثبيت الآزوت الجوي                                                                                           | 1-4-2   |
| 40 | إذابة الفوسفات                                                                                               | 2-4-2   |
| 40 | تحليل البوتاسيوم (K)                                                                                         | 3-4-2   |
| 41 | اختبار انتاج الأمونيا                                                                                        | 4-4-2   |
| 41 | تحليل كربونات الكالسيوم $CaCO_3$                                                                             | 5-4-2   |
| 41 | إنتاج حمض الإندول الخلي IAA                                                                                  | 6-4-2   |
| 41 | انتاج غاز سيانيد الهيدروجين HCN                                                                              | 7-4-2   |
| 42 | انتاج السيدروفور وتثبيت الحديد                                                                               | 8-4-2   |
| 44 | اختبار تأثير غاز سيانيد الهيدروجين على الفطور الممرضة مخبرياً                                                | 1-5-2   |
| 44 | تعريف البكتيريا                                                                                              | 6-2     |
| 44 | تعريف البكتيريا بالطرق الكيميائية                                                                            | 1-6-2   |
| 48 | التعريف الجزيئي للعزلات                                                                                      | 2-6-2   |
| 48 | استخلاص الدنا                                                                                                | 1-2-6-2 |
| 49 | تفاعل البصمة الوراثية                                                                                        | 2-2-6-2 |
| 50 | اختبار كفاءة العزلات البكتيرية المضادة لفطور أعفان جذور القمح في الأصص                                       | 7-2     |
| 52 | اختبار كفاءة بعض العزلات المختارة حقلية ودورها في تعزيز النمو                                                | 8-2     |
|    | الفصل الثالث النتائج والمناقشة                                                                               |         |
| 56 | عزل البكتيريا                                                                                                | 1-3     |
| 58 | اختبار التضاد على الفطرين <i>F.graminearum</i> و <i>C.sativus</i> مخبرياً                                    | 2-3     |
| 61 | اختبار تأثير غاز HCN المنتج بواسطة بكتيريا المعزولة في تثبيط الفطرين <i>C.sativus</i> و <i>F.graminearum</i> | 3-3     |

|     |                                                                                                       |         |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 64  | نتائج اختبار كفاءة العزلات وانتمائها لمجموعة البكتيريا المعززة لنمو النبات<br>PGPR:                   | 4-3     |
| 66  | تثبيت الأزوت                                                                                          | 1-4-3   |
| 68  | تحليل الفوسفات                                                                                        | 2-4-3   |
| 69  | تحليل البوتاسيوم                                                                                      | 3-4-3   |
| 70  | تحليل كربونات الكالسيوم Caco3:                                                                        | 4-4-3   |
| 71  | انتاج حمض الإندول الخلي                                                                               | 5-4-3   |
| 72  | انتاج غاز السيانيد HCN                                                                                | 6-4-3   |
| 74  | انتاج الأمونيا                                                                                        | 7-4-3   |
| 74  | انتاج السيدروفور وتثبيت الحديد                                                                        | 8-4-3   |
| 76  | تعريف البكتيريا                                                                                       | 5-3     |
| 76  | الاختبارات البيوكيميائية                                                                              | 1-5-3   |
| 77  | نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلة 10.2 - 16.2:                                                    | 1-1-5-3 |
| 77  | التعريف الجزيئي                                                                                       | 2-5-3   |
| 77  | التعريف الجزيئي للعزلة 10.2                                                                           | 1-2-5-3 |
| 81  | التعريف الجزيئي للعزلة 16.2                                                                           | 2-2-5-3 |
| 86  | مقاومة أعفان جذور القمح في الأصص                                                                      | 6-3     |
| 86  | انبات بذور القمح للمعاملات البكتيرية مع الفطرين <i>F.graminearum</i> و <i>C.sativus</i>               | 1-6-3   |
| 88  | قياس طول نبات القمح في الأصص بعد شهر من الزراعة للمعاملات البكتيرية والفطرية                          | 2-6-3   |
| 89  | تقييم شدة الإصابة بالفطرين <i>F.graminearum</i> و <i>C.sativus</i> بوجود المعاملات البكتيرية المختلفة | 3-6-3   |
| 93  | التجربة الحقلية                                                                                       | 7-3     |
| 93  | التجربة الحقلية لموسم 2021                                                                            | 1-7-3   |
| 93  | قياس طول النبات لموسم 2021                                                                            | 1-1-7-3 |
| 94  | اختبار الإنتاجية للموسم 2021                                                                          | 2-2-7-3 |
| 95  | التجربة الحقلية لموسم 2022                                                                            | 2-7-3   |
| 95  | قياس طول النبات لموسم 2022                                                                            | 1-2-7-3 |
| 96  | اختبار الإنتاجية لموسم 2022                                                                           | 2-2-7-3 |
| 98  | تأثير بكتيريا PGPR على إنتاجية القمح في الحقل                                                         | 8-3     |
| 101 | خاتمة                                                                                                 |         |
| 102 | الاستنتاجات                                                                                           |         |

|     |          |
|-----|----------|
| 102 | التوصيات |
| 103 | المراجع  |

## فهرس الجداول

| الصفحة | العنوان                                                                                                                                                                                                                               |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 9      | جدول (1) تصنيف أهم مسببات مرض تعفن جذور القمح وأهم الأعراض                                                                                                                                                                            |
| 12     | جدول (2) الحرارة والرطوبة المناسبة لنمو أهم مسببات أعفان جذور القمح الفطرية                                                                                                                                                           |
| 36     | جدول (3) أماكن جمع عينات القمح حسب المحافظة والمنطقة وتاريخ الجمع                                                                                                                                                                     |
| 43     | جدول (4) شروط ضبط جهاز الامتصاص الذري                                                                                                                                                                                                 |
| 56     | جدول (5) مصدر العينات النباتية التي تم عزل السلالات البكتيرية من محيطها الجذري عام 2018                                                                                                                                               |
| 58     | جدول (6) عزلات المقارنة البكتيرية المستخدمة من مخبر الأمراض النباتية البكتيرية ومصدرها                                                                                                                                                |
| 59     | جدول (7) مسافة التضاد بين العزلات البكتيرية والفطور الممرضة المدروسة مقاسة بمم بعد 7 أيام من التحضين                                                                                                                                  |
| 62     | جدول (8) متوسط أقطار مستعمرات الفطور الممرضة المعرضة لتأثير البكتيريا المنتجة للسياييد ونسبة تثبيطها مقارنة مع الشاهد للفطر غير المعامل مقاسة بمم                                                                                     |
| 63     | جدول (9) تأثير بعض العزلات البكتيرية في تثبيط التفحم المغطى على القمح حقلًا                                                                                                                                                           |
| 64     | جدول (10) اختبار كفاءة العزلات وانتمائها لمجموعة البكتيريا المعززة لنمو النبات PGPR                                                                                                                                                   |
| 68     | جدول (11) معامل الذوبان للعزلات البكتيرية المحللة للفوسفات                                                                                                                                                                            |
| 70     | جدول (12) اهم العزلات البكتيرية المحللة للبوتاس ومعامل ذوبانها                                                                                                                                                                        |
| 71     | جدول (13) قدرة العزلات البكتيرية على تحليل كربونات الكالسيوم                                                                                                                                                                          |
| 76     | جدول (14) الاختبارات البيوكيميائية للعزلات المختارة                                                                                                                                                                                   |
| 86     | جدول (15) عدد البذور المنتشة في كل معاملة بكتيرية مع الفطرين <i>F.graminearum</i> و <i>C.sativus</i> مقارنة مع شواهد التحكم                                                                                                           |
| 88     | جدول (16) تأثير المعاملات البكتيرية المختلفة والفطور <i>F.graminearum</i> و <i>C.sativus</i> في متوسط طول نبات القمح في كل معاملة مقدرة بسم                                                                                           |
| 89     | جدول (17) قياس شدة الإصابة بكل معاملة بكتيرية مع الفطر الممرض مقارنة مع الشاهد                                                                                                                                                        |
| 92     | جدول (18) كفاءة العزلات البكتيرية في تجارب التضاد المخبرية وفي الأصص على الفطرين. <i>F. graminearum</i> و <i>C.sativus</i> حيث يدل رقم 1 على العزلة الأعلى كفاءة ورقم 6 على اقل العزلات كفاءة ( $F=F.graminearum$ , $C= C. sativus$ ) |
| 93     | جدول (19) قياس طول نباتات القمح لكل معاملة بكتيرية مقارنة مع شاهد غير المعامل مقدرة بـ(سم) قبيل الحصاد                                                                                                                                |
| 94     | جدول(20) إنتاجية القمح بكل معاملة بكتيرية إضافة الى الشاهد غير المعامل                                                                                                                                                                |

|    |                                                                                                 |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 95 | جدول (21) متوسط طول نباتات القمح في كل معاملة بكتيرية مقارنة مع الشاهد غير المعامل في موسم 2022 |
| 96 | جدول (22) إنتاجية القمح لكل معاملة بكتيرية مقارنة بالشاهد في موسم 2022 مقدرة بالغرام/القطعة     |
| 98 | جدول (23) النسبة المئوية في زيادة الغلة بالنسبة للمعاملات البكتيرية بالمقارنة مع الشاهد         |
| 98 | جدول (24) مقارنة بين العزلات المشتركة في الموسمين الأول والثاني وصفات كل عزلة                   |
| 99 | جدول (25) سمات البكتيريا من حيث الصفات المدروسة وانتمائها الى PGPR                              |

### فهرس الأشكال

| الصفحة | العنوان                                                                                                                                                                   |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 38     | الشكل (1) شكل تخطيطي يوضح توزيع المستعمرات البكتيرية حول الفطر الممرض ومقياس مسافة التضاد                                                                                 |
| 49     | الشكل (2): خيوط الدنا المستخلصة                                                                                                                                           |
| 59     | الشكل (3) مسافات التضاد بين بعض العزلات البكتيرية والفطور الممرضة على وسط PDA+KingB إضافة الى شاهد من الفطرين الممرضين                                                    |
| 62     | الشكل (4) تأثير العزلات البكتيرية المنتجة لغاز HCN على الفطرين <i>F. graminearum</i> , <i>C. sativus</i> مقارنة مع شاهد للفطرين <i>F. graminearum</i> و <i>C. sativus</i> |
| 67     | الشكل (5) تشكّل هالة بلون برتقالي حول العزلة 33.1 دليل تثبيتها للأزوت الجوي                                                                                               |
| 68     | الشكل (6) مقارنة البكتيريا المثبتة للأزوت للعزلات المدروسة مع عزلات المقارنة                                                                                              |
| 69     | الشكل (7) هالة تحليل الفوسفات حول العزلة 16.2                                                                                                                             |
| 70     | الشكل (8) هالات اذابة البوتاس حول البكتيريا المحللة للفوسفات                                                                                                              |
| 71     | الشكل (9) تحليل كربونات الكالسيوم حول بعض العزلات البكتيرية                                                                                                               |
| 72     | الشكل (10) العزلات البكتيرية المنتجة لحمض الاندول الخلي                                                                                                                   |
| 72     | الشكل (11) انتاج بعض العزلات لحمض الاندول الخلي وتغير اللون للزهري                                                                                                        |
| 73     | الشكل (12) انتاج بعض العزلات لغاز HCN مقارنة بعزلات المقارنة                                                                                                              |
| 73     | الشكل (13) العزلات 4.3-19.4-14 المنتجة لغاز HCN                                                                                                                           |
| 74     | الشكل (14) اختبار لوني إيجابي واختبار سلبي لانتاج الامونيا إضافة لمشعر نسلر                                                                                               |
| 75     | الشكل (15) تحليل ثلاث عينات قمح معاملة بالبكتيريا إضافة لعينة الشاهد لقياس تركيز الحديد بجهاز الامتصاص الذري                                                              |
| 75     | الشكل (16) حقن الستاندر المعياري للحديد بخمس تراكيز مختلفة في جهاز الامتصاص الذري                                                                                         |
| 78     | الشكل (17) الرحلان الكهربائي لـ DNA العزلة (SY_Ba 10.2)                                                                                                                   |
| 79     | الشكل (18) مقارنة التسلسل النيكلوتيدي للعزلة 10.2 بالبنك الوراثي                                                                                                          |
| 80     | الشكل (19) شجرة القرابة الوراثية للعزلة SY_Ba 10.2                                                                                                                        |

|    |                                                                                                   |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 82 | الشكل (20) الرحلان الكهربائي لدنا العزلة (SY_Ba16.2)                                              |
| 84 | الشكل (21) شجرة القرابة الوراثية للعزلة SY_ Ba 16.2                                               |
| 85 | الشكل (22) مصفوفة التشابه الناتجة للعزلة SY-Ba 16.2. وأكثر العزلات تشابهاً معها حسب موقع SIAS     |
| 96 | الشكل (23) متوسط طول النبات (سم) عند الحصاد للمعاملات البكتيرية مقارنة مع شاهد النبات غير المعامل |

### الاختصارات Abbreviation

| name                                          | Abbreviation                  | name                                                      | Abbreviation |
|-----------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------|
| Microgram                                     | µg                            | Plant Growth Promoting Rhizobacter                        | PGPR         |
| Potassium feldspar                            | K-feldspar                    | Symbiotic                                                 | Sym          |
| Potassium mica                                | K-mica                        | Non-symbiotic                                             | Non-sym      |
| Nitrogen                                      | N                             | Phosphate-solubilizing bacteria                           | PSB          |
| Phosphorus                                    | P                             | potassium-solubilizing bacteria                           | KSB          |
| Potassium                                     | K                             | Jasmonic acid                                             | JA           |
| Calcium carbonate.                            | CaCO <sub>3</sub>             | Salicylic acid                                            | SA           |
| Nitric acid                                   | HNO <sub>3</sub>              | Glucose Yeast Peptone Agar                                | YPGA         |
| Atmospheric nitrogen                          | N <sub>2</sub>                | yeast peptone dextrose agar composition                   | PYDAC        |
| Ammonium                                      | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>  | Nitrogen-Free Bacterial                                   | NFB          |
| Solubility Index                              | SI                            | Yeast Malt Extract Broth                                  | YMB          |
| Jasmonic acid                                 | JA                            | Salkowski's                                               | Sal          |
| Salicylic acid                                | SA                            | Nessler's reagent                                         | Nr           |
| Hydrogen peroxide                             | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Indole acetic acid                                        | IAA          |
| Polymerase Chain Reaction                     | PCR                           | Deoxyribonucleic Acid                                     | DNA          |
| Tris base boric acid EDTA                     | TBE                           | Ribosomal Deoxyribonucleic Acid                           | rDNA         |
| Ethylenediaminetetraacetic                    | EDTA                          | Ribonucleic Acid                                          | RNA          |
| National Center for Biotechnology Information | NCBI                          | Ribosomal Ribonucleic Acid                                | rRNA         |
| The Basic Local Alignment Search Tool         | BLAST                         | Disease Severity Index                                    | DSI%         |
| Catalase                                      | CAT                           | Greenhouse Gas                                            | GHG          |
| NanoGram                                      | Ng                            | European and Mediterranean Plant Protection Organization. | EPPO         |

## المقدمة وأهداف الدراسة

## ومبرراتها

## INTRODUCTION

## &

## OBJECTIVES

## المقدمة :

يعد القمح من أقدم المحاصيل التي عرفتها البشرية. فقد جُمع القمح البري وُزرع قبل نحو 10000 سنة. ويعد القمح -بعد الشعير- من أقدم أنواع الحبوب المزروعة. وتعود أصول أقدم أنواع القمح إلى مناطق الهلال الخصيب (Keet et al., 2009). وتمت زراعة الأنواع الأولى من القمح، وحيد الحبة *Triticum monococcum* وثنائي الحبة *T. dicoccum* في منطقة البحر المتوسط (Zaharieva & Monneveux, 2014).

يعد القمح من أهم المحاصيل الزراعية على مستوى العالم، فهو يحتوي على العديد من العناصر الغذائية المفيدة للصحة، مثل الكربوهيدرات والبروتينات والألياف والفيتامينات والمعادن. كما أن للقمح فوائد صحية عديدة، مثل تحسين عملية الهضم والأيض، وتقليل خطر الإصابة بالسكري (Hazard et al., 2020)، وتعزيز صحة القلب والأوعية الدموية، وحماية الجسم من بعض الأمراض المزمنة (Igrejas & Branlard, 2020). كما يعرف كمصدر للطاقة، و هو يُستخدم في تصنيع العديد من المنتجات الغذائية والصناعية مثل الخبز والبسكويت والمعكرونة والكعك والحبوب المقرمشة والبيرة، بالإضافة إلى استخدامه في العديد من الصناعات الأخرى مثل صناعة الورق (Shewry, 2009)، ولذلك تعتمد عليه الدول في تحقيق الأمن الغذائي والتغذية الصحية، ووفقاً لتقرير منظمة الأغذية والزراعة (2021)، فإن إنتاج القمح العالمي في عام 2021 إلى 770.4 مليون طن ، وهذا ما يجعل القمح ثاني أكثر الحبوب زراعة بعد الذرة. وتعد كل من روسيا والولايات المتحدة وكندا وفرنسا وأوكرانيا أكبر مصدري القمح عالمياً. إلى جانب استخدامه كغذاء أساسي للبشر، فهو يستخدم في بعض المناطق كعلف للحيوانات (OECD/FAO, 2020).

نظراً للزيادة السريعة في عدد السكان، يجب زيادة إنتاج القمح بنسبة 50% بحلول عام 2050 لتلبية هذه الزيادة المتوقعة في عدد السكان وستكون هذه الزيادة في الانتاج معتمدةً بشكل رئيسي على زيادة المردود في وحدة المساحة. يمكن تحقيق هذا الطلب المتزايد باستخدام نهج الاستدامة بما في ذلك الإدارة المتكاملة للأمراض والآفات،

والتكيف مع المناخات الأكثر دفئاً، واستخدام موارد الماء بشكل رشيد وزيادة التحمل للإجهادات الحيوية وغير الحيوية (Singh *et al.*, 2022; Kayim *et al.*, 2022).

تعد الأمراض أكبر الاجهادات التي يتعرض لها محصول القمح حيث يصاب القمح بأكثر من 200 مرض، يسبب 50 منها خسائر اقتصادية على نطاق واسع. من أهم الأمراض التي تصيب القمح هي: أمراض الأصداء والتفحمت والتلطيخ السببوري وعفن الجذور وعفن الفيوزاريوم و النيماتودا وعدد من الأمراض الفيروسية والبكتيرية (Gulyaeva *et al.*, 2020; Aboukhaddour *et al.*, 2020) يمكن أن تقلل هذه الأمراض من الغلة وتؤثر سلباً على المحصول وتسبب موت النباتات (Singh *et al.*, 2022). وتقدر الخسائر العالمية لمحصول القمح بسبب الآفات والأمراض (21.5%) ويشير الباحثون أن مرض تعفن جذور وتاج القمح هو واحد من أهم الأمراض التي تؤثر على القمح في منطقة غرب آسيا وشمال إفريقيا. مع خسارة تقديرية تبلغ 28.1% من الغلة (Savary *et al.*, 2019) وأكدت الدراسات إلى أن مرض تعفن جذور القمح يسبب نقصاً واضحاً في إنتاج القمح في كل من الولايات المتحدة الأمريكية وكندا (Scardaci & Webster, 1982; Stack, 1994). وفي تقارير أخرى من كلا البلدين قدرت الخسارة السنوية في الإنتاج نتيجة الإصابة بالمرض بحوالي 3-4 % و 5,7-16% على التوالي (Cook & Veseth, 1991) في حين تكبدت صناعة القمح الأسترالية خسائر اقتصادية تقدر بحوالي 80 مليون دولار أسترالي بسبب عفن الجذور في عام 2009 ، وقد تصل الخسائر المحتملة إلى 434 مليون دولار أسترالي سنوياً (Kazan & Gardiner 2018) ، ويساهم عفن الجذور في منع انبات البذار ويسبب ذبول السوق في حال الانبات ، وهذا يتسبب بخسارة في إنتاجية القمح. (Murray & Brennan 2009) ، بينما سجل انخفاض الغلة بنسبة تصل إلى 35% في شمال غرب أمريكا الشمالية (Smiley *et al.*, 2005) ، كما تراوحت تلك الخسارة ما بين 10-15 % في بعض مناطق الصين (Xiao *et al.*, 1998) وفي سوريا درس مقدار الخسارة في الإنتاج حقلياً حيث بلغت نسبتها 33% عند الأصناف القابلة للإصابة (الأحمد وآخرون 2005) .

## 1- الإشكالية البحثية:

تتمثل الإشكالية في معرفة التأثيرات السلبية لمسببات عفن الجذور الشائع على نمو وإنتاجية القمح وفي مدى تأثير بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) في تثبيط مسببات عفن الجذور الشائع على القمح، وتحسين نمو وإنتاجية النباتات المصابة، وتقليل استخدام الأسمدة الكيميائية والمخاطر الصحية والبيئية المصاحبة لها.

## 2- تساؤلات البحث:

- ما هي أنواع مسببات عفن الجذور الشائع التي تصيب زراعات القمح في منطقة الدراسة؟
- كيف يمكن عزل وتوصيف بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) من نفس المنطقة؟
- كيف يمكن اختبار قدرة هذه البكتيريا في تثبيط نمو ونشاط مسببات عفن الجذور الشائع في الظروف المخبرية ؟
- كيف يمكن أن يؤثر استخدام هذه البكتيريا على استخدام الأسمدة الكيميائية في زراعة القمح، وكيف ينعكس ذلك على جودة التربة والبيئة؟

## 3-فرضيات البحث:

1. تسهم البكتيريا المعززة لنمو النبات (PGPR) في تحفيز نمو النبات وزيادة طوله وإنتاجيته
2. تساهم بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) في تثبيط نشاط وانتشار مسببات مرض تعفن الجذور الشائع على القمح، وتعزيز نمو وصحة النباتات المصابة.
3. تقلل بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) من استخدام الأسمدة الكيميائية في زراعة القمح، وتحسن من جودة التربة والبيئة من خلال إتاحة عناصر غذائية رئيسية في التربة للنبات.

#### 4- مسلمات البحث :

- 1- القمح أهم المحاصيل الغذائية في منطقة الدراسة، ويستهلكه كافة السكان.
- 2- مسببات عفن الجذور الشائع هي من أخطر الأمراض التي تصيب زراعات القمح، وتسبب خسائر كبيرة في المحصول.
- 3- المبيدات والأسمدة الكيميائية التي تستخدم في زراعة القمح تضر بالصحة العامة والبيئة.
- 4- بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) هي كائنات حية دقيقة تعيش في التربة أو على جذور النباتات، وتؤثر إيجاباً على نموها وصحتها.

#### 5- أهمية البحث :

- 1- تبرز أهمية هذا البحث من خلال مساهمته في حل مشكلة علمية وتطبيقية تواجه زراعة القمح، وهو مرض عفن الجذور الشائع ، وتقديم بدائل طبيعية وفعالة في مكافحته.
- 2- كما يسهم هذا البحث في تعزيز نمو وإنتاجية نباتات القمح السليمة والمصابة بالأمراض، وتقليل استخدام المبيدات والأسمدة الكيميائية التي تشكل عبئاً مادياً وتؤدي إلى تدهور التربة والبيئة.
- 3- بالإضافة إلى ذلك، يساعد هذا البحث في إثراء المعرفة بخصائص وآليات عمل بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) ، ودورها في تحسين صحة النباتات والتربة، وتوفير بدائل طبيعية ومستدامة للمدخلات الزراعية الكيميائية.

## 6- مبررات البحث :

1- القمح أهم المصادر الغذائية للسكان في منطقة الدراسة، ويتعرض لخسائر كبيرة بسبب انتشار

مرض عفن الجذور الشائع الذي تناسبه ظروف التربة الدافئة وقليلة الرطوبة مما يؤثر سلباً على

نمو وإنتاجية القمح.

2- يستخدم المزارعون المبيدات للتخلص من هذه الأمراض التي تسبب خسائر في المحصول

ويستخدمون الأسمدة الكيميائية لزيادة الإنتاج.

3- تحتوي المبيدات والأسمدة على مواد سامة تشكل مخاطر صحية وبيئية. لذلك يهدف هذا البحث

إلى اختبار فعالية بكتيريا الجذور المحلية التي تحفز نمو النبات (PGPR) كطريقة طبيعية وآمنة

لوقاية القمح من تعفن الجذور الشائع وتحسين نموه وإنتاجيته

4- كما يساهم هذا البحث مع غيره من الأبحاث في سد فجوة معرفية في مجال دراسة البكتيريا

الجذرية المحلية المحفزة لنمو النبات (PGPR) ودورها في مكافحة أمراض النباتات وتحسين

الإنتاج وصيانة التربة، وتوفير بدائل طبيعية ومستدامة للمدخلات الزراعية الكيميائية.

## 7- محدوديات البحث:

1- يقتصر هذا البحث على تحري تأثير بكتيريا المحفزة لنمو النبات من الحيط الجذري لنبات القمح دون باقي

النباتات

2- يقتصر البحث على صنف القمح القاسي شام 3 دون باقي الأصناف القاسية والطرية

3- غطى البحث ثلاث محافظات فقط وهي ريف دمشق -دمشق -درعا دون باقي المحافظات

4- استهدف البحث الفطرين *F. graminearum* و *C. sativus* من اعفان جذور القمح دون باقي المسببات

وباقى الأمراض التي تصيب القمح.

## 8- مصطلحات البحث :

1. عفن الجذور: هو مصطلح عام يشير إلى مجموعة من الأمراض التي تصيب جذور النباتات، وتسبب

تلفاً أو تآكلاً أو تقرحاً فيها، وتؤدي إلى انخفاض في نمو وإنتاجية النباتات أو موتها .

2. مسببات عفن الجذور الشائع: هي أنواع من الفطور التي تهاجم جذور القمح وتعتبر من اهم الأمراض

التي تصيبه

3. بكتيريا جذرية محفزة لنمو النبات (PGPR) هي بكتيريا حية تعيش في التربة أو على جذور النباتات،

وتؤثر إيجاباً في نموها وصحتها من خلال إطلاق بعض المواد الكيميائية المشجعة لنمو النبات أو

المسهلة لامتصاص عناصر غذائية هامة من التربة .

4. المدخلات الزراعية: هي كل المواد أو المستلزمات التي تستخدم في عملية الإنتاج الزراعي، مثل

الأسمدة والمبيدات والبذور والآلات والأدوات .

## 9- أهداف البحث :

1- عزل بكتيريا من محيط جذور نبات القمح من مناطق مختلفة في سوريا.

2- تحديد انتماء هذه البكتيريا الى مجموعة **PGPR** من خلال:

دراسة قدرة البكتيريا على: انتاج السيدروفور - الانزيمات المحللة للفوسفات - تحليل البوتاس - انتاج المضادات

الحيوية - تثبيت الازوت الجوي - انتاج الهرمونات النباتية خاصة حمض الاندول الخلي.

3- دراسة تأثير البكتيريا في تثبيط بعض أعفان جذور القمح (*C.sativus* و *F. graminearum*)

مخبرياً وفي الأصص إضافة لتحفيز النمو في الأصص.

4- دراسة دور وتأثير بكتيريا **PGPR** على مؤشرات نمو وغلة القمح.

# الفصل الأول

## الدراسة المرجعية

## ***LITERATURE REVIEW***

## 1-1 مرض تعفن جذور القمح :

يعد مرض تعفن الجذور الشائع على القمح معقداً مرضياً تسهم فيه عدة فطور ممرضة جميعها من قاطنات التربة، ويمكن أن تنتقل بعضها بواسطة الحبوب أو بقايا المحصول ، وتنتشر تلك المسببات في جميع أنحاء العالم وتختلف في تردها حسب المناخ السائد والموقع الجغرافي وموعد الزراعة ومراحل نمو النبات وقد تم الكشف عن أكثر من ثلاثين نوعاً فطرياً أمكن عزلها من جذور وتاج نباتات القمح المصابة. وكان أكثر تلك الأنواع تردداً وهي:

**1-1-1 *Helminthosporium sativum*** : مجموعة من الفطريات الناقصة وهو الاسم القديم للطور اللاجنسي لهذا الفطر الذي يسبب مرض تعفن الجذور في القمح، وهو أكثر انتشاراً وتكراراً بين المسببات الفطرية . ويمكن أن يسبب بقعاً بنية على الجذور والأوراق والحبوب. .

• *Bipolaris sorokiniana* هو الاسم العلمي للطور اللاجنسي (المرحلة غير الجنسية) لهذا الفطر .يستخدم هذا الاسم في معظم المصادر العلمية

• *C.sativus* : الاسم العلمي للطور الجنسي لهذا الفطر .

• *Drechslera sorokiniana* اسم قديم للمرحلة اللاجنسية لهذا الفطر .تم استخدامه في بعض المصادر القديمة.

• *Helminthosporium sorokinianum* اسم قديم آخر للمرحلة اللاجنسية لهذا الفطر .استخدم في بعض المصادر القديمة(Ovsyankina et al., 2019).

**1-1-2 *Fusarium spp*** : مجموعة من الفطريات التي تسبب تعفن التاج والجذور ، والتي تشمل 12 نوعاً مختلفاً. أكثر أنواع *Fusarium* شيوعاً هي *F.graminearum* ، *F.culmorum* ، *F.nygamai* ، *F. equiseti* ، *oxysporum*.

**1-1-3 *Rhizoctonia solani*** ، يسبب تلفاً في الأنسجة الجذرية والتاجية .

**1-1-4 *Alternaria spp*** : مجموعة من الفطريات التي تسبب بقعاً بنية على الأوراق والسيقان والحبوب. وتؤثر على نمو النبات وإنتاجيته من الحبوب.

5-1-1 *Cercospora herpotrichoides*: من المسببات المنتشرة لمرض تعفن جذور القمح في بعض المناطق ، خاصة في أوروبا وشمال أفريقيا وآسيا الغربية ( Ovsyankina et al., 2019; Özer et al., 2020; Özer et al., 2023).

جدول (1) تصنيف اهم مسببات مرض تعفن جذور القمح واهم الاعراض

| الفطر                                | التصنيف                                                                                          | اسم العالم المكتشف          | الاعراض على القمح                                                                                                                                   |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Bipolaris sorokiniana</i>         | Ascomycota<br>Pezizomycotina<br>Dothideomycetes<br>Pleosporales<br>Pleosporaceae<br>Bipolaris    | Pamment , King<br>& Bakke   | يسبب عفن جذور القمح<br>البنّي والعفن المشقق والعفن<br>المخطط للجذور                                                                                 |
| <i>C. sativus</i>                    | Ascomycota<br>Pezizomycotina<br>Dothideomycetes<br>Pleosporales<br>Pleosporaceae<br>Cochliobolus | Ito & Kuribayashi           | يسبب عفن جذور القمح<br>البنّي والعفن المشقق والعفن<br>المخطط للجذور                                                                                 |
| <i>Helminthosporium sorokinianum</i> | اسم قديم لـ <i>Bipolaris sorokiniana</i>                                                         | Saccarda                    | نفس أعراض <i>Bipolaris sorokiniana</i>                                                                                                              |
| <i>Fusarium spp.</i>                 | Ascomycota<br>Prenomycetes<br>Hypocreales<br>Hypocreaceae                                        | Jean Baptiste<br>Fusée      | يصيب نظام الجذور<br>والسنابل في القمح. أعراضه<br>تشمل التعفن والسواد والذبول<br>في الجذور ولفحة (الجرب)<br>والتغير في لون حبات القمح<br>في السنابل. |
| <i>Rhizoctonia solani</i>            | Ascomycota<br>Agaricomycetes<br>Cantharellales<br>Ceratobasidiaceae                              | Julius Kühn<br><br>1858     | فطر يصيب نظام الجذور<br>والساق في القمح. أعراضه<br>تشمل بقع بنية وتقرحات<br>فوق سطح التربة والبقعة<br>البنية في النجيل.                             |
| <i>Alternaria spp.</i>               | Ascomycota<br>Ascomycetes<br>Pleosporales<br>Pleosporaceae                                       | Friedrich August<br>Kützing | تسبب بقع سوداء أو بنية<br>على الأوراق والساق<br>والحبوب                                                                                             |

أظهرت نتائج المسح المحلي لمرض تعفن الجذور الشائع في أهم مناطق زراعة القمح والشعير في سورية ، خلال العامين 1999 و2000 أن المسببات الأكثر انتشاراً هي *Fusarium spp* و *C. sativus* (النائب وآخرون، 2002).

في هذه الدراسة تم التركيز على تثبيط الفطرين *F. graminearum* , *C. sativus*.

## 1-2 الأعراض المرضية لأعفان جذور القمح:

إن من أهم أعراض الإصابة التي تدل على المرض هو تلون السلامة تحت التاجية (Subcrown internode) باللون البني الداكن ، ويكون إما على شكل بقع صغيرة تنتشر على السلامة أو تتحد لتغطي مساحة محددة قد تصل إلى كامل مساحة السلامة وذلك تبعاً لشدة الإصابة . كما يمكن أن يمتد التلون إلى أغصان الأوراق السفلية مؤدياً في بعض الأحيان إلى تمزقها (Al-Sadi, 2021). كما يصيب أنسجة الجذور والتاج لنباتات القمح النامية في طور البادرة، ويمكن ان تتلف أنسجة التاج والجذور ويتوقف امتصاص الماء والعناصر الغذائية. وتزداد الاعراض شدة في السنوات التي ترتفع فيها درجات الحرارة ويزداد فيها الجفاف في مرحلة الإزهار. تظهر النباتات المريضة كمناطق ذات رؤوس بيضاء قبل الأوقات المتوقعة للنضج الطبيعي وهو دليل على الإصابة بعفن الجذور كما يمكن ملاحظة بؤر من النباتات الخضراء الفاتحة أو الصفراء خلال فصل الربيع. مع تقدم الموسم وتعرض القمح للإجهاد الناجم عن الجفاف ودرجة الحرارة، تنتج النباتات المصابة بعفن الجذور رؤوساً بيضاء إما عقيمة أو مملوءة بحبوب متجعدة (Oklahoma State University – OSU Extension, 2021) .

ويمكن تقسيم الاعراض حسب منطقة الإصابة الى:

1. **على الجذور**: قد تظهر بقع صغيرة بنية إلى سوداء على الجذور الأولية والثانوية . كما قد يتغير لون التاج

إلى البني مقارنة باللون الأبيض للتاج السليم

2. **على منطقة التاج**: قد يتعفن التاج ويصبح لونه أسود أو بني أو أحمر . كما قد يظهر نمو فطري قطني

وردي أو أبيض داخل الأجزاء السفلية من الساق

3. **على الساق**: قد تظهر بقع على شكل عين مشققة أو خطوط على سطح الساق. كما قد يتغير لون الساق إلى الأصفر أو الأحمر أو البني.

4. **على الأوراق**: قد تظهر علامات ضعف وذبول وإصفرار أو إحمرار وجفاف على الأوراق. كما قد تظهر بقع ميتة من نباتات القمح ذات رؤوس بيضاء متفرقة في المزرعة

5. **على الحبوب**: قد تظهر تشوهات وتشققات وتغيرات في لون وحجم وشكل وجودة الحبوب. كما قد تظهر نقط سوداء على سطح الحبوب (Oklahoma State University, 2020).

تؤدي الممارسات الزراعية التي تحافظ على الرطوبة، مثل الحراثة القليلة والاحتفاظ بالقش إلى زيادة انتشار المرض في بعض المناطق (Kazan & Gardiner, 2018). لذلك، يعد كشف المرض مبكراً مهم للغاية لإدارته ومع ذلك، من الصعب على المزارعين اكتشاف المرض في مرحلة مبكرة في الحقل، عادة ما تكون الأعراض غير واضحة، في مراحل النمو المبكر لأنها تظهر على المناطق تحت سطح التربة أو القريبة منها (Erginbas-Orakci *et al.*, 2016؛ Saad *et al.*, 2021؛ Shikur Gebremariam *et al.*, 2018).

علاوة على ذلك، قد يكون من الصعب فحص المحصول في حقل عن طريق مراقبة السوق السفلية للقمح في مناطق مختلفة من النمو عدة مرات، حيث إنه يستهلك الكثير من الوقت والجهد والتكلفة.

### 1-3 العوامل التي تؤثر في انتشار المرض:

هناك عوامل كثيرة تسهم في انتشار المرض ولعل أهم هذه العوامل هي:

#### 1-3-1 الحرارة والرطوبة:

يلعب الجفاف دوراً أساسياً في انتشار مرض تعفن الجذور في كافة مناطق انتشاره في العالم. فحدة الإصابة تزداد في السنوات الجافة بشكل ملحوظ، مما يزيد من قابلية الأصناف المزروعة للإصابة. كما تتعلق شدة الإصابة بالمرض بكمية الهطول المطري خلال الفترة الأولى من نمو النبات. بالإضافة إلى ذلك، يعتبر ارتفاع درجة الحرارة عاملاً مهماً في تفشي المرض، خاصة عندما تترافق مع قلة الأمطار. وينتشر المرض من خلال الأبواغ التي ينتجها

الفطر على قش القمح المصاب وتنتقل إلى نباتات جديدة، مؤدياً إلى خسارة في المحصول وجودة حبوب سيئة. (Al-Sadi, 2021) . عموماً تأثير الحرارة والرطوبة وحموضة التربة على شدة مرض تعفن جذور وتاج القمح يعتمد على نوع الفطر المسبب للمرض والظروف البيئية والزراعية كما في الجدول رقم(2).

جدول(2) الحرارة والرطوبة المناسبة لنمو لأهم مسببات أعفان جذور القمح الفطرية .

| اسم الفطر             | الحرارة<br>(درجة<br>مئوية) | الرطوبة<br>(%) | الحموضة<br>(pH) | ملاحظات                                      | المرجع                     |
|-----------------------|----------------------------|----------------|-----------------|----------------------------------------------|----------------------------|
| Bipolaris sorokiniana | 15-30                      | >90            | 5-6             | يسبب نقطة سوداء وتعفن جذور مشترك وبقعة مائلة | (Kumar et al.,2017 )       |
| Fusarium spp.         | 20-30                      | 80-100         | 5-6             | يسبب تعفن جذور وسيقان وتعفن رأس القمح        | (Leslie& Summerell, 2006). |
| Rhizoctonia solani    | 10-25                      | 50-75          | 5-7             | يسبب تعفن جذور وسيقان القمح                  | (Sharma et al .,2018)      |
| Alternaria spp.       | 15-35                      | >90            | 5-6             | يسبب تعفن جذور وأوراق وأزهار وثمار القمح     | (Prins et al.,2000).       |

و في التربة الحامضة يقل توافر بعض العناصر الغذائية للنباتات، مثل الكالسيوم والفسفور والمغنيسيوم، مما يزيد من إجهادها ويقلل من مقاومتها للأمراض(Prasad, 2021).

### 1-3-2 بقايا المحاصيل:

تؤثر بقايا المحاصيل في حدوث المرض إذ أن زراعة القمح في الحقول التي تحتوي على بقايا المحصول السابق تزيد من شدة الإصابة بتعفن الجذور وبخاصة إذا كان المحصول السابق قمحاً أو أحد عوائل الممرضات المسببة له وبالمقابل تنخفض شدة الإصابة بشكل واضح في الحقول النظيفة سواء بحرق بقايا المحاصيل أو دفنها

في التربة وهذا التأثير يزداد عادة في السنوات الماطرة والرطوبة في المناطق الجافة (Govaerts *et al.*, 2006). في استراليا بلغت نسبة الإصابة في الحقول التي تحتوي على بقايا المحاصيل السابقة 32,2% مقارنة مع 4,7% في الحقول التي حرق بقايا المحاصيل فيها وهذا يدل على أن كثافة اللقاح هي التي تلعب الدور الأساسي في حدوث المرض (Simpfendorfer *et al.*, 2020).

