الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الزراعة

قسم الهندسة الريفية

أثر الري الناقص في نمو نبات القمح تحت تأثير بالبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPR)

رسالة مقدمة لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية

(قسم الهندسة الريفية)

إعداد:

م. علي محمد عثمان

إشراف:

د. رياض بلديه

أستاذ في كلية الهندسة الزراعية

(قسم الهندسة الريفية)

مشرفاً علمياً

د. محمود أبو غرة

أستاذ في كلية الهندسة الزراعية

(قسم وقاية النبات)

مشرفاً مشاركاً

2023

قرار لجنة الحكم:

قدمت هذه الأطروحة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الدكتوراه في قسم الهندسة الريفية من كلية الزراعة جامعة دمشق.

This thesis has been submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of PhD in Rural engineering Department at the faculty of Agriculture, Damascus University

نوقشت هذه الأطروحة في جلسة علنية في كلية الزراعة بجامعة دمشق بتاريخ 2023/9/6

لجنة الحكم

أ.د. رياض بلديه	الأستاذ في قسم الهندسة الريفية –كلية الزراعة -جامعة دمشق	عضواً ومشرفاً
أ.د. أكرم البلخي	الأستاذ في قسم علوم التربة –كلية الزراعة -جامعة دمشق	عضواً
د. يوسف نمر	الأستاذ المساعد في قسم المحاصيل الحقلية –كلية الزراعة -جامعة دمشق	عضواً
د. سلام لاوند	الأستاذ المساعد في قسم المحاصيل الحقلية –كلية الزراعة -جامعة دمشق	عضواً
د. محمد منهل الزعبي	الباحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية	عضواً

The Board of Examiners

This thesis was discussed and approved on : 6 / 9 / 2023 at the Faculty of Agriculture-Damascus University:

Chairman Prof. Dr. Riadh Baladiah

Member Prof. Dr. Akram Muhammad Al-Balkhi

Member Dr. Yousef Nemer

Member Dr. Salam Lawand

Member Dr. Muhammad Manhal Alzoubi

كلمة شكر

كل الشكر والامتنان لمن كان عوناً وداعماً ومن أضاء قناديل العلم للوصول إلى هذه المرحلة

أتقدم بتوجيه أسمى آيات الاحترام والتقدير إلى **الأستاذ الدكتور محمود أبو غرة** لتكرمه لقبول الإشراف المشارك على هذه الأطروحة وإمدادي بكامل الخبرات العلمية والعملية وصبره وتحمله لكافة الظروف والعقبات التي مرت خلال سير العمل ..... **مع كامل المحبة والاحترام**

كل الشكر والاحترام الى **الأستاذ الدكتور رياض بلديه** لتفضله بالقبول على الإشراف العلمي وتقديم الدعم والتوجيه لإنجاز هذا العمل.

وأتوجه بالشكر والامتنان والتقدير **للدكتورة عايدة جلولة** للدعم الفني والتوجيه في قسم التحليل الجزيئي.

مع كامل التقدير **للدكتور رائد أبو قبع** من(*CNR* -*مركز باري القومي للبحوث* - *جامعة باري ألدو مورو*)حيث قام بالكشف الجزيئي في *مركز البحوث الإيطالية في مدينة ميلانو –إيطاليا* وفق المعدات المتوفرة لديهم.

لكم أسمى آيات الشكر والعرفان

تــصــريــح

أصرح بأن هذا البحث الموصوف في هذه الرسالة تحت عنوان:

أثر الري الناقص في نمو نبات القمح تحت تأثير التلقيح بالبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPR)

لم يسبق أن قُدم للحصول على أية درجة من جامعة أخرى، وعير مُقدم حالياً. لذلك فإن كافة الأعمال والنتائج المذكورة هي جهودي الشخصية، وبتوجيه من المشرفين العلمين الأستاذ الدكتور رياض بلديه والأستاذ الدكتور محمود أبو غرة، وأية معلومات أو نتائج أخرى ذُكرت في الرسالة قد نُسبت إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وضمن قائمة المراجع.

المرشح:

علي محمد عثمان

Declaration

This is hereby declared that this work: Effect of deficit irrigation on wheat plant growth under effective by Plant Growing Promoting Rhizobacteria (PGPR)... Has not been used previously or submitted now for any other degree.

Candidate

ALI MHMAD OTHMAN

شـــــــــــهـــــــادة:

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتيجة بحث علمي قام به المرشح المهندس **علي محمد عثمان** تحت إشراف الدكتور رياض بلديه الأستاذ في قسم الهندسة الريفية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، بالاشتراك مع الدكتور محمود أبو غرة الأستاذ في قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، وأن أية مراجع أخرى بُحثت في هذه الرسالة موثقة بالنص.

كما نشهد بأن هذا البحث لم يسبق أن قُبل للحصول على أي شهادة وهو غير مُقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشح	المشرف العلمي	المشرف المشارك
علي محمد عثمان	أ.د. رياض بلديه	أ.د. محمود أبو غرة

Certificate

It is hereby certified that the work described in this Thesis:
is the result of the author's own investigations **(Ali Othman)** under the supervision of **Dr.Riyadh Bladia** from Rural engineering Department, Faculty of Agriculture. Damascus University and **Dr.Mahmoud Abo Ghorrah** from Plant protection Department, Faculty of Agriculture. Damascus University, Any references to other research work has been duly acknowledged in the text. And it is hereby certified this work has not submitted for any other degree.

Candidate	Chairman	Co- Supervisor
Ali Othman	**Pro.Dr. Riadh Baladiah**	**Pro.Dr.Mahmoud Abo Ghorra**

الفهرس

الموضوع	الصفحة
• الملخص العربي:	1
• الجزء التمهيدي:	
1. المقدمة	3
2. الإشكالية البحثية	6
3. تساؤلات البحث	7
4. أهداف البحث	8
5. أهمية البحث	9
6. مسوغات البحث	10
• الفصل الاول الدراسات المرجعية:	
1-1 الري الناقص ومقاومة الإجهاد المائة في القمح	12
2-1 البكتريا الجذرية PGPR وأثرها في القمح	19
3-1 البكتيريا الجذرية PGPR وأثرها في مقاومة الإجهادات البيئية	23
• الفصل الثاني مواد وطرائق العمل	
1-2 منهج البحث	28
1-1-2 المادة النباتية والصنف المستخدم	
2-1-2 تصميم التجربة وموقعها	
3-1-2 طريقة الزراعة ومعدل البذار	
2-2 عامل الري ومعاملات الري الناقص	
1-2-2 عامل الري ومعاملات الري الناقص	33
2-2-2 مواعيد الري وكيات الري المقدمة	35
3-2 عامل التلقيح البكتيري	
1-3-2 جمع العينات	36
2-3-2 عزل البكتيريا	37
3-3-2 اختبارات محددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو PGPR	39
4-3-2 اختبارات تعريفية أساسية للعزلات المختارة.	45
5-3-2 التحليل الجزيئي للعزلتين ذات النتائج الأفضل.	49
4-2 الصفات المدروسة والتحليل الاحصائي	51
1-4-2 معامل الاستجابة Ky	52
2-4-2 كفاءة استعمال المياه WUE	53
3-4-2 التحليل الإحصائي	54

• الفصل الثالث النتائج والمناقشة	
3-1 نتائج جدولة الري وتطبيقات معاملات الري الناقص.	56
3-2 العزلات البكتيرية وخصائصها ونتائج الاختبارات البيوكيمائية والجزيئية	60
3-2-1 الاختبارات المحدد للبكتيرية الجذرية المحفزة للنمو	63
3-2-2 الاختبارت البيوكيمائية للعزلات الخمسة المختارة	65
3-2-3 التحليل الوارثي للعزلاتين البكتيرية المميزة.	66
3-3 أثر الري الناقص في نمو القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية	
3-3-1 أثر الري الناقص في ارتفاع القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية	75
3-3-2 أثر الري الناقص في نسبة البروتين تحت تأثير البكتيريا الجذرية	78
3-3-3 أثر الري الناقص في إنتاجية القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية	79
3-3-4 عامل الاستجابة للقمح وكفاءة استعمال المياه والأثر البكتيري .	84
– أثر العزلة(T1=4.3) في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة محصول للقمح.	88
– أثر العزلة (T2=5.2) Citrobacter braakii في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة محصول للقمح.	90
– أثر العزلة (T3=28.2) في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة محصول للقمح.	92
– أثر العزلة (T4=35.1) في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة محصول للقمح.	94
– أثر العزلة (T5=41.4) Pantoea agglomerans في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة محصول للقمح.	96
3-4 المناقشة	
3-4-1 جدولة الري واستجابة القمح لمعاملات الري الناقص.	98
3-4-2 أثر البكتيريا الجذرية في نمو القمح واستجابته للري الناقص	100
3-4-3 أثر Citrobacter braakii في نمو القمح و للري الناقص.	103
3-4-4 أثرPantoea.agglomeran في نمو القمح وللري الناقص.	106
الاستنتاجات	109
التوصيات	110
• المراجع	111
• الملحق	

فهرس الجدول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1	الخصائص الكيمائية والفيزيائية للتربة	29
2	معامل المحصول kc للقمح	33
3	أماكن جمع عينات جذور النباتات النجيلية.	36
4	معامل المحصول ومراحل نمو محصول القمح في التجربة الحقلية.	57
5	جدولة الري وفق المعاملات المطبقة في التجربة.	58
6	نتائج الاختبارات المحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو.	61
7	اختبارات بيوكيمائية تعريفية للعزلات المختارة للقيام بالتجربة الحقلية.	65
8	أثر الري الناقص في ارتفاع نبات القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية	75
9	أثر الري الناقص في نسبة البروتين في القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية	78
10	أثر الري الناقص في إنتاجية القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية	79
11	معامل استجابة القمح تحت تأثير الري الناقص والتلقيح البكتيري.	85
12	كفاءة استعمال المياه للمحصول (WUE) وفق عاملي الري والتلقيح البكتيري.	86
13	الخصائص المحددة للعزلة رقم (4.3)	89
14	الخصائص المحددة للعزلة (5.2)	91
15	الخصائص المحددة للعزلة (28.2)	93
16	الخصائص المحددة للعزلة رقم(35.1)	95
17	الخصائص المحددة للعزلة (41.4)	97

فهرس الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	مخطط التجربة.	30
2	مخطط القطعة التجريبية.	32
3	صورة مخبرية لعزلات ضمن عينة واحدة	38
4	إذابة الفوسفات	39
5	إذابة البوتاسيوم.	40
6	تثبيت الأزوت الحر	41
7	تحليل كربونات الكالسيوم	42
8	اختبار حمض الأندول الخلي	43
9	إنتاج الأمونيا	44
10	معاملات الري المطبقة خلال التجربة.	57
11	الرحلان الكهربائي للعزلات	66
12	التتابع النكليوتيدي للعزلة (5.2)	67
13	التقارب الوراثي للعزلة 5.2 وفق بنك المعلومات العالمي	68
14	مصفوفة التشابه للعزلة (5.2)	69
15	شجرة القرابة الوراثية للعزلة (5.2)	70
16	التتابع النكليوتيدي للعزلة (41.4)	71
17	التقارب الوراثي للعزلة 41.4 وفق بنك المعلومات العالمي	72
18	مصفوفة التشابه للعزلة (41.4)	73
19	شجرة القرابة الوراثية للعزلة (41.4)	74
20	أثر التلقيح البكتيري في ارتفاع النبات.	76
21	أثر التلقيح البكتيري في إنتاجية القمح.	80
22	إنتاجية القمح وفق المعاملات المطبقة لكلا العاملين. (الري–البكتيريا).	82
23	أثر العزلة (4.3) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح	88
24	أثر العزلة (5.2) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.	90
25	أثر العزلة (28.2) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.	92
26	أثر العزلة (35.1) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.	94
27	أثر العزلة (41.4) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.	96

قائمة المصطلحات العلمية الواردة في متن الرسالة		
العربي	**الإنكليزية**	**الاختصار**
المقنن المائي	Irrigation water	IW
كفاءة استعمال المياه	Water–Use Efficiency	WUE
حوض التبخر	Cumulative Pan Evaporation	CPE
البخر والنتح	Evapotranspiration	ET
الاستعمال الفعال للمياه	Effective use of water	EUW
معامل استجابة المحصول	Yield response factor to water	Ky
معامل المحصول	Crop coefficient	Kc
المرحلة الحرجة	Critical stages	CS
الغلة الحبية	Grain yield	GY
القمح الطري	Triticum aestivum	T.a
القمح القاسي	Triticum Durum	T.d
بكتيريا محللة للفوسفات	Phosphate Solubilizing Bacteria	PSB
مالونديالدهيد	Malondialdehyde	MDA
برولين	Proline	P
البروتين القابل للامتصاص	Surfactant protein	SP
الكاتالاز	Catalase	CAT
سوبر أكسيد ديسموتاز	Super Oxide Dilsmutase	SOD
حمض الأبسيسيك	abscisic acid	ABA
إنتاج الأكسجين التفاعلية	Reactive oxygen species	ROS
نظام مضاد للأكسدة	Antioxidative System	AOS
الأكسجين التفاعلية–مضاد للأكسدة	Reactive oxygen species–Antioxidative System	ROS–AOS
وحمض الجاسمين	Jasmonic acid	JA
وحمض الساليسيليك	Salicylic acid	SA
بيئة مغذية صلبة	Glucose Yeast Peptone Agar	YPGA
وسط مائل صلب	yeast peptone dextrose agar composition	PYDAC
بيروكسيداز	Peroxidase	Pr
المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية	National Center for Biotechnology Information	NCBI
أداة البحث الجزيئي	The Basic Local Alignment Search Tool	BLAST

الملخص

يهدف البحث إلى رفع كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح القاسي (شام3) بتطبيق عدة مستويات من الري الناقص (100-80%-70%) من IW-CPE تبعا لحوض التبخر كلاس A في محافظة ريف دمشق (شبعا)، عن طريق استخدام التلقيح بالبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPR) **P**lant **G**rowing **P**romoting **R**hizobactria ، حيث تم القيام بالعزل البكتيري من محيط جذور القمح لحوالي (46) عينة وتم استخلاص حوالي (120) عزلة بكتيرية، وإجراء الاختبارات المحددة (PGPR) مثل (تحليل الفوسفات – تحليل البوتاس – تثبيت الأزوت-إنتاج حمض الأندول الخلي – تحليل كربونات الكالسيوم-تحليل الأمونيا-إنتاج HCN)، وانتقاء العزلات ذات النتائج المخبرية الجيدة لاستخدامها بالتجربة الحقلية.