### 1-3-3 الدورة الزراعية :

إن أهم عامل يؤثر على المرض سواءً بزيادة الانتشار أو نقصانه هو إتباع أو عدم إتباع دورة زراعية مع الأخذ بعين الاعتبار أن الفطور المسببة للمرض غير متخصصة إذ تمتلك مجالا عائليا واسعا وهي قادرة على إصابة أيًا من تلك العوائل شريطة توفر الظروف البيئية المناسبة ، وبالتالي فإن اختيار المحاصيل التي ستدخل مع القمح في دورة زراعية غاية في الأهمية ولذلك فإن زراعة القمح بعد القمح أو أي محصول من المحاصيل النجيلية يزيد من خطورة المرض (Simpfendorfer *et al.*, 2020) .

وأشارت بعض الدراسات إلى أن زراعة القمح في أرض بور أعطت إنتاجاً عالياً وشدة إصابة منخفضة بالمقارنة مع إنتاج متوسط وشدة إصابة متوسطة عند الزراعة بعد محصول الذرة وإنتاج منخفض وإصابة عالية عند الزراعة بعد القمح ((KoTova, 1979; Tupenevich & Volchova, 1977; Mehta & Gaudencio, 1990)). يمكن أن يكون استخدام التناوب الفعال للمحاصيل التي يتم اختيارها القدرة على تقليل الأمراض التي تنتقل عبر التربة حيث لوحظ أن استخدام الملفوف *Brassica sp* . كسماد أخضر للمحاصيل ضمن الدورة الزراعية كان له اثر واضح بتقليل الإصابة بالعديد من الأمراض كما تبين أن إدخال محصول *Brassica* , الكتان في دورة زراعية مع القمح خفض شدة الإصابة بالمرض وقلل من تركيز اللقاح المعدي في التربة (Campanella *et al.*, 2020; Scherm *et al.*, 2013).

هناك عوامل أخرى تؤثر في حدوث مرض تعفن جذور القمح حيث يتأثر بالظروف المحيطة بالجذور، مثل درجة حموضة التربة والتهوية والتغذية. فمثلا ظروف حرارة منخفضة أو رطوبة عالية قد تزيد من نشاط بعض

أنواع الفطريات التي تسبب التعفن، مثل *Fusarium spp* . أو *Rhizoctonia spp* (Liu *et al.*, 2012) ، وأيضا موعد الزراعة، مسافات الزراعة، عمق البذار ... الخ . فالعلاقة بين مسافة الزراعة ومرض تعفن جذور القمح تتوقف على نوع المحصول المزروع قبل القمح، ونوع الفطريات المسببة للمرض. فزراعة القمح بمسافات زراعية ضيقة (8سم) بعد محاصيل غير مستضيفة للفطريات، مثل *Brassica carinata* أو *Brassica napus* قللت من حدة المرض وزادت من إنتاجية القمح، مقارنة بزراعة القمح بمسافات زراعية واسعة (10 أو 12 سم) بعد محاصيل مستضيفة للفطريات، مثل الشعير أو الذرة أو البطاطس (Mehrab *et al.*, 2021)

#### 4-1 مكافحة أعفان جذور القمح:

هناك عدة طرق للتعامل مع المرض تتفاوت في كفاءتها وتكلفتها وإمكانية تطبيقها، وتبين أن أفضل حل لإدارته هو تقليل مستويات العامل الممرض في الحقل عن طريق الإدارة المتكاملة والمستدامة (Singh *et al.*, 2021; Winter *et al.*, 2019)

هناك عدة طرق لمكافحة مرض أعفان جذور القمح وهي تتباين فيما بينها من حيث الكفاءة والفاعلية والتكلفة ومن هذه الطرق :

#### 1-4-1 الطرائق الزراعية :

##### 1-1-4-1 الدورة الزراعية والتسميد:

مكافحة عفن الجذور القمح بواسطة الطرق الزراعية تتضمن استخدام الدورة الزراعية ، والتسميد المناسب، والتحكم في الرطوبة، والتعقيم الحراري للتربة، حيث أن التدوير الزراعي يساعد على كسر دورة حياة الفطريات الممرضة وتقليل تكاثرها في التربة والبقايا. كما أن التسميد المناسب يساعد على تحسين صحة ومقاومة النباتات للفطريات. بينما التحكم في الرطوبة يساعد على منع نمو وانتشار الفطريات في التربة والجذور ، وتسهم معالجة التربة بالحرارة في قتل أو إضعاف الفطريات الموجودة في التربة (Williamson-Benavides & Dhingra, 2021) .

أظهرت دراسة في إيطاليا أن زرع *Brassica juncea* كسماد أخضر قبل زرع القمح قلل من حدة مرض تعفن جذور القمح بنسبة 50%، وزاد من إنتاجية القمح بنسبة 9.5 - 62.2%، مقارنة بزرع القمح فقط (Kerdraon *et al.*, 2019)، حيث يقوم النبات بإنتاج مواد كيميائية طاردة للفطريات تسمى glucosinolates (الغلوكوزينات)، والتي تنشط عند تكسير خلايا هذه النباتات. هذه المواد تؤثر سلباً على نشاط وإنبات الأبواغ للفطريات الممرضة، وتقلل من حدة مرض تعفن جذور القمح في محصول القمح التالي (Campanella *et al.*, 2020).

#### 1-4-2 بقايا المحاصيل :

كما تبين أن مكافحة عفن جذور القمح بواسطة إدارة بقايا المحاصيل كسماد أخضر أو زرع محصول ثانوي يؤثر على مجتمعات الميكروبات في التربة والمحاصيل، وتلعب بقايا المحاصيل دوراً مزدوجاً في نشر أو مكافحة الأمراض الفطرية، فبقايا المحاصيل توفر مادة عضوية للفطريات المفيدة والضارة، وتغير خصائص التربة مثل الرطوبة والحرارة والتهوية. وقد تساعد على تقليل كثافة العامل الممرض من خلال تنافس الميكروبات المفيدة مع الفطريات الممرضة، أو قد تزيد من خطورة الأمراض من خلال حمل الأبواغ أو تسهيل انتقالها (Govaerts *et al.*, 2006; Kerdraon *et al.*, 2019).

#### 1-4-3 مسافات وعمق الزراعة

إن الزراعة على مسافات مناسبة وفي الموعد المناسب وإضافة الأسمدة بشكل متوازن يقلل من الإصابة بالمرض لأن هذه المعاملة تزيد من نشاط النبات وبالتالي تقلل قابلية النبات للإصابة بالمرض. والزراعة على عمق مناسب هام جداً، فكلما زاد عمق البذور قلت معه نسبة الإنبات وزاد تعفنها بحيث تعطي فرصة أكبر للممرضات لتتمكن من مهاجمتها ويؤدي ذلك إلى إعطاء سلاميات تحت تاجية طويلة تكون أكثر عرضة وقابلية للإصابة بالفطور الممرضة وبالتالي ينصح بعدم زيادة عمق البذار (Mohan *et al.*, 2013).

#### 1-4-1 استخدام الأصناف المقاومة :

استخدام الأصناف المقاومة أو المتحملة هو أحد أفضل الطرق للوقاية من عفن جذور القمح، حيث يقلل من خسائر الإنتاجية ويحسن من جودة الحبوب. وتكون لها قدرة أعلى على تحمل الفطريات المسببة للمرض، وتقلل من انتشارها في التربة وبقايا المحاصيل. كما تتميز بخصائص مورفولوجية وفسولوجية وجزئية تساعد على التعامل مع الإجهاد المرضي. بعض هذه الخصائص هي: طول وسمك وشكل جذور القمح، إضافة إلى تحفيز تنوع الميكروبات المفيدة في التربة وزيادة نشاطها (Williamson-Benavides & Dhingra, 2021).

بين SU وآخرون (2021) في دراسة تتناول العوامل الوراثية التي تحكم مقاومة القمح لثلاثة أمراض فطرية تصيب الجذور والسوق من بينها مرض تعفن جذور القمح أن بعض الجينات التي تساهم في مقاومة القمح لمرض تعفن جذور القمح هي : Pm3, Lr34, Lr46, Lr67 وYr36 واستطاع تحديد بعض المواقع الجينية المرتبطة بالمقاومة لمرض تعفن التاج، مثل QFcr.sau-3B و QFcr.sau-5A و QFcr.sau-7D وتم التعرف على بعض الأصناف التي تظهر مقاومة أعلى من غيرها لهذه الأمراض، مثل Zhoumai

22 و Zhoumai 32, Zhoumai 33, Zhoumai 36, Zhoumai 42, Zhoumai 47. (Su et al., 2021)

(al., 2021). وفي دراسة أجراها Wei عام 2017 تم عزل جين TaPIMP2، الذي يشفر بروتين MYB

المستحث بمرض عفن جذور القمح أكد أن إسكات الجين TaPIMP2 أدى إلى عدم مقاومة صنف القمح

Yangmai 6 تجاه *B. sorokiniana*، بينما أدى التعبير المفرط للجين TaPIMP2 إلى تحسين مقاومة

المرض (Wei et al., 2017) إن استخدام الأصناف المقاومة يتطلب تحديد وتقييم الأصناف المتوفرة في كل

منطقة زراعية، حسب نوع وشدة المرض. هذا يتطلب إجراء اختبارات مخبرية وحقلية لتحديد درجة المقاومة أو

القابلية لكل صنف، باستخدام مؤشرات مثل نسبة الإصابة، وشدة المرض وإنتاجية الحبوب ونسبة البروتين.

كذلك، يتطلب الأمر إجراء دراسات وراثية لتحديد المواقع والجينات المسؤولة عن المقاومة أو القابلية، باستخدام

تقنيات مثل التحليل الوراثي والتهجين وهذه الطرائق ذات تكاليف عالية ودراسة طويلة وقد لا تكون نتائجها ثابتة

(Fernandez et al., 2005; Kumar et al., 2002; Mazzola et al., 2019)

كما أن استخدام الأصناف المقاومة يتأثر بالظروف المناخية والزراعية لكل منطقة ودرجات حرارة أعلى أو أقل من المثالية قد تؤثر على صحة ومقاومة جذور وأوراق وسنابل القمح. كذلك، قد يؤثر الهطول المطري على رطوبة وتهوية التربة والجذور. هذه التغيرات قد تؤثر على فعالية استخدام الأصناف المقاومة في مكافحة عفن جذور القمح. (Sharma *et al.*, 2020; Saad *et al.*, 2023).

#### 1-4-2 المكافحة الحيوية :

هي استخدام كائنات مثل (البكتيريا أو الفيروسات أو الفطريات أو الحشرات أو النباتات) للحد من تأثير كائنات ضارة (مثل المسببات المرضية أو الآفات أو الأعشاب الضارة) في نمو وإنتاجية النباتات، هذه الطريقة تعتبر بديلاً صديقاً للبيئة مقارنةً باستخدام المبيدات الكيميائية، وتساهم في تحسين صحة التربة والتنوع الحيوي والتوازن البيئي. يمكن تصنيف المكافحة الحيوية إلى أربع فئات رئيسية حسب طريقة استخدام الكائنات في المكافحة: المكافحة الحيوية الطبيعية (إذا لم يكن هناك تدخل بشري متعمد)، والمكافحة الحيوية التحفيزية (إذا تم تحفيز الكائنات المفيدة الموجودة في النظام البيئي لزيادة فعاليتها)، والمكافحة الحيوية التقليدية (إذا تم إضافة كائنات جديدة للاستقرار والسيطرة على المدى الطويل)، والمكافحة الحيوية التعزيزية (إذا تم إضافة كائنات مستأنسة ومكاثرة للسيطرة على المدى القصير) (Stenberg *et al.*, 2021)، و المكافحة الحيوية للأمراض النبات تعتمد على أربع طرائق أساسية للتخلص من مسببات الحيوية للأمراض :

(أ) المنافسة على الموارد (الأكسجين والكربون والنيتروجين وغيرها من المواد الهامة)؛ (ب) منع انتشار مسببات الأمراض بإنتاج مواد سامة ثانوية؛ (ج) الهجوم على مسببات الأمراض واستهلاكها كغذاء؛ (د) تنشيط دفاعات النبات ضد مسببات الأمراض بشكل غير مباشر. هناك طريقة خامسة يمكن أن تساعد في مقاومة الأمراض وهي تحسين نمو النبات بزيادة امتصاص المغذيات و / أو التأثير على هرمونات النبات، وهذا يظهر في بعض البكتيريا والفطريات المرتبطة بالجذور (Larsen *et al.*, 2015). قد يكون النبات الأقوى أقل عرضة للإصابة بالأمراض

وقد تتجنب شتلاته في الحقل أمراض سقوط البادرات. لكن بعض الخبراء لا يعتبرون هذه كطريقة بيولوجية للتحكم في الأمراض (Collinge *et al.*, 2022).

#### 1-2-4-1 مزايا استخدام المكافحة الحيوية:

1. تقليل استخدام المبيدات الكيميائية والتأثيرات السلبية المرتبطة بها على الصحة والبيئة.
2. تحسين صحة التربة والتنوع الحيوي والتوازن البيئي في النظام الزراعي.
3. توفير حلولاً فعالة ومستدامة ومنخفضة التكلفة لمكافحة الأمراض المقاومة للمبيدات أو التي لا توجد لها مبيدات متاحة أو آمنة ( Hulot&Hiller.,2021 )
4. تعزيز قدرة النبات على المقاومة أو التحسن أو الشفاء من الأمراض بشكل طبيعي (He *et al.*,2021).
5. تحسين جودة وإنتاجية وقيمة المحصول. ( Soul-kifouly *et al.*, 2021; van Lenteren *et al.*, ) (2021).

فلا بد في المكافحة الحيوية أن يتميز الكائن المضاد بإنتاج مركبات أو مضادات حيوية ضد الكائنات الممرضة أو يكون لديه المقدرة العالية على التنافس على الغذاء والمكان الضروري للكائن الممرض وبكفاءة عالية أو أن ينتج مركبات هرمونية تزيد من نمو النبات أو تزيد من مقاومة النبات للأمراض (Köhl *et al.*, 2019)

#### 1-2-4-2 أهم الكائنات المستخدمة في المكافحة الحيوية:

##### 1-2-2-4-1 البكتيريا:

***Bacillus spp* :** وهي تتواجد في التربة والماء والنباتات. بعض أنواع *Bacillus* تمتلك خصائص مفيدة للنباتات، مثل تحفيز نمو النباتات، وإفراز المواد الكيميائية المضادة للفطريات، وتحسين توافر العناصر الغذائية، وتحسين صحة التربة. لذلك، تستخدم بكتيريا *Bacillus* كعوامل مكافحة حيوية لمرض تعفن جذور القمح الناجم عن فطور

مختلفة، مثل *Fusarium spp.* و *C. sativus* و *Rhizoctonia solani* ومن أهم أنواعها بكتيريا *Bacillus subtilis* هي واحدة من العوامل الحيوية التي تستخدم للسيطرة على مرض تعفن جذور القمح المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*. تعمل هذه البكتيريا على استحثاث المقاومة الجهازية في نباتات القمح، وتثبيط نمو وإصابة الفطر الممرض، وتحسين صفات النمو والإنتاجية للقمح (حسن & القيسي، 2019)

- *Bacillus velezensis*: هو أحد أهم أنواع *Bacillus* المستخدمة في مكافحة الحيوية لمرض تعفن جذور القمح، وهو نوع ينتج مضادات حيوية قوية، مثل سورفاكتين وفنجستاتين وباسيلوسبورين وإيتيرول. هذه المضادات الحيوية تثبط نمو *Fusarium spp.* و *C. sativus* و *Rhizoctonia solani* في المختبر وفي التربة، وتقلل من حدة المرض وتزيد من إنتاجية القمح (Wang et al., 2022)

- *Bacillus cabrialesii*: المستخدم في مكافحة الحيوية لمرض تعفن جذور القمح هو وهو نوع ينتج مضادات حيوية، مثل سورفاكتين (Surfactin) وإيتيرول (Iturin) وسيرولانوسول (Cereulide). هذه المضادات الحيوية تثبط نمو *Fusarium spp.* و *C. sativus* في المختبر وفي التربة، وتقلل من حدة المرض وتزيد من إنتاجية القمح (Mulk et al., 2021)

*Pseudomonas*: وهي مجموعة من البكتيريا سالبة الغرام التي تعيش في التربة والماء والنباتات. بعض أنواع هذه البكتيريا لها دور في مكافحة أعفان جذور القمح، (Ullah et al., 2020)

وفقا لدراسات علمية، فإن بكتيريا *P. fluorescens* و *P. mediterranea* قادرة على إفراز مواد مضادة للفطريات وتحفيز نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة في نباتات القمح المصابة بالفطريات المسببة لأعفان الجذور، مثل *Gaeumannomyces graminis var. tritici* و *Rhizoctonia solani* و *Fusarium spp.* وقد أظهرت هذه الدراسات أن استخدام هذه البكتيريا كعوامل حيوية يقلل من شدة الإصابة بالأمراض ويزيد من إنتاجية القمح (Kolomiiets et al., 2020; Ullah et al., 2020)، وفي مثال آخر تبين أن استخدام بكتيريا *Pseudomonas spp.* كعامل مكافحة حيوي لمرض تعفن جذور القمح الناجم عن *Rhizoctonia solani*،

يمكنها إفراز مواد كيميائية وإنزيمات تثبط نمو *Rhizoctonia solani* في المختبر وفي التربة، وتحسن من صحة وإنتاجية القمح. (Saeed *et al.*, 2021)

### ***Enterobacter spp***

يعتبر دور بكتيريا *Enterobacter* في تعزيز نمو النباتات وحمايتها من مسببات المرضية. أمراً مثبتاً حيث تمتلك بكتيريا *Enterobacter* مجموعة واسعة من الصفات التي تساعد على تحسين صحة التربة والنباتات، مثل تثبيت النيتروجين، تحليل فوسفات التربة، إنتاج المضادات الحيوية، إفراز جزيئات السيدروفور والإنزيمات المائية، بالإضافة إلى إنتاج السكاريدات خارج الخلية وزيادة نفاذية التربة. تظهر عدة سلالات من *Enterobacter* هذه الأنشطة التي تعزز نمو النبات وتثبط مسببات المرضية في التربة. هذه القدرات تجعل من *Enterobacter* مرشح محتمل لتحسين نمو وتطور النباتات. بسبب دورها المتعدد في نمو المحاصيل، تم تطوير عدد من هذه السلالات تجارياً كمحفزات لنمو النبات وعوامل للتحكم في الأحياء كما ذكر Jha وآخرون (2011) أن بعض السلالات تستطيع تحريض المقاومة المستحثة (Induced systemic resistance) بشكل أساسي في النبات، وهي عملية تنشيط المناعة النباتية ضد الإجهادات المختلفة (Jha *et al.*, 2011)، وفي عام 2021 اختبر Shabbir وآخرون تأثير تطبيق صيغة حيوية تحتوي على العزلة البكتيرية *Enterobacter sp.* UPMSSB7 وفطر جذري شجيري (*Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) (AMF) مع إضافة السيليكون على نبات قمح مصاب بعفن جذور ، فوجدوا أن هذه التوليفة قادرة على خفض حدة المرض بنسبة 50-70% وزيادة إنتاجية القمح بنسبة 30-40% مقارنة بالشاهد. كما أظهروا أن هذه التوليفة تؤثر على التعبير الجيني للجينات المرتبطة بالاستجابة المناعية (Shabbir *et al.*, 2021).

تساهم *Enterobacter cloacae* في تحسين نمو نباتات الذرة بشكل ملحوظ، حيث تزيد من نسبة النمو بمعدل يتراوح بين 20 و30% مقارنة بالنباتات الشاهدة. كما تعمل على رفع مستوى الهيموجلوبين في أوراق الذرة بنسبة تتراوح بين 10 و15%. بالإضافة إلى ذلك، تقلل هذه البكتيريا من شدة الإصابة بالفطريات الممرضة مثل *F.*

*Colletotrichum graminicola* و *moniliforme* ، حيث تخفض نسبة الإصابة بمعدل يتراوح بين 40 و 60% (Kageyama & Nelson.,2003).

#### 1-4-2-2 الفطريات:

***Trichoderma spp*** : ذكر جنس التريكوديرما منذ أكثر من 120 عام وذلك من قبل العالم Persoon وتتميز معظم أنواعه بسرعة النمو وإنتاج اعداد كبيرة من الجراثيم الكونيدية الصغيرة الخضراء او البيضاء ويعتبر من أهم المبيدات الحيوية المستخدمة في مكافحة أعفان جذور القمح. يتميز فطر التريكوديرما بقدرته على منافسة الفطريات الأخرى على المكان والغذاء، كما يعمل على إفراز الأنزيمات التي تحلل الجدر الخلوية للفطريات الضارة وكذلك ينتج العديد من المضادات الحيوية. ينمو فطر التريكوديرما بشكل مثالي في التربة على درجة حرارة 25 درجة مئوية مع توفر محتوى رطوبي مناسب لذلك. ومن أشهر أنواعه *T.harzianum*–*T. viride*–*T.virens*–*T.hamatum*–*T.koningii*–*T.pseudokoningii* وتتميز أنواع التريكوديرما بإنتاج بعض عوامل النمو مثل الأوكسينات والايثيلين والذي بدوره يشجع نمو النبات ويشجع آليات الدفاع لدى النبات كما تتميز أنواع التريكوديرما بالمنافسة ، حيث تنافس الكائنات الحية خاصة في البيئات المحدودة العناصر مما يشكل دور في المقاومة الحيوية إضافة الى تميزها بإنتاج مضادات حيوية مثل-6 (Trichodermol- Harzianum-Harziandione- ) ( Polyketides – Pyridone Pyrone-2-Pentyl ) تستخدم فطر *Trichoderma spp.* كعامل مكافحة حيوي لمرض تعفن جذور القمح الناجم عن *Fusarium spp.* و *R. solani* (أبو عرقوب ،2002) وقد أظهرت دراسات أن *Trichoderma spp.* يمكنه إفراز مواد كيميائية وإنزيمات تثبط نمو *Fusarium spp.* و *R.solani* في المختبر وفي التربة، وتحسن من صحة وإنتاجية القمح.(Sharma et al., 2019)

***Piriformospora indica***: هو فطر خيطي داخلي ، يتواجد في الخلايا القشرية لجذور النبات، وقد لفت نظر العديد من العلماء خلال العقود الأخيرة نظرًا لقدرته الاستثنائية على تعزيز نمو وحماية وتحمل النباتات للضغوط المختلفة. يمكن زراعة هذا الفطر في ظروف معقمة وهو قادر على استعمار/استضافة نطاق واسع من أنواع النباتات

من خلال التأثير المباشر على مسارات إشارات هرمونات النبات خلال التفاعل المتبادل. يؤدي استعمار جذور النبات بالفطر إلى تحسين أداء النبات من جميع الجوانب، بما في ذلك زيادة تكاثر الجذور بفضل إنتاج حمض الإندول-3-خليك، مما يؤدي بدوره إلى تحسين اكتساب المغذيات وبالتالي إلى زيادة نمو وإنتاجية المحصول. بالإضافة إلى ذلك، يمكن لـ *P. indica* أن يحفز المقاومة المستحثة بالنبات للأمراض الفطريات والفيروسات من خلال التوصيل الإشاري. كما يمكن لـ *P. indica* أن يحفز مكونات نظام الدفاع المضاد للأكسدة وتعبير الجينات المتعلقة بالضغط والاجهاد، مما يؤدي إلى تحسين تحمل النبات/المحصول للضغط. علاوة على ذلك، يمكن لـ *P. indica* أن يشارك في علاقة تكافؤ أكثر تعقيداً، مثل التكافؤ ثلاثي الأطراف، وهذا يعني أنه يمكن لهذا الفطر أن يتفاعل مع نبات مضيف وبكتيريا معينة في نفس الوقت، وأن هذا التفاعل يحقق فوائد متبادلة للأطراف الثلاثة وأن يحسن ديناميكية مجتمع البكتيريا المحفزة لنمو النبات في التربة. باختصار، يمكن استخدام *P. indica* كعامل محفز للنبات، وسماد حيوي، وواقٍ حيوي، ومنظم حيوي، وعامل تحسين جودة.

وقد أظهرت الدراسات أن هذا الفطر يستطيع حماية نباتات القمح من بعض الأمراض التي تسببها الفطريات مثل *F.graminearum* و *R.cerealis* حيث يعتقد أنه يحفز المقاومة الجهازية في النباتات المستعمرة بواسطته من خلال زيادة تركيز بيروكسيد الهيدروجين ونشاط مضادات الأكسدة والتعبير الجيني للجينات المتعلقة بالمقاومة مثل WRKY و MAPK. كما أن *P.indica* يحسن من صفات النبات مثل كتلة الجزء الهوائي ووزن ألف حبة وإجمالي وزن الحبوب . وبالتالي، يمكن اعتبار هذا الفطر كعامل مفيد للمكافحة الحيوية لأمراض القمح في ظروف المشتل والحقل، كما أنه يساهم بقوة بزيادة مضادات الأكسدة تحت ضغط الملح في الشعير مما يخفف بيروكسيد الدهون الناجم عن كلوريد الصوديوم، وإزالة التشبع بالأحماض الدهنية في أوراق الشعير (Waller et al .,2005) كما أن *P. Indica* رفع بشكل كبير كمية حمض الأسكوربيك وزاد من أنشطة الإنزيمات المضادة للأكسدة في جذور الشعير أثناء ظروف الإجهاد الملحي استجابة للإجهاد الملحي العالي (Baltruschat et al .,2008) .

### 1-4-3 مكافحة الكيمائية :

تستخدم العديد من المبيدات الكيماوية لمكافحة أعفان جذور القمح ولعل أهمها حسب منظمة الأغذية والزراعة (FAO.,2021):

- بروپاموكارب (Propamocarb): هو مبيد فطري ينتمي إلى مجموعة الكاربامات، ويستخدم لمكافحة الفطريات التي تسبب اعفان جذور القمح، مثل *Gloeocercospora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* يُستخدم هذا المبيد عادة بشكل رش على الأوراق أو تغطية البذور.

- بروكلوراز (Prochloraz): هو مبيد فطري ينتمي إلى مجموعة الإמידازولات، ويستخدم لمكافحة الفطريات التي تسبب اعفان جذور القمح، مثل *Fusarium*, *Rhizoctonia* يُستخدم هذا المبيد عادة بشكل تغطية للبذور.

-كاربندازيم (Carbendazim): هو مبيد فطري ينتمي إلى مجموعة البنزيميدازولات، ويستخدم لمكافحة الفطريات المسببة لعدد كبير من الامراض ومنها اعفان جذور القمح.

في دراسة أجراها Zhang (2022) في الصين لتقييم تأثير أربع مبيدات فطرية (triconazole, carbendazim, metalaxyl M + fludioxonil و carboxin + thiram واثنين من وسائط المكافحة الحيوية هما:

*T. harzianum* و *B. subtilis* على النمو والإصابة بفطري *R. solani* و *F. graminearum* المسببين لأعفان جذور القمح. وقد وجد الباحثون أن أفضل المعاملات للسيطرة على أعفان الجذور كانت مزيج metalaxyl M + fludioxonil يليه carbendazim ، triconazole ، بينما كانت أقلها كفاءة carboxin + thiram ، *B. subtilis* و *T. harzianum* مقارنة بالشاهد.

إن استخدام المبيدات الكيماوية هو السائد للتحكم في الأمراض التي تصيب النباتات والتي تسببها الكائنات الحية الدقيقة و على الرغم من ذلك ، فإن تطبيقها المتكرر بدون ضوابط في الزراعة المكثفة قد أدى الى مشكلات منها التلوث البيئي ، ووجود أثر متبقي من المبيدات في المنتجات الزراعية وتطوير مسببات الأمراض النباتية لتصبح مقاومة لها، كما أنها تقضي على كمية الكائنات الحية الدقيقة المفيدة المتوفرة في التربة والقادرة على زيادة خصوبة التربة و على هذا المنوال، هناك حاجة للبحث في خيارات أكثر أماناً للبيئة وللنبات وللفلورا المفيدة الطبيعية في

التربة وأن تكون مجدية من الناحية الاقتصادية لمواجهة هذه المشكلة، و يعد استخدام عوامل مكافحة الحيوية أفضل طريقة بديلة للسيطرة على الأنواع المختلفة من الأمراض (Brien.,2017).

في الوقت الحاضر، تلعب عوامل مكافحة الحيوية دورًا مهمًا في مجال الزراعة. حيث انها مقبول اقتصادياً و صديق للبيئة وتمنع تطور وانتشار الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض بشكل مستدام. ( Boro *et al.*, 2022; Köhl *et al.*, 2019)

ويتم التوجه عالمياً الى استخدام الأحياء الدقيقة أو بصورة أخص البكتيريا المحيطة بمنطقة الجذور والتي تقوم بتشجيع النبات على النمو وحمايته من الأمراض والاجهادات الحيوية واللاحيوية الأخرى بما فيها مقاومة الجفاف والتي باتت تعرف ببكتيريا (PGPR) (Pathania *et al.*, 2020).

### 1-5 البكتيريا المعززة لنمو النبات (PGPR)

PGPR اختصار لـ Plant Growth Promoting Rhizobacteria وهي البكتيريا المحفزة لنمو النبات والتي تتواجد في منطقة المحيط الجذري (Labuschagne *et al.*, 2010). وتحتوي منطقة الريزوسفير على أنواع مختلفة من البكتيريا التي تتغذى على خلايا النبات المتوسفة ويطلق على هذه العملية اسم rhizodeposition وتترافق مع إطلاق المركبات العضوية من جذور النباتات إلى التربة أو الوسط المحيط بها. هذه المركبات قد تشمل السكريات والأحماض والأمينات والإنزيمات والهرمونات والإفرازات والأيونات وغيرها (Preece & Penuelas., 2016). تؤثر هذه المركبات على خصائص التربة والكائنات الحية الدقيقة فيها، وتلعب دورًا في دورة الكربون والمغذيات والبروتينات والسكريات المتحررة من الجذور. وتكثر في هذه المنطقة الأوليات الحيوانية (البروتوزوا) والنيماطودا التي تتغذى على البكتيريا. ولذلك فإن معظم حركة المغذيات ودورة العناصر وتثبيط مسببات المرضية للنباتات تحدث في المنطقة الملاصقة للجذور (Preece & Peñuelas, 2016) وقد استخدم تعبير الريزوبكتيريا المعززة لنمو النبات أول مره في أواخر السبعينيات (1978) بواسطة Kloepper من خلال دراساتهم التي أظهرت التأثير المحفز لسلالات من بكتيريا *Pseudomonas* على نمو محاصيل نباتات البطاطا من خلال قدرتها على

مقاومة ممرضات التربة عامي (1980 - 1981). كذلك تم عزل أكثر من 400 سلالة بكتيرية من المحيط الجذري للنباتات النامية بالمناطق شديدة البرودة في كندا عامي (1983 - 1984) حيث تم تقييم كفاءتها في تثبيت الأزوت وثبت أن بعضها قادر على اختزال الأسيتيلين والتوطن بفعالية في جذور نبات اللفت الزيتي (Canola) النامية في ظروف حرارة منخفضة أيضاً (Zablotowicz *et al.*, 1991). وعادة تؤثر بكتيريا PGPR بطرق مباشرة أو غير مباشرة في تحسين نمو النبات وحمايته تجاه العوامل الممرضة (Jiao *et al.*, 2021)

### 1-5-1 الآليات المباشرة لتأثير PGPR على النبات:

1- تثبيت النيتروجين الجوي: الكائنات الدقيقة المثبتة للنيتروجين وفيرة في منطقة الجذور بالتربة. يمكن أن يكون التثبيت الحيوي للنيتروجين إما تكافلياً مع جذور النبات (symbiotic) أو غير تكافلي (non-symbiotic) (Jeyanthi & Kanimozhi, 2018).

1.1 البكتيريا المثبتة للأزوت بشكل تكافلي (symbiotic) وتشمل الاجناس البكتيرية مثل *Rhizobium* *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* التي تشكل ارتباطاً تكافلياً مع النباتات البقولية. هذا يعني أن هذه البكتيريا تستطيع تثبيت النيتروجين من الهواء وتحويله إلى أمونيا، وهو مغذٍ هام للنباتات، بينما توفر النباتات للبكتيريا السكريات والأكسجين. هذه العلاقة تسمى تعقد جذري تكافلي، وتحدث في جذور النباتات وتشكل عقد جذرية. تزيد العلاقة من إنتاجية المحاصيل وتخفض الحاجة لاستخدام الأسمدة الكيماوية (Leontidou *et al.*, 2020).

1.2 البكتيريا المثبتة للأزوت بشكل غير تكافلي (non-symbiotic) وتشمل الاجناس البكتيرية مثل *Anabaena*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* و *Gluconacetobacter* لا تشكل ارتباطاً تكافلياً مع النباتات، وتستطيع تحسين نموها بطرق مختلفة. هذه البكتيريا يمكنها أيضاً تثبيت النيتروجين من الهواء، ولكن بدون تشكيل عقد جذرية (Bhavani *et al.*, 2021; Chandran *et al.*, 2021).

## 2- تحليل الفوسفات: يعد الفوسفور عنصراً أساسياً للنبات، إلا أن معظم هذا الفوسفور يكون غير ميسر للمحاصيل

المختلفة، وتقوم بعض الكائنات الحية الدقيقة غير ذاتية التغذية بإذابة الفوسفور المعدني وتحليل الفوسفور العضوي الموجود في المادة العضوية. تعتمد قدرتها على هذه الإذابة على طبيعة المواد الكربونية وتوافرها، والتي توجد عادة في التربة وعلى الرغم من وجود البكتيريا المحللة للفوسفات في التربة إلا أن أعدادها غير كافية لتنافس الأحياء الدقيقة الأخرى المستوطنة في التربة غير أن تلقيح النباتات بتركيز عالية من هذه الأحياء يؤدي لإذابة الفوسفات المرتبط في التربة وتحويله إلى أشكال أكثر تيسراً للنبات وتعد التكلفة العالية والاستفادة القليلة من السماد الفوسفاتي عوامل محددة للإنتاج. هذا ما أدى إلى الاهتمام بالبكتيريا المحللة للفوسفات (Shah *et al.*, 2021). وفي دراسة أخرى في مصر تبين أن التلقيح بالبكتيريا المحللة للفوسفات يؤدي إلى تحسين نمو نبات القمح والتقليل من الاستعمال الكثيف للسماد الكيميائي الذي يحتوي على الكثير من المعادن الثقيلة، وبيّنت الدراسة أن تلقيح البذور بالبكتيريا المحللة للفوسفات أدى إلى زيادة إنتاجية الحبوب مقارنة بالمعاملات غير الملقحة وزاد من وزن الجاف ومحتوى الفوسفور لنباتات القمح بنسبة 76% و 12% على التوالي مقارنة بالنباتات المسمدة بالكامل (Mohamed *et al.*, 2019). ومن أهم الأجناس البكتيرية المحللة للفوسفات *Achromobacter*, *Serratia*, *Pantoea*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Actinomadura*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Chryseobacterium*, *Delftia*, *Gordonia*, *Klebsiella*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Thiobacillus*, *Xanthobacter* (Etesami *et al.*, 2021). في دراسة أُجريت على أنواع *P. moraviensis*, *B. safensis*, & *Falsibacillus pallidus*. والتي تم عزلها من التربة الرملية الطينية في مقاطعة خبي في الصين أظهرت قدرة عالية على تحليل الفوسفور وإنتاج حامض الإندول الخلي (IAA) وتثبيت الأزوت. كما أظهرت تأثيراً إيجابياً على نمو وإنتاجية نباتات القمح في التربة المعالجة بالأسمدة الفوسفورية (Wang *et al.*, 2022).

أشار الزعبي وآخرون (2006) إلى وجود فروق معنوية في المعاملات المضاف إليها السماد العضوي بوجود البكتيريا سواء كان الفوسفور مضافاً على شكل سوبر فوسفات أو على شكل صخر فوسفاتي مقارنة بالمعاملات غير الملقحة وذلك على مدى موسمين متتاليين ، فمن المعروف أن معظم الفوسفور المضاف على شكل سوبر فوسفات يتثبت بسرعة إلى أشكال أقل ذوباناً وتقوم الأحياء الدقيقة بإعادة تيسره عن طريق إفراز الأحماض العضوية مثل حامض الجلوكونيك، كما يظهر دور السماد العضوي في تيسير الفوسفور لأنه يؤدي دوراً مهماً في حياة الكائنات الدقيقة فهو يعد مصدر طاقة للأحياء الدقيقة والبكتيريا المحللة للفوسفات الملقحة والتي بدورها تزيد من تيسير فوسفور التربة (PSB)(Esther Menendez & Paula Garcia-Fraile ., 2017)

**3- تحليل البوتاسيوم:** البوتاسيوم عنصر ضروري لنمو النباتات ولكن معظمه غير قابل للذوبان في التربة حيث ان المتاح للنبات حوالي 2% بينما 98% يكون بشكل مرتبط وغير متاح (Bahadur *et al.*, 2019). لذلك ، تلعب البكتيريا المذيبة للبوتاسيوم (*KSB*) دوراً هاماً في تحويل البوتاسيوم من الأشكال غير القابلة للذوبان مثل الميكا والفلدسبار إلى أشكال قابلة للذوبان يمكن امتصاصها بسهولة من قبل النباتات (Berde *et al.*, 2021). تستخدم بكتيريا *KSB* آليات مختلفة لإذابة البوتاسيوم مثل إنتاج الأحماض العضوية والسيديروفورات والسكريات، وتشمل أهم البكتيريا المذيبة للبوتاسيوم التي تم دراستها : *Arthrobacter*، *Agrobacterium*، *Flectobacillus*، *Pantoea*، *Enterobacter*، *Burkholderia*، *Bacillus*، *Aspergillus*، *Klebsiella*، *Microbacterium*، *Myroides*، *Paenibacillus*، *Pseudomonas*، *Stenotrophomonas* وغيرها، و تعزز هذه البكتيريا نمو النباتات وإنتاجية المحاصيل بالإضافة إلى تحسين صفات التحمل للإجهادات المائية والملحية والحرارية. يمكن استخدام *KSB* كسماد حيوي للزراعة المستدامة والصديقة للبيئة (Kour *et al.*, 2020).

#### 4- إنتاج مخلبات الحديد (السيدوفور) *Siderophore production*:

هي مركبات عضوية صغيرة الحجم تفرزها بعض الأحياء الدقيقة لتشكيل معقدات مستقرة مع أيونات الحديد ثلاثية التكافؤ ( $Fe_3^+$ )، والتي تساعد على امتصاص الحديد من البيئة ونقله إلى الخلايا البكتيرية. ان المقدرة على فصل الحديد من مركباته تعطي أفضلية كبيرة للكائن الحي في المنافسة وهذا سبب التأثير المثبط للبكتيريا المنتجة لهذه المركبات للكائنات الممرضة للنبات من خلال جعل الحديد أقل إتاحة لها في المحيط الجذري من خلال فصل كميات الحديد الثلاثي المتوفرة فيه والارتباط بها، ويعتقد أن أول من درس السيدروفور في الأدبيات العلمية هو العالم الألماني فريدريش مولر في عام 1941. وصف مولر مادة كيميائية تنتجها بكتيريا السالمونيلا تسمى سالموكيلين ، والتي تحتوي على حديد وتساعد في نمو البكتيريا. ومع ذلك، لم يستخدم مولر مصطلح "سيدروفور"، بل اخترعه العالم الأسترالي نيل ويلكنز في عام 1952. وتقوم العديد من أجناس البكتيريا بإنتاج السيدروفورات منها *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Azospirillum* and *Rhizobium* (Singh et al., 2022).