أظهر نتائج تطبيق الري الناقص انخفاضاً معنوياً في إنتاجية القمح عند مستويي (80%-70%)IW-CPE ، بمتوسطات على التوالي (5410-4550) كغ.هـ$^{-1}$، مقارنة مع الري الكامل بمتوسط إنتاجية (6570) كغ. هـ$^{-1}$ مع وجود فروقات معنوية فيما بينهما أيضا. وكان متوسط نسبة البروتين في الحبوب عند (70%) IW-CPE يساوي 13.5 % بزيادة معنوية واضحة عن كلا المستوين (100%-80%) IW-CPE حيث كانت نسبة البروتين (12-12.6) % على التوالي، في حين لم يكن هناك فروق معنوية فيما بينهما.

تؤكد نتائج الدراسة تأثر القمح القاسي (شام3) بالتلقيح بالبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو بشكل عام، وقد بينت الاختبارات البيوكيميائية والوراثية للعزلات المميزة انتماءها إلى الأنواع البكتيرية التالية:

قامت العزلة البكتيرية التي تتبع إلى النوع **Citerobacter.braakii** في زيادة متوسط إنتاجية القمح في مستويات الري (100-80%-70%) من IW-CPE إلى (8298 -6936-6486) كغ.هـ$^{-1}$ على التوالي، بالإضافة إلى رفع كفاءة استعمال المياه للقيم التالية (2.86 – 2.68 -2.56) كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$

قامت العزلة البكتيرية التي تتبع إلى النوع **Pantoea.agglormerans** في زيادة متوسط إنتاجية القمح في المستويات الري المطبقة (100-80%-70%) من IW-CPE الى (8797 -6757-5578) كغ.هـ$^{-1}$ على التوالي ، بالإضافة الى رفع كفاءة استعمال المياه بحيث تكون القيم (2.7 – 2.61-2.46) كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ ، بفرق معنوي واضح لكلتا السلالتين مقارنة مع قيم متوسط إنتاجية الشاهد دون تلقيح (4811- 3834-3045) كغ.هـ$^{-1}$ على التوالي، وأدت كل منهما إلى تحسين كفاءة استعمال المياه مقارنة مع قيم معاملة الشاهد (1.48-1.48-1.34) على التوالي.

تؤكد النتائج فعالية استخدام البكتيرية الجذرية المحفزة للنمو والتي تنتمي إلى النوعين(**Citerobacter.braakii**) و(**Pantoea. agglormerans**) في زيادة إنتاج القمح ورفع كفاءة استعمال المياه ورفع استجابة القمح للإجهاد المائي، وننصح باستخدامه كسماد حيوي على مستويات واسعة لرفع الإنتاجية وفق الموارد المائية المتوفرة. وتم تسمية العزلتين بالتوالي Citerobacter.braakii SY-oth 5.2 و Pantoea. agglormerans SY-oth 41.4

الكلمات المفتاحية: القمح القاسي (شام3)، الري الناقص، البكتيرية الجذرية المحفزة للنمو(PGPR)، Pantoea. agglormerans،Citrobacte braakii

الجزء التمهيدي

(الإطار العام)

0–1 المقدمة:

أدت التغيرات البيئية إلى تغيير العوامل المناخية المحيطة بالكائنات الحية بشكل عام والنباتات بشكل خاص، وهذا أوجب تحديد الشروط البيئية المثلى لنمو المحاصيل الزراعية بشكل دقيق، بما يتناسب مع زيادة الطلب على المنتجات الزراعية ونقص الموارد المائية الموجود في المنطقة. تمثل أزمة القمح والخبز بالوقت الحالي تحدياً صعباً للأمن الغذائي العالمي بشكل عام، و في سورية بشكل خاص، في ظل الأزمة الاقتصادية التي تمر فيها البلاد، بالإضافة إلى العوامل المناخية من جفاف ونقص الهطولات المطرية التي أثرت بشكل واضح على القمح السوري منذ 2006 وحتى الآن، حيث أثرت التغيرات المناخية على إنتاجية المحاصيل بظل غياب الخطط والدراسات المائية للمحاصيل والمناطق وتقديم الدعم المطلوب لتجاوز التغيرات المناخية (Al–Ghazi وآخرون،2021).

تظهر الدراسات المحدودة بأن قضايا المياه تحتل مرتبة عالية في العديد من المناطق في محافظة ريف دمشق بسبب قلة المياه والتكلفة العالية لاستخدام طرق الري الحديثة، وقد بينت الدراسات بأن 45 % من الأراضي فقط تعتمد على مياه الأمطار للري، وأصبح استخدام المياه الجوفية في سورية مكلفاً (Tull وآخرون،2017).

مما لا شك فيه بأن المياه هي العامل الأهم في تطور الزراعة في سورية بسبب عدم انتظام الهطولات المطرية لذلك يعتمد الإنتاج الزراعي في معظم المحافظات السورية على الري، تظهر أحدث التقديرات أن الزراعة تستهلك (87) في المئة من المياه المسحوبة من طبقات المياه الجوفية العذبة في سورية بالإضافة إلى الأنهار والبحيرات. (FAO–AQUASTAT, 2012)

لذلك يجب العمل على المحافظة على المورد المائي الموجود والبحث عن طرق لتخفيض الاستهلاك في القطاع الزراعي قدر المستطاع، والبحث عن مصادر وطرق جديدة تدعم احتياجات القطاع الزراعي من المصدر المائي كطرق المعالجة او تحلية مياه البحر التي تعد حتى هذه الأيام ذات تكلفة عالية ولا تتناسب مع الإمكانيات المتاحة في زراعة المحاصيل وينحصر استخدامها في الحالات الضرورية، لذلك يجب حالياً الاهتمام بترشيد استهلاك المياه بالقطاع الزراعي بما يتناسب مع الزيادة السكانية والتغيرات المناخية ونقص الموارد المائية.

هناك عدة طرق لمقاومة الجفاف والتأقلم مع نقص الموارد المائية للقطاع الزراعي، ومنها الاستمطار الصناعي، واستنباط أصناف متحملة للجفاف، واستخدام الري التكميلي للزراعة البعلية للوصول إلى أعلى كفاءة في استعمال المياه، واستخدام محاصيل ذات احتياج مائي أقل أو استنباط أصناف متحملة للإجهاد المائي والعمل على تحديد الاحتياجات المائية لتقديمها بشكل دقيق دون فواقد مائية، بالإضافة لتقنيات الري مثل الري الموضعي والري الناقص واستخدام المالش عند الري لتخفيض الفواقد المائية.

ويعد محصول القمح من الناحية الزراعية ذا مكانة مميزة في قائمة المحاصيل الغذائية في العالم، حيث يتصدر المحاصيل الحقلية من حيث المساحات المزروعة فيزرع في 120 دولة في العالم. كما يحتل أكبر مساحة مزروعة (17 % من المساحة المزروعة عالمياً)، مقارنة مع محاصيل الحبوب الأخرى إذ وصل الإنتاج في عام 2020 إلى ما يقارب 760 مليون طن، في حين تصل الاحتياجات والطلب إلى 1026 مليون طن (FAO,2021).

يعد القمح من أهم المحاصيل الاقتصادية إذ يغطي 23.4 % من الاحتياج العالمي للغذاء، كما يشكل مصدراً غذائياً رئيساً لحوالي 40 % من سكان العالم ويغطي 20 % من السعرات الحرارية والبروتين في الغذاء البشري. تنتج منطقة حوض البحر المتوسط أكثر من 85 % من إنتاج العالم من القمح القاسي، ويتراوح معدل استهلاك الفرد في هذه المنطقة من منتجات القمح القاسي ما بين 150–200 كغ/سنة، وهي أعلى المعدلات في العالم، ويزرع القمح بنوعيه الطري والقاسي في سورية على امتداد مساحات كبيرة مروياً أو بعلياً.

صرحت منظمة الأمم المتحدة للأغذية والزراعة (FAO, 2022)، بأن محصول القمح في سورية لعام 2022 بلغ نحو مليون طناً، بانخفاض 75% عن مستويات ما قبل 2011، في حين أن الشعير بات " شبه منعدم" ، يزرع القمح في سورية في مناطق (الاستقرار الأولى والثانية) بعلياً وبقية المناطق مروياً، لذلك لابد من إيجاد تقنيات جديدة تزيد من إنتاجية القمح وتحسن نوعيته كزراعة الأصناف المحسنة والمعاملات الزراعية الجيدة واستخدام الأسمدة وأساليب الري الحديث، واستخدام الري التكميلي للزراعة البعلية.

هناك توجه عالمي في السنوات الأخيرة لاستخدام الكائنات الحية الدقيقة المتخصصة لتلقيح النباتات، حيث تتمثل الأساليب الحالية في الاختيار الاصطناعي للمكروبات والملقحات المختلطة مثل البكتيريا الجذرية المحفزة لنمو النبات PGPR (Plant Growing Promoting Rhizobactria) كأسمدة حيوية، عبر الاستفادة المثلى من العناصر المغذية وأليات نمو المحاصيل في التربة (Quddus وآخرون،2021).

توجد استراتيجيات مباشرة تساعد البكتريا الجذرية من خلالها النبات على النمو وذلك بتثبيت الأزوت الجوي بشكل حر بالإضافة الى الإفادة من العناصر المعدنية في التربة (الفوسفات والبوتاسيوم) مما يسهل امتصاصها من قبل جذور النبات بالإضافة إلى إفرازهم هرمون النمو حمض الأندول الخلي (IAA) الذي يحفز نمو وانتشار المجموع الجذري (Agustiyan وآخرون،2021).

مما ذكر ولما لمحصول القمح من أهمية في القطاع الزراعي وفي ظل التغيرات المناخية والاتجاه نحو الأسمدة الحيوية، ومحاولة رفع استجابة وتحمل القمح للإجهاد المائي لتصبح إنتاجية القمح أعلى ما يمكن، بما يتوافق مع الموارد المائية المتوفرة وتمت الدراسة الحالية لتقييم أثر البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو على محصول القمح تحت تأثير الري الموضعي ومستويات من الري الناقص ومدى استجابة القمح لها.

0–2 الإشكالية البحثية:

تتمركز القضية التي يعالجها البحث في الاستعمال الأمثل للموارد المتاحة، بغية الوصول إلى أعلى إنتاجية ممكنة في القطاع الزراعي بشكل خاص لأحد أهم المحاصيل عالمياً وأحد ركائز الأمن الغذائي.

لأن ترشيد استعمال الموارد المتاحة من مياه عذبة في مجالات الري أصبح ضرورة أساسية بسبب الازدياد السكاني وزيادة الطلب على المياه العذبة وعلى الغذاء الذي يمثل القمح نسبة كبيرة في النظام الغذائي لمعظم شعوب العالم. تبعاً لما ذكر أصبح من الضروري رفع إنتاجية المحاصيل الاستراتيجية بالأخص محصول القمح ليتناسب مع تضخم الاحتياجات الغذائية للجنس البشري.

الأمر الذي يدعو إلى إيجاد طرائق بديلة لرفع كفاءة استعمال المياه، مثل الري الناقص وجدولة الري وتقديم المقنن المائي المناسب بالري الموضعي دون فواقد مائية. مع ضرورة التركيز على البصمة المائية (كمية المياه اللازمة للوصول الى كمية محددة من المحصول) بالطرق الزراعية، وبالأخص للمحاصيل التي تزرع بمساحات واسعة وتتطلب كميات ضخمة من المياه العذبة في ظل انخفاض المورد المائي في معظم بلدان العالم.

فتقوم بعض المراكز البحثية باستنباط أصناف للمحاصيل الإستراتيجية متحملة للإجهادات المائية وتحافظ على إنتاجيتها في الحد الأدنى لمياه الري، كما يستوجب البحث عن آليات تفاعلية يمكن أن تساعد المحصول في المحافظة على الغلة المرجوة في كميات مياه أقل من المعتاد.

يتجه التفكير هنا نحو الأسمدة الحيوية النظيفة التي تساعد النبات عبر آليات معينة للمحافظة على نموه وإنتاجيته في ظل الموارد المائية المتاحة، وهذا يساعد أيضا في التقليل من استعمال الأسمدة الكيمائية التقليدية لما لها من أثر تلوثي على الطبيعية والمياه الجوفية.

بمعنى آخر أصبح الأمن الغذائي الهاجس الأكبر في العالم في ظل الانفجار السكاني الذي وصل إلى حوالي ثمانية مليار، ومحدودية الموارد المتاحة من حيث المياه العذبة واستعمالها بأفضل الأساليب لتأمين الحد الأدنى من الاحتياجات للمحاصيل الأساسية للإنسان.

0–3 تساؤلات البحث:

تهدف معظم الدراسات والتجارب الزراعية إلى رفع الإنتاجية لنوع نباتي معين أو استثمار الموارد الزراعية أو معالجة آفة تدمر النبات وتخفض إنتاجيته أو رفع فعاليته.

توجد عدة نقاط مهمة وحيوية في المجال الزراعي يحاول البحث الإجابة عليها، هل إدارة واستعمال الموارد المائية بطرق مدروسة بالأخص في القطاع الزراعي والزراعات للمحاصيل الاستراتيجة كالقمح يساهم في الحد من الهدر بما يؤمن الاحتياجات الغذائية المطلوبة.

هل هناك أثر لنظم الري المطبقة (الري الناقص) في محصول القمح، وتحديد الاحتياجات المائية وفق جدولة الري المتبعة في المحافظة على إنتاجية القمح بكميات مياه ري أقل، وإمكانية استبدال الأنظمة العشوائية المتبعة في أساليب الري لهذا المحصول المهم (القمح) وجدولة مقننات الري.

هل هناك أثر لاستخدام الأسمدة الحيوية وبالأخص البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو في إنتاجية القمح، وهل يوجد إمكانية استخدامها كداعم محلي نظيف وحيوي مساعد للأسمدة الكيمائية التقليدية، عبر مقارنة أثره في غلة المحصول واستجابته للآليات التي تقوم بها هذه الأنواع البكتيرية في محيط جذر النبات وهذا يعطي النبات ما يلزمه ضمن علاقة تفاعلية بين جذور النبات ونمو هذه البكتيرية.

إضافة لما ذكر سنستعرض أثر عدة عزلات بكتيرية من البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو في المحافظة على الإجهاد المائي، وهل يحافظ القمح القاسي (شام3) على إنتاجيته عند القيام بالتلقيح البكتيري في ظل نقص المقنن المائي المقدم له وفق ظروف الإجهاد المائي.

مما ذكر يستوجب أيضا التساؤل عن تعريف هذه الأنواع البكتيرية وتحديد شجرة القرابة الوراثية، الأمر الذي يتيح إمكانية اعتمادها وتصنيفها كأسمدة حيوية نظيفة ومهمة لمحصول القمح، تحافظ على إنتاجيته ضمن الموارد المائية المتاحة.

هذه الاستفسارات والتساؤلات يحاول البحث الإلمام بها والإجابة عنها في ضوء النتائج التي سيخلص إليها.