تنقسم مخلبات الحديد إلى ثلاثة أنواع حسب طبيعة المجموعات الوظيفية المشاركة في تثبيت الحديد:

- هيدروكسامات: هي مركبات تحتوي على مجموعة  $OH^-$  مرتبطة بذرة نيتروجين. تمتلك هذه المركبات قدرة عالية على تثبيت الحديد لكنها غير انتقائية، أي أنها تستطيع أن تثبت الحديد من أشكال مختلفة مثل  $Fe_3^+$  و  $Fe_2^+$  وكما يمكن ان ترتبط بـ  $Mn_2^+$  و  $Cu_2^+$  لتشكيل معقدات مستقرة ولكن اقل قوة من الحديد مثال على هذه المركبات هو فريوكزامين (Ferrioxamine) الذي ينتجه بعض أنواع البكتيريا مثل

*Bacillus*, *Pseudomonas* و *Streptomyces*

- كاتيكولات: هي مركبات تحتوي على مجموعتين  $OH^-$  مرتبطتين بحلقة بنزين. تمتلك هذه المركبات قدرة متوسطة على التثبيت لكنها انتقائية جداً، أي أنها تستطيع أن تثبت الحديد من شكله  $Fe_3^+$  فقط. مثال على هذه المركبات هو إنتيروباكتين (Enterobactin) مثل *Agrobacterium*, *Pantoea*, *Enterobacter*

- ألفا-هيدروكسي كربوكسيلات: هي مركبات تحتوي على مجموعة  $\text{COOH}^-$  ومجموعة  $\text{OH}^-$  على نفس الذرة الكربونية. تمتلك هذه المركبات قدرة منخفضة على التثبيت لكنها مستقرة في ظروف مختلفة، أي أنها تحافظ على شكلها وقدرتها على التثبيت في درجات حموضة وأكسجة مختلفة. مثال على هذه المركبات هو حمض رودوتروليك (*Rhodotorulic acid*) الذي تنتجه بعض أنواع الخمائر مثل *Rhodotorula* (Singh *et al.*, 2022).

## 5- إنتاج الهرمونات النباتية:

تنتج النباتات العديد من الهرمونات النباتية كالجبرلين و السيتوكين وحمض الأنندول الخلي IAA والاثيلين وحمض الصفصاف Salicylic acid وغيرها ولكن غالبا ما تنتجها بكميات غير كافية للنمو بالشكل الامثل وقد وجد العلماء أن معاملة البذور او الجذور ببعض الكائنات الحية الدقيقة أدى الى تحسن في نمو النبات وذلك لأنها تحرص على إنتاج الهرمونات (PGPHS) plant Groth Promoting Hormons و قد توصل Wahyudi (2011) إلى تشخيص 14 عزلة من *Pseudomonas* غير ممرضة للنبات تقوم بإنتاج هرمون IAA وتعمل على تحفيز نمو النبات وتزيد من أعداد الجذور الجانبية.

في دراسة أجراها العاني و آخرون (2012) بهدف تقييم كفاءة البكتريا *Rhizobium japonicum* في الحد من شدة الإصابة بالفطرين *F. solani* و *Macrophomina phaseolina* المسببين لمرض ذبول وتعفن جذور فول الصويا ، فقد أظهرت نتائج البيت الزجاجي فعالية للبكتريا في زيادة النسبة المئوية للإنبات وخفض شدة الإصابة للمجموع الخضري والجذري لنباتات فول الصويا المعاملة بالفطرين الممرضين عنداستعمالهما بشكل منفصل أو مجتمعين معاً.

أما فيما يخص الزيادة في نسبة انبات البذور المعاملة بالبكتريا *Rhizobium japonicum* بالمقارنة مع الشاهد يرجع السبب الى مقدرة البكتريا على إنتاج منظمات للنمو مثل IAA (Indol Acetic Acid)، Cytokinin والتي تعد من أهم المواد المحفزة للنمو والتي تقوم بكتريا *R. japonicum* بإنتاجها والجبرلين Gibberilic Acid

،الذي يعمل هو الاخر كمنظم نمو Plant growth regulator والذي يؤثر في إنبات البذور ويزيد من انقسامات الخلايا واستطالتها ،فضلا عن زيادة جاهزية العناصر الغذائية(Jamil Shafi *et al.*,2017).

### 1-5-2 الآليات الغير مباشرة لتأثير PGPR على النبات:

- التضاد :تقوم البكتيريا بإنتاج العديد من المركبات ذات التأثير المضاد للكائنات الحية الدقيقة الضارة والتي تشمل المضادات الحيوية مجموعة غير متجانسة من المواد العضوية، ذات الوزن الجزيئي المنخفض والمثبطة لنمو الكائنات الحية الدقيقة الأخرى أو أنشطتها الأيضية (Jiao *et al.*, 2021). هناك ستة مركبات حيوية تعد الأفضل في مجال مكافحة أمراض الجذور وهي phenazines, phloroglucinols, pyoluteorin, pyrrolnitrin, cyclic lipopeptides , hydrogen cyanide (Dimkić *et al.*, 2022; Kenawy *et al.*, 2019).

العديد من البكتيريا يمكنها إنتاج سيانيد الهيدروجين (HCN) على شكل مادة ثانوية متطايرة أو خارجية في وسط الزرع والتي يمكن استغلالها للفائدة الزراعية، كإجراء محتمل ضد عدد كبير من الأمراض النباتية والمحاصيل الزراعية، وكذلك لمكافحة الأعشاب الضارة في الحقول الزراعية، ويعتبر غاز HCN سام بشكل فعال للمسببات المرضية للنباتات والتي تنتجها عدد من البكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR). يمكن لسيانيد الهيدروجين أن يلعب دوراً رئيسياً في تثبيط الأمراض المختلفة خاصة تلك القاطنة بالتربة كما يلعب دوراً هاماً في مكافحة البيولوجية لمسببات الأمراض النباتية من خلال تقييد نمو الفطريات بالإضافة إلى تأثيره الضار على العديد من النيماتودا . العديد من سلالات *Pseudomonas fluorescens* لديها القدرة على مكافحة الحيوية لمسببات أمراض النباتات من خلال إنتاجها لعدة مواد مضادة للميكروبات بما في ذلك سيانيد الهيدروجين (Gupta & Sinha, 2020) .

وفي الآونة الأخيرة تم تضمين السطوح الحيوية الليبوبيبتيدات التي تنتجها أنواع بكتيريا *Pseudomonas* and *Bacillus* ضمن المضادات المستخدمة في مكافحة الحيوية نتيجة التفاعلات التنافسية مع الكائنات الحية بما

فيها البكتيريا والفطريات والكائنات الحية الدقيقة الضارة بالنبات (de Bruijn *et al.*, 2007; Raaijmakers *et al.*, 2010).

تؤثر المضادات الحيوية: مثل polymyxin, circulin and colistin، التي تنتجها معظم أنواع *Bacillus ssp* على البكتيريا موجبة غرام وسالبة غرام، فضلا عن العديد من الفطريات المسببة للأمراض (Maksimov *et al.*, 2011). ومنها سلالة *B. Cereus* UW85، التي تثبط مسببات الأمراض الناجمة عن فطور بيضية oomycetes وتنتج المضادات الحيوية zwittermicinA (aminopolyol & kanosamine aminoglycoside)، وتساهم في مكافحة الحيوية لمرض سقوط بادرات البرسيم (Anelise *et al.*, 2012).

• التنافس على مواضع التوطن بالجذور: ان التربة بالنسبة للميكروبات والأحياء الدقيقة هي بيئات محدودة المغذيات في اغلب الاحيان ولتحقيق استعمار ناجح لابد من المنافسة بينها وبقوة على المغذيات المتاحة وتشمل المواد التي تفرزها النباتات المضيفة أو الرشاحات بالإضافة الى المواد المنتجة من الكائنات الحية الاخرى وتشير الكثير من الدراسات والأدلة أن المنافسة بين الكائنات المسببة للأمراض والكائنات غير الممرضة مهم جدا للحد من حدوث المرض وشدته (Pal *et al.* 2006).

• البكتيريا الجذرية الضارة (DRB) **Deleterious rhizobacteria (DRB)** هي في الغالب بكتيريا رمية تستعمر بقوة بذور النباتات والجذور وتستقلب بسهولة المواد العضوية التي تطلقها الأنسجة النباتية. وعلى عكس مسببات الأمراض النباتية النموذجية التي تهاجم النبات وانسجته، لا تغزو هذه البكتيريا أو تتطفل على أنسجة النبات. تعيش DRB على سطوح الجذور وداخلها في المسافات بين الخلايا دون إحداث أعراض المرض. يعتمد ضرر هذه البكتيريا على تفاعل عدة عوامل بما في ذلك نوع النبات المضيف والعوامل البيئية للتربة.

تقوم هذه البكتيريا بإنتاج المواد السامة للنبات مثل سيانيد الهيدروجين أو منظمات نمو النبات والسايدروفورات والفيثوتوكسينات أو تتفاعل مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى. ومع تطبيق تقنيات جديدة في مجال التكنولوجيا الأحيائية المتعلقة ب DRB ، ستساعد هذه المعلومات في إدارة DRB في مختلف النظم البيئية وفي تطوير

DRB كـبكتيريا مفيدة محتملة (Kremer, 2006).

- تحفيز المقاومة الجهازية للنبات : ان معاملة أجزاء من النبات معاملة موضعية بعوامل حيوية أو غير حيوية يؤدي الى نشوء وتنشيط مقاومة ضد الكائنات الممرضة في الاجزاء البعيدة من النبات وتقسم المقاومة الجهازية عند النبات إلى قسمين:

#### أ- المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) Systemic Acquired Resistance

تعرف المقاومة الجهازية المكتسبة بأنها نظام مستحث للمقاومة منبه بواسطة الكائنات الممرضة التي تسبب تموتاً خلوياً سريعاً بالأنسجة المصابة. يمكن وصف عملية الإصابة بأنها تنشيط مقاومة المرض في نسيج المجموع الخضري غير المصاب وتزوده بوقاية تدوم طويلاً ضد مجال واسع من الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض. وقد ثبت بان المقاومة الجهازية المكتسبة تحرض بالمواد الكيماوية وأن حمض السليسلبيك ممر أساسي فيها. وتعتمد ميكانيكية المقاومة في حالة (SAR) على تشكيل حواجز تركيبية تمنع الإصابة بالكائن الممرض وهو ما يعرف باسم اللجننة اضافة الى انتاج بروتينات متعلقة بالإمراضية (PRs) pathogenesis – Related Proteins وهي بروتينات نباتية تتجمع بعد مهاجمة الكائن الممرض للنبات ويكون لها دور كبير في المقاومة الجهازية المكتسبة مثل NPR1 (Gao *et al.*, 2015).

#### ب- المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) Induced Systemic Resistance

وهي المقاومة المتخلقة جهازيا في النبات ، تحت تأثير أو نتيجة حث النبات بواسطة أنواع من الريزوبكتيريا وليس لحمض السليسلبيك تعبير إشاري في هذه المقاومة وإنما تعتمد على ممرات إشارية أخرى وأهمها حمض الياسمين (الجاسمونيك) والاثيلين وكذلك ليس للبروتينات المتعلقة بالإمراضية دور في هذه المقاومة (Wu *et al.*, 2022)، وقد ثبت بان المقاومة الجهازية المستحثة تحرض بواسطة Lipopolysaccharid عديدات السكر الدهنية (LPS) فقد وجد أن غشاء البكتيريا المقتولة حرارياً هو غشاء دهني عديد السكاريد ويكون فعالاً في حث المقاومة كما لو إن البكتيريا حية إضافة الى السيدرورفور الذي يعد متطلباً أساسياً في بيئات قليلة الحديد بحيث يعتبر دوره متكامل مع (LPS) في استحثاث المقاومة (Navarro *et al.*, 2017; Romera *et al.*, 2019) وتقوم العديد من

أجناس البكتيريا بتحريض هذه المقامة مثل *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, والفطر *Trichoderma* (Latha *et al.*, 2019; Mandal & Ray, 2011).

### 1-5-3 البكتيريا الجذرية PGPR وأثرها على القمح:

البكتيريا المحفزة لنمو النباتات (PGPR) هي ذات أهمية زراعية للنباتات ولا سيما لنبات القمح. حيث إنها تنتج مواد استقلابية مثل المنظمات النباتية التي تعزز النمو مباشرة وتسهل امتصاص العناصر الغذائية من قبل النباتات. هناك توزيع واسع للبكتيريا PGPR التي تزدهر في مناطق جغرافية مختلفة (Hafeez *et al.*, 2005). تؤثر هذه البكتيريا بشكل كبير على نمو نبات القمح ليس فقط بزيادة دوران العناصر الغذائية، بل أيضا بتثبيط مسببات الحيوية بإنتاج المضادات الحيوية والسيدروفورات أو بمواد مضادة للبكتيريا والفطريات و / أو بالهرمونات النباتية الأخرى. هناك مجموعة متنوعة من البكتيريا التي تنتمي إلى PGPR حيث تنتشر سلالاتها على نطاق واسع وتضم العديد من الأجناس بما في ذلك *Azoarcus* و *Azospirillum* و *Bacillus* و *Burkholderia* و *Enterobacter* و *Gluconacetobacter* و *Pseudomonas* و *Serratia* (Martinez-Viveros *et al.*, 2010). توجد أعضاء جنس *Serratia* في مجموعة واسعة من الموائل ولها وظائف بيئية متنوعة مثل العلاقات الممرضة والتعايشية والمضادة (Grimont & Grimont, 2006; Petersen & Tisa, 2013). يعزى انتشار *Serratia* إلى تنوع المركبات التي تطلقها في البيئة. *Serratia* هي بكتيريا سلبية الغرام، هوائية اختيارية، على شكل قضبان من عائلة Enterobacteriaceae (Petersen & Tisa, 2013). تعرف مختلف الأنواع التي تنتمي إلى جنس *Serratia* بأنها PGPR، وتم عزل السلالات من الرايزوسفير للمحاصيل. تحسن *Serratia* المرتبطة بالنباتات صحة وتطور النبات المضيف من خلال آليات مختلفة مثل إنتاج حمض الإندول الخلي وتثبيت النيتروجين ونشاط 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase وإنتاج السيدروفورات وإحداث المقاومة الجهازية للنبات المضيف (Dastager *et al.*, 2011; George *et al.*, 2013). وقد تم إثبات دور إيجابي لأنواع *Serratia* في تعزيز النمو على عدة أنواع نباتية، بما في ذلك القمح (Singh & Jha, 2016).

حيث أظهرت الدراسات أن لبكتيريا *Enterobacter* ولا سيما *E. hormaechei* أداءً وإعداداً في ظل ظروف خاضعة للرقابة، مثل إذابة الفوسفات، وإنتاج الهرمونات النباتية، وحاملات الحديد، وتثبيت النيتروجين (Pérez-Montañó *et al.*, 2014). تعد بكتيريا *E. hormaechei* PSB (البكتيريا المذيبة للفوسفات) وهي جزء من PGPR ويمكنها إذابة P غير العضوي من مجموعة متنوعة من المركبات، مثل فوسفات ثنائي الكالسيوم، أو فوسفات ثلاثي الكالسيوم، أو الفوسفات الصخري (Khan *et al.*, 2010). كما أنها تلعب دوراً أساسياً في دورة المغذيات الكبيرة والصغرى، مثل الحديد (Fe)، والزنك (Zn)، والنحاس (Cu)، والمنغنيز (Mn)، عن طريق تعديل مورفولوجيا الجذر وبالتالي زيادة مساحة سطح التبادل. وامتصاص العناصر الغذائية من التربة (Selvakumar *et al.*, 2007). وفي هذا السياق، يعد استخدامها كملقحات حيوية ميكروبية في مجال التكنولوجيا الحيوية استراتيجية واعدة لتحسين امتصاص النباتات للمغذيات الكبرى والصغرى وبالتالي تعزيز نموها (Fahsi *et al.*, 2021).

أظهرت سلالة *E. hormaechei* J146 كلا من أعلى مستويات ذوبان الفسفور وإنتاج IAA، أدى *E. hormaechei* J146 إلى زيادة معدل إنبات القمح وتحفيز مؤشر قوة البادرات الجيد. وبالإضافة إلى ذلك، فقد أدى ذلك إلى تحسين طول ووزن نبات القمح ولكن ليس جذور البادرات. من المعروف أن PSB لا يوفر P للنباتات فحسب، بل يحفز أيضاً نمو النبات من خلال تعزيز امتصاص العناصر الغذائية مثل N، عن طريق تثبيت النيتروجين والتخليق الحيوي IAA (Mittal *et al.*, 2008). يتم تصنيع الهرمون النباتي IAA بواسطة النباتات وبواسطة عدد قليل من الميكروبات المشاركة في بدء الجذر وانقسام الخلايا (Pérez-Flores *et al.*, 2017).

الأمونيا عبارة عن مركب كيميائي له فوائد صحية نباتية متعددة، بشكل أساسي من خلال العمل كمثبطات استقلابية تجاه مسببات الأمراض النباتية و كانت سلالة *E. hormaechei* J146 أفضل منتج للأمونيا، وهو ما قد يفسر تحسن امتصاص النيتروجين بواسطة نبات القمح (Mahdi *et al.*, 2020).

# الفصل الثاني

## المواد والطرائق

## ***MATERIALS & METHODS***

## 2-1 جمع العينات:

نفذت جولات حقلية في عدة مناطق من سوريا وعلى عدد من الحقول وذلك في عام 2018 حيث شملت حقول قمح مروية وبعلية وفق الجدول رقم (3). هدفت الجولات إلى دراسة وجمع بكتيريا المحيط الجذري من نباتات قمح أو شعير سليمة ظاهريا والمجاورة للنباتات التي تبدو عليها الإصابة وذلك لعزل البكتيريا المحيطة بالجذور والتي يمكن أن تكون السبب في حماية النبات من الإصابة. امتد جمع العينات من شهر 3 (أذار) الى شهر 5 (أيار) جمعت نباتات القمح أو شعير التي لا تبدو عليها أعراض الإصابة وشملت الجولات المحافظات دمشق - ريف دمشق - درعا .

واخذت النباتات المطلوبة مع جزء من التربة المحيطة بالجذور ووضعت في أكياس بلاستيكية سجل عليها المعلومات الخاصة حول الموقع والتاريخ و ملاحظات أخرى مثل حقل مروي أو بعلي ....الخ.

جدول (3) أماكن جمع عينات القمح حسب المحافظة والمنطقة وتاريخ الجمع.

| التسلسلي | رقم العينة في المخبر | مكان الجمع                            | النبات   | تاريخ الجمع | ملاحظات     |
|----------|----------------------|---------------------------------------|----------|-------------|-------------|
| 1        | 3                    | ريف دمشق - منطقة دير علي              | قمح بعل  | 3/4/2018    |             |
| 2        | 7                    | ريف دمشق - طريق المطار - الجسر الرابع | قمح مروي | 3/4/2018    | مياه معالجة |
| 3        | 8                    | ريف دمشق - طريق المطار الجسر الرابع   | قمح مروي | 3/7/2018    | مياه معالجة |
| 4        | 9                    | درعا - الجيزة                         | قمح مروي | 3/18/2018   |             |
| 5        | 10                   | درعا - الجيزة                         | قمح مروي | 3/18/2018   |             |
| 6        | 11                   | درعا - الجيزة                         | قمح مروي | 3/18/2018   |             |
| 7        | 12                   | ريف دمشق - منطقة دير الحجر            | شعير بعل | 3/14/2018   |             |
| 8        | 13                   | ريف دمشق - دير الحجر                  | قمح مروي | 3/14/2018   | مياه أبار   |
| 9        | 14                   | ريف دمشق - طريق المطار - جسر الخامس   | قمح بعل  | 3/14/2018   |             |
| 10       | 15                   | دمشق - طريق قاسيون                    | قمح بري  | 3/14/2018   |             |

|    |    |                                 |          |           |             |
|----|----|---------------------------------|----------|-----------|-------------|
| 11 | 16 | ريف دمشق - النشابية             | قمح مروي | 3/14/2018 |             |
| 12 | 18 | ريف دمشق - قمح طيبة             | قمح مروي | 3/14/2018 |             |
| 13 | 19 | ريف دمشق - الكسوة               | شعير بعل | 3/14/2018 |             |
| 14 | 20 | ريف دمشق - الكسوة               | قمح بعل  | 3/14/2018 |             |
| 15 | 30 | ريف دمشق - (دير الحجر)          | قمح بعل  | 4/1/2018  |             |
| 16 | 31 | ريف دمشق - (دير الحجر)          | قمح بعل  | 4/1/2018  |             |
| 17 | 32 | ريف دمشق - الدير حجر            | قمح بري  | 4/15/2018 |             |
| 18 | 33 | ريف دمشق - مزرعة دير الحجر      | قمح مروي | 4/15/2018 |             |
| 19 | 34 | ريف دمشق - في دير الحجر         | قمح مروي | 4/15/2018 |             |
| 20 | 35 | منطقة العتيبة - محافظة ريف دمشق | قمح مروي | 4/15/2018 | مياه معالجة |
| 21 | 39 | ريف دمشق - العتيبة              | قمح بري  | 5/1/2018  |             |
| 22 | 40 | ريف دمشق - العتيبة              | قمح بري  | 5/1/2018  |             |
| 23 | 42 | ريف دمشق - طريق المطار          | قمح بري  | 5/1/2018  |             |
| 24 | 46 | ريف دمشق - طيبة                 | قمح مسقي | 5/1/2018  |             |

## 2-2 عزل البكتيريا:

عزلت البكتيريا من منطقة المحيط الجذري من النباتات المجموعة خلال الجولات الحقلية على النحو التالي :

تم فصل الجذور وغسلها بماء الصنبور ثم بالماء المقطر بشكل جيد وذلك للتخلص من الكثافة العالية للبكتيريا الموجودة بالتربة ثم قطعت الجذور إلى قطع صغيرة 2-3 سم ووضعت في أنابيب تحوي 10 مل ماء مقطر معقم ورجت الأنابيب لمدة 5 دقائق بواسطة رجاج كهربائي ، وذلك لفصل البكتيريا الموجودة في منطقة المحيط الجذري، اخذ 1 مل من المعلق البكتيري ومدد 3 مرات بمعدل (10/1 - 100/1 - 1000/1) ثم أخذت قطرة بحجم 30 ميكروليتر نشرت بواسطة إبرة زرع على سطح طبق بتري يحتوي على وسط YPGA (Y: مستخلص خميرة 7 غ- P: بيبتون 7 غ- G: غلوكوز 7 غ- A : آغار 14 غ : 1 لتر ماء مقطر) أو على وسط King B (بيبتون 20 غ- غليسول 10 غ- سلفات المغنيزيوم 1,5 غ- آغار 18 غ ،- 1 لتر من الماء المقطر) حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1°س ولمدة 3 أيام تم اختيار مستعمرات مختلفة من الأطباق بحسب لونها وقطرها وشكلها (محدبة -

مسوحة - منتظمة - غير منتظمة) وزرعت على أطباق جديدة تحوي على نفس الوسط للحصول على مزرعة نقية وأعطى لكل مستعمرة رقماً يميزها.

وحفظت العزلات المختارة في وسط الحفظ PYDAC :

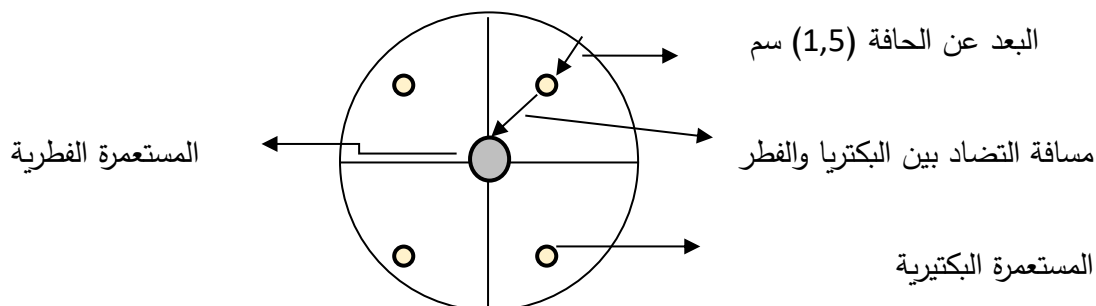
(peptone 3 g L, yeast extract 3 g L-1, glucose 5 g L, calcium carbonate 40 g L, agar 15 g L) (أبو غرة والدوجي، 1996).

## 3-2 اختبار قدرة البكتيريا في تثبيط أعفان جذور القمح:

استخدمت عزلة من كل من الفطرين *F. graminearum* و *C. sativus h5* (*Helminthosporium sativum*) التي تتميز بعدوانيتها العالية المنتشرة في سوريا والتي عزلت وصنفت من قبل خليفة (2006) والتي تم إعادة تنشيطها والتأكد من شراستها.

استخدم في هذا الاختبار وسط مزدوج بكتيري + فطري (KING B+ PDA) بنسبة 1:1 تم تعقيمه عند درجة حرارة 120 س° لمدة 30 دقيقة ، وصبت في أطباق بتري بلاستيكية بقطر 9 سم .

تم وضع قطعة من الفطر الممرض في مركز الطبق بقطر 0,5 سم وتم تقسيم الطبق إلى 4 أقسام وضع في كل قسم وعلى بعد 1.5 سم من حافة الطبق قطرة من المعلق البكتيري المختبر (25) (مكروليتر بتركيز  $10^8$  وحدة مكونة للمستعمرة كما في الشكل (1) :



الشكل (1): شكل تخطيطي يوضح توزيع المستعمرات البكتيرية حول الفطر الممرض ومقياس مسافة التضاد

حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 س° لمدة 7 أيام وأخذت القراءات يوميا حتى اليوم السابع وسجلت النتائج بقياس مسافة التضاد من حافة المستعمرة الفطرية إلى حافة المستعمرة البكتيرية.

## 2-3-1 دراسة صفة التضاد المتصالب بين البكتيريا.

أجريت هذه التجربة لبيان قدرة العزلات البكتيرية المضادة للفطور الممرضة لإحداث التضاد تجاه بعضها البعض. تم تنفيذ التجربة بنشر 1 مل من معلق بكتيري لكل من العزلات التي أبدت صفة التضاد مع الفطور الممرضة المختبرة بتركيز  $10^7$  وحده مكونة للمستعمرة (CFU) على سطح طبق بتري الذي يحوي على وسط غذائي YPGA وبعد امتصاص الوسط المغذي للمعلق البكتيري تم زرع أربع عزلات بكتيرية على بعد 1,5 سم من حافة الطبق بواسطة إبرة زرع حيث تم أخذ العزلات البكتيرية من مستعمرات نقية فتية بعمر 24 ساعة. أجريت لكل طبق ثلاثة مكررات. ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 س° لمدة 72 ساعة حيث تم نمو البكتيريا المنشورة على كامل سطح الطبق إضافة إلى نمو العزلات البكتيرية الأربعة المختبرة في نفس الطبق. تشكل حالة حول إحدى العزلات الأربع يشير إلى وجود صفة التضاد بينها وبين العزلة المنشورة على سطح الوسط الغذائي. أخذت القراءات بقياس المسافة بين حافة المزرعة البكتيرية المضادة وحدود البكتيريا المنشورة.

## 2-4-1 اختبار انتماء العزلات إلى مجموعة البكتيريا المعززة للنمو (PGPR) من خلال قدرة البكتيريا على:

### 2-4-1 تثبيث الأزوت الجوي:

استخدام وسط الزرع الخالي من النتروجين Nitrogen-Free Bacterial (NFB) حسب الطريقة الموصوفة من قبل Dobereiner وآخرون (1995) لمعرفة قدرة البكتيريا على تثبيث الأزوت الجوي بشكل حر، زرعت البكتيريا في أطباق بتري في وسط مغذي يحتوي 1 لتر على ( 5 غ سكروز - 0.2 غ  $K_2HPO_4$  - 0.6 غ  $KH_2PO_4$  - 0.2 غ  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  - 0.02 غ  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  - 2 مل Bromthymol - 4 مل محلول شيلات الحديد (1.64%) EDTA (III) Fe - 1 مل محلول فيتامين D - 15 غ أغار) (Dobereiner *et al.*, 1995).

حيث أن ظهور اللون البرتقالي في الوسط المغذي الأزرق هو دليل على قدرة البكتيريا على تثبيت الأزوت الجوي.

## 2-4-2 إذابة الفوسفات :

استخدم وسط Pikovskaya medium الذي يحتوي 1 لتر منه على 10 غ غلوكوز - 5 غ ثلاثي فوسفات الكالسيوم - 0.5 غ مستخلص خميرة - 0.5 غ سلفات الأمونيوم - 0.2 كلوريد البوتاسيوم - 0.2 كلوريد الصوديوم - 0.1 سلفات المغنيزيوم - 15 غ أغار. حضنت الاطباق عند درجة حرارة 28 س° ولمدة أسبوع. (النتيجة الإيجابية: تشكيل هالات حول العزلات البكتيرية) وتم حساب مؤشر الذوبان (Edi-Premono *et al.*, 1996) وفق المعادلة التالية:

$$\text{مؤشر الذوبان} = \frac{\text{قطر المستعمرة} + \text{قطر الهالة}}{\text{قطر المستعمرة}}$$

## 2-4-3 تحليل البوتاسيوم (K) :

حيث يتم الزرع البكتيري في أطباق كما في اختبار الفوسفات، تحتوي 1 لتر وسط آلكساندورف على 15 غ غلوكوز و 0.5 غ كبريتات المغنيزيوم  $\text{Mg SO}_4$  و 0.1 غ كربونات الكالسيوم  $\text{CaCO}_3$  و 0.006 غ كلوريد الحديد  $\text{FeCl}_3$  و 2 غ فوسفات الكالسيوم  $\text{Ca}_3\text{PO}_4$  و 20 غ أغار + 2 غ فلدسبار البوتاس أو ميكا البوتاسيوم (Manib, 1986).

تتجلى إيجابية التحليل بظهور هالة شفافة تدل على تحليل البوتاس من الوسط، وتم استخدام نفس آلية العمل المتبعة في الاختبار السابقة بتحديد شدة تحليل البوتاس.

وتم حساب القدرة على إذابة البوتاسيوم (مؤشر الذوبان، SI) (Edi-Premono *et al.*, 1996) وفق المعادلة :

$$\text{مؤشر الذوبان} = \frac{\text{قطر المستعمرة} + \text{قطر الهالة}}{\text{قطر المستعمرة}}$$

## 2-4-4 اختبار الأمونيا :

تم تقييم إنتاج الأمونيا  $NH_3$  بالطريقة النوعية (Cappuccino & Sherman, 1992) حيث حضنت البكتيريا في وسط البيبتون السائل (10 غ بيبتون - 5 غ كلوريد الصوديوم في لتر ماء مقطر , وبعد التحضين أضيف مشعر نسلر 0.5 ml reagent ) بمعدل 2:1 ظهور اللون البني المصفر دليل نتيجة إيجابية للاختبار وتكون الأمونيا (Das *et al.*, 2016).

## 2-4-5 تحليل كربونات الكالسيوم $CaCO_3$ :

استخدم وسط مغذي يحتوي كربونات الكالسيوم في أطباق بتري (1 غ مستخلص خميرة - 10 غ مانيتول - 0.5 غ  $K_2HPO_4$  - 0.2 غ سلفات المغنيزيوم - 0.1 غ كلوريد الصوديوم - 2 غ كربونات الكالسيوم - 15 غ أغار) وزرعت البكتيريا في الأطباق بأخذ جزء من مستعمرة بكتيرية ووضعها على الوسط المغذي، حيث وضعت أربع عزلات في كل طبق. والتحضين لمدة أسبوع إلى أسبوعين. حيث أن ظهور هالة شفافة في الوسط الأبيض القشدي يدل على قدرة هذه البكتيريا على تحليل كربونات الكالسيوم، وتم اعتماد نفس آلية قياس شدة تحليل كل من الفوسفات والبيوتاس في هذا الاختبار (Al-Thawadi, 2011).

## 2-4-6 إنتاج حمض الأندول الخلي (IAA):

تم اختبار البكتيريا حسب Khamna ورفاقه (2010) حيث تم زرع البكتيريا على وسط YMA بعدها أخذ جزء من مستعمرة بكتيرية ووضعها في أنبوب يحوي 5 مم من وسط (YMB) Yeast Malt Extract Broth مضاف اليه L-tryptophan بتركيز 2 غ/ل وحضنت عند درجة حرارة 30 °س لمدة 48 ساعة ثم فصلت الرشاحة بعملية الطرد المركزي 10000 دورة/دقيقة . وللكشف عن وجود حمض الأندول الخلي تم مزج 1 مل من الرشاحة مع 2 مل من كاشف Salkowski's المكون من 15 مل  $FeCl_3(0.5 M)$  و 30 مل من  $H_2SO_4$  وكان ظهور اللون الوردي بعد 25 - 30 دقيقة دليل على وجود الأندول الخلي IAA.

## 3-5-7 انتاج غاز سيانيد الهيدروجين HCN:

زُرعت البكتيريا على وسط مغذي YPGA او Kin B مع اضافة 4 غ غليسين glycine ، ووضع على غطاء الطبقة من الداخل ورق ترشيح مبلل بمحلول ( $2\% \text{NaCO}_3$  in  $0.5\% \text{picric acid}$ ) وخضن الطبقة لمدة 48 ساعة عند درجة حرارة 28°س. تغير اللون من الأصفر لورق الترشيح المبلل بحمض البكريك الى البرتقالي البني دليل نتيجة إيجابية لإنتاج البكتيريا لسيانيد الهروجين (Alström & Burns, 1989).

## 2-4-8 انتاج السيدروفور وتثبيت الحديد:

بسبب تعذر تأمين وسط Chrome Azurol S Agar (CAS) تم الاستعاضة عن الوسط بقياس تركيز الحديد في أوراق النبات قبيل الحصاد ومقارنتها بالشاهد غير المعامل بالبكتيريا باستخدام جهاز الامتصاص الذري في مخبر تحليل الملوثات المعدنية بمديرية الموصافات الفنية والمخابر بوزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك وفق الخطوات التالية:

تم استخدام جهاز الامتصاص الذري بتقنية اللهب لقياس تراكيز العناصر المختلفة في العينات. وتضمن هذا الجهاز مصدر ضوء خاص بالعنصر المراد قياسه (الحديد)، والذي يبعث ضوءاً عند طول موجة محدد يمتصه العنصر في حالة وجوده في العينة..

يستخدم حمض الأزوت المركز  $65\% \text{HNO}_3$ ، والذي يفيد كعامل أكسدة قوي لأكسدة المواد العضوية والحصول على المعدن. وكذلك حمض آزوت ممدد ( $0.1 \text{ mol/l}$ )، خُضر الحمض بإضافة 70 مل من حمض الأزوت المركز إلى دورق معياري ثم أُكمل الحجم إلى بالماء المنزوع الشوارد إلى 1000 مل. وأخذ كمية مناسبة من هذا المحلول لإضافته إلى عينات التحليل. يُستخدم ماء اوكسجيني  $\text{H}_2\text{O}_2$  والذي يساعد في عملية الأكسدة للمواد العضوية. ، يُستخدم غاز أرغون وأستيلين نقية  $99.95\%$ ، كوسيط للحرق في تقنية اللهب ضمن جهاز الامتصاص الذري. ، يُستخدم محاليل قياسية مرجعية للعنصر المراد قياسه (الحديد) 1-2-3-4 ملغ /كغ، والتي تستخدم لإعداد منحنى المعايرة وحساب تراكيز العناصر في العينات.

شروط الاختبار:

تم استخدام تقنية نظام اللهب - مصدر الضوء - وقود اللهب ومعدلات الجريان - عرض الشق للنظام البصري حسب الجدول (4):

جدول (4) شروط ضبط جهاز الامتصاص الذري:

| العنصر | طول الموجة<br>nm | عرض الشق<br>Nm | نمط اللهب    | نسبة<br>C/O | تدفق الغاز<br>NL/h | مجال العمل<br>mg/kg |
|--------|------------------|----------------|--------------|-------------|--------------------|---------------------|
| الحديد | 248.3            | 0.2            | استيلين-هواء | 0.13        | 65                 | 16-1.6              |

• الشروط المحيطية :

درجة الحرارة 35-10 س° - الرطوبة 90% حد أعظمي عند درجة حرارة 30 س°

خطوات العمل : تم ضبط الجهاز تبعاً للفقرة السابقة . ولتعليمه عمل الجهاز WI-LD-FGH-01 :

خُضرت سلسلة معيارية لعنصر الحديد والمراد قياسه على جهاز الامتصاص الذري ثم جونست العينة جيداً. حيث وزن (2 غ) عينة من أوراق القمح واضيف لها 1مل حمض آزوت ثم وضعت بالمرممة التي تم رفع حرارتها بالتدريج وصولاً الى 650 س° لمدة 2-3 ساعات حتى يظهر راسب ابيض و بعد تبريد العينة أُضيف 2مل حمض آزوت ضمن الجفنة لاستخلاص المعدن المترسب بها وتنتقل الى دورق معياري يكمل فيه الحجم الى 25مل بالماء المقطر منزوع الشوارد . كما قيس الشاهد المحضر أعلاه بدون العينة (حمض آزوت مع ماء مقطر منزوع الشوارد) كشاهد سلبي. ثم حقنت العينة على جهاز الامتصاص الذري وقيست.

ضبط النتائج من خلال :

تكرار الاختبار للعينة 3 مرات - استخدام المحاليل القياسية في الاختبارات - بالإضافة إلى العوامل التي دخلت في عملية حساب الارتياح (معامل الاسترجاع ، التكرارية ، إعادة الطريقة) - العينات المرجعية وعينات ضبط الجودة ( هيئة المواصفات السورية 3779, 2015 ).

## 2-5-1 اختبار تأثير غاز سيانيد الهيدروجين على الفطور الممرضة مخبرياً:

نُشط كل من الفطرين *C. sativus* و *F. graminearum* بإعادة زراعة الفطر من المستعمرات القديمة الى وسط حضر حديثاً من PDA ثم أُعيد اخذ قرص بقطر 5 مم وزرعت في طبق بتري من وسط PDA وعلى التوازي تم أخذ 1 مل من المعلق بتركيز  $10^7$  وحده مكونة للمستعمرة من كل من العزلات البكتيرية المنتجة لسيانيد الهيدروجين ونُشرت على سطح طبق بتري الذي يحوي على وسط غذائي YPGA وبعد امتصاص الوسط المغذي للمعلق البكتيري وضع الطبقان (الطبق الحاوي على العزلة الفطرية والطبق الحاوي على العزلة البكتيرية) فوق بعضهما البعض ولف الطبقان ببارفيلم لمنع دخول الهواء او خروج غاز HCN المتحرر من البكتيريا. حُضنت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 28°س بحيث كانت العزلة البكتيرية هي من الجهة السفلى لمساعدة الغاز على الوصول الى العزلة الفطرية المستهدفة .

وبالتوازي ايضاً حُضنت اطباق تحوي على شواهد من العزلات الفطرية- العزلات البكتيرية.

استمر التحضين لمدة 7 أيام حتى وصل نمو الفطريات المستهدفة الى كامل الطبق. حيث أُخذت القراءة مرتين بعد مرور 3 أيام وبعد مرور 7 أيام .

## 2-6 تعريف البكتيريا

### 2-6-1 بالطرق الكيميائية:

#### 1- اختبار صبغة غرام :

وهي طريقة تهدف للتعرف على نوع البكتيريا وتصنيفها إلى موجبة أو سالبة لصبغة غرام بناء على تركيب جدار الخلية حسب طريقة (Hans Christian Gram.,1884).

وضعت قطرة من المعلق البكتيري على شريحة وثبت المعلق بالتسخين وصبغ المحضر بالكريستال البنفسجي لمدة دقيقة، ثم غسل المحضر باليود ثم بالماء ثم بالكحول 95% حتى أصبح الكحول عديم اللون ، ثم غسل المحضر

بالماء المقطر ، وصبغ بالصفرايين لمدة 2 إلى 3 دقائق وغسل بالماء وفحص بالعدسة الزيتية (Suslow *et al.*, 1982)

قراءة الاختبار: تظهر البكتيريا موجبة غرام بلون بنفسجي داكن وتظهر البكتيريا سالبة غرام بلون وردي أو أحمر

**2- اختبار الأوكسيداز:**

الهدف من الاختبار هو تصنيف البكتيريا إلى موجبة أو سالبة للأوكسيداز، حسب تفاعلها مع الصبغة المؤكسدة. البكتيريا الموجبة للأوكسيداز تتحول إلى اللون الأزرق أو الأرجواني، بينما البكتيريا السالبة للأوكسيداز تبقى عديمة اللون. هذا الاختبار يساعد على تمييز بعض الأجناس والأنواع البكتيرية، استخدمت أقراص الكاشف من شركة (Bio Merieux). حيث نقلت المستعمرة بحلقة التلقيح إلى القرص. دل ظهور اللون البنفسجي على أن الاختبار موجب (Harrigan, 1998).

### 3- اختبار متطلبات البكتيريا من الأوكسجين الحر:

يهدف هذا الاختبار إلى تقسيم البكتيريا حسب متطلباتها من الأوكسجين الحر إلى أربع مجموعات .

البكتيريا الهوائية الإلزامية: التي تحتاج إلى الأوكسجين الحر للنمو والتنفس.

البكتيريا اللاهوائية الإلزامية: التي لا تستطيع النمو والتنفس في وجود الأوكسجين الحر.

البكتيريا الهوائية الاختيارية: التي تستطيع النمو والتنفس في وجود أو عدم وجود الأوكسجين الحر.

البكتيريا اللاهوائية الاختيارية: التي تفضل النمو والتنفس في عدم وجود الأوكسجين الحر، ولكن تستطيع النمو والتنفس في وجوده بشكل محدود.

حضر الوسط المغذي على الشكل التالي : وضع 1 لتر من الماء المقطر في دورق زجاجي وأضيف إليه (بيبتون 2 غ - NaCl 5 غ - أزرق البروموثيمول 0,003 غ - فوسفات ثنائي البوتاسيوم  $K_2HPO_4$  - 0,3 غ - غلوكوز 10 غ - آغار 3 غ) . وضبطت درجة حموضة الوسط على 7.1 PH ليصبح لونه أزرقاً مخضراً. سخن الدورق على حمام مائي حتى الذوبان ثم وزع المحلول على أنابيب زجاجية ووضع في كل أنبوب 5مل وعقمت عند درجة حرارة 121 س° لمدة 20 دقيقة. أخذ لكل عزلة من العزلات أنبوبان ولقح كل أنبوب بخزعة من العزلة البكتيرية

من مزرعة حديثة نشيطة بعمر 24 ساعة مزروعة على وسط غذائي YPGA. أضيف لأحد الأنبوبين طبقة من زيت البارافين المعقم (1,5) سم بعد تلقيحه بالبكتيريا مباشرة لعزل البكتيريا عن الأوكسجين الحر وحضنت الأنبوب عند درجة حرارة 23-25 س° لمدة 8 أيام . وبعد انتهاء فترة التحضين أخذت القراءات

1- تغير لون الوسط المغذي في كلا الأنبوبين إلى اللون الأصفر يعني أن البكتيريا هوائية ولا هوائية اختياريًا .

2- تغير لون الوسط المغذي في أنبوب الحاوي على البارافين إلى اللون الأصفر يعني أن البكتيريا لاهوائية .

3- إذا تغير لون الوسط في الأنبوب الغير حاوي على زيت البارافين تكون البكتيريا هوائية ( Hugh & Leifson, 1953 ) .

#### 4- اختبار مقدرة البكتيريا على تشكيل الأبواغ الداخلية Endospores

تعد الابواغ البكتيرية الداخلية (Endospores) شكلا من أشكال الدفاع التي تمكن البكتيريا من خلالها المحافظة على حياتها في الظروف غير المناسبة لنموها ، وللتأكد من أن البكتيريا تشكل أبواغاً داخلية اتبعت الخطوات التالية:

1) حضر معلق بكتيري من مزرعة بكتيرية قديمة بعمر خمسة أيام لكل عزلة بكتيرية من العزلات المراد تعريفها .

2) وضع المعلق البكتيري لكل عزلة في أنبوب زجاجي معقم حراريًا .

3) وضعت الأنبوب في حمام مائي درجة حرارته 80 س° لمدة 15 دقيقة .

4) أخذ من كل أنبوب قطرة ووزعت على سطح وسط غذائي (YPGA) في طبق بتري بثلاثة مكررات وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 س° لمدة 48 ساعة .

5) إذا نمت مستعمرات بكتيرية هذا يدل على أن العزلة البكتيرية استطاعت أن تقاوم درجة الحرارة المرتفعة وشكلت أبواغاً داخلية (Endospores) ، وإذا لم يشاهد نمو للمستعمرات البكتيرية هذا يدل على أن العزلة

البكتيرية غير مكونه للأبواغ الداخلية . (Gerda *et al.*, 1981)

### 5- اختبار السكريات الثلاثية والحديد Triple sugar iron agar

يهدف هذا الاختبار لتمييز البكتيريا المخمر للسكريات والبكتيريا المنتجة لـ  $H_2S$  في وسط يحتوي على ثلاثة أنواع من السكريات (الجلوكوز واللاكتوز والسكروز).

لُفحت البكتيريا بواسطة تلويث رأس ابرة الوخز بالمستعمرة البكتيرية ووخز وسط آغار الحديد ثلاثي السكر TSI الذي يحتوي على (20 غ/لتر البيبتون، و1 غ/لتر غلوكوز، و10 غ/لتر من لاکتوز، و10 غ/لتر سكروز، و5 غ/لتر كلوريد الصوديوم و3 غ/لتر خلاصة اللحم و3 غ/لتر خميرة و0.3 غ/لتر سترات الحديد، و0.024 غ/لتر كاشف احمر الفينول، و12-18 غ/لتر الآغار) بقاع الانبوب والتشطيب بشكل متعرج على السطح المائل للأنبوب. يمكن للبكتيريا التخمرية أن تستهلك السكر وتنتج حمضاً وغازاً، مما يؤدي إلى تغير لون الآغار وتشكل فقاعات. كما يمكن لبعض البكتيريا أن تنتج كبريتيد الهيدروجين ، مما يؤدي إلى تشكيل راسب أسود من كبريتيد الحديد. يشير تغير اللون من الأحمر الى الأصفر الى ان البكتيريا قامت بتخمير السكريات سواء في قعر الأنبوب أو على السطح المائل (هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، 2001).

### 6- اختبار الكاتالاز :

الهدف من اختبار الكاتالاز هو تحديد ما إذا كانت البكتيريا تنتج إنزيم الكاتالاز أم لا. إنزيم الكاتالاز هو إنزيم يحفز تحلل بيروكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ ) إلى الماء والأكسجين (Kirk *et al.*, 2004) وفق المعادلة التالية:

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$$

ويعطي البكتيريا من التلف الناجم عن الأكسدة. يمكن استخدام اختبار الكاتالاز للتمييز بين بعض الأجناس والأنواع البكتيرية،

- تحضير محلول بيروكسيد الهيدروجين 3% ومحلول ملحي معقم.
  - أخذ عينة من البكتيريا المراد فحصها بواسطة حلقة معقمة أو مسحة.
  - وضع العينة في قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين على شريحة زجاجية نظيفة.
- ملاحظة ظهور فقاعات الأكسجين في حالة وجود إنزيم الكاتالاز في البكتيريا، وهو ما يدل على نتيجة إيجابية. عدم ظهور فقاعات يدل على نتيجة سلبية (Kirk *et al.*, 2004).

## 2-6-2 التعريف الجزيئي للغلزلات:

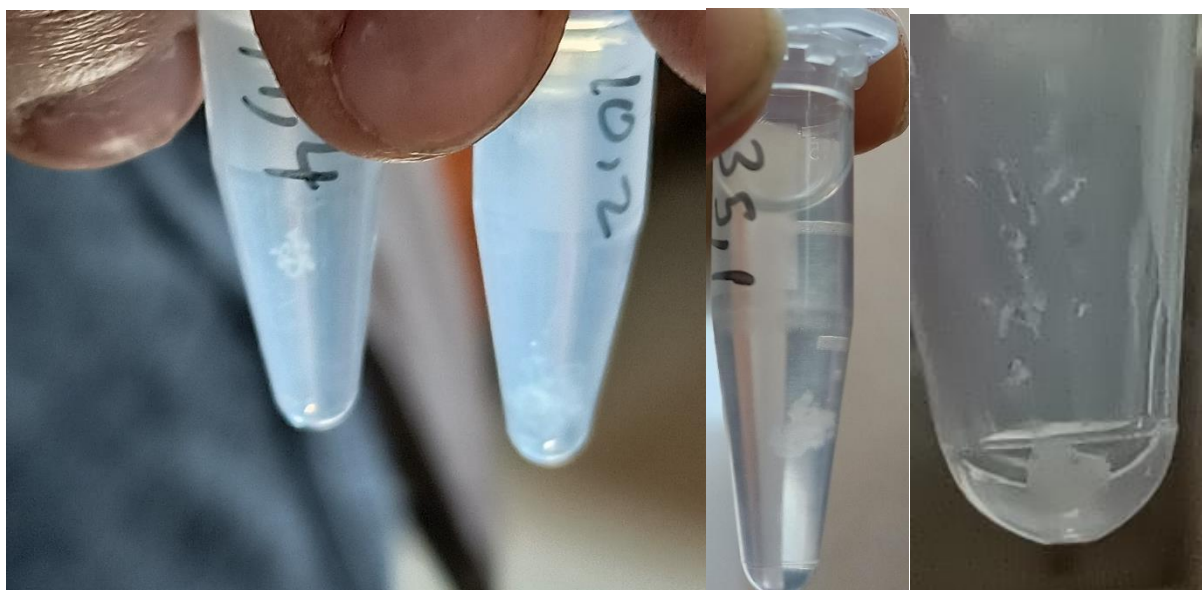
### 1-2-6-2 استخلاص الدنا:

خطوات استخلاص: تم عزل DNA البكتيري من مستعمرات بكتيرية بعمر 24 ساعة للغلزتين (16.2-10.2) باستخدام DNA wizard isolation and purification kit (شركة Promega) وفق تعليمات الشركة الصانعة (Wizard® Genomic DNA Purification Kit- Technical Manual) وفق التالي:

أضيف 1 مل من المعلق البكتيري إلى أنبوب تثقيب 1.5 مل، وتم التثقيب بقوة 13000-16000 × ج لمدة دقيقتين لتكوين الخلايا. ثم أزيلت المادة الطافية بالنسبة للبكتيريا السالبة غرام، تم الانتقال مباشرة إلى خطوة إضافة 600 ميكرو لتر من محلول تحليل الخلايا وخلطه بواسطة الماصة الجينومية حتى تعلق الخلايا. بعد ذلك، تم تحضينه عند حرارة 80 س° لمدة 5 دقائق لتحليل الخلايا وإطلاق جزيئات DNA وتركه يبرد على درجة حرارة الغرفة. كما أضيف 3 ميكرو لتر من محلول Rnase إلى الخلية المحللة وخلطه بالتحريك 2-5 مرات. ثم تم تحضينه على حرارة 37 س° لمدة 15-60 دقيقة وتركه يبرد على درجة حرارة الغرفة، أضيف فيما بعد 200 ميكرو لتر من محلول ترسيب البروتين إلى محلول الخلية المعالجة بـ Rnase وحرك بقوة وبسرعة عالية حركة دورانية لمدة 20 ثانية لخلط محلول ترسيب البروتين مع محلول الخلية. ثم حُضنت العينة على الثلج لمدة 5 دقائق وأجري لها طرد مركزي 13000-16000 × ج لمدة 3 دقائق. نُقِلَت المادة الطافية التي تحتوي على الحمض النووي إلى أنبوب تثقيب جديد يحتوي على 600 ميكرو لتر من الايزوبروبانول عند درجة حرارة الغرفة وحُكِرَ بلطف عن طريق القلب للأعلى والأسفل حتى تشكل خيوط الحمض النووي التي تشبه الخيوط بكتلة مرئية الشكل (2). أُجري تثقيله بجهاز التثقيب بقوة 13000-16000 × ج لمدة دقيقتين. بعد ذلك، سُكِبَت المادة الطافية بحرص وصُفِرَ الأنبوب على ورق ماص نظيف. كما أضيف 600 ميكرو لتر من الإيثانول 70٪ عند درجة حرارة الغرفة وعُكِسَ الأنبوب برفق عدة مرات لغسل حبيبات الحمض النووي. ثم وُضِعَ بجهاز التثقيب بقوة 13000-16000 × ج لمدة دقيقتين. وُضِحَ الإيثانول بعناية. بعدها، صُفِيَ الأنبوب على ورق ماص نظيف وتُرِكَت الحبيبات تجف في الهواء لمدة 10-15 دقيقة. أخيراً، أضيف 100 ميكرو لتر من محلول معالجة وترطيب الحمض النووي إلى الأنبوب وحُضِنَ

عند درجة 65 س° لمدة ساعة. وُخِلطَ المحلول بشكل دوري عن طريق النقر بلطف على الأنبوب. وأخيراً، خُزِّن الحمض النووي في 2-8 درجة س°. ثم تم تحديد سلامة ونوعية الـ DNA ونقاوته باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجة A260/A280 نانومتر.

حضر تمديدات الـ DNA بتركيز 10 نانوجرام/ميكرو لتر كما تم تطبيق اختبار PCR وتحديد التتابع النكليوتيدي في مختبر تسلسل الجينوم في مركز الجينوم بمدينة ميلانو -إيطاليا Milan Genome (MacroGen-Europe) Center DNA sequencing laboratory من قبل الدكتور رائد أبو قبيع.



الشكل (2) يوضح خيوط الـ DNA المستخلصة

2-2-6-2 تفاعل البصمة الوراثية:

أُجري تفاعل PCR باستخدام 5 ميكروليتر من DNA باستخدام زوج بادئات ( 8-27 f و 1510-1492 r ) عام متخصص يموثرات 16 S rRNA ( Lane, 1991 ) 2 ميكروليتر لكل بادئة وتركيز ( 10 pmol/ µl ) وبحجم نهائي 50 ميكروليتر.

وكان البادئ المباشر ( 8-27 f ) بتسلسل نكليوتيدي : 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3'

والبادئ غير المباشر (1510-1492) 3' - GGCTACCTTGTTACGACTT - 5' واستخدام 25 ميكروليتر من الكاشف (Biocompare GoTap G2-Hot Start Green Master Mix) (وفق تعليمات الشركة Promega)، وأكمل الحجم بإضافة 21 ميكروليتر من الماء المقطر المعقم.

اجري تفاعل الدنا باستخدام جهاز الدور الحراري Thermocycler (المصنع من قبل شركة BIORAD)، وفق البرنامج التالي : حيث جرى بالمرحلة الأولى تفكيك أولي لسلسلتي الدنا بدرجة حرارة 95 °س لمدة خمسة دقائق، وبعدها التفكيك الثانوي (35 دورة) عند درجة حرارة 95 °س لمدة دقيقة واحدة. ومن ثم مرحلة ارتباط البادئات عند درجة حرارة 65 °س لمدة 45 ثانية فقط، بعدها مرحلة استطالة البادئات عند درجة حرارة 72 °س لمدة دقيقة ونصف، والاستطالة النهائية عند درجة حرارة 72 °س لمدة خمسة عشر دقيقة .

ثم رُحل الدنا على هلامه Agarose (تركيزها 1%)، وباستخدام محلول منظم للرحلان (TBE 1X) ، واستخدام الحمض النووي لبكتيريا *Agrobacterium vitis* كشاهد موجب والماء المقطر المعقم كشاهد سالب، بالمقارنة مع سلم Ladder الدنا Plus 1Kb وفق الإرشادات المتبعة للوصول الى حزمة الوزن الجزيئي.

تمت تنقية نواتج تفاعل PCR باستخدام (QIAquick ,Germany,Hilden)، تبعا لإرشادات الشركة المصنعة لتحديد الدنا في كلا الاتجاهين باستخدام زوج من البادئات العامة (8-27 f و 1510-1492 r) (Macrogen Korea) تم فحص الدنا البكتيري على أطوال الموجه A260/A230 ، وحُدد التتابع النكليوتيدي بتقنية التسلسل الكهربائي (Sanger) للقطعة المضخمة باستخدام بادئات 16s rRNA وتحديد التتابع النكليوتيدي بصيغة ملف (ab1)، ثم تم تحديد نوع البكتيريا باستخدام قاعدة بيانات BLAST على موقع البنك الوراثي NCBI .

## 7-2 اختبار كفاءة العزلات البكتيرية المضادة لفطور أعفان جذور القمح في الأصص:

### 1-7-2 تحضير اللقاح الفطري

### 1-1-7-2 تعقيم بذور القمح:

استخدم صنف القمح شام 3 حيث تم غسل بذور القمح جيدا بالماء ثم سلقت لمدة 30 د عند درجة 100 س° (الغليان) بعد ذلك تم التخلص من الماء وجففت البذور المسلوقة في غرفة العزل للتخلص من الرطوبة الزائدة ثم عقت البذور في الموصل (الأوتوغلاف) عند درجة حرارة 120 س° لمدة 30 دقيقة.

## 2-1-7-2 تحميل الفطور الممرضة على بذور القمح:

استخدم عزلة من كل من الفطرين *F. graminearum* و *C. sativus* (*H. sativum H5*) التي تتميز بعدوانيتها العالية والمنتشرة في سوريا والتي عزلت وصنفت من قبل خليفة (2006).

تم زرع الفطور الممرضة في أطباق بتري تحوي وسط PDA بمعدل 3 مكررات لكل فطر ، كما وضع في الطبق إضافة إلى الفطر المراد تجديده عدد من بذور القمح المعقمة (10-15 بذرة) ليتم نمو الفطر عليها لتحضير اللقاح الأولي . حضنت الأطباق لمدة خمسة أيام عند درجة حرارة 25 س° . بعد ذلك أخذت البذور الحاملة للفطر ووضعت في ورق زجاجي معقم حاوي على بذور القمح المعقم وتم تغطيته بسداة قطنية معقمة وحضن مدة 7 أيام عند درجة حرارة 25 س° ثم خلالها تقلب الدرق الزجاجي لخلط البذور والسماح بنشر الفطور على كامل البذور .

## 2-7-2 معاملة بذور القمح بالمعلق البكتيري:

استخدام في معاملة البذور المراد زراعتها سبعة عزلات بكتيرية وهي: 1,41 / 1,35 / 1,32 / 2,28 / 1,18 / 2,16 والتي أعطت قدرة تضادية عالية على الفطور الممرضة وغير متضادة مع بعضها كما استخدم مزيج من العزلات الستة لبيان كفاءة صفة التضاد بشكل مجتمع.

جددت البكتيريا السابقة على أطباق بتري جديدة بمعدل 5 أطباق لكل سلالة حيث أخذ قطعة من الزرعة البكتيرية القديمة ووضعت في أنبوب يحوي على ماء مقطر معقم وتم رجه بشكل جيد لمدة 3 د ثم أخذ 1 مل من المعلق البكتيري ونشر على كامل سطح طبق بتري يحوي الوسط المغذي YPGA. تم التحضين عند درجة حرارة 25 س°

لمدة 3 أيام وبعد ذلك تم إضافة 8 مل لكل طبق وتمت عملية كشط للبكتيريا ثم جمع المعلق في كأس زجاجي وصل تركيز المعلق  $2 \times 10^8$  وحدة مولدة للمستعمرة في 1 مل.

وضعت بذور القمح المعدة للزراعة في كأس زجاجي وغسلت جيدا بالماء ، ثم نقعت بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم 0.5% لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم جيدا عدة مرات . قسمت بذور القمح إلى مجموعات ضمن كؤوس زجاجية صغيرة وتم نقع كل مجموعة بمعلق البكتيريا (كل كأس زجاجي بسلالة بكتيرية) وترك كأس زجاجي يحوي على بذور القمح المنقوعة بالماء المقطر ليكون شاهد نبات سليم وشواهد للفطور المستخدمة حيث اضيف للبذور في الشواهد الايجابية الفطر المستهدف ايضا. نقعت البذور لمدة 4 ساعات ثم نشرت على صواني معقمة وتركت 24 ساعة لتجف بشكل طبيعي وتبقى السلالات البكتيرية محملة على البذار . نفذت التجربة باستخدام تصميم القطاعات العشوائي الكاملة بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة من المعاملات التالية :

- معاملة لكل عذلة من الفطور الممرضة + بذور قمح معاملة بالعزلات البكتيرية المدروسة
  - شاهد سليم يحوي بذور قمح معقمة خارجياً فقط
  - شاهد لكل من الفطور الممرضة يحوي الفطر الممرض + بذور قمح معقمة خارجياً
  - شاهد لكل من العزلات البكتيرية المضادة يحوي على بذور قمح معاملة بالعزلات البكتيرية
- تم استخدام تربة زراعية من منطقة ريف دمشق وتم غريلتها من الشوائب والحجارة ولم تعقم لتكون النتائج أقرب للمحاكاة الطبيعية.

## 2-8 اختبار كفاءة بعض العزلات المختارة حقليا ودورها في تعزيز النمو :

تمت عملية الزراعة على موسمين في موقعين مختلفين في ريف دمشق - الضمير (2021 و 2022)

تمت حراثة الأرض بشكل جيد والتخلص من الأعشاب وبقايا المحصول السابق وزرعت بذور القمح المعقمة والمعاملة ولم يتم اجراء أي تسميد للمحصول أو استخدام أي نوع من المكافحة. تمت السقاية حسب الحاجة بالري بالتنقيط.

## 1-8-2 صنف القمح المستخدم:

استخدم صنف شام3: من القمح القاسي مقاوم للجفاف، اعتمد للزراعة البعلية في منطقة الاستقرار الثانية(امطارها 250-350مم)، وهو صنف متوسط المقاومة للأمراض الصدا، ويبيد ثباتية إنتاجية عالية عند زراعته في بيئات مختلفة، وهو متحمل لنقص البورون، حبوبه متوسطة الحجم وذات نوعية جيدة.

## 2-8-2 معاملات التجربة:

- الموسم الأول 2021 تم اختبار 12 عزلة بكتيرية اضافة الى شاهد غير معاملة:

زرعت كل معاملة بخط بطول 6 أمتار إضافة الى شاهد من نبات القمح والذي كان معاملة فقط بالماء المقطر المسافة بين كل خطين حوالي 30-40سم في ريف دمشق - منطقة الضمير بتاريخ 2020/11/15

جددت العزلات البكتيرية وتم اعداد معلق بكتيري لكل من العزلات المبشرة بتركيز  $10^7$  وحده مكونة للمستعمرة وعقمت بذور القمح المستخدمة سطحيا بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيز 0.5% لمدة 15د ثم غسل بالماء المقطر جيدا لإزالة بقايا الكلور عنه ثم نقعت بذور القمح لكل معاملة بالمعلق البكتيري الخاص بها وشاهد القمح نقع بالماء المقطر المعقم وذلك لمدة 4 ساعات ثم فرد البذار على صواني معقمة لتجف لمدة 24 ساعة .

- الموسم الثاني: 2022

تم اختبار اربع معاملات كل معاملة بثلاثة مكررات .

- ثلاثة عزلات بكتيرية بناءً على نتائج الموسم السابق

- معاملة الشاهد.

خطت الأرض بطول 10 م وعرض 7 م وقسمت الى 12 قطعة تجريبية (3\*1) كل وحدة تحوي على ثلاثة خطوط أجريت الزراعة بتاريخ 2021/12/10 في منطقة ريف دمشق - الضمير.

## الفصل الثالث

### النتائج والمناقشة

## RESULTS & DISCUSSION

## 3-1 عزل البكتيريا :

جمعت العينات من 24 حقل في محافظات ريف دمشق ودمشق ودرعا وتنوعت العينات بين قمح أو شعير مروحي أو بعلي وكانت النتائج كما في الجدول (5) حيث عزلت 66 عزلة بكتيرية من العينات النباتية التي جمعت من الحقول المختلفة، كما استخدمت 3 عزلات مختارة من مخبر الأمراض النباتية البكتيرية في كلية الزراعة جامعة دمشق والتي عزلت واختبر تأثيرها في مساعدة محصول القمح على تحمل اجهاد الجفاف (عثمان، 2023) كما في الجدول (6):

جدول(5) العينات النباتية ومصدرها التي تم عزل السلالات البكتيرية من محيطها الجذري في عام 2018.

| الرقم التسلسلي | رقم العينة | المحافظة | رقم العزلة | النبات | مزرع / بري | مروي / بعلي |
|----------------|------------|----------|------------|--------|------------|-------------|
| 1.             | 3          | ريف دمشق | 3.3        | قمح    | مزرع       | بعلي        |
| 2.             |            |          | 3.4        |        |            |             |
| 3.             | 7          | ريف دمشق | 7.1        | قمح    | مزرع       | مروي        |
| 4.             | 8          | ريف دمشق | 8.4        | قمح    | مزرع       | مروي        |
| 5.             | 9          | درعا     | 9.1        | قمح    | مزرع       | مروي        |
| 6.             | 10         | درعا     | 10.1       | قمح    | مزرع       | بعلي        |
| 7.             |            |          | 10.2       |        |            |             |
| 8.             | 11         | درعا     | 11.1       | قمح    | مزرع       | مروي        |
| 9.             | 13         | ريف دمشق | 13.3       | قمح    | مزرع       | مروي        |
| 10.            |            |          | 13.3.1     |        |            |             |
| 11.            | 14         | ريف دمشق | 14.1       | قمح    | مزرع       | بعلي        |
| 12.            |            |          | 14.1.1     |        |            |             |
| 13.            |            |          | 14         |        |            |             |
| 14.            |            |          | 14.2       |        |            |             |
| 15.            |            |          | 14.3       |        |            |             |
| 16.            |            |          | 14.4       |        |            |             |
| 17.            |            |          | 14.5       |        |            |             |
| 18.            |            |          | 14.6       |        |            |             |
| 19.            |            |          | 14.6.1     |        |            |             |
| 20.            | 15         | دمشق     | 15.3.1     | قمح    | بري        | بعلي        |
| 21.            |            |          | 15.3.2     |        |            |             |

|      |                      |      |        |          |    |     |
|------|----------------------|------|--------|----------|----|-----|
|      |                      |      | 15.4   |          |    | 22. |
| مروي | مزرع                 | قمح  | 16.1   | دمشق     | 16 | 23. |
|      |                      |      | 16.2   |          |    | 24. |
|      |                      |      | 16.1.1 |          |    | 25. |
|      |                      |      | 16.3   |          |    | 26. |
|      |                      |      | 16.4   |          |    | 27. |
|      |                      |      |        |          |    |     |
| مروي | مزرع                 | قمح  | 18.1.1 | ريف دمشق | 18 | 28. |
|      |                      |      | 18.1.2 |          |    | 29. |
|      |                      |      | 18.2   |          |    | 30. |
|      |                      |      | 18.3   |          |    | 31. |
| بعل  | مزرع                 | شعير | 19.3   | ريف دمشق | 19 | 32. |
|      |                      |      | 19.4   |          |    | 33. |
| بعل  | مزرع<br>مزرع<br>مزرع | قمح  | 20.1   | ريف دمشق | 20 | 34. |
|      |                      |      | 20.2   |          |    | 35. |
|      |                      |      | 20.2.1 |          |    | 36. |
| بعل  | مزرع                 | قمح  | 25.1   | ريف دمشق | 25 | 37. |
| بعل  | مزرع                 | قمح  | 28.2   | ريف دمشق | 28 | 38. |
| بعل  | مزرع                 | قمح  | 30.1   | ريف دمشق | 30 | 39. |
|      |                      |      | 30.2   |          |    | 40. |
| بعل  | بري                  | قمح  | 32.1.1 | ريف دمشق | 32 | 41. |
|      |                      |      | 32.1.2 |          |    | 42. |
|      |                      |      | 32.2   |          |    | 43. |
|      |                      |      | 32.3   |          |    | 44. |
|      |                      |      | 32.3.2 |          |    | 45. |
| مروي | مزرع                 | قمح  | 33.1   | ريف دمشق | 33 | 46. |
|      |                      |      | 33.3.1 |          |    | 47. |
|      |                      |      | 33.4   |          |    | 48. |
|      |                      |      | 33.5   |          |    | 49. |
| مروي | مزرع                 | قمح  | 34.1   | ريف دمشق | 34 | 50. |
|      |                      |      | 34.2   |          |    | 51. |
|      |                      |      | 34.3.1 |          |    | 52. |
| مروي | مزرع                 | قمح  | 35.1   | ريف دمشق | 35 | 53. |
|      |                      |      | 35.2   |          |    | 54. |
|      |                      |      | 35.3   |          |    | 55. |
| بعل  | بري                  | قمح  | 39.3   | ريف دمشق | 39 | 56. |
|      |                      |      | 39.8   |          |    | 57. |
| بعل  | بري                  | قمح  | 40.1   | ريف دمشق | 40 | 58. |

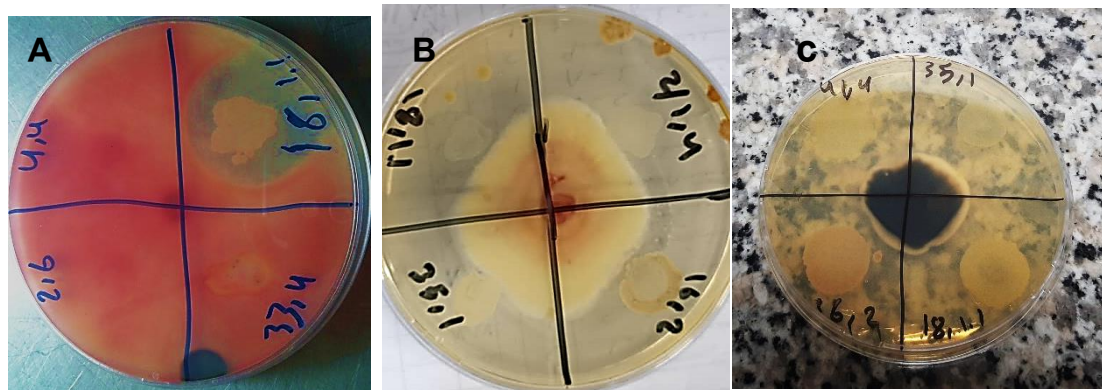
|  |  |  |        |          |    |     |
|--|--|--|--------|----------|----|-----|
|  |  |  | 40.2   |          |    | 59. |
|  |  |  | 42.1   | ريف دمشق | 42 | 60. |
|  |  |  | 42.3.1 |          |    | 61. |
|  |  |  | 42.3   |          |    | 62. |
|  |  |  | 42.4   |          |    | 63. |
|  |  |  | 46.1   | ريف دمشق | 46 | 64. |
|  |  |  | 46.2.1 |          |    | 65. |
|  |  |  | 46.2.2 |          |    | 66. |

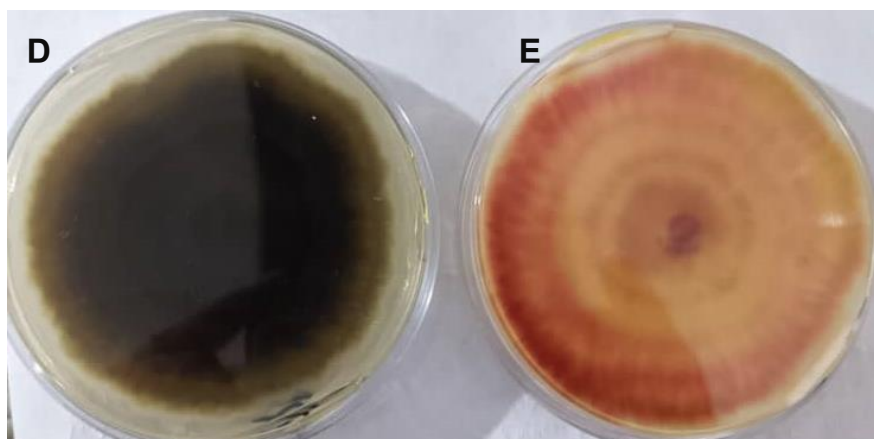
جدول (6): عزلات المقارنة البكتيرية المستخدمة من مخبر الأمراض النباتية البكتيرية ومصدرها .

| الرقم التسلسلي | المحافظة | رقم العزلة | قمح | بري   | بعل |
|----------------|----------|------------|-----|-------|-----|
| 1.             | ريف دمشق | 4.3        | قمح | بري   | بعل |
| 2.             | اللاذقية | 5.2        | قمح | بري   | بعل |
| 3.             | ريف دمشق | 41.4       | قمح | مزروع | بعل |

### 2-3 اختبار التضاد على الفطرين *F. graminearum* و *C. sativus* مخبرياً:

تم اختبار جميع العزلات البكتيرية اعلاه والبالغة 66 عزلة إضافة الى عزلات المقارنة لاختبار صفة التضاد لديها ومدى قدرتها على تثبيط أعفان جذور القمح واعطت 6 عزلات بكتيرية نتائج إيجابية مميزة في تثبيط الفطور المستهدفة كما في الشكل (3) إضافة الى العزلات المقارنة جميعها والتي تفاوتت في قدرتها على تضاد الفطور المستهدفة وكانت النتائج وفق الجدول (7).





الشكل رقم (3) مسافات التضاد بين بعض العزلات البكتيرية والفطور الممرضة على وسط PDA+KingB.

A : حالة تضاد حول العزلة 18.1.1 مع الفطر *F. graminearum*

B : مسافات التضاد بين الفطر *F. graminearum* والعزلات البكتيرية 18.1.1-35.1-16.2-41.4

C : مسافة التضاد بين الفطر *C. sativus* والعزلات البكتيرية 18.1.1-35.1-16.2-41.4

D : شاهد فطر *C. sativus*

E : شاهد فطر *F. graminearum*

جدول (7) مسافة التضاد بين العزلات البكتيرية والفطور الممرضة المدروسة مقاسة بمم بعد 7 أيام من التحضين.

| الرقم المتسلسل | رمز العزلة | متوسط مسافة تضاد البكتيريا مع الفطر <i>F. graminearum</i> مم | متوسط مسافة تضاد البكتيريا مع الفطر <i>C. sativus</i> مم |
|----------------|------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 1.             | 4.3        | 1.75 <sup>A</sup>                                            | 4.6 <sup>A</sup>                                         |
| 2.             | 5.2        | 2 <sup>A</sup>                                               | 7 <sup>B</sup>                                           |
| 3.             | 10.2       | 1.75 <sup>A</sup>                                            | 4.12 <sup>A</sup>                                        |
| 4.             | 16.2       | 5.25 <sup>C</sup>                                            | 6.3 <sup>B</sup>                                         |
| 5.             | 18.1.1     | 5.75 <sup>C</sup>                                            | 6.3 <sup>B</sup>                                         |
| 6.             | 28.2       | 4.25 <sup>B</sup>                                            | 8.6 <sup>C</sup>                                         |
| 7.             | 30.2       | 4.3 <sup>B</sup>                                             | 7 <sup>B</sup>                                           |
| 8.             | 35.1       | 5.5 <sup>C</sup>                                             | 7.5 <sup>C</sup>                                         |
| 9.             | 41.4       | 3.75 <sup>B</sup>                                            | 5.75 <sup>A</sup>                                        |
| 10.            | Sig        | 0.000                                                        | 0.073                                                    |
| 11.            | LSD        | 0.957                                                        | 1.645                                                    |

المعاملات التي تملك أحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى الدلالة الإحصائية 0.005 ومستوى

ثقة 95%

نلاحظ من الجدول تفوق العزلة رقم 18.1.1 تجاه فطر *F.graminearum* والعزلة 28.2 تجاه الفطر *C. sativus* وتحليل النتائج احصائيا لوحظ ان قيمة Sig عند درجة ثقة 95% لـ "مسافة التضاد بين العزلة البكتيرية والفطر *F.graminearum* هي 0.000، وهذا يعني أن هناك فروق ذات دلالة إحصائية بين متوسطات المجموعات في هذا المتغير. على عكس مسافة التضاد بين العزلة البكتيرية والفطر *C. sativu* حيث ان قيمة Sig عند درجة ثقة 95% هي 0.073 وهذا يعني عدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية.

بالنسبة للفطر *F. graminearum* ، تم الحصول على مستوى دلالة احصائية Sig = 0.000 ، مما يعني أن هناك فرق معنوي بين متوسطات مسافات التضاد بين العزلات على الأقل. من الجدول، يمكننا ملاحظة أن العزلات 16.2 و 18.1.1 و 35.1 لها أعلى متوسط مسافة تضاد مع الفطر *F. graminearum* ، وهي 5.25 و 5.75 و 5.5 مم على التوالي حيث ان LCD لها متقارب ولا يوجد اختلاف فيما بينها وتختلف عن باقي المعاملات بشكل واضح و هذا يعني أن هذه العزلات هي الأكثر مقاومة للفطر *F. graminearum* وأنها تختلف بشكل معنوي عن العزلات الأخرى. بينما العزلات 4.3 و 10.2 لها أقل متوسط مسافة تضاد مع الفطر *F. graminearum* ، وهي 1.75 مم لكل منهما، و هذا يعني أن هذه العزلات هي الأقل مقاومة للفطر *F. graminearum* وأنها لا تختلف بشكل معنوي عن بعضها.

بالنسبة للفطر *C. sativus* ، من الجدول، يمكننا ملاحظة أن العزلة 28.2 لها أعلى متوسط مسافة تضاد مع الفطر *C. sativus* ، وهي 8.6 مم بينما العزلات 4.3 و 10.2 و 41.4 لها أقل متوسط مسافة تضاد مع الفطر *C. sativus* ، وهي 4.6 و 4.12 و 5.75 مم على التوالي هذا يعني أن هذه العزلات هي الأقل مقاومة للفطر *C. sativus* وأنها لا تختلف بشكل معنوي عن بعضها البعض.

بالتالي، يمكننا القول أن العزلات البكتيرية المضادة للفطرين *C. sativus* , *F. graminearum* تظهر تباينا في قدرتها على منع نمو الفطريات الممرضة، وأن هذا التباين يعتمد على نوع الفطر و العزلات البكتيرية المستخدمة حيث تبين أن العزلات 16.2-18.1.1-35.1 هي الأكثر فعالية في مقاومة الفطر *F. graminearum* ، بينما

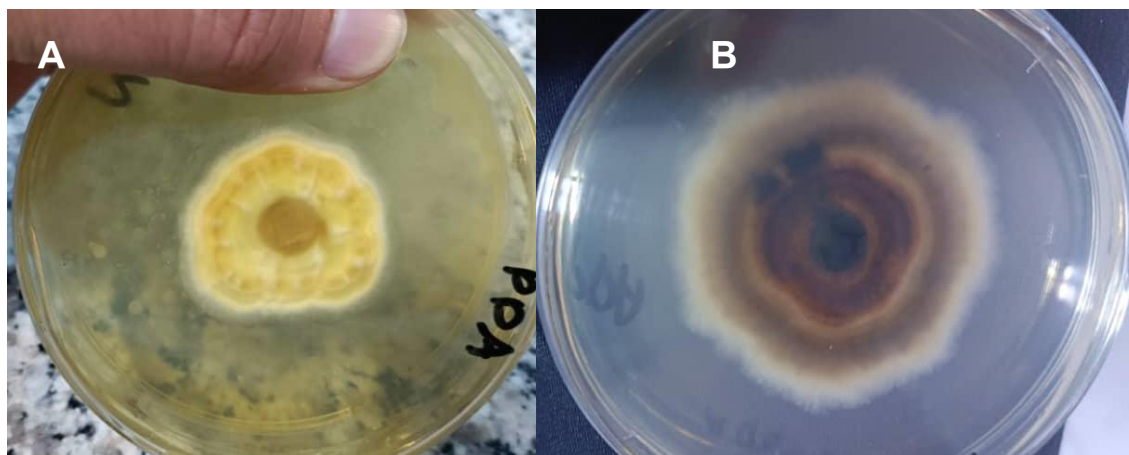
بينت نتائج LSD للعزلتين 35.1، 28.2 أنهما متشبهتين بالتأثير ويختلفون معنوياً عن باقي العزلات وبالتالي هما الأكثر فعالية في مقاومة الفطر *C. sativus*.