0-4 أهداف البحث:

- تحديد الاحتياج المائي الفعلي لصنف القمح القاسي (شام3) تبعا لحوض التبخر كلاس A وجدولة الري للوصول إلى أعلى كفاءة في استعمال المياه.
- تطبيق معاملات ري مختلفة (الري الناقص) وفق الجدولة المتبعة، ودراسة استجابة القمح القاسي (شام3) لها، وأثرها في المؤشرات المدروسة.
- البحث عن عزلات من البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPR)، المتعايشة والمرافقة لجذور نبات القمح، واختيار الأنسب منها وفق الاختبارات المحددة.
- تطبيق التلقيح بالبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو وفق مستويات الري المختلفة، ودراسة أثرها في المؤشرات المدروسة، ورفع استجابة القمح للإجهاد المائي المطبق، وتأثيرها في كفاءة استعمال المياه.
- العمل على تحديد وتعريف الأنواع البكتيرية ذات النتائج الإيجابية، للوصول الى الهدف المرجو من زيادة الإنتاج والحد من استهلاك مياه الري باستخدام أنواع بكتيرية محددة.

0–5 أهمية البحث:

يحاول البحث معالجة أهم القضايا التي لها صلة وثيقة باستمرارية الإنسان، كالماء والقمح، في ظل التغيرات المناخية التي أدت إلى انحسار الموارد المائية، الأمر الذي يستوجب الترشيد باستخدامها وبالأخص في القطاع الزراعي الذي يستهلك معظم المياه العذبة في الأرض. كما لا تقل أهمية القمح عن ذلك إذ يعد من الركائز الأساسية في الأمن الغذائي العالمي، والمصدر الأساسي في تغذية معظم السكان وبالأخص في حوض البحر المتوسط وشمال إفريقيا.

اعتماداً على ما ذكر نلاحظ ارتباط الدراسة المقامة في سبيل ترشيد ورفع كفاءة استعمال المياه لأهم المحاصيل عالميا بطرق عضوية (أسمدة حيوية)، تعد نظيفة وغير ملوثة للمصادر المائية الجوفية. ويمكن عدها إحدى السبل في التكيف مع التغييرات المناخية من احتباس حراري ونقص هطولات مطرية وجفاف أنهار وضعف في مناسيب المياه الجوفية إضافة إلى الزيادة السكانية المفرطة عالمياً التي تؤدي إلى زيادة الطلب على هذه الموارد سواء المائية أو الغذائية.

ويتم استخدام أساليب أكثر دقة مثل جدولة الري والري الناقص، لرفع إنتاجية القمح بكميات ري محسوبة تقلل من الهدر على مستوى مساحات كبيرة مزروعة بهذا المحصول الإستراتيجي، عبر إضافة مكون بكتيري حيوي عضوي يتلاءم مع التربة ومع جذور النبات ويرفع من قدرته على الاستجابة واستمرار النمو بظل هذه التغيرات التي يشهدها العالم بشكل عام.

القيمة العلمية للبحث تتجلى بتوثيق العلاقة بين هذه الأنواع البكتيرية المفيدة للنبات على محصول إستراتيجي كنبات القمح في ظل الإجهادات المائية المطبقة بالري الناقص، وهذا يفتح أبواب إلى دراسات أكثر تنوعاً لاستخدام البكتيريا الجذرية في مقاومة إجهادات بيئية أكثر تنوعاً كارتفاع الحرارة او الإجهاد الملحي على سبيل المثال.

6-0 مسوغات البحث:

نتيجة نقص الموارد المائية بالعالم بشكل عام ومنها سورية، وازدياد الطلب على المنتجات الغذائية نتيجة التضخم السكاني، أصبح من الضروري العمل على جدولة (تحديد كميات ومواعيد) الري وتحديد المقنن المائي بشكل دقيق للمحاصيل الغذائية المهمة مثل القمح القاسي، والعمل على رفع كفاءة استعمال المياه للوصول إلى الإنتاج المطلوب بأقل كمية مياه ممكنة.

وتعد تقنية الري الناقص إحدى الطرائق المستخدمة في المحافظة على المياه، من هنا تنبع أهمية دراسة أثر الري الناقص بعدة مستويات على القمح القاسي (شام3)، لمعرفة استجابة القمح لعدة مستويات ري في المحافظة على الإنتاجية، والعمل على دمج هذه التقنية بطرق تدعم وتحفز القمح للاستمرار في النمو ورفد القطاع الزراعي بالكميات المطلوبة من الإنتاج المحلي وفق الاحتياجات.

ومن الطرائق المستخدمة عالمياً للحصول على إنتاجية عالية في المحاصيل استخدام التلقيح بالبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPR)، التي أكدت فعالية عالية في دعم النبات بالعناصر الأساسية المغذية وإفراز الهرمونات النباتية المساعدة، من هذا المنطلق يجب على الدراسات المحلية البدء باستخدام وتحديد سلالات بكتيرية جذرية مساعدة ومتكيفة مع الظروف البيئية لأهم المحاصيل المزروعة ألا وهو القمح.

إن دراسة أثر العاملين معاً على إنتاجية القمح القاسي (شام3)، يفتح أبواباً علمية وزراعية مهمة جدا في القطاع الزراعي، من حيث المحافظة على الموارد المائية والعمل على رفع إنتاجية أكثر المحاصيل زراعة في العالم وفي سورية بشكل خاص، باستخدام التلقيح البكتيري (PGPR) الذي يعد عاملاً مهماً في رفع استجابة النبات للإجهاد المائي وغير ملوث للمياه الجوفية.

الفصل الأول

الدراسة المرجعية Literature review

1 – الدراسات المرجعية:

1–1 الري الناقص وتحمل الإجهاد المائي في القمح:

هناك العديد من الدراسات الحديثة المنفذة على محصول القمح، والذي لا يزال محط اهتمام عالمي من حيث دراسة علاقة إنتاجية القمح وكفاءة استعمال المياه تبعا للعمليات الزراعية المقدمة، وقد بينت معظم هذه الدراسات تأثر القمح بمستويات الري المطبقة حيث تنخفض الإنتاجية بشكل واضح عند الري الناقص وأوضح (Zaman وآخرون،2019) أيضا أهمية حساب المقنن المائي وجدولة الري وفقا للمعادلات المائية المطبقة الأمر الذي يرفع إنتاجية المحصول بنسبة 11 % بالمقارنة مع الري التقليدي المتبع وذلك يختلف بحسب العوامل المناخية والخصائص المائية للتربة.

تنصح الأبحاث باستخدام حوض التبخر لجدولة الري لأنه يعطي قيم البخر والنتح الميدانية والقريبة من المحصول المزروع، وتمت دراسة جدولة الري لمحصول القمح وأثر الري الناقص وفق أربع معاملات ري (عند المراحل الحرجة) CS (critical stages)، (0.6 IW –CPE ، 0.8 IW –CPE، 1 IW –CPE) (Irrigation Water (IW) – Cumulative Pan Evaporation (CPE). حيث تعبر النسب بجانب الرمز IW –CPE عن نسبة إضافة مياه الري لكل معاملة تبعا لكميات المياه المتبخرة من حوض التبخر، تبين النتائج تأثر القمح بمعدلات الري المقدم وتفوقاً معنوياً للري عند المراحل الحرجة على جميع المعاملات، وانخفاضاً واضحاً في الإنتاج عند الإجهاد المائي بتطبيق IW CPE 0.6 وفق المعاملات المطبقة بالتجربة الحقلية المذكورة. (Deo وآخرون،2017).