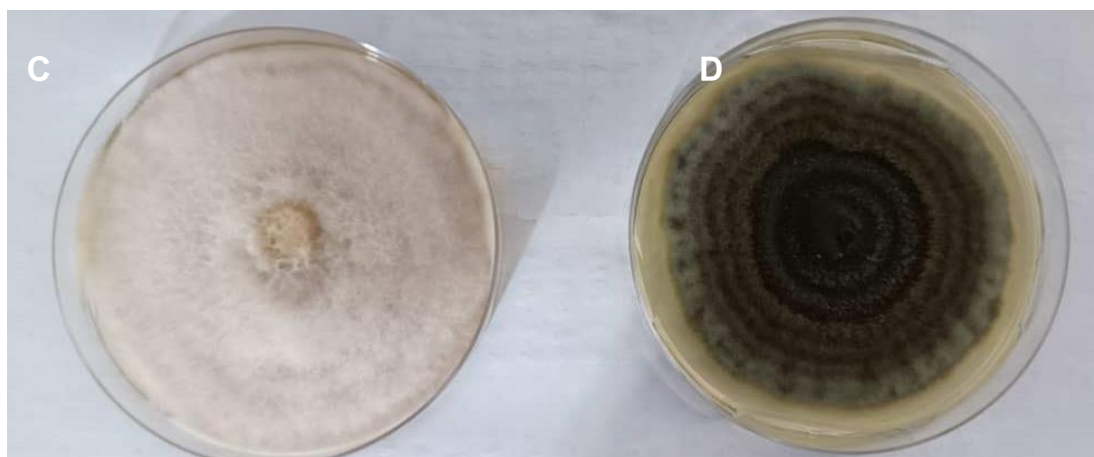
و العزلات 4.3-10.2 هي الأقل فعالية في مقاومة كلا الفطرين. هذه النتائج تشير إلى أن العزلات البكتيرية تمتلك آليات مختلفة للتفاعل مع الفطريات الممرضة، وأنه يمكن استخدامها كوسيلة للحد من الأمراض الفطرية في النباتات. وقد يعود ذلك الى إنتاج هذه البكتيريا مواد كيميائية تمنع نمو الفطريات أو تقتلها أو إفراز مواد مضادة للفطريات. مثل الأحماض العضوية والفينولات Hydrogen peroxide, Siderophores, Biosurfactants, Bacteriocins, Biotin و الأنزيمات الهاضمة وتعمل بعض البكتيريا على مستويين: أولاً، تمنع نمو الفطريات بإفراز مواد كيميائية تعطل عملية التمثيل الغذائي أو تدمر الجدار الخلوي للفطريات. ثانياً، تزيد من مقاومة النباتات للفطريات بإفراز مواد كيميائية تنشط الجهاز المناعي للنباتات أو تحسن من صحة النباتات. وبالتالي، تعتبر هذه البكتيريا وسيلة فعالة وصديقة للبيئة للحد من الأمراض الفطرية في النباتات (Herrera et al., 2016; Gremi et al., 2017).

### 3-3 اختبار تأثير غاز HCN المنتج بواسطة بكتيريا المعزولة في تثبيط الفطرين *F. graminearum*,

#### *C. sativus*.

أجريت التجربة بزرع الفطور الممرضة على أطباق PDA أما العزلات البكتيرية فبعد اجراء اختبارات الكفاءة لها وانتمائها لمجموعة الـ PGPR تم انتخاب العزلات الأكثر إنتاجاً لغاز HCN وزراعتها على أطباق تحوي وسط YPGA، وتم نزع الأغذية والصاق كل طبق فوق الآخر وولف الطبقتين المنضدين فوق بعضهما ببارافيلم وكانت النتائج كما في الجدول (8) نلاحظ من خلال الشكل رقم (4) تثبيط نمو كل من الفطرين *F. graminearum*، *C. sativus* بفعل العزلات المنتجة لغاز السيانيد مقارنة مع شاهد من كل الفطرين في اليوم السابع من التحضين.





الشكل (4) تأثير العزلات البكتيرية المنتجة لغاز HCN على الفطرين *C. sativus* *F. graminearum*

A : تأثير نمو فطر *F. graminearum* بفعل تأثير غاز HCN للعزلة البكتيرية 4.3

B : تأثير نمو فطر *C. sativus* بفعل تأثير غاز HCN للعزلة البكتيرية 4.3

C : شاهد للفطر *F. graminearum*

D : شاهد للفطر *C. Sativus*

جدول (8) متوسط أقطار مستعمرات الفطور الممرضة المعرضة لتأثير البكتيريا المنتجة للسيانيد ونسبة تثبيطها مقارنة مع الشاهد الفطر غير المعامل مقاسة بـمم.

| الفطر الممرض<br>العزلة<br>البكتيرية | <i>C. sativus</i> | نسبة التثبيط % | <i>F. graminearum</i> | نسبة التثبيط % |
|-------------------------------------|-------------------|----------------|-----------------------|----------------|
| 4.3                                 | 2.8               | 67             | 4.7                   | 45             |
| 14                                  | 3.6               | 58             | 5.8                   | 32             |
| 19.4                                | 4.25              | 50             | 5.6                   | 34             |
| 20.2.1                              | 3.7               | 56             | 5.52                  | 35             |
| 42.3                                | 4.2               | 51             | 5.6                   | 34             |
| الشاهد                              | 8.5               | 0              | 8.5                   | 0              |
| Sig                                 | 0.000             | Sig            | 0.000                 |                |

من خلال الجدول أعلاه نلاحظ ان نسبة تثبيط نمو الفطر *C. sativus* تراوحت بين 50-67% واعلى نسبة

مئوية لتثبيط الفطر كانت لعزلة المقارنة 4.3 حيث بلغت 67% في حيث كانت أفضل العزلات المدروسة هي

العزلة 14 حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 58%

أما بالنسبة للفطر *F. graminearum* فقد تراوحت نسبة التثبيط بين 32 و45% وأيضاً تقوقت عزلة المقارنة 4.3 بأعلى نسبة تثبيط وقدرها 45% في حين تميزت العزلة 20.2.1 من العزلات المدروسة.

هذه النتائج تتوافق مع Lebrazi وآخرون (2020) الذي أكد أن لإنتاج غاز سيانيد الهيدروجين دوراً مهماً في مكافحة الفطريات وخاصة في مكافحة الأمراض الفطرية في بادرات القمح، كما ويتوافق مع Sehwat وآخرون (2022) الذين أكد أيضاً على تأثير HCN على الآفات والمسببات المرضية للنبات، و على إنتاج حامض الإندول الخلي والمضادات الحيوية وذوبان الفوسفات كما يمكن لـ HCN المنتج بكتيرياً تحفيز نمو الجذور وتحسين مقاومة النبات للإجهادات البيئية (Sehwat *et al.*, 2022).

وبينت نتائج التحليل الإحصائي أن قيمة Sig لـ "تأثير العزلات المنتجة لغاز السيانيد على كل من الفطر *F. graminearum* والفطر *C. sativus* هي 0.000، وهذا يعني وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين متوسطات المجموعات في هذا المتغير.

إن تأثير غاز سيانيد الهيدروجين على الفطريات أعلاه هو من خلال تثبيط عملية التنفس الخلوي والتمثيل الضوئي في الخلايا الفطرية، مما يؤدي إلى انخفاض إنتاج الطاقة والمواد العضوية والنمو الفطري. آلية عمله هي الارتباط بإنزيم السيتوكروم سي أوكسيداز (Cytochrome C Oxidase)، وهو إنزيم مسؤول عن نقل الإلكترونات إلى الأكسجين في سلسلة النقل الإلكتروني، ومنعه من أداء وظيفته. هذا يؤدي إلى تراكم الإلكترونات والبروتونات في الميتوكوندريا وانخفاض التدفق الإلكتروني وتخمر اللاكتات. كما يؤدي إلى تقليل توافر الأكسجين للخلايا الفطرية وتسبب في الاختناق الخلوي (Nandi *et al.*, 2017).

وفي تجربة أخرى تم اختبار عزلات ذات الأرقام 10.2-16.2-41.4 في مكافحة النقم المغطى على القمح (صالح ، 2023) وكانت النتائج على الشكل التالي جدول (9) :

جدول (9) تأثير بعض العزلات البكتيرية في تثبيط النقم المغطى على القمح حقلياً.

| نسبة الإصابة % | نسبة الكفاءة % | رقم العزلة |
|----------------|----------------|------------|
| 29.9           | 62.38          | 10.2       |
| 24             | 69.7           | 16.2       |
| 38             | 52.16          | 41.4       |

من خلال الجدول أعلاه يتبين لنا أن العزلات الثلاثة كان لها تأثير إيجابي ومضاد لمرض التقحم المغطى على القمح حيث تراوحت نسبة الكفاءة بين 52-62% وكانت أفضل عزلة هي 16.2 والتي تنتمي الى *Enterobacter hormaechei* وهذه النتائج تتوافق مع نتائج العزلات الثلاثة مع الفطور الممرضة المسببة لعفن جذور القمح *C. sativus*، *F..graminearum* حيث تفوقت العزلة 16.2 في تثبيط نمو الفطرين الممرضين مقارنةً بالعزلتين الباقيتين. هذا يتوافق أيضاً مع Kumar وآخرون في دراسة أجريت على بادرات الدخن (*Pennisetum glaucum*) والتي أكدوا من خلالها الدور الإيجابي لبكتيريا PGPR في تعزيز نمو النبات ومكافحة الفطريات *F. oxysporum* و *Macrophomina phaseolina* و *R.solani* (Kumar et al., 2020) وقد عزى ذلك الى انتاج هذه البكتيريا مواد مضادة للفطريات مثل الفينازين (Phenazine) والكوليسين (Colicin) تثبط نمو الفطر (Mousa et al., 2016).

### 3-4 نتائج اختبار كفاءة العزلات وانتمائها لمجموعة البكتيريا المعززة لنمو النبات PGPR:

تم اجراء الاختبارات على العزلات الـ 66 إضافة الى عزلات المقارنة من ناحية تحليل البوتاسيوم والفوسفور وكربونات الكالسيوم وتثبيت النتروجين وإنتاج حمض الإندول الخلي وغاز سيانيد الهيدروجين والأمونيا وكانت النتائج كما في الجدول (10).

جدول (10) اختبار كفاءة العزلات البكتيرية وانتمائها لمجموعة البكتيريا المعززة لنمو النبات PGPR

| التسلسلي | رقم العزلة | P    | K  | N  | IAA | CaCO <sub>3</sub> | HCN | الأمونيا | تضاد |
|----------|------------|------|----|----|-----|-------------------|-----|----------|------|
| 1        | 3.3        | -    | -  | -  | -   | -                 | -   | -        | -    |
| 2        | 3.4        | -    | -  | -  | -   | -                 | -   | -        | -    |
| 3        | 7.1        | -    | -  | ++ | -   | -                 | -   | +        | +    |
| 4        | 8.4        | -    | -  | -  | -   | -                 | -   | -        | -    |
| 5        | 9.1        | -    | -  | -  | -   | +                 | -   | -        | -    |
| 6        | 10.1       | +    | ++ | ++ | ++  | -                 | -   | -        | -    |
| 7        | 10.2       | ++++ | -  | +  | +++ | ++                | -   | +++      | ++   |
| 8        | 11.1       | -    | -  | -  | -   | -                 | -   | +++      | -    |
| 9        | 13.3       | -    | -  | +  | -   | +                 | -   | -        | -    |
| 10       | 13.3.1     | -    | -  | -  | -   | -                 | -   | -        | -    |

|      |     |      |    |      |     |      |      |        |    |
|------|-----|------|----|------|-----|------|------|--------|----|
| -    | -   | -    | -  | -    | -   | -    | -    | 14.1   | 11 |
| -    | -   | -    | ++ | -    | -   | -    | -    | 14.1.1 | 12 |
| -    | +   | ++++ | -  | -    | -   | ++   | ++   | 14     | 13 |
| -    | +   | -    | -  | -    | -   | +++  | ++++ | 14.2   | 14 |
| -    | ++  | -    | -  | -    | -   | -    | -    | 14.3   | 15 |
| -    | +++ | -    | +  | -    | -   | -    | -    | 14.4   | 16 |
| -    | -   | -    | -  | -    | +   | -    | -    | 14.5   | 17 |
| -    | -   | -    | -  | +    | +   | -    | -    | 14.6   | 18 |
| -    | -   | -    | -  | -    | -   | -    | -    | 14.6.1 | 19 |
| -    | -   | +    | -  | -    | -   | ++++ | ++   | 15.3.1 | 20 |
| -    | ++  | -    | -  | +    | -   | ++   | -    | 15.3.2 | 21 |
| -    | -   | -    | -  | -    | +++ | -    | -    | 15.4   | 22 |
| +    | -   | -    | -  | -    | -   | -    | -    | 16.1   | 23 |
| -    | -   | -    | +  | -    | -   | -    | -    | 16.1.1 | 5  |
| -    | -   | -    | -  | -    | -   | -    | -    | 16.3   | 26 |
| -    | -   | -    | -  | -    | -   | -    | -    | 16.4   | 27 |
| ++++ | ++  | -    | -  | -    | -   | -    | -    | 18.1.1 | 28 |
| +    | -   | -    | -  | -    | +   | -    | -    | 18.1.2 | 29 |
| +    | ++  | -    | -  | -    | +   | -    | -    | 18.2   | 30 |
| -    | +++ | -    | -  | +    | -   | +    | +    | 18.3   | 31 |
| -    | -   | +    | -  | -    | -   | -    | -    | 19.3   | 32 |
| -    | +++ | +++  | -  | ++++ | -   | -    | +    | 19.4   | 33 |
| -    | +   | -    | -  | -    | -   | -    | +++  | 20.1   | 34 |
| -    | +++ | ++   | +  | +    | -   | ++   | -    | 20.2   | 35 |
| -    | +   | +++  | +  | +    | -   | +    | -    | 20.2.1 | 36 |
| -    |     |      |    | ++   |     |      |      | 25.1   | 37 |
| +++  | +++ | -    | -  | -    | -   | ++++ | ++++ | 28.2   | 38 |
| +++  | +   |      |    |      |     |      | +    | 30.2   | 40 |
| +    | ++  | -    | -  | ++   | -   | -    | -    | 32.1.1 | 41 |
| -    | ++  | -    | -  | -    | -   | -    | ++   | 32.1.2 | 42 |
| -    | ++  | -    | -  | -    | ++  | -    | -    | 32.2   | 43 |
| -    | ++  | -    | -  | -    | ++  | ++   | +    | 32.3   | 44 |
| -    | ++  | -    | -  | -    | +++ | -    | -    | 32.3.2 | 45 |

|   |     |     |     |     |     |     |     |        |    |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|----|
| - | ++  | -   | -   | -   | +++ | -   | -   | 33.1   | 46 |
| - | ++  | -   | +   | +++ | +   | +   | +   | 33.3.1 | 47 |
| - | +   | -   | -   | +++ | +++ | -   | -   | 33.4   | 48 |
| - | +++ | ++  | -   |     | -   | +   | +   | 33.5   | 49 |
| - | +++ | -   | -   | -   | +++ | -   | -   | 34.1   | 50 |
| - | -   | -   | -   | -   | ++  | -   | -   | 34.2   | 51 |
| - | +++ | -   | -   | +++ | -   | +   | -   | 34.3.1 | 52 |
| - | ++  | -   | -   | ++  | -   | +   | -   | 35.1   | 53 |
| - | +   | -   | +++ | -   | +++ | +++ | -   | 35.3   | 55 |
| - | ++  | +++ | -   | -   | -   | +   | +   | 39.3   | 56 |
| - | -   | -   | -   | +   | -   | -   | +   | 39.8   | 57 |
| + | +   | -   | +   | +   | -   | +++ | +++ | 40.1   | 58 |
| - | +++ | ++  | -   | -   | -   | +   | +   | 40.2   | 59 |
| - | +++ | +++ | +   | -   | ++  | ++  | ++  | 42.1   | 60 |
| - | +++ | -   | -   | -   | -   | -   | -   | 42.3.1 | 61 |
| - | +++ | +++ | -   | -   | -   | +++ | -   | 42.3   | 62 |
| - | +++ | ++  | -   | -   | -   | +++ | -   | 42.4   | 63 |
| + | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | 46.1   | 64 |
| - | -   | -   | -   | -   | ++  | +   | +   | 46.2.1 | 65 |
| - | +++ | -   | -   | +   | ++  | ++  | ++  | 46.2.2 | 66 |

## عزلات المقارنة :

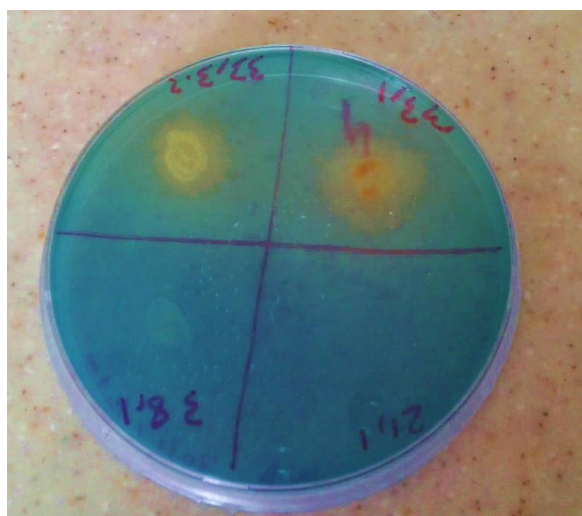
|    |     |     |    |      |    |     |      |                            |      |   |
|----|-----|-----|----|------|----|-----|------|----------------------------|------|---|
| +  | ++  | +++ | -  | ++++ | -  | +   | -    | غير معرفة                  | 4.3  | 1 |
| ++ | +++ | -   | ++ | +++  | ++ | +++ | ++   | <i>Citrobacter braakii</i> | 5.2  | 2 |
| ++ | ++  | -   | +  | +++  | -  | +++ | ++++ | <i>Pantoea agglomerans</i> | 41.4 | 3 |

## 3-4-1 تثبيط الآزوت :

بينت نتائج لاختبارات قيام (24) عزلة بتثبيت الآزوت الجوي بدرجات متفاوتة إضافة إلى العزلة 5.2 من

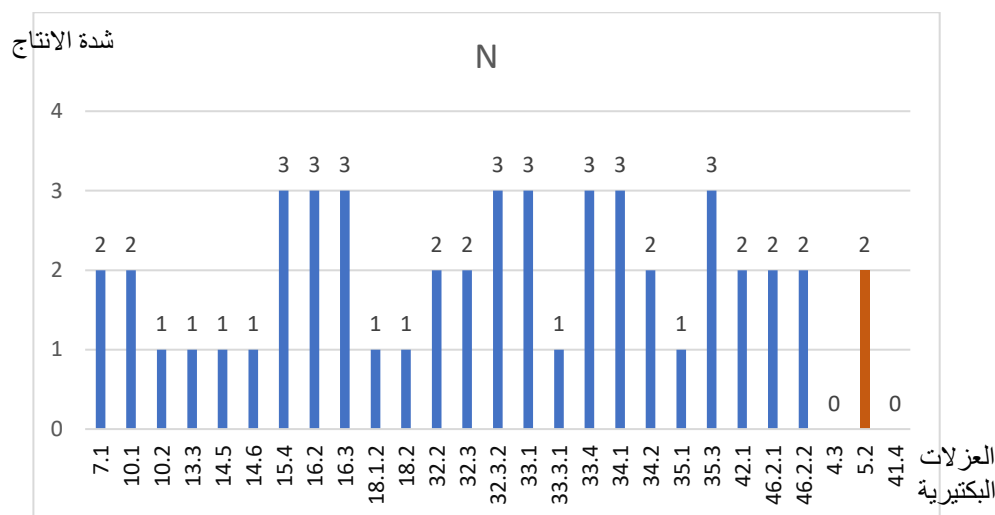
عزلات المقارنة حيث دل تغير لون الوسط من الأزرق إلى اللون الأصفر أو البرتقالي حول العزلة على

قيامها بتثبيت الآزوت الجوي كما في الشكل رقم (5). فتغير اللون هو نتيجة لعملية التثبيت البيولوجي للأزوت، وهي عملية تحول الآزوت الجوي ( $N_2$ ) إلى أمونيا ( $NH_3$ ) بواسطة بعض الميكروبات (Baldani *et al.*, 2014). هذه البكتيريا تستخدم إنزيم نيتروجيناز لتحفيز هذا التفاعل، الأوساط المغذية تحتوي على مؤشرات لونية تتفاعل مع الأمونيا وتغير لونها. فالوسط هنا يحتوي على مؤشر أزرق البروموثيل (BBT)، والذي يتحول من اللون الأزرق إلى البرتقالي في وجود الأمونيا (Ali *et al.*, 2021)



الشكل (5) تشكّل هالة بلون برتقالي حول العزلة 33.1 دليل تثبيتها للأزوت الجوي

من خلال نتائج الاختبارات نلاحظ تميز العزلات 35.3-34.1-33.4-33.1-32.3.2-16.2-15.4 بتثبيت الآزوت وتوقفت هذه العزلات على عزلات المقارنة حيث لم تقم سوى العزلة 5.2 بتثبيت الآزوت بدرجة متوسطة كما في الشكل (6).



الشكل (6) مقارنة البكتيريا المثبتة للأزوت للعزلات المدروسة مع عزلات المقارنة

حيث تشير الأرقام إلى 1+= و 2+= و 3+= والتي تمثل تقدير شدة الانتاج

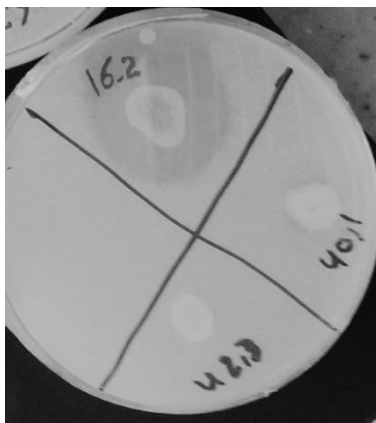
### 3-4-2 تحليل الفوسفات:

بينت نتائج اختبار العزلات البكتيرية وجود 25 عزلة من العزلات محللة للفوسفات إضافة إلى عزلتين 5.2-41.4 من عزلات المقارنة حيث أظهرت هذه العزلات هالات حولها كما في الشكل (7) وهي نتيجة لقدرة هذه البكتيريا على تحليل الفوسفات غير القابلة للذوبان في التربة وإطلاق الفوسفات القابلة للذوبان والمتاحة للنباتات. هذه البكتيريا تنتج أحماضاً عضوية مثل حمض غلوكونيك، خليك ، وحمض مالونيك ، وأيزوبوتيريك ، وإيزوفاليريك ، وحمض لاكتيك ، وإنزيمات تساعد على تحطيم روابط الفوسفات مع الكالسيوم أو الحديد أو الألومنيوم (Lebrazi *et al.*, 2020; Rawat *et al.*, 2021) واختلفت قياس هذه الهالات تبعاً لمقدرة العزلة على تحليل الفوسفات كما هو موضح في الجدول (11).

جدول(11) معامل الذوبان للعزلات البكتيرية المحللة للفوسفات .

|               |       |      |      |       |        |      |      |      |      |
|---------------|-------|------|------|-------|--------|------|------|------|------|
| رقم العزلة    | 10.1  | 10.2 | 14   | 14.2  | 15.3.1 | 15.4 | 16.2 | 20.1 | 28.2 |
| معامل الذوبان | 1.8   | 4.1  | 3.6  | 4.1   | 2.8    | 2.2  | 4.7  | 4    | 4.7  |
| رقم العزلة    | 32.12 | 40.1 | 42.1 | 46.22 | 4.3    | 5.2  | 41.4 |      |      |
| معامل الذوبان | 2.7   | 2    | 2.6  | 2.6   | 3.6    | 4.2  | 3.4  |      |      |

وتراوح معامل الذوبان للعزلات المدروسة بين 1.8-4.7 بينما تراوح معامل الذوبان للعزلات المقارنة بين 3.4-4.2.



الشكل (7) هالة تحليل الفوسفات حول العزلة البكتيرية 16.2

### 3-4-2 تحليل البوتاسيوم:

بينت نتائج اختبار العزلات الـ 66 أن 27 عزلة منها محللة للبوتاس و جميع عزلات المقارنة حيث أظهرت هذه العزلات هالة حولها وهي نتيجة لقدرة هذه البكتيريا على تحليل البوتاس غير القابل للذوبان في التربة وإطلاق البوتاس القابل للذوبان والمتاح للنباتات حيث أن هذه البكتيريا تنتج أحماضاً عضوية وإنزيمات تساعد على تحطيم روابط البوتاس مع المعادن مثل الفلدسبار والميكا فظهور الهالة دليل على قدرة العزلات على تحليل البوتاس كما في الشكل رقم (8) واختلفت قياس هذه الهالات تبعا لمقدرة العزلة على تحليل البوتاس كما هو موضح في الجدول (12).



الشكل (8) هالات اذابة البوتاس حول البكتيريا المحللة للبوتاس

جدول (12) اهم العزلات البكتيرية المحللة للبوتاس ومعامل ذوبانها.

|      |      |       |       |      |      |        |      |      |               |
|------|------|-------|-------|------|------|--------|------|------|---------------|
| 32.3 | 30.1 | 28.2  | 20.21 | 20.2 | 16.2 | 15.3.1 | 14.2 | 5.2  | رقم العزلة    |
| 1.3  | 1.4  | 3.4   | 1.7   | 1.4  | 3.9  | 4      | 2.5  | 3.8  | معامل الذوبان |
|      | 41.4 | 46.22 | 42.4  | 42.3 | 42.1 | 40.1   | 35.3 | 35.1 | رقم العزلة    |
|      | 2.7  | 1.7   | 2.4   | 2.4  | 2.1  | 2.7    | 2.1  | 1.6  | معامل الذوبان |

نلاحظ من خلال الجدول ان معامل الذوبان للعزلات المدروسة تراوح بين 1.3-4 بينما تراوح معامل الذوبان لعزلات المقارنة بين 2.7-3.8 للعزلتين 5.2-41.4 على التوالي في حين تعذر قياس معامل الذوبان للعزلة 4.3، ونلاحظ تفوق العزلة 15.3.1 على جميع العزلات بما فيها عزلات المقارنة بمعامل ذوبان 4 في حين تميزت كل من العزلات 16.2-28.2 من حيث النتائج بعد العزلة 15.3.1 حيث كان معامل ذوبان العزلتين 3.4-3.9 على التوالي .

### 3-4-4 تحليل كربونات الكالسيوم $\text{CaCO}_3$ :

نلاحظ من خلال الشكل رقم (9) ان هناك هالة حول بعض العزلات البكتيرية المزروعة على وسط يحوي كربونات الكالسيوم ناتجة عن افراز البكتيريا أحماضًا تتفاعل مع كربونات الكالسيوم وتحللها إلى ثنائي أكسيد الكربون وأملاح

الكالسيوم (Anbu *et al.*, 2016). واختلفت قياس هذه الهالات تبعاً لمقدرة العزلة على تحليل كربونات الكالسيوم كما هو موضح في الجدول (13).

جدول (13) قدرة العزلات البكتيرية على تحليل كربونات الكالسيوم.

| رقم العزلة        | 9.1    | 10.2   | 13.3 | 14.1.1 | 14.4 | 16.2 | 16.1.1 | 20.2 |
|-------------------|--------|--------|------|--------|------|------|--------|------|
| CaCO <sub>3</sub> | +      | ++     | +    | ++     | +    | +    | +      | +    |
| رقم العزلة        | 20.2.1 | 33.3.1 | 35.1 | 35.3   | 40.1 | 42.1 | 5.2    | 41.4 |
| CaCO <sub>3</sub> | +      | +      | ++   | +++    | +    | +    | ++     | +    |

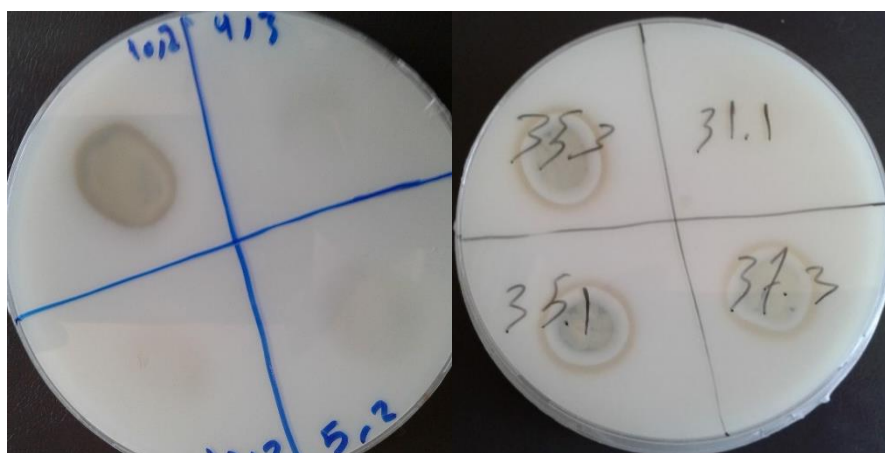
حيث دلت إشارة + على مقدرة العزلات على تحليل كربونات الكالسيوم بشكل بسيط بمتوسط حتى 2 مم بينما ++

مقدرة جيدة على تحليل كربونات الكالسيوم 2-3 مم في حين +++ دلت على مقدرة جيدة جدا على التحليل

≤3مم

وكانت أفضل العزلات تحليلاً لكربونات الكالسيوم هي 35.3-35.1-10.2 على التوالي حيث بلغ معامل

الذوبان للعزلات السابقة 3-2.6-2.

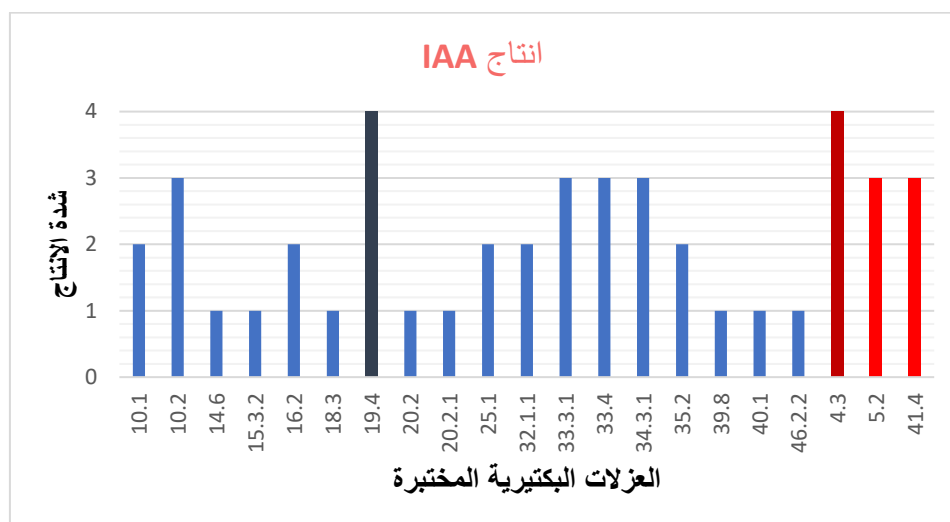


الشكل (9) تحليل كربونات الكالسيوم حول بعض العزلات البكتيرية

### 3-4-5 إنتاج حمض الأندول الخلي:

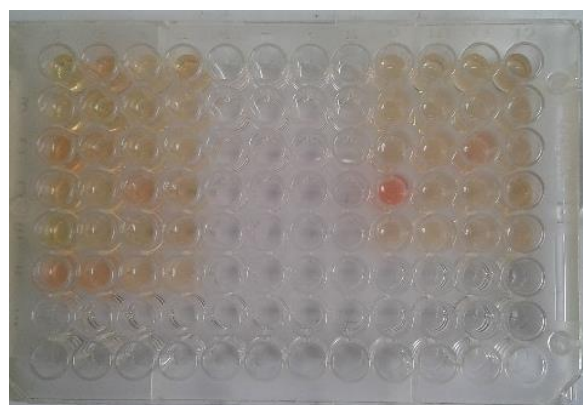
من خلال الشكل رقم (10) نلاحظ وجود 18 عزلة منتجة لحمض الأندول الخلي بدرجات متفاوتة ونلاحظ أن العزلات المميزة من ناحية إنتاج حمض الأندول الخلي وهي: 10.2-19.4-33.31-33.4-34.3.1-4.3-41.4-5.2. وذلك وفق سلم مدرج حيث تدل + ان العزلة منتجة IAA بشكل بسيط، ++العزلة منتجة IAA

بشكل جيد، +++ العزلة منتجة ل IAA بشكل جيد جداً ++++ العزلة منتجة ل IAA بشكل ممتاز (Leite et al., 2018) ذذ وعليه نلاحظ تفوق العزلة 19.4 من العينات المدروسة وتساوت مع العزلة 4.3 من عينات المقارنة كما بالشكل (11).



الشكل (10) العزلات البكتيرية المنتجة لحمض الاندول الخلي

حيث تشير الأرقام الى 1+= و 2+= و 3+= و 4+=++++ :

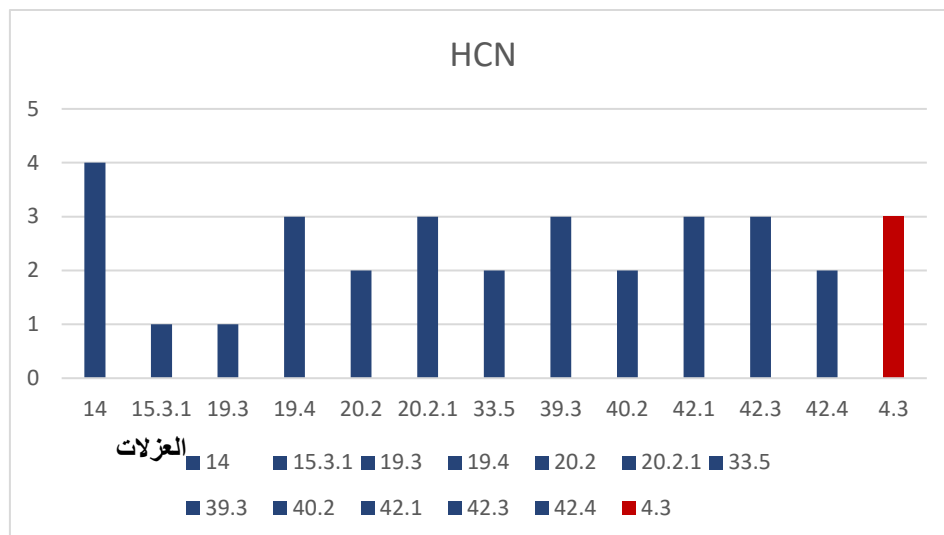


الشكل (11) انتاج بعض العزلات لحمض الإندول الخلي وتغير اللون للزهري

### 3-4-6 انتاج غاز سيانيد الهيدروجين HCN:

تباينت العزلات البكتيرية المختبرة في مقدرتها على انتاج غاز سيانيد الهيدروجين في حين اثبتت بعض العزلات تفوقها بشكل واضح في الإنتاج وذلك وفق سلم مكون من + منتجة بشكل بسيط , ++ منتجة بشكل جيد , +++ منتجة بشكل جيد جدا , ++++ منتجة بشكل ممتاز . وكان تغير اللون من الأصفر الى اللون الأحمر

القرميدي دليل على إنتاج HCN ويحدث بسبب رد فعل كيميائي بين سيانيد الهيدروجين وحمض البكريك (picric acid)، وهو حمض عضوي نيتروجيني قوي يتفاعل مع HCN لتكوين مركب أحمر يسمى isopurpurate كما في الشكل (12).



الشكل (12) انتاج بعض العزلات لغاز HCN مقارنة بعزلات المقارنة

حيث تشير الأرقام الى +=1 و ++=2 و +++=3 و ++++=4

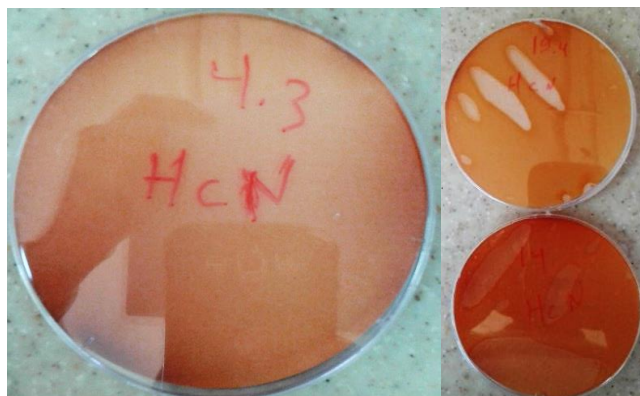
نلاحظ من خلال المخطط تفوق العزلة 14 على باقي العزلات من حيث شدة انتاج غاز السيانيد كما في الشكل

(13). في حين تساوت العزلات 19.4-20.2.1-39.3-42.1-42.3 مع عزلة المقارنة 4.3 في حين لم

تتمكن العزلتان 5.2-41.4 من انتاج غاز HCN.

ولدى مقارنة هذه العزلات بتأثير غاز السيانيد في نمو الفطريات نلاحظ ان العزلات 14-19.4-20.2.1-

42.3 تقارب تأثيرها باستثناء العزلة 4.3 التي تميزت في مكافحة الفطريات.



الشكل (13) العزلات 14-19.4-4.3 المنتجة لغاز HCN

### 3-4-7 انتاج الأمونيا :

بينت النتائج في الجدول (10) وجود 39 عزلة منتجة للأمونيا بدرجات متفاوتة ولكن تميزت 18 عزلة فقط وهي

10.2-11.1 -14.4 -18.3 -19.4 -20.2 -28.2 -33.5 -34.1 -34.3.1 -35.1-40.2-

42.1 -42.3.1-42.3-42.4-46.2.2-5.2.

حيث تساوت هذه العزلات مع العزلة 5.2 بشدة الإنتاج +++ وتفوقت على العزلتين المقارنتين 4.3-41.4 من

حيث انتاج الامونيا كما في الشكل (14).



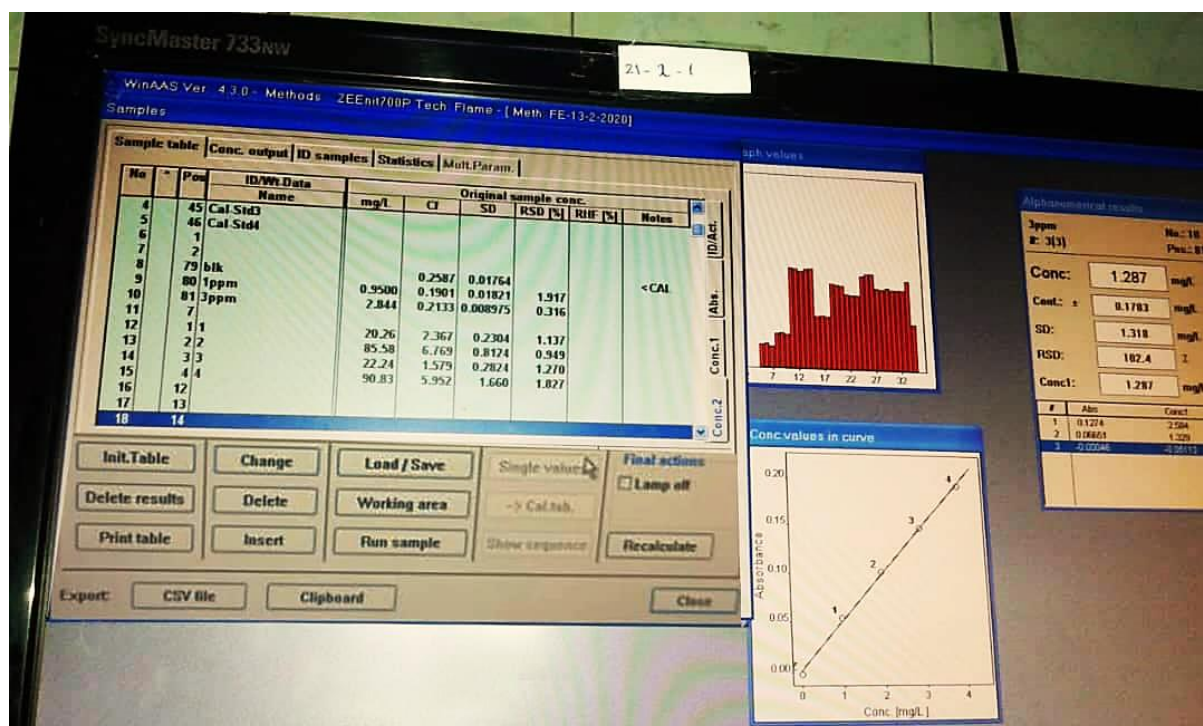
الشكل (14) اختبار لوني إيجابي واختبار سلبي لإنتاج الامونيا إضافة الى مشعر نسلر

### 3-4-8 انتاج السيدروفور وتثبيت الحديد:

اختُبرت ثلاث عينات من نباتات القمح المعاملة بالبكتيريا 4.3-28.2-35.1 إضافة الى نبات شاهد غير

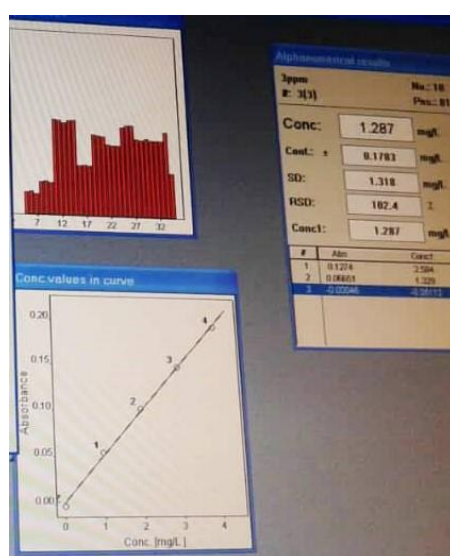
معامل بالبكتيريا. وقدرت كميات الحديد بالمغ/ل باستخدام جهاز الامتصاص الذري لتقدير تراكيز الحديد في

اجراء النبات المختلفة وذلك باستخدام طريقة اللهب وكانت النتائج كما في الشكل (15)



الشكل (15) تحليل ثلاث عينات قمح معاملة بالبكتيريا إضافة لعينة الشاهد

بين الشكل نتائج تحليل الحديد في أوراق القمح حيث سجلت عينة الشاهد تركيز 20.26 مغ/ل بينما كان تركيز الحديد في العينة 28.2 هو 85.58 مغ/ل اما العينة 4.3 فقد اعطت 22.24 مغ/ل اما العينة 35.1 فكان تركيز الحديد فيها 90.83 مغ/ل كما تم حقن ستاندر بخمس تراكيز وهي 0-1-2-3-4 مغ/ل لضبط الخطية والتأكد من كفاءة الجهاز وكانت النتائج كما في الشكل (16)



الشكل (16) يوضح حقن المحلول المعياري للحديد بخمس تراكيز مختلفة

نلاحظ من خلال النتائج السابقة تفوق العزلتين 28.2-35.1 في زيادة نسبة تركيز الحديد مقارنة بالشاهد بينما تقاربت نتائج العزلة 4.3 مع الشاهد وهو دليل على عدم تأثيرها على زيادة تركيز الحديد وهذه النتائج تتوافق مع ما قام به SUN وآخرون (2021) في دراسة أثر إضافة البكتيريا في زيادة تركيز الحديد في الأوراق حيث تم قياس تركيز الحديد في الأوراق باستخدام جهاز امتصاص الذري وأظهرت النتائج أن تركيز الحديد في الأوراق ازداد بشكل معنوي مع زيادة مستوى التلقيح بالسلالة *Bacillus altitudinis WR10* مقارنة بالمعاملات غير الملقحة.

(Sun et al., 2021)

### 3-5 تعريف البكتيريا

#### 3-5-1 الاختبارات البيوكيميائية :

تم تحديد الاختبارات البيوكيميائية لعدد من العزلات المختارة وكانت النتائج كما في الجدول (14).

الجدول (14) الاختبارات البيوكيميائية للعزلات المختارة

| الرقم المتسلسل | العزلة | صبغة غرام | أوكسيداز | الأوكسجين الحر | تكوين الابواغ | TSI | كاتالاز |
|----------------|--------|-----------|----------|----------------|---------------|-----|---------|
| 1              | 4.3    | -         | -        | +              | -             | +   | -       |
| 2              | 5.2    | -         | -        | ±              | -             | +   | +       |
| 3              | 10.2   | -         | -        | ±              | -             | +   | +       |
| 4              | 16.2   | -         | -        | -              | -             | +   | +       |
| 5              | 28.2   | -         | +        | ±              | -             | +   | +       |
| 6              | 35.1   | -         | -        | ±              | -             | +   | -       |
| 7              | 41.4   | -         | -        | +              | -             | +   | +       |

بناءً على النتائج السابقة تم انتخاب العزلتين 10.2 و 16.2 للتعريف الجزيئي.

### 3-5-1 نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلة 10.2 - 16.2:

#### - العزلة: 10.2

بينت نتائج الاختبارات البيوكيميائية ان العزلة 10.2 هي بكتيريا سالبة غرام عصوية هوائية /لاهوائية اختيارية موجبة لاختبار كاتالاز ولا تشكل ابواغ كما انها تخمر السكاكر الثلاثية (TSI) ميل احمر وقاع اصفر دليل تخمير الغلوكوز، وعدم تخمير اللاكتوز أو السكروز ولا تنتج غاز الكبريت

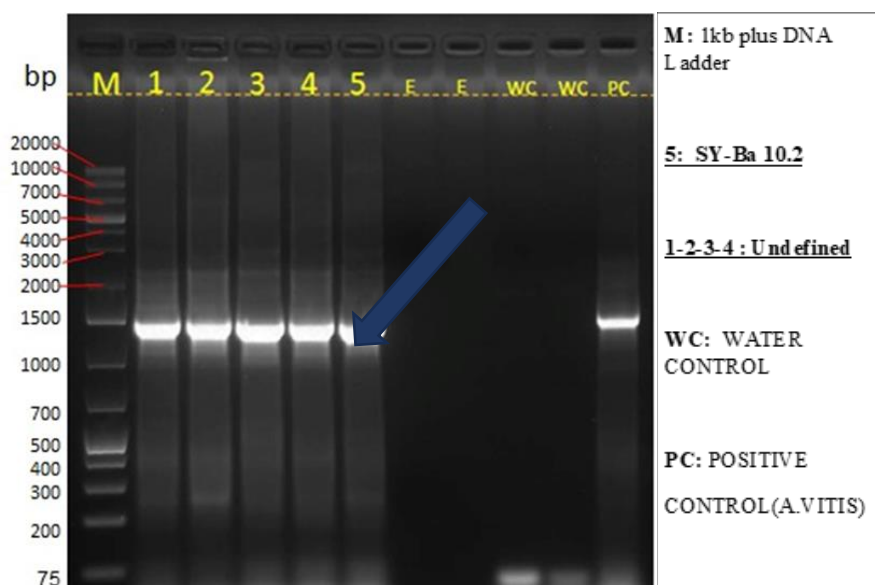
#### - العزلة: 16.2

تميزت نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلة 16.2 بأنها بكتيريا عصوية سالبة غرام لاهوائية اختيارية غير متبوعة سالبة لاختبار الاوكسيداز وموجبة لاختبار الكاتالاز كما انها تخمر السكاكر الثلاثية (TSI) ميل احمر وقاع اصفر دليل تخمير الغلوكوز، وعدم تخمير اللاكتوز أو السكروز ولا تنتج غاز الكبريت.

### 3-5-2 التعريف الجزيئي:

#### 3-5-2-1 التعريف الجزيئي للعزلة: 10.2 SY-Ba

رُحلت نواتج تفاعل الـ PCR بالرحلان الكهربائي على هلامة آغاروز 1% وباستخدام محلول منظم TBE 1X نقيت نواتج تفاعل PCR باستخدام (QIAquick, Hilden, Germany) تبعا لإرشادات الشركة المصنعة. بينت نتائج الرحلان الكهربائي للدنا ضمن هلامة آغاروز (Agarose) كما في الشكل (17). والتي تم التحري عنها وفق سلم الدنا 1kb plus DNA Ladder، أن الدنا البكتيري المدروس سليم .



الشكل (17) صورة للرحلان الكهربائي لـ DNA للعزلة (SY\_Ba 10.2)

### تحديد التسلسل النكليوتيدي :

وُحِدَ التسلسل النكليوتيدي باستخدام تقنية سانجر Sanger من خلال التسلسل الكهربائي لتحديد ترتيب النيوكليوتيدات في الحمض النووي للقطعة المضخمة باستخدام بادئات **16S rDNA** وبلغ التسلسل 1287 نكليوتيد للقطعة المضخمة.

TGGGGGTTAAGCTACCTACTTCTTTTGCAACCCACTCCCATGGTGTGACG  
GGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGTAGCATTCTGATCTA  
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCC  
GGACTACGACGTACTTTATGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGTTGCTTCT  
CTTTGTATACGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCAT  
GATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTATCACCGGCAGTCTC  
CTTTGAGTTCCCGCCATTACGCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGCGCT  
CGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTCAACAACGAGCTGACGACAGCCAT  
GCAGCACCTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACTAAGCTATCTCTAGCGAAT  
TCTCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATAAA  
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCATTTGAGTTTAA  
ACCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGTCTGACTTAACGCGTTAGCTCCGGA  
AGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACAGCGTGG

ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTTCGCACCTGAGC  
 GTCAGTCTTTGTCCAGGAGGCCGCTTCGCCACCGGTATTCTCCAGATC  
 TCTACGCATTTACACGCTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACT  
 CTAGCTTGCCAGTTTACATGCAGTTCCACGTAAAGCGCGGGGATATCA  
 CATCTGACTTAACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGCACAGTAATTCCTA  
 TTAACGCTTGACCCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCC  
 GGTGCTTCTTCTGCGAGTAACGTCAATGAACAGAGATATGAGCACTGAAC  
 CCTTCCTCCTCGCTGAGAGTGCAATAGGAGCCGAAAGCCCTCCTGCCCCC  
 CCCCACCCTGTTTGTGGGGCTGCGCCGATTGGGGCAGAATACCCAATG  
 CCCCCTCCGGTAGAAAAAAGAAGAGAGGGTGGGGTGCGAATTAGTTTGGT  
 GTGGTGGTCAAAAAAAGAAGAGGAAACACCGGTGGGTGGGGCGGTAGAGA  
 AAACAAAAAACCCCCCCCCCGGGGGCCCCCGCGGGGGTTAAAGGGGGGG  
 GGGGGGGGGGGGGGGCTCCCCCTTTTCCCTTAATAT

ولدى مقارنة تسلسل النيكلوتيدات بالبنك الوراثي لموقع (NCBI) BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (nih.gov). تبين ان العزلة البكتيرية تنتمي الى عائلة *Enterobacteriaceae* جنس *Serratia* وتتشابه مع النوع *Serratia liquefaciens* بنسبة تشابه بلغت 98.92% ونسبة تغطية بلغت 78% كما في الشكل رقم (18) الذي يبين اكثر العزلات تشابها مع العزلة المختارة وفق لتسلسل النيكلوتيدات الخاصة بها.

dna

Query Length

1287

Other reports

[Distance tree of results](#)
[MSA viewer](#)
?

Descriptions

Graphic Summary

Alignments

Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download

Select columns

Show 100

?

☒ select all
 100 sequences selected
 

[GenBank](#)
[Graphics](#)
[Distance tree of results](#)
[MSA Viewer](#)

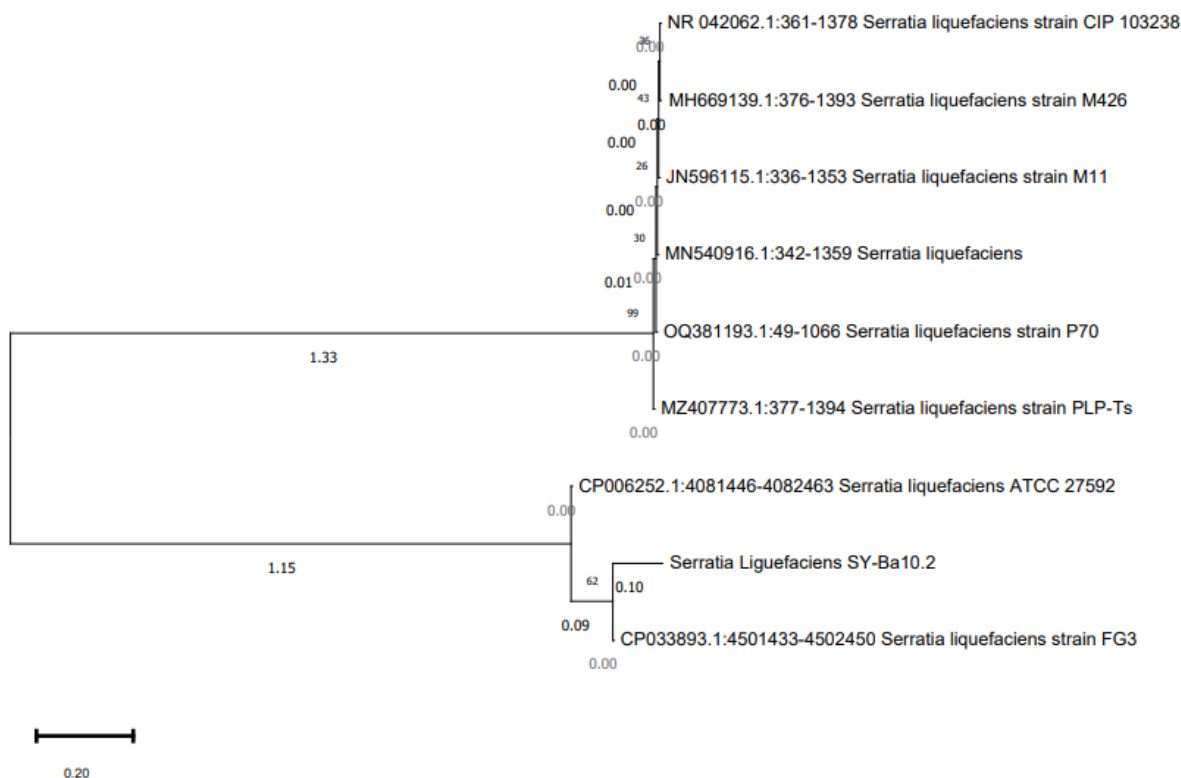
|                                     | Description                                                               | Scientific Name              | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Acc. Len | Accession                  |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------|----------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | <a href="#">Serratia liquefaciens</a> 16S ribosomal RNA gene, partial ... | <a href="#">Serratia ...</a> | 1820      | 1820        | 79%         | 0.0     | 98.92%     | 1412     | <a href="#">MN540916.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> | <a href="#">Serratia liquefaciens strain LZ-24</a> 16S ribosomal RNA...   | <a href="#">Serratia ...</a> | 1820      | 1820        | 79%         | 0.0     | 98.92%     | 1401     | <a href="#">KU950364.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/> | <a href="#">Serratia liquefaciens strain TZ-8</a> 16S ribosomal RNA g...  | <a href="#">Serratia ...</a> | 1820      | 1820        | 79%         | 0.0     | 98.92%     | 1404     | <a href="#">KU886192.1</a> |

الشكل رقم (18) مقارنة التسلسل النيكلوتيدي للعزلة 10.2 بالبنك الوراثي

بناءً على نتائج البنك الوراثي وباستخدام طريقة (Neighbor-Joining method) الإحصائية التي قدمها Saitou عام 1987، تم رسم شجرة القرابة للعزلة SY-Ba 10.2 مع السلالات الأكثر تشابهاً لها للوصول إلى التقارب الوراثي بين العزلة (10.2) وثمان سلالات بكتيرية تتبع إلى النوع البكتيري *Serratia liquefaciens*.

أُجريت هذه التحليلات الوراثية باستخدام برنامج MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021) و تم حساب مسافات التقارب الوراثي على شجرة القرابة باستخدام الطريقة الإحصائية الاحتمالية المركبة القصوى (Maximum Composite Likelihood).

بينت شجرة القرابة كما في الشكل (19). وجود فرعين أساسيين حيث ضم العقنود الأول ستة سلالات بكتيرية تابعة لنوع *Serratia liquefaciens* (CIP,M426,M11,p70,PLP-TS) اما العقنود الثاني يضم تحت عقنودين الأول منهما يحوي السلالة ATCC اما الثاني فيحوي على العزلة SY-Ba 10.2 والسلالة FG3



الشكل رقم (19) شجرة القرابة الوراثية للعزلة SY-Ba 10.2

كما بينت مصفوفة التشابه الناتجة للعزلة المدروسة وأكثر العزلات تشابهاً معها حسب موقع SIAS

(<http://imed.med.ucm.es/Tools/sias.html>) (Sequence Identity And Similarity)

بأن أقرب سلالتين هما ATCC بنسبة تشابه بلغت 98,91% و FG3 بنسبة تشابه 98,72% مع العزلة المدروسة SY-Ba10,2

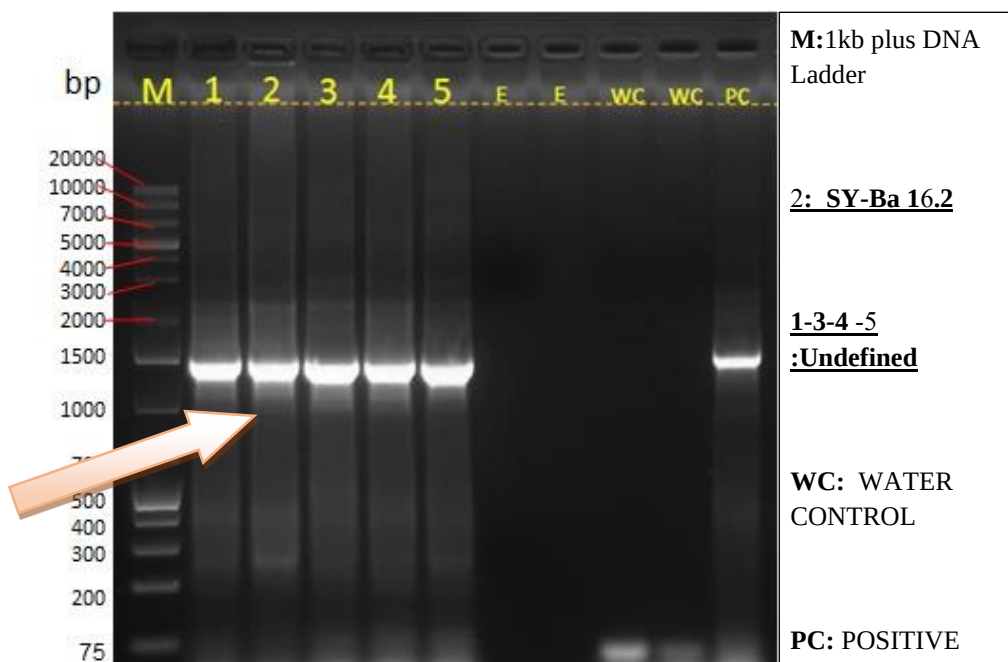
وهذا ما يتوافق مع ما قدمه Kshetri وآخرون (2019) حيث أكدوا على ان *S.Liquefaciens* ومعظم جنس *Serratia spp* هي بكتيريا PGPR مستعمرة لجذور النباتات ومحفزة لنموه, من خلال تسهيل امتصاص المغذيات مثل الفوسفور عن طريق إذابة الفوسفات وإنتاج السيدروفور وإنتاج هرمونات نباتية محفزة مثل حمض الإندول الخلي (IAA) الى جانب تحريض المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) حيث يتم الحصول على تعزيز القدرة الدفاعية للنبات ضد مسببات الأمراض والآفات النباتية المتنوعة بعد التحفيز المناسب. ( Kshetri *et al.*, 2019)

وفي دراسة اجراها Zahir وآخرون أدى تلقيح بذور القمح ببكتيريا *Serratia* الى زيادة طول النبات وإنتاجيته ومحتوى الكلوروفيل من خلال تيسير وإتاحة المغذيات من فوسفات وحديد وأمونيا إضافة الى زيادة في طول الجذور من خلال دورها في إنتاج الأندول (Zahir *et al.*, 2009)

### 3-2-5-2 التعريف الجزيئي للعزلة SY-Ba 16.2

رُحلت نواتج تفاعل الـ PCR بالرحلان الكهربائي على هلامة أغاروز 1% وباستخدام محلول منظم TBE 1X نقيت نواتج تفاعل PCR باستخدام (QIAquick, Hilden, Germany) تبعا لإرشادات الشركة المصنعة.

بينت نتائج الرحلان الكهربائي للدنا ضمن هلامة آغاروز (Agarose) كما في الشكل (20). والتي تم التحري عنها وفق سلم الدنا 1kb plus DNA Ladder، أن الدنا البكتيري المدروس سليم



الشكل (20) صورة للرحلان الكهربائي لدنا العزلة (SY\_Ba16.2)

### تحديد التسلسل النكليوتيدي :

حُدِّد التسلسل النكليوتيدي باستخدام تقنية سانجر Sanger من خلال التسلسل الكهربائي لتحديد ترتيب النيوكليوتيدات في الحمض النووي للقطعة المضخمة باستخدام بادئات 16S rDNA وبلغ التسلسل 1378 نكليوتيد للقطعة المضخمة.

```
GGGTGGAGGGGAGGGAAGGGGGGTTAGTGGTAGCGGGAGGTAAAGCTACC
TACTTCTTTTGAACCCACTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGG
CCCGGGAACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACTAGCGATTCT
CGACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGTACTT
TATGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATACGCCATT
GTAGCACGTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCAT
CCCCACCTTCTCCAGTTTATCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCC
TAACCGCTGGCAACAAAGGAAAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACC
CAACATTTCAACAACACGAAGTACGACCGCCATGCAGCACCTGGCTCAAA
ATTCCCGAAGGGACCAAAGCATCTCTGCTAAATTCTCTGGATGTCAAGAA
TAAGTAAGGGTCTTCCCGTTGCATCCAAATAAACCACATGCTCCACCGCT
TGGGCGGGCCCCCTCAATTCATTTGAATTTTAACCTTGCGGCCGTACTC
```

CCCAAGCGGTCCACTTAACGCGTAACTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGC  
 ACAACCTCCAAGTCCACATCCTTTACCGCGTGGAATACCAAGGTATCTAA  
 TCCTGGTTGCTCCCCACGCTTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGG  
 GGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTCAACGC  
 TACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACCAGACTCTAGCCTGCCAGTTTCC  
 GATGCAGTTCCCAAGTTGAGCCCCGGGGATTTACATCCGACTTGACAGA  
 CCGCCCGCCTGCGCTTTACGCCAGTAATTCCAATTAACGCTTGACCCCT  
 CCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAATTAACCGGTGCTTCTTCTGCGA  
 GTAACGTCAATTGACAGGGGTATTAAACCCTGAAACCCTTCCTCCCCCG  
 CTGAAAGTACTTTACAAACCCGAAAGGCCTTCTTCCAAAACCCCCGCCAA  
 GGCTTCTTCAGGCTTTGCCCCCTTTGGGCAAAATTTCCCCACGGTTGCC  
 CCCCCCAAAAAAATTGGAAACGGTTTTTAATTTCTGTTTGGTTTGGTTC  
 TCCCCCTAAAAAAAACCTAGGGGAATCCCCCCCCAAGGGTAACCCCTAAC  
 CCCCCCACAAAAAACCAATACCCCTTTGGGGCCCCCCCCAGAGGGAAAA  
 AAGGCCGCAGAGAGCCCCCCCCCTTTTTTTTTCCCCCCCCATTTTTTTGG  
 GGGATAAAAAAAAAAACGATTTTTTTCAT

ولدى مقارنة تسلسل النيكليوتيدات بالبنك الوراثي لموقع (NCBI) BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (nih.gov) ، تبين ان العزلة البكتيرية 16,2 تنتمي الى عائلة *Enterobacteria* جنس

*Enterobacter* وتتشابه مع النوع *Enterobacter hormaechei* بنسبة تشابه بلغت 94.38%

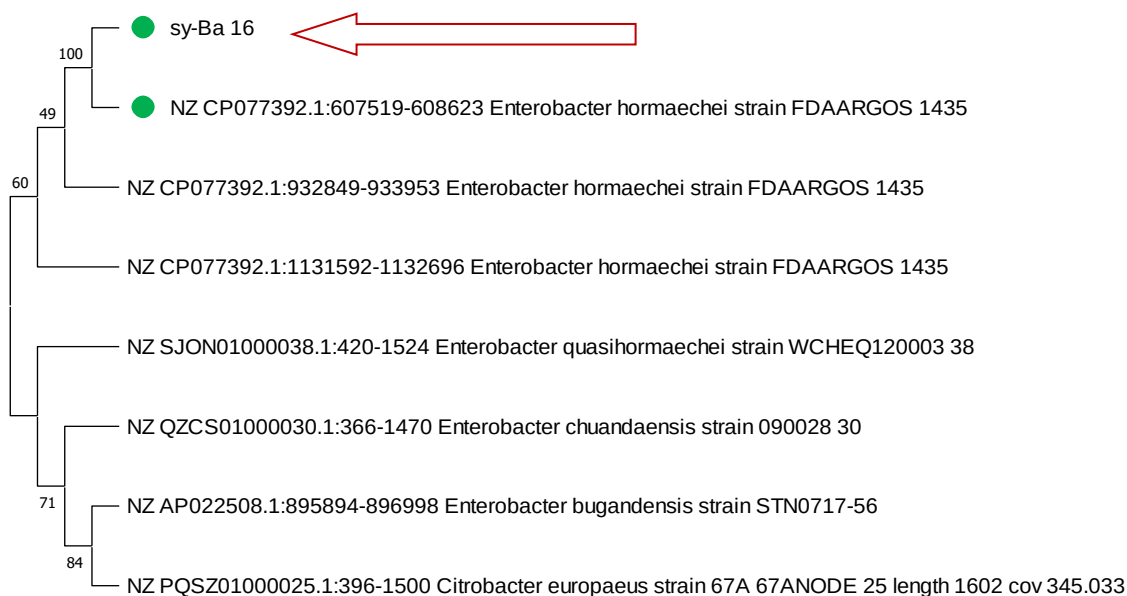
بناءً على نتائج البنك الوراثي تم رسم شجرة القرابة للعزلة SY-Ba 16.2 مع السلالات الأكثر تشابهاً لها ، حيث تم استخدام طريقة Neighbor-Joining method التي قدمها Saitou عام 1987 للوصول الى التقارب الوراثي بين العزلة (16.2) وثمان سلالات بكتيرية تنتمي الى الجنس البكتيري *Enterobacter* وتم حساب مسافات التقارب الوراثي باستخدام الطريقة الإحصائية "الاحتمالية المركبة القصوى" (Maximum Composite Likelihood) بين السلالات البكتيرية الداخلة بالتحليل. وتم إزالة جميع المواضع الغامضة لكل زوج تسلسلي. أجريت هذه التحليلات الوراثية باستخدام برنامج MEGA11 (Tamura et al., 2021).

بينت شجرة القرابة الشكل رقم (21) وجود فرعين أساسيين حيث ضم العنقود الأول أربع سلالات بكتيرية تابعة

للنوع البكتيري *Enterobacter hormaechei*.

أما العنقود الثاني فيضم أربع سلالات تتبع الأنواع التالية: *E. bugandensis*, *E. quasihormaechei*,

*E. chuandaensis*, *Citrobacter europaeus*



الشكل رقم (21) شجرة القرابة الوراثية للعزلة SY\_ Ba 16.2

Sequence ) SIAS  
0.10

كما بينت مصفوفة التشابه الناتجة للعزلة المدروسة وأكثر العزلات تشابهاً معها حسب موقع SIAS (Sequence )

(Identity And Similarity) (<http://imed.med.ucm.es/Tools/sias.html>) بأن أقرب سلالة

هي NZ CP 077392.1:607519-608623 *Enterobacter hormaechei* strain FDAARGOS 1435

بنسبة تشابه 94,38% مع العزلة المدروسة SY-Ba16,2 كما في الشكل (22)

| MSA NAME                      |                             |                             |                               |                             |                            |                            |        |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------|
| IDENTITY RESULTS              |                             |                             |                               |                             |                            |                            |        |
| sy-Ba                         | 100%                        |                             |                               |                             |                            |                            |        |
| NZ_CP077392.1:607519-608623   | 94.38%                      | 100%                        |                               |                             |                            |                            |        |
| NZ_CP077392.1:932849-933953   | 49.86%                      | 43.98%                      | 100%                          |                             |                            |                            |        |
| NZ_CP077392.1:1131592-1132696 | 49.86%                      | 43.98%                      | 100%                          | 100%                        |                            |                            |        |
| NZ_AP022508.1:895894-896998   | 49.59%                      | 43.71%                      | 95.74%                        | 95.74%                      | 100%                       |                            |        |
| NZ_QZCS01000030.1:366-1470    | 49.77%                      | 43.89%                      | 97.55%                        | 97.55%                      | 95.2%                      | 100%                       |        |
| NZ_SJON01000038.1:420-1524    | 49.86%                      | 43.98%                      | 99.63%                        | 99.63%                      | 95.92%                     | 97.64%                     | 100%   |
| NZ_PQSZ01000025.1:396-1500    | 49.68%                      | 43.89%                      | 95.38%                        | 95.38%                      | 96.38%                     | 97.1%                      | 95.47% |
| sy-Ba                         | NZ_CP077392.1:607519-608623 | NZ_CP077392.1:932849-933953 | NZ_CP077392.1:1131592-1132696 | NZ_AP022508.1:895894-896998 | NZ_QZCS01000030.1:366-1470 | NZ_SJON01000038.1:420-1524 |        |

الشكل (22) مصفوفة التشابه الناتجة للعزلة SY-Ba 16.2 وأكثر العزلات تشابهاً معها حسب موقع SIAS

وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Jha (2011) الذي اكد أن الأجناس الموجودة في عائلة Enterobacteriaceae تتميز بأنها من البكتيريا المعززة لنمو النبات PGPR هي و *Enterobacter* , *Citrobacter* , و *Serratia* , *Pantoea* , *Kluyvera* , (Jha et al., 2011) . وهذا ما يتفق أيضا مع Ranawat بدراسته عام 2021 على بكتيريا *Enterobacter hormaechei* والتي أكد انها تستطيع بشكل طبيعي تثبيث N وإذابة المغذيات الكبيرة المرغوبة من فوسفور و بوتاسيوم وتحويل K-feldspar إلى بوتاسيوم وإذابة ثلاثي فوسفات الكالسيوم الى فوسفات متاح وإنتاج حمض الاندول الخلي IAA كما أكد أن البذور التي تمت معالجتها بكتيريا *Enterobacter hormaechei* أبدت زيادة واضحة بالكتلة الحيوية وزيادة في طول الساق عند مقارنتها بمجموعة التحكم (الشاهد) وأدت الى تعزيز ليس فقط نمو النبات بل عدلت بنية الجذر مما أدى إلى تحسين إنتاجية المحاصيل، وقام Ranawat بفحص اربع سلالات مختارة لإنتاج السيدروفورات وذوبان الفوسفات وإنتاج حمض الإندول الخليك (IAA) لدراسة إمكانية تعزيز نمو النبات والتي تبين انها معززة لنمو النبات (Ranawat et al., 2021).

هذا وتم تصنيف العزلتين 5.2-41.4 جزئياً من قبل عثمان (2023) حيث بين أن العزلة 5.2 هي

*Citrobacter braakii* أما العزلة 41.4 فهي: *Pantoea agglomerans*.

### 3-6 مقاومة أعفان جذور القمح في الأصص:

#### 3-6-1 إنبات بذور القمح للمعاملات البكتيرية المختلفة مع الفطرين *F. graminearum* و *C. sativus*:

استخدمت العزلات 41.4-35.1-28.2-18.1-16.2-10.2 MIX (خليط من العزلات السابقة) واستخدم الفطرين المسببين لمرض تعفن الجذور *F. graminearum* و *C. sativus* إضافة إلى معاملات الشاهد وبواقع 3 مكررات لكل معاملة حيث تم زرع خمس بذور في كل أصيص وكانت نسبة الانبات في معاملة الشاهد 53.3% وهي نسبة قليلة ربما يعزى انخفاض النسبة إلى سوء تخزين هذه الدفعة لدى الوحدة الإرشادية حيث تم الحصول على البذار من الوحدة الإرشادية أثناء التوزيع على الفلاحين لغرض الزراعة في محافظة درعا - الجيزة وتوزعت المعاملات بشكل عشوائي وتم قراءة نسبة الانبات بعد 15 يوم من الزراعة وكانت النتائج كما في الجدول (15).

جدول (15) عدد البذور المنتشة في كل معاملة بكتيرية مع الفطرين *F. graminearum* و *C. sativus* مقارنة مع شواهد التحكم.

| معاملة الإنبات                         |                      |              |                                                         |                                                     |
|----------------------------------------|----------------------|--------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| المعاملة                               | شاهد تحكم لكل معاملة |              | بذور قمح معاملة بالبكتيريا والفطر <i>F. graminearum</i> | بذور قمح معاملة بالبكتيريا والفطر <i>C. sativus</i> |
| المكرر العزلة                          | عدد البذور المنتبة   | نسبة الانبات | عدد البذور المنتبة                                      | عدد البذور المنتبة                                  |
| 41.4                                   | 9                    | 60%          | 7                                                       | 9                                                   |
| 35.1                                   | 11                   | 73.3%        | 0                                                       | 2                                                   |
| 28.2                                   | 12                   | 80%          | 9                                                       | 11                                                  |
| 18.1.1                                 | 11                   | 73.3%        | 11                                                      | 9                                                   |
| 16,2                                   | 12                   | 80%          | 7                                                       | 8                                                   |
| 10.2                                   | 9                    | 60%          | 10                                                      | 8                                                   |
| Mix                                    | 9                    | 60%          | 10                                                      | 11                                                  |
| شاهد نبات سلبى                         | 8                    | 53.3%        |                                                         |                                                     |
| شاهد معدى بالفطر <i>F. graminearum</i> | 3                    | 20%          |                                                         |                                                     |
| شاهد معدى بالفطر <i>C. sativus</i>     | 5                    | 33%          |                                                         |                                                     |
| sig                                    | 0.518                |              | 0.074                                                   | 0.016                                               |

من خلال الجدول نلاحظ ان أعلى نسبة انبات كانت في شاهد المعاملة 16.2-28.2 حيث بلغت 80% وأن جميع شواهد العزلات البكتيرية الباقية أعطت نسبة انبات اعلى من الشاهد وتراوحت بين 60%-73% في حين انخفضت نسبة الانبات في شاهد *F.graminearum* الى 20% وفي شاهد *C. sativus* الى 33% مما يدل على تأثير الفطور الممرضة على نسبة الانبات. وهذا يتوافق مع نتائج Al-Sadi في عام 2021 الذي اكد أن عدوى البذور بواسطة *C. sativus* يؤدي إلى مرض الطرف الأسود، مما يقلل من جودة البذور وإنباتها ويعتبر مصدراً رئيسياً لاصابة القمح بأمراض تعفن الجذور الشائع (Al-Sadi, 2021). وهذا ما يتوافق أيضاً مع دراسة أجريت عام 2005 في باكستان على عدد من أصناف القمح وأدت الإصابة بفطر فوزاريم الى تخفيض الانبات 7.5% وبفطر *C. sativus* 13.5% اما الفطر *Alternaria tenuis* فقد قلل من نسبة الانبات بمعدل 22.5-47.5% في جميع الأصناف المدروسة. (Rajput et al., 2005) ومن خلال جدول (15) وتحليل عدد البذور المنتشة في كل معاملة من المعاملات المدوسة احصائياً تبين ما يلي: في مجموعة الشواهد، قيمة Sig. هي 0.518. هذا يعني أنه لا يوجد فرق ذو دلالة إحصائية بين متوسطات هذه المجموعة في المتغير المدروس. في مجموعة *F.Graminearum*، قيمة Sig هي 0.074. هذا يعني أنه يوجد فرق بسيط بين متوسطات هذه المجموعة في المتغير المدروس (العزلات البكتيرية)، لكنه لا يصل إلى مستوى الدلالة الإحصائية (0.05) في مجموعة *C. sativus*، قيمة Sig هي 0.016. هذا يعني أنه يوجد فرق ذو دلالة إحصائية بين متوسطات هذه المجموعة في المتغير المدروس (العزلات البكتيرية). حيث أن للعزلات البكتيرية تأثير إيجابي على نسبة الإنبات في كل من المعاملات الشاهد، *F.graminearum* و *C. Sativus*. ولكن لم يكن هناك فروق ذات دلالة إحصائية الا في معاملة *C. sativus* تشير دراسة قام بها Saleemi وآخرون (2017) ان نسبة انبات بذور القمح للشاهد كانت 80.8%، بينما زادت نسبة الإنبات بشكل معنوي في المعاملات البكتيرية، حيث بلغت أعلى نسبة (98%) في المعاملة بـ WPR-51. وكان أفضل تأثير لمزيج من ثلاثة عزلات من البكتيريا المحفزة لنمو النباتات والمذبية للفوسفات، حيث أدت إلى إنبات 100% من البذور.