هناك بعض الدراسات التي بحثت عن أثر الري في انتشار المجموع الجذري والنشاطات الكيمائية والهرمونية التي يقوم بها ، حيث دُرس أثر الري التكميلي على أعماق مختلفة في نشاط المجموع الجذري وتبين ازدياد نمو المجموع الجذري للقمح عند محتوى الماء المتوفر في عمق 40 سم الذي ترافق مع فروق معنوية في نسبة البروتين القابل للامتصاص(SP) ونشاط الكاتالاز (CAT) في الجذر و زيادة تركيز سوبر أكسيد ديسموتاز (SOD) وهذا انعكس بشكل ملحوظ على إنتاجية القمح مقارنة مع الشاهد المطري أو عند الري التكميلي على

أعماق (0–20 سم) (0–60سم) (Man,2015). وهذا يتفق مع دراسة (Chen وآخرون،2014) التي تؤكد على تأثير نظام الري المستخدم وكميات المياه المقدمة للمحصول على نمو وكثافة المجموع الجذري وعمق انتشاره ونشاطه. كما أكد (Khan وآخرون،2020) خلال تجربة حقلية لمدة 3 سنوات على محصول القمح الشتوي في ظروف الأراضي الجافة لتحسين قدرة التربة بحفظ المياه عن طريق عملية الحراثة (خصائص فيزيائية) وإضافة السماد الأزوتي. حيث أن الحراثة العميقة قبل الزراعة (25–30سم) تؤدي إلى زيادة تخزين مياه التربة عند الزراعة، وزيادة الإنتاج مترافقاً مع رفع كفاءة استعمال الماء.

وبالإضافة لذلك بينت التجارب طويلة الأمد لمدة 13 عاماً التي قام بها(Huang وآخرون،2005).أثراً واضحاً لتنظيم جدولة الري لمحصول القمح الطري (Triticum aestivum. L) في إنتاجية القمح و رفع كفاءة استعمال المياه بتنظيم الري، وإضافة القش الذي قلل من البخر من سطح التربة ورفع كفاءة استعمال المياه.

كما أجريت أبحاث لجدولة الري خلال مراحل النمو المختلفة للقمح الطري (Triticum aestivum. L) حيث تم مقارنة جداول الري للقمح للحصول على أقصى إنتاجية، فتبين بأن 300 مم هي الكمية المثلى للري. وأظهرت النتائج أنه مع زيادة (البخر والنتح) ET، فإن متطلبات الري للقمح الشتوي تزداد كما هو الحال مع تبخر التربة ولكن كميات الري المفرطة يمكن أن تقلل من محصول الحبوب وWUE (كفاءة استعمال المياه). وتشير هذه النتائج إلى أن الري المفرط لا ينتج غلة بالمحصول أكبر ، وبالتالي يُنصح بالقيام بجدولة الري المناسبة (Sun وآخرون،2006).

هناك الكثير من الأبحاث الحديثة التي تعمل على عامل الري لتعزيز نمو محصول القمح وتحسين كفاءة استعمال المياه (WUE)، وعلى سبيل المثال هناك من يعمل على تغيير الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمياه عن طريق مغنطة المياه الجوفية قبل القيام بعملية الري التي زادت مستويات الأس الهيدروجيني ومحتوى الأكسجين المذاب في الماء ، وانخفض التوتر السطحي ومعاملات اللزوجة (Wang وآخرون،2022)، ودراسة

أثرها على إنتاجية القمح، رغم المساعي للوصول إلى كفاءة ري عالية بهذه الطريقة ولكن يوجد بعض الاعتراضات العلمية عليها لسنا بصدد مناقشتها.

يعد الري الناقص كما ذكرنا أحد أساليب رفع كفاءة استعمال المياه، حيث دُرس دوره في إنتاج القمح بالمناطق شبه القاحلة والتي تتصف بقلة هطول الأمطار (200–400 مم في السنة)، وعدم انتظام توزيع هطول الأمطار واشتداد الجفاف خلال موسم نمو المحاصيل. لذا فإن جدولة الري مهمة لزيادة غلة المحاصيل وتقليل استعمال المياه، حيث بينت النتائج انخفاض كفاءة استعمال المياه للمادة الجافة الكلية (WUE–TDM) تدريجياً عندما زادت مستويات الري. تم تسجيل أعلى WUE–TDM (3.24 كجم / م 3) تحت ظروف بعلية (معالجة D4) ، في حين تزداد كفاءة استعمال المياه في محصول الحبوب (WUE–GY) بشكل كبير عند زيادة مستويات الري. حيث سجل الري المعتدل (D2) أعلى WUE–GY (1.63 كجم / م 3). (Cheikh M'hamed وآخرون،2015).

قبل البدء في رفع كفاءة استعمال المياه للمحاصيل يجب توضيح هذا المفهوم أو ما يُعرف بكفاءة النتح (التبادل الأساسي) عند عملية التمثيل الضوئي التي تقوم على تثبيت الكربون وفقدان الماء الذي يحدث في نباتات الأراضي الجافة، لأن الماء يتبخر من الأنسجة الخلوية للأوراق كلما فتحت الثغور للحصول على ثاني أكسيد الكربون. وكفاءة النتح لنباتات المحاصيل بشكل عام منخفضة لأنها تفقد عادة ما يزيد عن 100 ضعف من الماء أكثر من الوحدات المكافئة للكربون المثبتة عن طريق التمثيل الضوئي، كما تؤكد الأبحاث وجود تباين وراثي في نباتات المحاصيل بمعدل النتح، ويجب العمل على تحديد تأثيرها النسبي في ظل الظروف المثالية للري وكذلك محدودية المياه، وإيجاد الأساليب والاصناف التي تعطي قيماً أعلى (Bramley وآخرون،2013).

تم تعريف كفاءة استعمال المياه (WUE) من قبل (Hatfield وآخرون،2019) على أنها كمية الكربون التي يتم استيعابها ككتلة حيوية أو حبوب منتجة لكل وحدة مياه يستخدمها المحصول. أحد الأسئلة الأساسية التي يتم طرحها هو كيفية استجابة النباتات للمناخ المتغير مع التغيرات في درجة الحرارة وهطول الأمطار وثاني أكسيد الكربون (CO_2) التي تؤثر على WUE على مستوى الورقة، تؤدي زيادة ثاني أكسيد الكربون إلى زيادة WUE

حتى تتعرض الورقة لدرجات حرارة تتجاوز النمو المثالي (أي تتعرض إلى الإجهاد الحراري) ثم يبدأ WUE في الانخفاض. تظهر الأوراق المعرضة لنقص المياه (أي إجهاد الجفاف) استجابات متفاوتة في WUE. حيث ترتبط استجابة WUE ارتباطًا مباشرًا بالعمليات الحيوية التي تتحكم في تدرجات CO2 وH2O، فإن ديناميكيات استعمال مياه المحاصيل وتراكم الكتلة الحيوية يجب أن تأخذ في الحسبان معدل تبخر مياه التربة، والنتح من الأوراق، ونمط نمو المحصول. ويمكن تحقيق تحسين WUE من خلال تبني ممارسات تقلل من مكون تبخر مياه التربة وتحويل المزيد من المياه إلى النتح والذي يمكن أن يكون من خلال إدارة بقايا المحاصيل، والتغطية، وتباعد الصفوف، وأساليب الري.