## 3-6-2 قياس طول نباتات القمح في الاصح بعد شهر من التجربة للمعاملات البكتيرية والفطرية :

قيست اطوال النباتات في جميع المعاملات حيث اخذت نتائج 3 مكررات لكل معاملة في اليوم 28 من الزراعة

لتقدير تأثير العزلات البكتيرية والمعاملات الفطرية على طول النبات وكانت النتائج كما في الجدول (16)

جدول (16) تاثير المعاملات البكتيرية المختلفة والفطور *F. graminearum* و *C. sativus* في متوسط طول نبات القمح

في كل معاملة مقدرة بسم

| معاملة طول النبات /سم                 |                             |                                                        |                                                     |
|---------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| المعاملة                              | شاهد تحكم لكل معاملة        | بذور قمح معاملة بالبكتيريا والفطر <i>F.graminearum</i> | بذور قمح معاملة بالبكتيريا والفطر <i>C. sativus</i> |
| المكرر / العزلة                       | متوسط طول النبات بـ3 مكررات | متوسط طول النبات بـ3 مكررات                            | متوسط طول النبات بـ3 مكررات                         |
| 41.4                                  | 23.3                        | 22                                                     | 22                                                  |
| 35.1                                  | 16                          | 0                                                      | -                                                   |
| 28.2                                  | 24                          | 22                                                     | 23.6                                                |
| 18.1.1                                | 24                          | 21.6                                                   | 21                                                  |
| 16,2                                  | 22.6                        | 22                                                     | 22.6                                                |
| 10.2                                  | 25.6                        | 23.6                                                   | 22.6                                                |
| Mix                                   | 22.6                        | 22.6                                                   | 22.3                                                |
| شاهد نبات سلبي                        | 19.3                        |                                                        |                                                     |
| شاهد معدى بالفطر <i>F.graminearum</i> | 16.3                        |                                                        |                                                     |
| شاهد معدى بالفطر <i>C. sativus</i>    | 18                          |                                                        |                                                     |
| Sig                                   | 0.000                       | 0.000                                                  | 0.000                                               |

من خلال الجدول أعلاه نلاحظ ان جميع العزلات البكتيرية في معاملة الشاهد تفوقت على شاهد النبات غير المعامل بالبكتيريا ماعدا العزلة 35.1. حيث كانت أفضل العزلات من حيث متوسط طول النبات هي العزلة 10.2 بمتوسط 25.6 سم تليها العزلتين 28.2 - 18.1.1 بمتوسط طول نبات 24 سم.

أما بالنسبة للمعاملة مع الفطر *F.graminearum* افضل العزلات هي العزلة 10.2 بمتوسط طول نبات 23.6 يليها MIX بمتوسط طول نبات 22.6 سم

بالنسبة للمعاملة مع الفطر *C. sativus* أفضل العزلات هي العزلة 28.2 بمتوسط طول 23.6 يليها العزلتين 16.2-10.2 بمتوسط طول 22.6 سم

وتبين بالتحليل الاحصائي للبيانات وجود فروق معنوية ذات دلالة عند مستوى ثقة 95% وهذا يعني ان جميع المعاملات تختلف عن بعضها وعن الشاهد اختلافا معنوياً.

ويمكن ان نستنتج ان المعاملات البكتيرية أدت الى زيادة طول النبات زيادة معنوية مقارنة مع شاهد النبات السليم وشواهد الفطور الممرضة .

### 3-6-3 تقييم شدة الإصابة بالفطرين *F.graminearum* و *C.sativus* بوجود المعاملات البكتيرية المختلفة:

#### تقييم المرض:

تم فحص النباتات في اليوم 28 من بذر البذور .تم اختيار جميع النباتات الموجودة في الاصص واقتلاعها يدوياً وتقييم مرض تعفن الجذور وفق مقياس (0-5) حيث 0 = سليم (0%) ، 1 = بني خفيف جداً (10-20%) ، 2 = بني خفيف إلى معتدل (20-40%) ، 3 = معتدل (40-60%) ، 4 = شديد (> 60%) ، 5 = نخر أو ميت

تم تحديد شدة المرض باستخدام الصيغة كما وصفها (Wildermuth & McNamara, 1994) كما في الجدول (17)

مؤشر شدة المرض (DSI) بالنسبة المئوية = [مجموع (تكرار الدرجة × درجة التقدير)] / [(العدد الإجمالي

للنباتات) × (أعلى مؤشر للمرض)] × 100

جدول (17) قياس شدة الإصابة بكل معاملة بكتيرية مع الفطر الممرض مقارنة مع الشاهد

| شدة المرض (DSI)% | <i>C. sativus</i> |     |     | شدة المرض (DSI)% | <i>F.graminearum</i> |     |     | المعاملة             |
|------------------|-------------------|-----|-----|------------------|----------------------|-----|-----|----------------------|
| 51.7             |                   | 2*4 | 1*5 | 40               | 3*2                  | 2*4 | 0*1 | 41.4                 |
| -                | 2*2               | -   | -   | -                | -                    | -   | -   | 35.1                 |
| 21.18            | 2*3               | 1*6 | 0*4 | 22.2             | 2*3                  | 1*4 | 0*2 | 28.2                 |
| 11.11            |                   | 1*5 | 0*4 | 7.2              |                      | 1*4 | 0*7 | 18.1.1               |
| 20               | 2*2               | 1*4 | 0*2 | 14.2             | 2*1                  | 1*3 | 0*3 | 16,2                 |
| 22.5             | 2*2               | 1*5 | 0*1 | 26.6             | 2*4                  | 1*4 | 0*2 | 10.2                 |
| 10.9             | 2*1               | 1*4 | 0*6 | 10               |                      | 1*5 | 0*5 | Mix                  |
|                  |                   |     |     | 100              |                      | 5*3 |     | <i>F.graminearum</i> |
|                  |                   |     |     | 88               |                      | 5*2 | 4*3 | <i>C. sativus</i>    |

من خلال الجدول نلاحظ ان جميع العزلات أعطت مؤشرات إيجابية بالنسبة لتخفيض شدة الإصابة باستثناء العزلة

35.1.

بالنسبة للفطر *F.graminearum* كانت افضل العزلات من ناحية تخفيض شدة الإصابة هي العزلة 18.1.1

بشدة إصابة لم تتجاوز 7.2 % بينما تميزت العزلات: MIX - 16.2 بشدة إصابة 10 - 14.2 % على التوالي

بينما كانت عزلة المقارنة 41.4 اقل العزلات تأثيرا ومع ذلك فقد تثبتت المرض بشدة إصابة 60% مقارنة مع

الشاهد الذي كانت شدة الإصابة به 100% حيث ماتت معظم الشتلات .

اما بالنسبة للفطر *C. sativus* فقد كانت جميع العزلات لها تأثير إيجابي بتقليل شدة الإصابة وتراوحت شدة

المرض %DSI بين: 11-52 وكانت أفضل العزلات هي 18.1.1 و MIX بأقل شدة إصابة والمقدرة بـ 11 مقارنة

مع الشاهد الذي بلغت شدة الإصابة فيه 88 % . وكانت اقل العزلات تأثيرا هي عزلة المقارنة 41.4.

نلاحظ من خلال الجدول ان المعاملتين 18.1.1 و MIX اعطتا أفضل تأثير على الفطرين الممرضين كما نلاحظ ان هناك توافقاً بتأثير العزلات على كل من الفطرين حيث أعطت كل العزلات نتائج متقاربة على الفطرين المدروسين. ولتفسير نتائج التجارب السابقة (تجارب التضاد في المخبر وفي الاصص) وتأثيرها على بعضها البعض فقد قمنا برط عدد من النتائج لعدة تجارب معاً لاستنتاجات أكثر دقة ولتساعدنا في فهم أكثر شمولاً لهذه البكتيريا ودورها في تثبيط الامراض بطرق مختلفة .

#### أ- تجارب التضاد المخبرية :

تم استخدام 6 عزلات / 10.2-16.2-18.1.1-28.2-20.2-35.1/ في تجارب التضاد المخبرية إضافة الى 3 عزلات من عزلات المقارنة وهي / 4.3-5.2-41.4/ حيث لاحظنا بداية تفوق العزلات 16.2-35.1-30.2-18.1.1-28.2 على عزلات المقارنة بالنسبة لدراسة مسافة التضاد مخبرياً على الفطرين الممرضين *F.graminearum* و *C. sativus* .

ب - في تجارب الاصص: تم اختبار العزلات 10.2-16.2-18.1.1-28.2-35.1 إضافة الى معاملة MIX وهي خليط العزلات السابقة مع بعض، إضافة الى عزلة مقارنة واحدة وهي 41.4.

لاحظنا أيضاً من النتائج تفوق العزلات 10.2-16.2-18.1.1-28.2-35.1 في حين تساوت العزلة 10.2 وال MIX مع عزلة المقارنة 41.1 من حيث انبات الشواهد اما في ما يخص انبات البذور المعاملة بالفطر *F.graminearum* والملقحة بالعزلات البكتيرية فقد تفوقت العزلات 10.2-16.2-18.1.1-28.2-35.1 من حيث نسب الانبات في حين تساوت العزلة 16.2 مع عزلة المقارنة 41.4 واما مع الفطر *C. sativus* فتفوقت العزلات 10.2-16.2-18.1.1-28.2-35.1 أي ان جميع العزلات تفوقت على عزلة المقارنة . بالنسبة لطول النبات في الاصص بمعاملة الشاهد تميزت العزلات 10.2-18.1.1-28.2 وتفوقت على عزلة المقارنة 41.4 بينما تفوقت عزلة المقارنة على المعاملتين 16.2-35.1 MIX

بالنسبة لطول النبات في المعاملات الملقحة بالفطر *F.graminearum* والعزلات البكتيرية نلاحظ تفوق

المعاملات 10.2-MIX-16.2 في حين تساوت عزلة 16.2 مع عزلة المقارنة 41.4 وتفوقت على العزلة 18.1.1 في تأثيرها بطول النبات.

بالنسبة لطول النبات مع فطر *C. sativus* تفوقت العزلات 10.2-MIX-16.2-28.2 على عزلة المقارنة 41.4 في حين تفوقت الأخيرة على العزلة 18.1.1

ولتوضيح هذه النتائج بشكل أفضل تم جمع نتائج التجارب السابقة في جدول (18)

جدول (18) كفاءة العزلات البكتيرية في تجارب التضاد المخبرية وفي الاصلص على الفطرين *F.graminearum* و *C. sativus* حيث يدل رقم 1 على العزلة الأعلى كفاءة ورقم 6 على اقل العزلات كفاءة. ( $C = C. sativus$ ,  $F = F.graminearum$ )

| شدة الإصابة |   | تضاد بالمخبر |   | العزلة |
|-------------|---|--------------|---|--------|
| C           | F | C            | F |        |
| 5           | 5 | 5            | 6 | 10.2   |
| 3           | 3 | 3            | 3 | 16.2   |
| 2           | 1 | 3            | 1 | 18.1.1 |
| 4           | 4 | 1            | 4 | 28.2   |
| -           | - | 2            | 2 | 35.1   |
| 1           | 2 | -            | - | MIX    |
| 6           | 6 | 4            | 5 | 41.4   |

نلاحظ من خلال الجدول ان العزلات البكتيرية المدروسة أعطت ثباتية جيدة من حيث مكافحة الفطور الممرضة

المستهدفة فمثلا العزلة 18.1.1 كانت تحتل المرتبة الأولى بمكافحة فطر *F..graminearum* والمرتبة الثالثة

في مكافحة فطر *C. sativus* في المخبر وفي تجربة الاصلص حافظت على المركز الأول في مكافحة فطر

*F..graminearum* والمركز الثاني في مكافحة الفطر *C.sativum* وأيضا العزلة 16.2 احتلت المركز الثالث

في مكافحة الفطرين المستهدفين في المخبر وفي الحقل وتراوحت باقي العزلات بالمحافظة على نفس الكفاءة

المخبرية في مكافحة او تحسنت بمرتبة واحدة او تأخرت بمرتبة في مقاومة الفطر ضمن تجربة الاصلص

وهذا ما يتوافق مع دراسة اجراها Yin اخرون (2022) هدفت إلى تقييم تأثير بكتيريا من المحيد الجذري لنبات القمح معززة لنمو النبات على مرض عفن جذور القمح الناجم عن *R. solani* AG8 في المختبر وفي الحقل

كانت النتائج ان أفضل العزلات مخبريا كانت وعلى التوالي C10-C8-C7-C4-C3-C1

وحقليا كانت العزلات C10-C9-C8-C7-C4-C3-C1 من حيث نسبة تثبيط وقمع الفطر المسبب للمرض.

نلاحظ أيضا وجود ثبات في كفاءة التثبيط مخبريا وفي تجربة البيت الزجاجي مع اختلاف نسبة تثبيط الفطر في

كل من المخبر والبيت الزجاجي (Yin et al., 2022).

### 7-3 التجربة الحقلية :

#### 1-7-3 التجربة الحقلية لموسم 2021:

##### 1-1-7-3 قياس طول النبات لموسم 2021:

زرعت الأرض على شكل خطوط وتم اخذ قياس طول نباتات القمح قبل الحصاد بأسبوع لعشر نباتات حيث اخذ نبات من

كل متر تقريبا وكانت النتائج كما في الجدول (19)

جدول (19) قياس طول نباتات القمح لكل معاملة بكتيرية مقارنة مع شاهد غير معاملة مقدرة ب(سم) قبيل الحصاد:

| المعاملة<br>القراءة | شاهد<br>نبات | العزلة<br>4.3 | العزلة<br>5.2 | العزلة<br>10.2 | العزلة<br>16.2 | العزلة<br>18.1.1 | العزلة<br>25.1 | العزلة<br>28.2 | العزلة<br>30.2 | العزلة<br>32.1.1 | العزلة<br>35.1 | العزلة<br>41.4 |
|---------------------|--------------|---------------|---------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|
| 1                   | 63           | 81            | 65            | 82             | 70             | 79               | 72             | 64             | 69             | 80               | 80.1           | 73             |
| 2                   | 61           | 80.2          | 61            | 81.2           | 61.3           | 84               | 71.1           | 64.2           | 68             | 81.2             | 81.4           | 73.1           |
| 3                   | 60           | 81.4          | 64            | 82.4           | 60.2           | 79               | 72.3           | 61.4           | 67             | 82.4             | 82.5           | 71.1           |
| 4                   | 61.3         | 82.2          | 63            | 83.4           | 61.3           | 84.1             | 83.7           | 60.1           | 60             | 84.4             | 83.3           | 72.2           |
| 5                   | 62.1         | 80.1          | 66            | 81.4           | 71             | 85.1             | 77.7           | 62.1           | 62             | 84.6             | 83.4           | 73             |
| 6                   | 59.1         | 79.2          | 65            | 82.2           | 72             | 86.6             | 76.7           | 61.4           | 59.1           | 81.4             | 81.3           | 74.3           |
| 7                   | 58.2         | 70.2          | 63.1          | 83.3           | 73.5           | 80.1             | 71.1           | 66.4           | 59.4           | 80.4             | 80.2           | 72.1           |
| 8                   | 57.3         | 81.4          | 63.8          | 86.3           | 60.2           | 81.2             | 72.2           | 61.5           | 58.2           | 88.4             | 82.3           | 74.3           |

|                 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |              |
|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------|
| 73.2            | 84.4               | 86.5               | 55.1               | 62.6               | 71.1               | 86.3               | 59.3               | 84.1               | 62.3               | 81.4               | 56.4               | 9            |
| 73.7            | 81.5               | 81.4               | 62.1               | 61.2               | 82.7               | 84.4               | 69.8               | 85.8               | 64.4               | 80.4               | 49.2               | 10           |
| 73 <sup>e</sup> | 82.04 <sup>d</sup> | 83.07 <sup>d</sup> | 61.99 <sup>c</sup> | 62.49 <sup>c</sup> | 75.06 <sup>e</sup> | 82.98 <sup>d</sup> | 65.86 <sup>c</sup> | 83.21 <sup>d</sup> | 63.76 <sup>c</sup> | 79.75 <sup>b</sup> | 58.76 <sup>a</sup> | المتوسط      |
| %24.2           | %39.6              | %41.3              | %5.5               | %6.3               | %27.7              | %41.2              | %12                | %41.6              | %8.5               | %35.7              | -                  | نسبة الزيادة |
| 2.871           |                    |                    | LSD                |                    | 81.583             |                    | F                  |                    | 0.000              |                    | Sig                |              |

المعاملات التي تملك أحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى الدلالة الإحصائية 0.005 ومستوى

ثقة 95%

نلاحظ من خلال الجدول ان متوسط طول النبات في الشاهد كان 58.76 سم وان جميع العزلات أعطت تقوفاً إيجابياً في طول النبات حيث تميزت كل من العزلة 10.2 بنسبة زيادة 41.6% مقارنة بالشاهد. أفضل المعاملات ارتباطاً هي 10.2 و 18.1.1 و 32.1.1، لأنها تظهر أعلى متوسطات لطول النبات (83.21 و 82.98 و 83.07 على التوالي) مقارنة بالمعاملة شاهد النبات (58.76)، ولأن الفروق بينها وبين الشاهد النبات ذو دلالة إحصائية عند مستوى 0.05 وأقل المعاملات ارتباطاً هي 4.3 و 28.2 و 30.2، لأنها تظهر أقل متوسطات لطول النبات (79.75 و 62.49 و 61.99 على التوالي) مقارنة بالمعاملة النبات الشاهد (58.76)، ولأن الفروق بينها وبين النبات الشاهد ذو دلالة إحصائية عند مستوى 0.05.

### 3-7-1-2 اختبار الإنتاجية لموسم 2021

حيث تم حصاد كل خط على حدة وتم وزن الناتج من القمح مقدراً بالغرام /خط وكانت النتائج كما في الجدول (20).

جدول (20) إنتاجية القمح بكل معاملة بكتيرية إضافة الى الشاهد غير المعامل.

| المعاملة       | شاهد | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة | العزلة |
|----------------|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| نبات           | 4.3  | 5.2    | 10.2   | 16.2   | 18.1.1 | 25.1   | 28.2   | 30.2   | 32.1.1 | 35.1   | 41.4   | العزلة |
| الإنتاجية غ/خط | 406  | 528    | 616    | 852    | 516    | 628    | 484    | 424    | 484    | 540    | 492    | 780    |

من خلال الجدول نلاحظ ان أفضل غلة كانت للعزلة 10.2 تليها العزلة 41.4 مقارنة بالشاهد

## 3-7-2 التجربة الحقلية لعام 2022:

## 3-7-2-1 قياس طول النبات:

أجريت التجربة على 3 قطع لكل معاملة وكل قطعة زرعت بثلاثة خطوط وقيس طول النبات قبل الحصاد وكانت النتائج كما في الجدول (21).

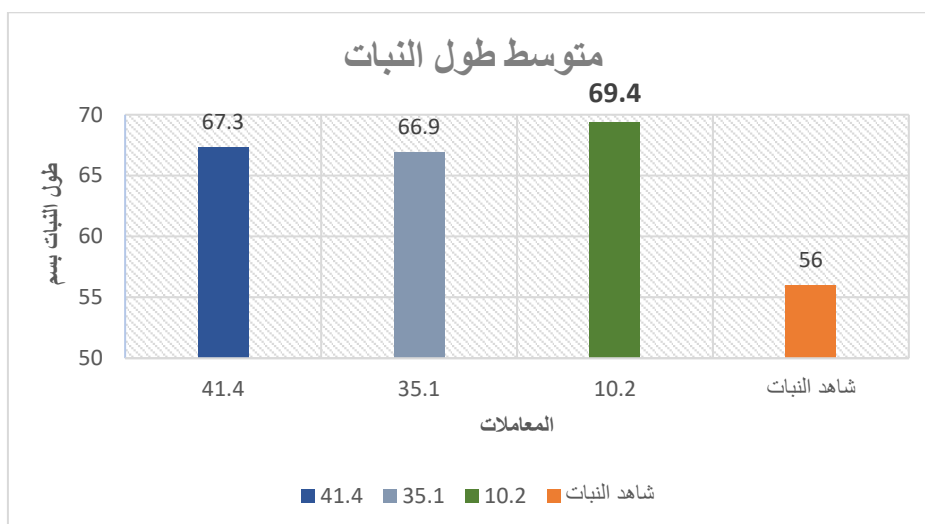
جدول (21) متوسط طول نباتات القمح في كل معاملة بكتيرية مقارنة مع الشاهد غير المعامل في موسم 2022.

| العزلة<br>التكرار |      |      | شاهد النبات |      |      | 10.2 |      |      | 35.1 |      |      | 41.4 |      |      |
|-------------------|------|------|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| خط 1              | خط 2 | خط 3 | خط 1        | خط 2 | خط 3 | خط 1 | خط 2 | خط 3 | خط 1 | خط 2 | خط 3 | خط 1 | خط 2 | خط 3 |
| 50                | 57   | 60   | 78          | 66   | 62   | 70   | 66   | 69   | 66   | 66   | 69   | 68   | 68   | 69   |
| المتوسط           |      |      | 55.6        |      |      | 68.6 |      |      | 68.3 |      |      | 67.6 |      |      |
| 66                | 52   | 54   | 72          | 60   | 64   | 66   | 71   | 70   | 66   | 71   | 70   | 68   | 70   | 60   |
| المتوسط           |      |      | 57.3        |      |      | 65.3 |      |      | 69   |      |      | 66   |      |      |
| 61                | 59   | 50   | 78          | 77   | 68   | 64   | 60   | 67   | 60   | 60   | 67   | 68   | 68   | 67   |
| المتوسط           |      |      | 56.6        |      |      | 74.3 |      |      | 63.6 |      |      | 68.3 |      |      |
| المتوسط النهائي   |      |      | 56          |      |      | 69.4 |      |      | 66.9 |      |      | 67.3 |      |      |
| Sig               |      |      | 0.002       |      |      |      |      |      | LSD  |      |      | 2.58 |      |      |

نلاحظ ان جميع المعاملات أعطت زيادة في طول النبات وكانت أفضل العزلات هي العزلة 10.2 من حيث متوسط

طول النبات وتم اجراء التحليل الاحصائي وبين أن قيمة Sig.=0.002 وهذا يدل على وجود ارتباط معنوي ذو دلالة

إحصائية.



الشكل (23) متوسط طول النبات (سم) عند الحصاد للمعاملات البكتيرية مقارنة مع شاهد النبات غير المعامل

نلاحظ من خلال الشكل (23) ان العزلة 10.2 أعطت اعلى متوسط لطول النبات وان نسبة الزيادة بالطول تراوحت

بين 19.4% - 23.9% ومن خلال التحليل الاحصائي LSD (Least Significant Difference)

نلاحظ وجود اختلافات معنوية ذات دلالة إحصائية بين المعاملات البكتيرية مع شاهد النبات لصالح العزلات

البكتيرية

### 3-2-7-2 الإنتاجية لموسم 2022:

تم حصاد سنابل كل قطعة تجريبية على حدة وتم جمع الحبوب ووزنها لكل قطعة وفق الجدول (22):

جدول (22) إنتاجية القمح لكل معاملة بكتيرية مقارنة بالشاهد في موسم 2022 مقدرة بالغرام /القطعة.

| العزلة<br>المكرر | شاهد النبات | 10.2  | 35.1  | 41.4  |
|------------------|-------------|-------|-------|-------|
| القطعة الأولى    | 269.8       | 557   | 383   | 514   |
| القطعة الثانية   | 289         | 624.5 | 392   | 615   |
| القطعة الثالثة   | 260.5       | 572   | 395   | 483   |
| المتوسط النهائي  | 273.1       | 584.5 | 390   | 537.3 |
| Sig              | 0.000       | LSD   | 17.23 |       |

نلاحظ وجود ارتباط معنوي ذو دلالة إحصائية بين المتغير المستقل والمتغير التابع.

ومن بحساب LSD نلاحظ ان متوسط الإنتاج لجميع العزلات يرتبط بشكل معنوي مقارنة مع إنتاجية الشاهد كما ان العزلة 10.2, 41.4 ترتبطان بشكل إيجابي ومعنوي وذو دلالة إحصائية مع العزلة 35.1 إضافة للشاهد.

#### - تقييم انتماء البكتيريا المعزولة الى مجموعة البكتيريا المعززة للنمو PGPR

في تجارب اختبار انتماء البكتيريا المعزولة الى مجموعة البكتيريا المعززة للنمو PGPR نلاحظ انه من اصل 66 عزلة بكتيرية من المحيط الجذري لنباتات القمح تبين وجود 8 عزلات فقط لا تتميز باي من صفات البكتيريا المعززة للنمو وهي : 8.4-13.3.1-14.1-14.6.1-16.1-16.3-16.4-46.1 مما يدل على غنى منطقة المحيط الجذري للقمح بالبكتيريا المعززة للنمو والتي تفاوتت فيما بينها بقدراتها وصفاتها فبعضها محلل للفوسفات وبعضها محلل للبوتاس وبعضها تتميز بتثبيت الازوت الجوي وعدد اخر تميز بإنتاج حمض الإندول الخلي أو الأمونيا وعدد منها جمع بين عددٍ من الصفات معاً بشكل مميز.

وتكمن أهمية هذه البكتيريا المدروسة في توفير المغذيات للنبات والهرمونات النباتية بشكل طبيعي وآمن للتربة والنبات كون هذه البكتيرية موجودة في الفلورا الطبيعية للمحيط الجذري للنبات كما ان الاستخدام المفرط للأسمدة ومبيدات الآفات يساهم كما هو معروف في تغير المناخ من خلال انبعاثات غازات الدفيئة (GHG) بالإضافة الى ترسب مواد سامة في التربة. ولذلك هناك حاجة ملحة للانتقال إلى ممارسات إنتاج المحاصيل بطرائق صديقة للبيئة وأكثر استدامة. والتي تعتبر البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات (PGPR) أحد أفضل استراتيجياتها، وخاصة، كاستراتيجية لتحسين نمو النبات وإنتاجه في مواجهة تغير المناخ وتحسين تحمل الإجهادات، وإمداد المغذيات (تثبيت النيتروجين، ذوبان الفوسفور....الخ)، وإنتاج الهرمونات النباتية جنباً إلى جنب مع العوامل التي يمكن أن تؤثر على كفاءتها على نطاق واسع. وهذا ما يتفق مع أبحاث سابقة تؤكد على أهمية استخدام استراتيجيات مستدامة وصديقة للبيئة مثل التقنيات القائمة على استخدام البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات PGPR في النظم الزراعية، لا سيما في سياق ظروف تغير المناخ الحالية ، والتي من المحتمل أنها ستزداد سوءا في المستقبل القريب (Grover et al., 2021; Shah et al., 2021).

### 3-8 تأثير بكتيريا PGPR على إنتاجية نبات القمح في الحقل.

بمقارنة نسبة الزيادة في الغلة بين الموسمين كما في الجدول (23).

جدول (23) النسبة المئوية في زيادة الغلة % بالنسبة للمعاملات البكتيرية بالمقارنة مع الشاهد:

| العزلة البكتيرية | نسبة الزيادة المئوية في الغلة<br>بالموسم الأول | نسبة الزيادة المئوية في الغلة<br>بالموسم الثاني |
|------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 10.2             | %109.8                                         | %114.08                                         |
| 35.1             | %21.18                                         | %42.8                                           |
| 41.4             | %92.12                                         | %96.7                                           |

نلاحظ ثباتية العزلة 10.2 والعزلة 41.4 خلال الموسمين المتتاليين واختلاف النسبة المئوية للغة للعزلة 35.1

الذي قد يعود إلى الاختلاف في خصائص التربة في حين هذا التغيير لم يؤثر بنتائج العزلتين 41.4-10.2

ولكن أثر بشكل واضح بالعزلة 35.1.

ونلاحظ تفوق العزلات 41.4-35.1-10.2 على شاهد النبات غير المعامل ولتحليل سبب التفوق تم مقارنة

سمات وخصائص البكتيريا من حيث تعزيز نمو النبات كما في الجدول (24).

الجدول (24) مقارنة بين العزلات المشتركة في الموسمين الأول والثاني وصفات كل عزلة .

| طول النبات موسم 2-1 | P    | k   | N | IAA | CaCO <sub>3</sub> | H | NH <sub>3</sub> |
|---------------------|------|-----|---|-----|-------------------|---|-----------------|
| 10.2                | ++++ | -   | + | +++ | ++                | - | +++             |
| 35.1                | +    | ++  | + | -   | ++                | - | +++             |
| 41.4                | ++++ | +++ | - | +++ | +                 | - | ++              |

نلاحظ ان السمات المشتركة بين هذه العزلات هو تحليل الفوسفات وكربونات الكالسيوم وإنتاج الأمونيا

وقد أظهرت نتائج العزلات وتأثيراتها على الإنتاجية وطول النبات أن هناك اختلافاً معنوياً بين المجموعات، وأن

العزلات التي تمتلك قدرة عالية على تحليل الفوسفات أو إذابة البوتاس أو كربونات الكالسيوم أو إنتاج الأمونيا هي

نفسها التي تمتلك تأثيراً إيجابياً مستمراً على طول النبات.

وهذا يعني أن هذه الخصائص تلعب دوراً هاماً في تحسين نمو وصحة نباتات القمح، خاصة في ظروف التربة المحدودة بالعناصر الغذائية. فالفسفور والبوتاس هما من المغذيات الأساسية للنبات، والأمونيا هي مصدر للنيتروجين، وهو أيضاً عامل مهم في تكوين البروتينات والأحماض النووية.

وأخيراً لربط الصفات المعززة للنمو والصفات المضادة للبكتيريا من خلال تجاربنا السابقة ولتفسيرها بشكل مجتمع قمنا بتحديد الخصائص المعززة للنمو لأهم العزلات المضادة والمثبطة للأمراض المستهدفة لتفسير تكامل وتعزيز الدور المضاد مع الدور المحفز للنمو لهذه البكتيريا .

خصائص PGPR للعزلات البكتيرية المضادة كما في الجدول (25):

جدول (25) سمات البكتيريا من حيث الصفات المدروسة وانتمائها الى PGPR:

| العزلة | P     | K    | N   | IAA | CaCO <sub>3</sub> | HCN | الأمونيا |
|--------|-------|------|-----|-----|-------------------|-----|----------|
| 10.2   | ++++  | -    | +   | +++ | ++                | -   | +++      |
| 16.2   | ++++  | +++  | +++ | ++  | +                 | -   | -        |
| 18.1.1 | -     | -    | -   | -   | -                 | -   | ++       |
| 28.2   | +++++ | ++++ | -   | -   | -                 | -   | +++      |
| 35.1   | +     | ++   | +   | -   | ++                | -   | +++      |
| 41.4   | +++   | -    | +++ | +   | -                 | ++  | +++      |

نلاحظ من خلال الجدول (25) ان معظم العزلات تميزت بصفتين او أكثر من الصفات المعززة للنمو وخاصة انتاج الامونيا وتحليل الفوسفات وتثبيت الازوت الجوي ماعدا العزلة 18.1.1 والتي قد يكون سبب تفوقها حقلها هو المواد المضادة التي تفرزها والتي من شأنها تثبيط الفطور الممرضة والتي قد تنافس النبات على المغذيات إضافة الى اضعافه بسبب الإصابة.

أيضاً لوحظ وجود فرق بين العزلة 41.4 وباقي العزلات في شدة الإصابة بالأصص ومن المحتمل أن تميز العزلة 41.4 بتثبيت الازوت وإنتاج الامونيا ساعد على زيادة شدة الإصابة مقارنة بباقي العزلات كما أن العزلة 10.2 كانت اقل تثبيطاً للإصابة من باقي العزلات ومن المحتمل ان يكون تثبيتها للازوت وانتاجها للأمونيا بشكل كبير

هو السبب وهذه ما يتفق مع دراسات سابقة لتأثير التسميد النيتروجيني على تطور مرض الفيوزاريوم في القمح والتي خلصت الى ملاحظة زيادة معنوية في شدة المرض مع زيادة إدخال النيتروجين (Lemmens *et al.*, 2004; Singh, 2015).

ويمكن ان يكون لانتاج الحديد وتثبيته لدى العزلة 28.2-35.1 دور فعال في حماية النبات من الإصابة بالأمراض إضافة الى زيادة في طول النبات وإنتاجيته وهذا وما يتوافق مع دراسات سابقة أكدت أن نباتات الأرز المزروعة تحت إمدادات عالية من الحديد أعطت تحفيزاً أقوى لجينات الدفاع في الأرز ومقاومة معززة لعدوى الفطر *Magnaporthe oryzae* (Peris *et al.*, 2017) كما أظهرت الدراسات السابقة والتي تناولت تقييم تأثير نقص وزيادة الحديد على صفات نمو وإنتاجية نباتات القمح المزروعة في أواني بلاستيكية. باستخدام ثلاثة أصناف من القمح، وأربعة مستويات من الحديد (0، 5، 10، و 20 ملغ/لتر)، وثلاثة مكررات. قيست صفات مثل طول النبات وعدد السنابل وعدد حبوب السنابل ووزن 1000 حبة والإنتاجية. أظهرت النتائج أن نقص الحديد أثر سلباً على جميع صفات النمو والإنتاجية (Lucena & Hernandez-Apaolaza, 2017; Vose, 1982) وهذا ما يتفق مع دراسة على تأثير إضافة رذاذ الحديد للنبات على طول وغلة القمح بظروف الجفاف والتي أكدت زيادة طول النبات والغلة ووزن الالف حبة في المعاملات التي تم إضافة الحديد لها (Monjezi *et al.*, 2012).

وعموماً ان السمات المعززة لنمو النبات في البكتيريا PGPR بشكل عام من تحليل للفوسفات والبوتاس و كربونات الكالسيوم و انتاج الهرمونات وانتشيت الازوت وإنتاج غاز السيانييد يحرض المقاومة الجهازية المستحثة ISR والتي تزيد من مقاومة النبات للممرضات (Meena *et al.*, 2020) وحتى في حال لم تكن هذه البكتيريا تتمتع بإنتاج أي من المواد المضادة للأمراض فإنها تساعد النبات وتحميه على مقاومة المرض وتخفيض شدته وهذا ما أكدته دراسة تأثير بكتيريا *Serratia marcescens* CDP-13 في تعزيز المقاومة الجهازية المستحثة وتحسن التحمل للملوحة في القمح (Singh & Jha, 2016).

## الخاتمة:

في هذه الأطروحة، دُرِس تأثير بعض عزلات بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) في تثبيط بعض مسببات عفن الجذور الشائع على القمح، وتحسين نمو وإنتاجية النباتات المصابة. واستخدمت منهجية تجريبية متسلسلة، حيث تم عزل وتوصيف بكتيريا PGPR من محيط جذور نبات القمح من مناطق مختلفة في سوريا، واختُبرت قدرتها في تثبيط نمو ونشاط مسببات عفن الجذور الشائع في الظروف المخبرية والأصص. كما دُرِس تأثير هذه البكتيريا بإنتاج المخصبات الحيوية محتملة قادرة على تثبيت الآزوت وتحليل الفوسفات والبيوتاس و كربونات الكالسيوم وإنتاج الهرمونات النباتية والأمونيا وغاز HCN وأثر هذه العزلات في تحفيز نمو النبات وزيادة الإنتاجية بما يتوافق مع معايير البكتيريا الجذرية المحفزة لنمو النبات PGPR.

في ضوء هذه النتائج، أمكن الحصول على بعض عزلات بكتيريا جذرية محلية محفزة لنمو النبات (PGPR) فعالة في تثبيط عفن الجذور الشائع على القمح، وتعزيز نمو وصحة وإنتاجية النباتات المصابة وغير المصابة . والتي من الممكن بعد استكمال دراستها ان تساهم في تقليل استخدام الأسمدة الكيميائية ، وتحسين جودة التربة والبيئة من خلال توفير عناصر غذائية رئيسية في التربة للنبات.

### الاستنتاجات:

- وجد ان منطقة المحيط الجذري الخاصة بالقمح غنية بالبكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR)
- بعض العزلات تمتلك قدرة عالية في تثبيط نمو ونشاط بعض مسببات عفن الجذور الشائع (*C. sativus, F. graminearum*) في الظروف المخبرية وفي الأصص.
- جميع العزلات المضادة لفطر *F. graminearum* مضادة للفطر *C. sativus* أيضاً والعكس صحيح بدرجات متفاوتة .
- إمكانية ان تكون هذه العزلات مقاومة لعدة أمراض مختلفة على القمح او غيره من النباتات حيث تفوقت 3 عزلات من العزلات المدروسة والمضادة لبعض أعفان جذور القمح و المستخدمة في بحث آخر على مرض التفحم المغطى على القمح .
- بعض العزلات البكتيرية كانت مميزة بإحدى صفات تعزيز النمو مثل تثبيت الازوت أو إذابة الفوسفات أو تحليل البوتاس ..... الخ ، وبعض العزلات جمعت أكثر من صفة من صفات تعزيز النمو ومقاومة الفطور المسببة لمرض تعفن الجذور مثل العزلتين 10.2-16.2
- تم تصنيف العزلتين 10.2-16.2 بواسطة الاختبارات البيوكيميائية والجزئية التي بينت شجرة القرابة ومصنفات التشابه انتمائهما إلى عائلة *Enterobacteriaceae* و أن العزلة 10.2 SY-Ba تشبه النوع *Serratia liquefaciens* والعزلة 16.2 SY-Ba تشابه *Enterobacter. hormaechei*

### التوصيات:

- دراسة قدرة هذه العزلات على تثبيط امراض نبات القمح الأخرى والمحاصيل المختلفة.
- الدراسة الكمية لقدرة هذه البكتيريا على تعزيز نمو نبات القمح من خلال قياس كمية المغذيات التي تطرحها.

- استكمال الاختبارات العلمية وفق EPPO لتسجيل العزلات 18.1.1-28.2 كمبيدات حيوية تجارية مضادة لأعفان جذور القمح والعزلات 16.2-10.2-35.1-41.4 كمخصبات حيوية لتعزيز نمو القمح.

### المراجع العربية :

1. أبو عرقوب، محمود موسى. (2002). المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة - مستحثة - حيوية) ودورها في أمراض النبات. المكتبة الأكاديمية مصر. ص (389-420).
2. أبو غرة، محمود وزيد الصواف الدوجي. (1996-1997). أمراض النبات البكتيرية (النظري والعملي)، منشورات جامعة دمشق. ص (432-440).
3. الأحمد، أحمد. ميلودي نشيط، محمد موفق بيرق ومحمد الخليفة. 2005. تباين مسبب مرض تعفن الجذور الشائع على القمح تبعا لدرجة حرارة التربة وأثره في الإنتاج. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية. 54(127-132).
4. الزعبي، محمد. عبد الوهاب موسى. يحيى الخلف، أحمد المسالمة (2006). تأثير السماد العضوي والبكتريا المحللة للفوسفات على إنتاجية القمح وخصوبة التربة. مجلة العلوم الزراعية، 33 (2)، 1-16.
5. العاني، رقيب. مصطفى، عبد الله. ماجد، مهدي. وهادي، عبود (2012). استخدام *japonicum Rhizobium* كعامل مكافحة حيوية لمرض تعفن الجذور في فول الصويا الناجم عن *F. solani* و *Macrophomina phaseolina* مجلة وقاية النبات العربية، 48(2)، 149-155.
6. المواصفة القياسية السورية 3779-1 لعام 2015. أنظمة طيف الامتصاص الذري لقياس الملوثات المعدنية "المتطلبات التقنية والقياسية "
7. المواصفة القياسية السورية 3779-2 لعام 2015. أنظمة طيف الامتصاص الذري لقياس الملوثات المعدنية "إجراءات الاختبار
8. المواصفة القياسية السورية رقم 2477 لعام 2001. وسط آغار الحديد ثلاثي السكر TSI ص (8)

9. النائب، رنا وعمر يحياوي، و أحمد الأحمد ، وميلودي نشيط 2002. مسح حقلي لمرض تعفن الجذور

الشائع على القمح والشعير في محافظتي حلب وإدلب (شمال سورية). مجلة وقاية النبات العربية

20(2) 131-136.

10. حسن، عبد الله، وعبير القيسي (2019). مقاومة مرض تعفن جذور الحنطة المتسبب عن الفطر

*Rhizoctonia solani* باستخدام آليات استحثاث المقاومة الجهازية وتقييم كفاءة الاستحثاث في

مؤشرات النمو الخضري والانتاجية. شبكة المؤتمرات العربية، المؤتمر العاشر - تركيا 2019. 334-

359

11. خليفة، محمد. (2006). مرض تعفن الجذور الشائع على القمح في سوريا والتباين الوراثي ضمن

*Fusarium spp* كأحد مسبباته الرئيسية، رسالة دكتوراه، جامعة حلب. سوريا صفحة 101.

12. صالح، لارا (2023). انتخاب واختبار وتعريف عزلات بكتيرية محلية لمكافحة النقم المغطى *Tilletia*

sp على القمح (رسالة ماجستير). كلية الزراعة، جامعة دمشق. ص (62-63).

13. عثمان، علي. (2023). أثر الري الناقص في نمو نبات القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية المحفزة

للنمو (PGPR) ، رسالة دكتوراه، جامعة دمشق. سوريا صفحة (66-74).

## المراجع الأجنبية

1. Aboukhaddour, R., Fetch, T., McCallum, B. D., Harding, M. W., Beres, B. L., & Graf, R. J. (2020). Wheat diseases on the prairies: A Canadian story. *Plant Pathology*, 69(3), 418-432 .
2. Al-Ahmad, H., Al-Maqtari, Q. A., Al-Hajj, N., & Al-Sheikh, A. (2005). Effect of *Fusarium culmorum* on yield and yield components of wheat in Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 23(2), 97-101.
3. Al-Ani R.A., Adhab M.A., Mahdi M.H., Abood H.M. (2012): *Rhizobium japonicum* as a biocontrol agent of soybean root rot disease caused by *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina*. *Plant Protection Science*, 48: 149–155
4. Ali, H., Masar, M., Guler, A. C., Urbanek, M., Machovsky, M., & Kuritka, I. (2021). Heterojunction-based photocatalytic nitrogen fixation: principles and current progress. *Nanoscale Advances*, 3(22), 6358-6372 .

5. Al-Sadi, A. M. (2021). Bipolaris sorokiniana-induced black point, common root rot, and spot blotch diseases of wheat: A review. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 584899 .
6. Alström, S., & Burns, R. G. (1989). Cyanide production by rhizobacteria as a possible mechanism of plant growth inhibition. *Biology and Fertility of Soils*, 7, 232-238 .
7. Al-Thawadi, S.M.A. (2011) Ureolytic bacteria and calcium carbonate formation as a mechanism of strength enhancement of sand. *Journal of Advanced Science and Engineering Research*, 1(1), 98-114
8. Anbu, P., Kang, C. H., Shin, Y. J., & So, J. S. (2016). Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *Springerplus*, 5(1), 1-26.
9. Anelise Beneduzi, Adriana Ambrosini and Luciane M.P. Passaglia (2012): Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35: 1044–1051
10. Bahadur, I., Maurya, R., Roy, P., & Kumar, A. (2019). Potassium-solubilizing bacteria (KSB): a microbial tool for K-solubility, cycling, and availability to plants. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability: From Theory to Practices*, 257-265 .
11. Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H., & Baldani, V. L. D. (2014). The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and soil*, 384, 413-431 .
12. Berde, C. V., Gawde, S. S., & Berde, V. B. (2021). Potassium solubilization: Mechanism and functional impact on plant growth. *Soil Microbiomes for Sustainable Agriculture: Functional Annotation*, 133-148 .
13. Bhavani, S., Singh, P., Qureshi, N., He, X., Biswal, A. K., Juliana, P., Dababat, A., & Mourad, A. M. (2021). Globally important wheat diseases: status, challenges, breeding and genomic tools to enhance resistance durability. *Genomic designing for biotic stress resistant cereal crops*, 59-128 .
14. Boro, M., Sannyasi, S., Chettri, D., & Verma, A. K. (2022). Microorganisms in biological control strategies to manage microbial plant pathogens: a review. *Archives of Microbiology*, 204(11), 666 .
15. Campanella, V., Mandalà, C., Angileri, V., & Miceli, C. (2020). Management of common root rot and Fusarium foot rot of wheat using Brassica carinata break crop green manure. *Crop Protection*, 130, 105073 .

16. Cappuccino, J. G. and N. Sherman.1992. Biochemical activities of microorganisms. In: Microbiology, A Laboratory Manual. The Benjamin / Cummings Publishing Co. California, USA
17. Chandran, H., Meena, M., & Swapnil, P. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria as a green alternative for sustainable agriculture. *Sustainability*, 13(19), 10986 .
18. Collinge, D. B., Jensen, D. F., Rabiey, M., Sarrocco, S., Shaw, M. W., & Shaw, R. H. (2022). Biological control of plant diseases–What has been achieved and what is the direction? *Plant Pathology*, 71(5), 1024-1047 .
19. Cook, R. J., & Veseth, R. J. (1991). Wheat health management (Plant Health Management Series). American Phytopathological Society Press.
20. Das, B., Sarma, H. K., Konwar, G., Saikia, J., & Rabha, J. (2016). Screening and Identification of traits in plant growth promoting rhizobacteria from rhizospheric soil. *Journal of Soil and Water Conservation and Biochemistry* 2(2), 11-18 .
21. Dastager, S.G., Deepa. C.K , Pandey A, . 2011. Potential plant growth-promoting activity of *Serratia nematodiphila* NII-0928 on black pepper (*Piper nigrum* L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27: 259-265.
22. de Bruijn I., de Kock M.J.D., Yang M., de Waard P., van Beek T.A., Raaijmakers J.M. (2007): Genome-based discovery, structure prediction and functional analysis of cyclic lipopeptide antibiotics in *Pseudomonas* species. *Molecular Microbiology*, 63: 417–428
23. Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović, M., Degraasi, G., & Fira, D. (2022). Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms-A review. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117, 101754 .
24. Döbereiner J, Pedrosa FO. Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants. Science & Technology Books. 1995.
25. Döbereiner, J., Baldani, V.L.D. and Baldani, J.I. (1995) Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Embrapa-SPI, Brasília
26. Edi-Premono, M., M.A. Moawad, and P.L.G. Vleck (1996). Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indonesian J. Crop. Sci.*11:13-23.
27. El-Gremi, S. M., Draz, I. S., & Youssef, W. A. E. (2017). Biological control of pathogens associated with kernel black point disease of wheat. *Crop Protection*, 91, 13-19.

28. Erginbas-Orakci, G., Poole, G., Nicol, J. M., Paulitz, T., Dababat, A. A., & Campbell, K. (2016). Assessment of inoculation methods to identify resistance to *Fusarium* crown rot in wheat. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 123, 19-27 .
29. Esther Menendez & Paula Garcia-Fraile (2017). Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioengineering*, 4(3), 318-336
30. Etesami, H., Jeong, B. R., & Glick, B. R. (2021). Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing bacteria, and silicon to P uptake by plant. *Frontiers in Plant Science*, 12, 699618 .
31. Fahsi, N., Mahdi, I., Mesfioui, A., Biskri, L., & Allaoui, A. (2021). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria isolated from the Jujube (*Ziziphus lotus*) plant enhance wheat growth, Zn uptake, and heavy metal tolerance. *Agriculture*, 11(4), 316.
32. Fernandez, M. R., Zentner, R. P., DePauw, R. M., Gehl, D., & Stevenson, F. C. (2005). Impacts of crop production factors on common root rot of barley in eastern Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(3), 645-654
33. Food and Agriculture Organization. (2021). WHEAT. FAO
34. Gao, Q.-M., Zhu, S., Kachroo, P., & Kachroo, A. (2015). Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers in plant science*, 6, 228 .
35. George, P., Gupta, A., Gopal, M., Thomas, L., Thomas, G.V. 2013. Multifarious beneficial traits and plant growth promoting potential of *Serratia marcescens* KiSII and *Enterobacter* sp. RNF267 isolated from the rhizosphere of coconut palms (*Cocos nucifera* L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 29: 109-117.
36. Gerda, P., Cost, R. N., Kroc, N. P., Neste, E. W.' & Ph'U' G.'. (181). Manual of methods for general bacteriology.
37. Govaerts, B., Mezzalama, M., Sayre, K. D., Crossa, J., Nicol, J. M., & Deckers, J. (2006). Long-term consequences of tillage, residue management, and crop rotation on maize/wheat root rot and nematode populations in subtropical highlands. *Applied soil ecology*, 32(3), 305-315 .
38. Grimont, F., Grimont, P.A.D. 2006. The Genus *Serratia*. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K-H., Stackebrandt, E. (Eds) *The Prokaryotes Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*, pp. 219-244.
39. Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J., & Nain, L. (2021). PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 618230.

40. Gulyaeva, E., Yusov, V., Rosova, M., Mal'chikov, P., Shaydayuk, E., Kovalenko, N., Wanyera, R., Morgounov, A., Yskakova, G., & Rsaliyev, A. (2020). Evaluation of resistance of spring durum wheat germplasm from Russia and Kazakhstan to fungal foliar pathogens. *Cereal research communications*, 48, 71-79 .
41. Gupta, D., & Sinha, S. N. (2020). Production of Hydrogen Cyanide (HCN) by Purple Non-Sulfur Bacterium Isolated from the Rice Field of West Bengal. 15(1 Ser. III), 16-26 .
42. Hafeez, F. Y., S. Asad, T. Ahmad and K. A. Malik. 2005. Host specificity and characterization of fast
43. Harrigan, W.F. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. 3rd Edition. Gulf Professional Publishing
44. Hazard, B., Trafford, K., Lovegrove, A., Griffiths, S., Uauy, C., & Shewry, P. (2020). Strategies to improve wheat for human health. *Nature Food*, 1(8), 475-480 .
45. He, D. C., He, M. H., Amalin, D. M., Liu, W., Alvindia, D. G., & Zhan, J. (2021). Biological control of plant diseases: An evolutionary and eco-economic consideration. *Pathogens*, 10(10), 1311.
46. He, D. C., He, M. H., Amalin, D. M., Liu, W., Alvindia, D. G., & Zhan, J. (2021). Biological control of plant diseases: An evolutionary and eco-economic consideration. *Pathogens*, 10(10), 1311.
47. Herrera, S. D., Grossi, C., Zawoznik, M., & Groppa, M. D. (2016). Wheat seeds harbour bacterial endophytes with potential as plant growth promoters and biocontrol agents of *Fusarium graminearum*. *Microbiological Research*, 186, 37-43.
48. Hugh, R. and Leifson, E. (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *Journal of Bacteriology*, 66(1), 24-26
49. Hulot, J.F. and Hiller, N. (2021) 'Exploring the benefits of biocontrol for sustainable agriculture – A literature review on biocontrol in light of the European Green Deal', Institute for European Environmental Policy.
50. Igrejas, G., & Branlard, G. (2020). The importance of wheat. Wheat quality for improving processing and human health, 1-7 .
51. Jadoon, S., Afzal, A., Asad, S., Sultan, T., Tabassam, T., Umer, M., & Asif, M. (2019). Plant growth promoting traits of rhizobacteria isolated from potato (*Solanum tuberosum* L.) and their antifungal activity against *Fusarium oxysporum*. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 29 .(4)

52. Jamil Shafi, Hui Tian, Mingshan Ji (2017): *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, DOI
53. Jeyanthi, V., & Kanimozhi, S. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)-prospective and mechanisms: a review. *J Pure Appl Microbiol*, 12(2), 733-749 .
54. Jha, C. K., Aeron, A., Patel, B. V., Maheshwari, D. K., & Saraf, M. (2011). *Enterobacter*: role in plant growth promotion. *Bacteria in agrobiolgy: Plant growth responses*, 159-182 .
55. Jiao, X., Takishita, Y., Zhou, G., & Smith, D. L. (2021). Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement. *Frontiers in plant science*, 12, 634796 .
56. Kageyama, K., & Nelson, E. B. (2003). Differential inactivation of seed exudate stimulation of *Pythium ultimum* sporangium germination by *Enterobacter cloacae* influences biological control efficacy on different plant species. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(2), 1114-1120.
57. Kayim, M., Nawaz, H., & Alsalmo, A. (2022). Fungal diseases of wheat. In *Wheat*. IntechOpen. (2nd ed., pp. 123-145)
58. Kazan, K., & Gardiner, D. M. (2018). *Fusarium* crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular plant pathology*, 19(7), 1547-1562 .
59. Kazan, K., & Gardiner, D. M. (2018). *Fusarium* crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular plant pathology*, 19(7), 1547-1562 .
60. Keet, C. A., Matsui, E. C., Dhillon, G., Lenehan, P., Paterakis, M., & Wood, R. A. (2009). The natural history of wheat allergy. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 102(5), 410-415 .
61. Kenawy, A., Dailin, D. J., Abo-Zaid, G. A., Malek, R. A., Ambehatabi, K. K., Zakaria, K. H. N., Sayyed, R., & El Enshasy, H. A. (2019). Biosynthesis of antibiotics by PGPR and their roles in biocontrol of plant diseases. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management: Volume 2: Rhizobacteria in Biotic Stress Management*, 1-35 .
62. Kerdraon, L., Laval, V., & Suffert, F. (2019). Microbiomes and pathogen survival in crop residues, an ecotone between plant and soil. *Phytobiomes Journal*, 3(4), 246-255 .
63. Khamna, S., Yokota, A. and Lumyong, S. (2010) Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *European Journal of Soil Biology*, 46(1), 73-77

64. Khan, M.S.; Zaidi, A.; Ahemad, M.; Oves, M.; Wani, P.A. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi—Current perspective. *Arch. Agron. Soil Sci.* **2010**, *56*, 73–98
65. Kirk, J. L., Beaudette, L. A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, J. N., Lee, H., & Trevors, J. T. (2004). Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of microbiological methods*, 58(2), 169-188 .
66. Kloepper, J. W., Schroth, M. N. (1981). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Plant Growth Under Gnotobiotic Conditions. *Phytopathology*, 71(6), 642-644 .
67. Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in plant science*, 845 .
68. Kolomiiets, Y., Grigoryuk, I., Likhanov, A., Butsenko, L., Pasichnyk, L., & Blume, Y. (2020). Induction of Wheat Resistance against the Causative Agent of Basal Bacteriosis with Growth-Promoting Bacteria. *Cytology and Genetics*, 54, 514-521 .
69. KoTova, G. N. (1979). Effect of crop rotation on the development of root rot of wheat. *Khimiya sel'skogo khozyaistva*, 17(6), 44-47.
70. Kour, D., Rana, K. L., Kaur, T., Yadav, N., Halder, S. K., Yadav, A. N., Sachan, S. G., & Saxena, A. K. (2020). Potassium solubilizing and mobilizing microbes: biodiversity, mechanisms of solubilization, and biotechnological implication for alleviations of abiotic stress. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 177-202). Elsevier .
71. Kremer, R. J. (2006). Deleterious rhizobacteria. In *Plant-associated bacteria* (pp. 335-357). Springer .
72. Kshetri, L., Naseem, F., & Pandey, P. (2019). Role of *Serratia* sp. as biocontrol agent and plant growth stimulator, with prospects of biotic stress management in plant. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stress Management: Volume 2: Rhizobacteria in Biotic Stress Management*, 169-200 .
73. Kumar, A., Bennetzen, J. L., Simpson, C. E., & Peterson, D. G. (2002). Genetic mapping of peanut (*Arachis hypogaea* L.) using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Theoretical and Applied Genetics*, 105(4), 485-490
74. Kumar, J., Schäfer, P., Hückelhoven, R., Langen, G., Baltruschat, H., Stein, E., ... & Kogel, K. H. (2017). *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular plant pathology*, 18(4), 518-534.

75. Kumar, K., Pal, G., Verma, A., & Verma, S. K. (2020). Seed inhabiting bacterial endophytes of finger millet (*Eleusine coracana* L.) promote seedling growth and development, and protect from fungal disease. *South African journal of botany*, 134, 91-98 .
76. Labuschagne, N., Pretorius, T., Idris, A.H. (2010). Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biocontrol Agents Against Soil-Borne Plant Diseases. In: Maheshwari, D. (eds) *Plant Growth and Health Promoting Bacteria. Microbiology Monographs*, vol 18. Springer, Berlin, Heidelberg. 3.
77. Lane DJ (1991) 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M (eds) *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Wiley, New York, pp 115–175.
78. Larsen, J., Jaramillo-López, P., Nájera-Rincon, M., & González-Esquivel, C. E. (2015). Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics. *Journal of soil science and plant nutrition*, 15(2), 449-463.
79. Latha, P., Karthikeyan, M., & Rajeswari, E. (2019). Endophytic bacteria: prospects and applications for the plant disease management. *Plant Health Under Biotic Stress: Volume 2: Microbial Interactions*, 1-50 .
80. Lebrazi, S., Niehaus, K., Bednarz, H., Fadil, M., Chraïbi, M., & Fikri-Benbrahim, K. (2020). Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization by rhizobacterial strains isolated from *Acacia cyanophylla* root nodules and their effects on its plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18, 1-12 .
81. Leite, M. C. D. B. S., Pereira, A. P. D. A., Souza, A. J. D., Andreote, F. D., Freire, F. J., & Sobral, J. K. (2018). Bioprospection and genetic diversity of endophytic bacteria associated with cassava plant. *Revista Caatinga*, 31, 315-325.
82. Lemmens, M., Haim, K., Lew, H., & Ruckebauer, P. (2004). The effect of nitrogen fertilization on *Fusarium* head blight development and deoxynivalenol contamination in wheat. *Journal of Phytopathology*, 152(1), 1-8.
83. Leontidou, K., Genitsaris, S., Papadopoulou, A., Kamou, N., Bosmali, I., Matsi, T., Madesis, P., Vokou, D., Karamanoli, K., & Mellidou, I. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria isolated from halophytes and drought-tolerant plants: Genomic characterisation of phyto-beneficial traits. *Scientific reports*, 10(1), 1-15 .

84. Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). The Fusarium laboratory manual. John Wiley & Sons.
85. Liu, J., Elad, Y., Ziv, O., & Peretz-Alon, I. (2012). Effect of postharvest temperature and duration of storage on development of strawberry fruit rot caused by *Rhizoctonia* Spp. and *Fusarium* spp. *Postharvest Biology and Technology*, 64(1), 40-47.
86. Lucena, J. J., & Hernandez-Apaolaza, L. (2017). Iron nutrition in plants: an overview . *Plant and Soil*, 418, 1-4 .
87. Macedo-Raygoza, G. M., Valdez-Salas, B., Prado, F. M., Prieto, K. R., Yamaguchi, L. F., Kato, M. J., Canto-Canché, B. B., Carrillo-Beltrán, M., Di Mascio, P., & White, J. F. (2019). *Enterobacter cloacae*, an endophyte that establishes a nutrient-transfer symbiosis with banana plants and protects against the black Sigatoka pathogen. *Frontiers in microbiology*, 10, 804 .
88. Mahdi, I.; Fahsi, N.; Hafidi, M.; Allaoui, A.; Biskri, L. Plant Growth Enhancement using Rhizospheric Halotolerant Phosphate Solubilizing Bacterium *Bacillus licheniformis* QA1 and *Enterobacter asburiae* QF11 Isolated from *Chenopodium quinoa* Willd. *Microorganisms* 2020, 8, 948.
89. Maksimov I.V., Abizgil'dina R.R., Pusenkova L.I. (2011): Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47: 333–345
90. Manib, M., Blagodyr, R.N., Ilev, I.P. (1986) Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal* (Kiev), 29(2), 111-114
91. Martinez-Viveros, O., Jorquera, M.A., Crowley, D.E., Gajardo, G., Mora, M.L. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 10: 293-319.
92. Mavrodi, O. V., Walter, N., Elateek, S., Taylor, C. G., & Okubara, P. A. (2012). Suppression of *Rhizoctonia* and *Pythium* root rot of wheat by new strains of *Pseudomonas*. *Biological Control*, 62(2), 93-102.
93. Mazzola, M., Zhao, X., Sackett, K., & Liu, Y. (2019). Genetic variation in the response of wheat to soil infestation with the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* AG8. *Plant and Soil*, 437(1-2), 1-14
94. Mehrabi, F., Sepaskhah, A. R., & Ahmadi, S. H. (2021). Winter wheat root distribution with irrigation, planting methods, and nitrogen application. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 119, 231-245 .

95. Mehta, R. D., & Gaudencio, C. A. (1990). Effect of crop rotation on the incidence of Fusarium root rot in wheat and barley in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 12(3), 237-242.
96. Mittal, V.; Singh, O.; Nayyar, H.; Kaur, J.; Tewari, R. Stimulatory effect of phosphate-solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2). *Soil Biol. Biochem.* 2008, 40, 718–727.
97. Mohamed, A. E., Nessim, M. G., Abou-el-seoud, I. I., Darwish, K. M., & Shamseldin, A. (2019). Isolation and selection of highly effective phosphate solubilizing bacterial strains to promote wheat growth in Egyptian calcareous soils. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1-13 .
98. Mohan, A., Schillinger, W. F., & Gill, K. S. (2013). Wheat seedling emergence from deep planting depths and its relationship with coleoptile length. *PLos One*, 8(9), e73314 .
99. Monjezi, F., Vazin, F., & Hassanzadehdelouei, M. (2012). Effects of iron and zinc spray on yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.) in drought stress .29: 109-117.
100. Mousa, W. K., Shearer, C., Limay-Rios, V., Ettinger, C. L., Eisen, J. A., & Raizada, M. N. (2016). Root-hair endophyte stacking in finger millet creates a physicochemical barrier to trap the fungal pathogen *Fusarium graminearum*. *Nature microbiology*, 1(12), 1-12 .
101. Mulk, S., Wahab, A., Yasmin, H., Mumtaz, S., El-Serehy, H., Khan, N., & Hassan, M. (2021). Prevalence of wheat associated *Bacillus* Spp. and their bio-control efficacy against fusarium root rot. *Front Microbiol* 12: 798619.
102. Murray, G. M., & Brennan, J. P. (2009). Estimating disease losses to the Australian wheat industry. *Australasian Plant Pathology*, 38(6), 558-570
103. Nandi, M., Selin, C., Brawerman, G., Fernando, W. D., & de Kievit, T. (2017). Hydrogen cyanide, which contributes to *Pseudomonas chlororaphis* strain PA23 biocontrol, is upregulated in the presence of glycine. *Biological Control*, 108, 47-54.
104. Navarro, M. O., Simionato, A. S., Barazetti, A. R., dos Santos, I. M., Cely, M. V., Chrysafidis, A. L., & Andrade, G. (2017). Disease-induced resistance and plant immunization using microbes. *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 1: Fundamental Mechanisms, Methods and Functions*, 447-465 .
105. O'Brien, P. A. (2017). Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathology*, 46, 293-304.
106. OECD/FAO. (2020). OECD-FAO agricultural outlook 2020–2029. *Oecd* .

107. Oklahoma State University. (2020). Root rots on wheat. Plant Disease and Insect Diagnostic Laboratory, <https://extension.okstate.edu/programs/digital-diagnostics/plant-diseases/root-rots-on-wheat.html>.
108. Ovsyankina, A., Savchenko, I., Sanin, S., Semigonov, A., Korniyukov, D., & Gerner, A. (2019). Diagnosis of soil fungi that cause root rot. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science ,
109. Özer, G., Erper, İ., Yıldız, Ş., Bozoğlu, T., Zholdosbekova, S., Alkan, M., Tekin, F., Uulu, T. E., İmren, M., & Dababat, A. A. (2023). Fungal Pathogens Associated with Crown and Root Rot in Wheat-Growing Areas of Northern Kyrgyzstan. *Journal of Fungi*, 9(1), 124 .
110. Özer, G., Paulitz, T. C., Imren, M., Alkan, M., Muminjanov, H., & Dababat, A. A. (2020). Identity and pathogenicity of fungi associated with crown and root rot of dryland winter wheat in Azerbaijan. *Plant Disease*, 104(8), 2149-2157 .
111. Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. 4-5
112. Pathania, P., Rajta, A., Singh, P. C., & Bhatia, R. (2020). Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 30, 101842.
113. Pérez-Flores, P.; Valencia-Cantero, E.; Altamirano-Hernández, J.; Pelagio-Flores, R.; López-Bucio, J.; García-Juárez, P.; Macías-Rodríguez, L. *Bacillus methylotrophicus* M4-96 isolated from maize (*Zea mays*) rhizoplane increases growth and auxin content in *Arabidopsis thaliana* via emission of volatiles. *Protoplasma* 2017, 254, 2201–2213
114. Pérez-Montaña, F.; Alías-Villegas, C.; Bellogín, R.; del Cerro, P.; Espuny, M.; Jiménez-Guerrero, I.; López-Baena, F.; Ollero, F.; Cubo, T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. *Microbiol. Res.* **2014**, 169, 325–336
115. Peris-Peris, C., Serra-Cardona, A., Sánchez-Sanuy, F., Campo, S., Ariño, J., & San Segundo, B. (2017). Two NRAMP6 isoforms function as iron and manganese transporters and contribute to disease resistance in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30(5), 385-398.
116. Petersen, L.M., Tisa, L.S. 2013. Friend or foe? A review of the mechanisms that drive *Serratia* towards diverse lifestyles. *Can. J. Microbiol.* 59: 627-640.
117. Pikovskaya, R. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiologiya*, 17, 362-370

118. Preece, C., & Penuelas, J. (2016). Rhizodeposition under drought and consequences for soil communities and ecosystem resilience. *Plant and Soil*, 409, 1-17.
119. Prins, T. W., Wagemakers, L., Schouten, A., & van Kan, J. A. (2000). Cloning and characterization of a glutathione S-transferase homologue from the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata*. *Molecular plant-microbe interactions*, 13(7), 769-780.
120. Qu, X., & Christ, B. J. (2006). The host range of *Spongospora* subterranean States and its potential for biological control using a fungal antagonist or a plant decoy. *Australasian Plant Pathology*, 35(4), 419-427.
121. Raaijmakers J.M., De Bruijn I., Nybroe O., Ongena M. (2010): Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 34: 1037–1062
122. Rajput, M. A., Pathan, M. A., Lodhi, A. M., Shah, G. S., & Khanzada, K. A. (2005). Studies on seed-borne fungi of wheat in Sindh Province and their effect on seed germination. *Pakistan Journal of Botany*, 37(1), 181-185 .
123. Ranawat, B., Mishra, S., & Singh, A. (2021). *Enterobacter hormaechei* (MF957335) enhanced yield, disease and salinity tolerance in tomato. *Archives of microbiology*, 203, 2659-2667.
124. Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. (2021). Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 49-68 .
125. Root Rots on Wheat | Oklahoma State University - –SU Extension. (2021). Root Rots on Wheat. OSU Extension. <https://extension.okstate.edu/programs/digital-diagnostics/plant-diseases/root-rots-on-wheat.html>
126. Saad, A., Macdonald, B., Martin, A., Knight, N. L., & Percy, C. (2021). Comparison of disease severity caused by four soil-borne pathogens in winter cereal seedlings. *Crop and Pasture Science*, 72(5), 325-334 .
127. Saad, M., Alshehri, Y., Alnazzawi, N., Alsibiani, S., & Alsobhi, S. (2023). NIST and University Researchers Offer Future 6G Network Concept. *NIST News*
128. Saeed, S., Ahmad, R., Ali, A., Khan, M. A., & Iqbal, M. (2021). *Pseudomonas* Spp. inhibit *Rhizoctonia solani* and improve wheat yield. *Journal of Plant Protection Research*, 61(1), 3-11

129. Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
130. Saleemi, M., Kiani, M. Z., Sultan, T., Khalid, A., & Mahmood, S. (2017). Integrated effect of plant growth-promoting rhizobacteria and phosphate-solubilizing microorganisms on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under rainfed condition. *Agriculture & Food Security*, 6(1), 1-8.
131. Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature ecology & evolution*, 3(3), 430-439 .
132. Scardaci, S. C., & Webster, R. K. (1982). Root rot of wheat caused by *Fusarium culmorum* in California. *Plant Disease*, 66(1), 12-14
133. Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2013). *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular plant pathology*, 14(4), 323-341 .
134. Sehrawat, A., Sindhu, S. S., & Glick, B. R. (2022). Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere*, 32(1), 15-38 .
135. Selvakumar, G.; Mohan, M.; Kundu, S.; Gupta, A.; Joshi, P.; Nazim, S.; Gupta, H. Cold tolerance and plant growth promotion potential of *Serratia marcescens* strain SRM (MTCC 8708) isolated from flowers of summer squash (*Cucurbita pepo*). *Lett. Appl. Microbiol.* **2007**, 46, 171–175.
136. Shabbir, I., Abd Samad, M. Y., Othman, R., Wong, M.-Y., Sulaiman, Z., Jaafar, N. M., & Bukhari, S. A. H. (2021). Evaluation of bioformulation of *Enterobacter* sp. UPMSSB7 and mycorrhizae with silicon for white root rot disease suppression and growth promotion of rubber seedlings inoculated with *Rigidoporus microporus*. *Biological Control*, 152, 104467 .
137. Shah, A., Nazari, M., Antar, M., Msimbira, L. A., Naamala, J., Lyu, D., Rabileh, M., Zajonc, J., & Smith, D. L. (2021). PGPR in agriculture: A sustainable approach to increasing climate change resilience. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 667546.
138. Sharma, I. P., & Sharma, A. K. (2019). *Trichoderma*–*Fusarium* interactions: A biocontrol strategy to manage wilt diseases in plants. In *Rhizosphere Biology* (pp. 165-184).

139. Sharma, S., Pahwa, S., Bhati, S., & Kudeshia, P. (2020). Spanlastics: A modern approach for nanovesicular drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(3), 1057-1065
140. Sharma-Poudyal, D., Schlatter, D., Yin, C., Hulbert, S., & Paulitz, T. C. (2018). Mechanisms of seedling resistance to *Rhizoctonia solani* AG-8 in wheat. *Frontiers in plant science*, 9, 1116.
141. Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60(6), 1537-1553.
142. Shikur Gebremariam, E., Sharma-Poudyal, D., Paulitz, T., Erginbas-Orakci, G., Karakaya, A., & Dababat, A. (2018). Identity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown rot on wheat (*Triticum* spp.) in Turkey.
143. Singh, D. (2015). Plant nutrition in the management of plant diseases with particular reference to wheat. *Recent advances in the diagnosis and management of plant diseases*, 273-284 .
144. Singh, D., Singh, S. K., Singh, V. K., Ghosh, S., Verma, H., & Kumar, A. (2021). Plant growth promoting bacteria as biocontrol agents against diseases of cereal crops. In *Food Security and Plant Disease Management* (pp. 221-239). Elsevier .
145. Singh, J., Chhabra, B., Raza, A., Yang, S. H., & Sandhu, K. S. (2022). Important wheat diseases in the US and their management in the 21st century. *Frontiers in Plant Science*, 13 .
146. Singh, P., Chauhan, P. K., Upadhyay, S. K., Singh, R. K., Dwivedi, P., Wang, J., Jain, D., & Jiang, M. (2022). Mechanistic insights and potential use of siderophores producing microbes in rhizosphere for mitigation of stress in plants grown in degraded land. *Frontiers in Microbiology*, 13, 898979 .
147. Singh, R.P., Jha, P.N. 2016. The multifarious PGPR *Serratia marcescens* CDP-13 augments induced systemic resistance and enhanced salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS ONE* 11
148. Simpfendorfer, S., McKay, A., & Ophel-Keller, K. (2020). New approaches to crop disease management in conservation agriculture. *Australian agriculture* in, 173-188.
149. Smiley, R. W., Gourlie, J. A., Easley, S. A., Patterson, L. M., & Whittaker, R. G. (2005). Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. *Plant Disease*, 89(6), 595-604.
150. Soul-kifouly, G. M., Muriithi, B. W., Affognon, H. D., Macharia, I., & Le Ru, B. P. (2021). Economic impact of biological control. *Biological Control: Global Impacts, Challenges and Future Directions of Pest Management*, 1928 .

151. Stack Exchange Chemistry. (2015, November 16). Preparation of picric acid. Retrieved from [<https://chemistry.stackexchange.com/questions/44090/preparation-of-picric-acid>].
152. Stack, R. W. (1994). Fusarium head blight of wheat and barley: losses and control costs in the United States. In Proceedings of the 3rd International Wheat Scab Symposium (pp. 1-4)
153. Stenberg, J. A., Sundh, I., Becher, P. G., Björkman, C., Dubey, M., Egan, P. A., Friberg, H., Gil, J. F., Jensen, D. F., & Jonsson, M. (2021). When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science*, 94(3), 665-676 .
154. Su, J., Zhao, J., Zhao, S., Li, M., Pang, S., Kang, Z., Zhen, W., Chen, S., Chen, F., & Wang, X. (2021). Genetics of resistance to common root rot (spot blotch), Fusarium crown rot, and sharp eyespot in wheat. *Frontiers in Genetics*, 12, 699342 .
155. Sun, Z., Yue, Z., Liu, H., Ma, K., & Li, C. (2021). Microbial-assisted wheat iron biofortification using endophytic *Bacillus altitudinis* WR10. *Frontiers in Nutrition*, 8, 704030 .
156. Suslow, T.V., Schroth, M.N. and Isaka, M. (1982) Application of a Rapid Method for Gram Differentiation of Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria without Staining. *Phytopathology*, 72, 917-918
157. Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027 .
158. Tupenevich, V. A., & Volchova, L. A. (1977). Effect of crop rotation on the development of root rot of wheat and barley. *Zashchita Rastenii*, 22(11), 37-38.
159. Ullah, H., Yasmin, H., Mumtaz, S., Jabeen, Z., Naz, R., Nosheen, A., & Hassan, M. N. (2020). Multitrait *Pseudomonas* Spp. isolated from monocropped wheat (*Triticum aestivum*) suppress Fusarium root and crown rot. *Phytopathology*, 110(3), 582-592 .
160. van Lenteren, J. C., Bueno, V., & Klapwijk, J. N. (2021). Augmentative biological control. *Biological Control: Global Impacts, Challenges and Future Directions of Pest Management*; Mason, PG, Ed, 90-109 .
161. Verma S, Varma A, Rexer K, Hassel A, Kost G, Sarbhoy A, Bisen P, Bütehorn B, Franken P. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov, a New root-colonizing fungus. *Mycologia* 1998; 90:896 – 903
162. Wahyudi A.T., Astuti R.P., Widyawati A., Meryandini A., Nawangsih A.A. (2011): Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their

- use as potential plant growth for promoting rhizobacteria. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 3: 34–40
163. Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, Heier T, Hückelhoven R, Neumann C, von Wettstein D, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:13386 - –1
  164. Wang, W., Zhao, J., & Zhang, Z. (2022). *Bacillus* Metabolites: Compounds, Identification and Anti-*Candida albicans* Mechanisms. *Microbiology Research*, 13(4), 972-984 .
  165. Wang, Z., Zhang, H., Liu, L., Li, S., Xie, J., Xue, X., & Jiang, Y. (2022). Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion. *BMC microbiology*, 22(1), 296 .
  166. Wei, X., Xu, Z., Zhang, N., Yang, W., Liu, D., & Ma, L. (2021). Synergistic action of commercially available fungicides for protecting wheat from common root rot caused by *Bipolaris sorokiniana* in China. *Plant Disease*, 105(3), 667-674.
  167. Wildermuth, G., & McNamara, R. (1994). Testing wheat seedlings for resistance to crown rot caused by *Fusarium graminearum* Group 1 .
  168. Wilkins, N. (1952). The assimilation of iron by bacteria. *Australian Journal of Scientific Research B Biological Sciences*, 5(4), 449-468
  169. Williamson-Benavides, B. A., & Dhingra, A. (2021). Understanding root rot disease in agricultural crops. *Horticulturae*, 7(2), 33 .
  170. Winter, M., Samuels, P. L., Otto-Hanson, L. K., Dill-Macky, R., & Kinkel, L. L. (2019). Biological control of *Fusarium* crown and root rot of wheat by *Streptomyces* isolates—it's complicated. *Phytobiomes Journal*, 3(1), 52-60 .
  171. Wu, Y., Zhang, Z., Li, Y., & Li, Y. (2022). The regulation of integrated stress response signaling pathway on viral infection and viral antagonism. *Frontiers in Microbiology*, 12, 814635 .
  172. Xiao, K., Chen, X., & Shaner, G. (1998). Occurrence of *Fusarium* crown rot of wheat in China and its effects on yield and quality of grain. *Plant Disease*, 82(9), 1017-1020.
  173. Yin, C., Hagerty, C. H., & Paulitz, T. C. (2022). Synthetic microbial consortia derived from rhizosphere soil protect wheat against a soilborne fungal pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 13, 908981.
  174. Zablotowicz, R. M., Tipping, E. M., Lifshitz, R., & Kloepper, J. W. (1991). Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. *The Rhizosphere and Plant*

Growth: Papers presented at a Symposium held May 8–11, 1989, at the Beltsville Agricultural Research Center (BARC), Beltsville, Maryland .

175. Zaharieva, M., & Monneveux, P. (2014). Cultivated einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*): the long life of a founder crop of agriculture. Genetic resources and crop evolution, 61, 677-706 .
176. Zahir, Z. A., Ghani, U., Naveed, M., Nadeem, S. M., & Asghar, H. N. (2009). Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing AcC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. Archives of Microbiology, 191, 415-424 .
177. Zhang, Y., Wang, J., Li, X., Liu, Y., & Zhao, K. (2022). Effect of fungicides and biocontrol agents on root and crown rot of wheat caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium graminearum* in China. Plant Disease, 106(1), 123-130.

## Abstract

This study aimed to test the effect of local plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in inhibiting wheat common root rot pathogens and improving the growth and yield of infected plants. Sixty-six bacterial isolates, , were isolated from infected and healthy wheat roots from several regions in Syria and in addition to three control isolates. Their ability to inhibit the growth of two fungi causing wheat common root rot, *Cochliobolus sativus* and *Fusarium graminearum*, was tested under laboratory and pot conditions. The results showed that six bacterial isolates had a strong antagonistic effect on the studied fungi by producing antagonistic substances, where the antagonism distance ranged from 1.75-5.75 mm for *F. graminearum* and 4.12-8.6 mm for *C. sativus*. Some other isolates also showed an antagonistic effect by producing hydrogen cyanide gas (HCN). Pot experiments showed that using these isolates as agricultural treatments resulted in an increase in seed germination, plant length, and resistance to root rot by 82.8% for *F. graminearum* and 89.1% for *C. sativus* compared to the control. The results also showed that these isolates belong to the PGPR group, that 58 isolates possessed growth-promoting traits such as nitrogen fixation, phosphate solubilization, potassium and calcium carbonate dissolution, indole acetic acid production, siderophore production, and ammonia production. Some isolates were characterized by combining more than one trait with each other. Field experiments showed that using these isolates as agricultural treatments resulted in an increase in plant length by 41.6% and wheat yield by 114% compared to the control. Two effective isolates (10.2-16.2) in Wheat root rot control and different characteristics of PGPR were classified by biochemical and molecular methods, which showed that they belong to the *Enterobacteriaceae* family through the phylogenetic tree and similarity matrices. It was found that isolate 10.2 is *Serratia liquefaciens* and isolate 16.2 is *Enterobacter hormaechei*. The study concluded that there is stability in the characteristics of the studied isolates in their antagonism to wheat root rot in the laboratory and in pots, and in the bacteria that enhance the growth of wheat plants in the field for two consecutive seasons. These bacteria can also be used to preserve plant and soil health and reduce greenhouse gas emissions as a sustainable method in agriculture.

**Keywords:** Rhizosphere, local plant growth-promoting rhizobacteria, *Cochliobolus sativus*, *Fusarium graminearum*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter hormaechei*,

**Syrian Arab Republic  
Damascus University  
Faculty of Agricultural Engineering  
Plant Protection Department**



**Effect of local plant growth promoting rhizobacteria  
(PGPR) in inhibiting wheat common root rot pathogens**

**thesis submitted for the degree of Doctor in Agricultural  
Engineering (Plant Protection)**

**Prepared by Engineer:**

**Waseem Muhammad Khair Al-Balkhi**

**Supervisor**

**Pro.Dr.Mahmoud Abu Ghorrah**

**Co-supervisor**

**Prof. Dr. Fawaz Al-Adma**