أثبتت الأبحاث التي أجريت على مدار العقود الماضية أن حمض الأبسيسيك (ABA) هو منظم مركزي لاستعمال المياه في أغلب المحاصيل إذ ينظم بشكل مباشر فتح المسام والنتح، وهذا حث الباحثين على استخدام مستقبلات ABA للقمح حيث يقلل بشكل كبير من استهلاك المياه طوال عمر النبات، وهي نتيجة لانخفاض النتح والزيادة المصاحبة في نشاط التمثيل الضوئي، واللتان تعززان معاً إنتاج الحبوب لكل لتر من الماء وتحمي الإنتاجية في أثناء نقص المياه. (Mega وآخرون،2019)

كما تم العثور على أصناف من القمح شبه قزمة (حساسة لحمض الجبريليك) ذات إنتاجية عالية من الحبوب وحيوية مبكرة عالية في الوقت نفسه، الأمر الذي فتح طرقًا جديدة لزيادة WUE_{yield} في القمح وتوضع توصيات لبعض الممارسات الزراعية (على وجه الخصوص، استخدام أنظمة "الري الناقص") المرتبطة بالسمات الحيوية التي تمنح WUE_{yield} أعلى، على وجه الخصوص، في حالات مناطق البحر الأبيض المتوسط. (Tambussi وآخرون،2006)

إن فهم آلية استجابة النبات للإجهادات البيئية وبالأخص المائية منها، يفتح المجال للبحث عن طرق تساعد النبات على تجاوزها وتوضح الدراسات أن النقص الحاصل في رطوبة التربة مقارنة مع الاحتياجات المائية

للمحاصيل المزروعة بها في مراحل نمو وتطور معينة، يسبب للنباتات اجهاداً بيئياً يحد من العمليات الحيوية العادية (التمثيل الضوئي–التنفس–نمو الخلية–استتباب النبات) (Lawas وآخرون،2019).

حيث تؤدي ظروف الإجهاد المائي، والإشعاع الشديد لأشعة الشمس، ودرجة الحرارة العالية، إلى تقليل نشاط الأنزيمات التي تهدف إلى إزالة السموم مثل H2O2، الذي يعيق نمو نبات القمح في حال وصل إلى حد معين، ويمكن للقمح أن يتحمل إجهاد الجفاف من خلال تعزيز أنشطة أنزيم مضادات الأكسدة والنشاط الأنزيمي الأوكسجيني. (Aliyeva وآخرون،2020).

كما توضح أبحاث (Rane وآخرون،2022) أن الآليات التي تحفز تحمل الجفاف في النباتات على المستوى الخلوي. بالتوازن بين إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) وإيقافها من خلال نظام مضاد للأكسدة (AOS)، لأن الأدوار المحتملة لتوازن ROS–AOS في تعزيز الاستعمال الفعال للمياه (EUW) من قبل المحاصيل في الأراضي الجافة المحدودة المياه، يمكن تعزيز EUW من خلال التوازن المناسب بين توفير المياه والنمو المتقطع على مستوى النبات بالكامل خلال مراحل الإجهاد والتعافي بعد الإجهاد. أي التلاعب بتفاعلات ROS–AOS التي تشكل دورًا مهمًا في آليات توفير المياه والكتلة الحيوية المتراكمة الناتجة عن عمليات النمو التي تشمل انقسام الخلايا، وتمدد الخلايا، والتمثيل الضوئي. ويمكن استخدام التحسين الوراثي أو تطبيق المركبات الخارجية التي تعمل على توازن ROS–AOS الأمثل في ظروف الأراضي الجافة محدودة المياه.

هنالك علاقة وثيقة بين استجابة الوظائف الحيوية في القمح والتغيرات في رطوبة التربة حيث تساعد معرفة هذه العلاقة في مواجهة الجفاف عن طريق المواد البيولوجية أو تقنيات توفير المياه مثل تنظيم الري الناقص والحصول على كفاءة أعلى في استعمال المياه ، وقد دُرست معالجة الجفاف بعد الإزهار والتي أدت إلى ارتفاع كفاءة استعمال المياه وتحسين الوظائف الحيوية و زيادة نشاط بيروكسيداز (pr) ومحتويات (malondialdehyde) (MDA) وبرولين (proline)، خلال 15 يوماً من معالجة الجفاف بالإضافة إلى زيادة نشاط الكاتلاز بنسبة مرة ونصف (Mu وآخرون،2021) .

هناك الكثير من الدراسات الحديثة التي لا تزال تبحث عن طريق لرفع تحمل القمح للإجهادات البيئة (ملحية أو مائية) حيث أظهرت أبحاث (Jin–ting) في الصين عام 2018 تأثر القمح بإضافة هرمون20 E ، وهو هرمون نباتي يتم إفرازه لمقاومة الحشرات وتمكن من مساعدة القمح على الإنبات والنمو بظروف إجهاد ملحي ، غالبا عن طريق تخفيض تركيز MDA ومعدل الأكسدة بالإضافة إلى زيادة نشاط (SOD – POD – CAT – AsA) (حمض الأسكوربيك –الكاتلاز – بيروكسيداز – أنزيم ديثموتاز) و اقُتراح أن الرش الورقي لشتلات القمح فيما بعد الإنبات يؤدي إلى زيادة معنوية في النمو والإنتاج في ظروف الإجهاد.

وأكد (Castro وآخرون) عام 2010 أن استجابة القمح للإجهادات البيئية وللأمراض يتم عن طريق إفراز الهرمونات النباتية لاستمرار النمو والمحافظة على النبات و أن الآلية غير محددة بشكل دقيق ولكن لوحظ عند وجود إجهاد بيئي وتطبيق هرموني خارجي لمساعدة النبات يتم تحليل الإيثيلين (E)، وحمض الياسمين (JA)، وحمض الساليسيليك (SA) أو ABA.

هناك آليات استجابة متشابهة بشكل عام في القمح عند التعرض للإجهادات البيئية أو المسببات المرضية حيث يقوم بإنتاج أنواع من الأكسجين التفاعلي ولكن تعيق الشبكة المعقدة من الإجهادات التأكسدية معرفة الجين المسؤول بشكل واضح عن آلية استجابة القمح وقد تم تحديد جينين (QTL) quantitative trait locus في السلسلة الذي له أثر واضح في الاستجابة للإجهاد التأكسدي في القمح عبر الإثارة من خلال مسبب أمراض فطري، الذي يحفز عمله لمقاومة الإجهاد المائي (Zhong وآخرون،2021). كما يتم السعي حاليا عبر التعديل الوراثي لأصناف القمح في محاولة لرفع استجابتها للجفاف والاجهاد المائي، بحيث يتم تنظيم الجينات المتعلقة بحمض الجبريليك ، وحمض الجاسمونيك ومسارات أخرى في الجذور تحت ضغط الجفاف، وتؤكد الأبحاث أن التفاعل المنسق والمعقد بين الهرمونات والتسامح الخلوي وتخليق جدار الخلية واستقلاب ROS مطلوب من أجل نمو جذر القمح الناجم عن الجفاف. (Dalal وآخرون،2018)

ضمن الدراسات الوراثية التي قام بها (Dong وآخرون،2013) للوصول الى أصناف قمح مقاوم للإجهاد المائي تم ترميز تسلسل بروتينات نكليوتيدية TaOPR1 – OPRI المعزول من صنف قمح الخبز المقاوم للملوحة SR3 (Triticum aestivum). تسبب إجهاد الملوحة في مستوى أعلى من التعبير TaOPR1 في جذور شتلة الصنف SR3 مقارنة بالصنف الأبوي. تم إلغاء هذا النشاط عندما تم تثبيط تخليق حمض الأبسيسيك (ABA). حيث عزز TaOPR1 تخليق (ABA) حمض الأبسيسيك والمسار المستجيب للإجهاد المعتمد عليه، وحسن أنشطة (إنتاج) أنواع الأكسجين التفاعلية ونسخ جينات الترميز الخاصة، في حين قلل مستويات أنواع الأكسجين المتفاعلة والمالونديالديهيد. لم يتفاعل TaOPR1 مع تخليق jasmonate أو مسار إشارات jasmonate. بدلاً من العمل كمضاد للأكسدة فقط، نعتقد أن TaOPR1 يعمل في أثناء نوبات استجابة الإجهاد البيئي كمركب إشارات مرتبط بتنظيم شبكة الإشارات بوساطة ABA.

كما يتم العمل على إضافة مواد جزئية (بولوميرا) putrescence في بذور القمح الزراعية ودراسة أثرها في نمو القمح في ظروف الإجهاد، وقد بينت دراسات (Magada وآخرون،2018) وجود فعالية في الآلية و النشاط الهرموني للنبات وهذا يحافظ على نمو النبات في تلك الظروف ويحسن من الإنتاجية في ظروف الإجهاد البيئي. و هناك بعض التجارب قام بها (Sanal وآخرون، 2019) باستخدام مركبات فينولية لتقليل وتحييد الجذور من الإجهادات وبالأخص المعادن الثقيلة (زرنيخ – كاديوم –رصاص) والتي أعطت نتائج إيجابية في نمو القمح.

توضح الدراسات السابقة الجهود المبذولة عالمياً للوصول إلى الإنتاج المطلوب من محصول القمح بما يتوافق مع الظروف المناخية المحيطة، فمن الأهمية بمكان رفع مقدرة نبات القمح على تحمل الإجهادات المائية، للوصول الى أعلى إنتاجية ممكنة بما يتوفر من موارد مائية محدودة سواء كان نظاماً مروياً أو بعلياً مدعوماً بالري التكميلي أو من خلال الإضافات حيث مما ذكر نلاحظ التغيرات في إفراز الهرمونات في حالة الإجهاد المائي والسعي إلى إضافة بعض الهرمونات أو المواد المساعدة على تحليل المركبات.

لذلك هناك ضرورة واضحة لدراسة وتحديد أثر الإجهاد المائي لمحصول القمح المحلي والوصول إلى أعلى كفاءة لاستعمال المياه لهذا النبات المهم غذائيا واقتصاديا وزراعيا بالطرق المتاحة محلياً.

2-1 البكتريا الجذرية PGPR وأثرها على القمح.

تعد ميكروبات التربة عاملاً مهماً جداً لنمو النبات، لما توفره من عناصر مغذية ضرورية، حيث تقوم بعدة عمليات كيميائية وبيولوجية تحفز نمو وانتشار الجذور بشكل أفضل، وتختلف نسبة هذه الكائنات الحية الدقيقة من تربة لأخرى تبعا لنوع التربة وخصائصها ومحتوى المادة العضوية فيها، الأمر الذي لاستخدام السماد البيولوجي أو التلقيح البكتيري في التربة لمساعدة جذور النباتات على الوصول لهذه البكتريا وبالأخص التي تحفز نمو الجذور. حيث يوجد ملايين الميكروبات التي تعيش في التربة وتنتشر بمكان انتشار جذور النباتات وفي بعض الأحيان يحدث تواصل بيئي معقد بينها وبين النباتات تؤدي لزيادة الإنتاجية عن طريق تكاثر هذه الميكروبات وتفاعل النبات معها (Schmidt وآخرون،2014) و (Berg وآخرون،2009)

بنظرة تاريخية سريعة لتسمية واكتشاف البكتريا الجذرية التي تعد من الأحياء الدقيقة الموجودة في التربة والتي تنمو في المنطقة المحيطة لجذور النباتات ولها أثر مفيد في نمو النبات وتطوره ، كان الباحثان (Kloepper & Schroth,1978) أول من عرفها وأطلق عليها مصطلح (PGPR) ، واستمر كليبر بدراسة أثر هذه البكتريا على نمو النبات حيث أكد في عام 1980 أن التلقيح البكتيري (PGPR) يضاعف إنتاج درنات البطاطا إلى 5 أضعاف ، وبعد ذلك تم توضيح أثر التلقيح البكتيري في رفع استجابة النبات للإجهادات البيئية مثل (الجفاف ، الملوحة ، درجة الحرارة ، الخ)، حيث تقوم البكتيريا المحيطة بجذور النبات بعدة عمليات فيزيائية وكيميائية وبيولوجية في الجذور ينتج عنها انخفاض في إفراز الإيثلين من جذور النبات في حالة الإجهاد ، وتساعد على زيادة امتصاص العناصر من التربة (Sorensen وآخرون،1997) ، ولكن هذا النوع من البكتيريا يتفاوت وجوده في الترب تبعا لنوع التربة والمزروعات السابقة ، إذ من الأفضل إضافة هذه البكتيرية عبر التلقيح البكتيري للوصول إلى النشاط البكتيري المطلوب للقيام بالعمليات الحيوية التي تساعد النبات على النمو وتحمله للإجهادات البيئية (Whipps وآخرون،1990).

يمكن حصر السلالات البكتيرية الجذرية المحفزة للنمو في المجموعة التالية (Pantoea و Citrobacterو Enterobacter و Pseudomonas و Rhizobium و Ensifer)، حيث تعد أنواع

Serratiaعضوًا في عائلةEnterobacteriaceae . هناك العديد من النباتات المرتبطة بـ .Serratia sp و من المعروف أن العديد من هذه العزلات تتمتع بقدرات تعزيز نمو النبات (PGPR) وإمكانية استخدامها في المكافحة الحيوية بناءً على المضادات الحيوية (prodigiosin and pyrrolnitrin) وإنتاج الأنزيمات (chitinases and β–1,3–glucanases)، ضد الفطريات المنقولة بالتربة والمسببة للأمراض التي تصيب المحاصيل المختلفة.

عند استخدام البكتريا الجذرية (PGPR) في تلقيح القمح، تبين ارتفاع مؤشرات النمو (انتشار الجذور– المجمع الخضري – ارتفاع النبات–الوزن الجاف للنبات) بشكل معنوي، وترافق ذلك بارتفاع واضح في الغلة، مقارنة مع عدم التلقيح (Khalid وآخرون،2004) . أدى التلقيح البكتيري Pseudomonas لنبات القمح إلى زيادة نمو النبات وبالأخص نمو الجذور مع وجود فروق معنوية واضحة بكمية الغلة (Elliot وآخرون،1984).

أدى تلقيح بذور القمح ببكتريا مذيبة للفوسفور (Phosphate solubilizing bacteria) مع وجود تسميد بسوبر الفوسفات $Ca3(HPO_4)2$ إلى زيادة معنوية بانتشار الجذور وارتفاع النبات وغلة البذور وارتفاع محتواها بالفوسفور ومساحة المجموع الخضري، بحيث ارتفعت نسبة الغلة مع وجود التسميد 40 –30% مقارنة بالتسميد دون إجراء تلقيح وارتفعت الغلة بنسبة 20 % عند التلقيح دون إضافة السماد (Afazal وآخرون،2008).

ضمن الأبحاث المقامة للوصول إلى بكتيرية جذرية PGPR مفيدة لنبات القمح، تم فحص عزلة بكتيرية معززة لنمو النبات (D5 / 23T) من الغلاف الجذري للقمح الشتوي، قادرة على تثبيت النيتروجين وإنتاج الأوكسينات والسيتوكينين في نهج تصنيف متعدد الأطوار. أشارت التحليلات الوراثية باستخدام تسلسل الجين 16sr RNA للسلالة بوضوح إلى أن السلالة تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae ، والأكثر ارتباطًا بـ Enterobacter cloacae بنسبة 99.0 ٪. أظهر التحليل الوراثي المشتق من تسلسل الجين rpoB أعلى تشابه في التسلسل مع 93% (Enterobacter cowanii) وعلى أساس تحليلات علم الوراثة والخصائص الكيميائية و الحيوية الفريدة،

أُقترح أن تمثل السلالة D5 / 23T نوعًا جديدًا من جنس Enterobacter الذي نقترح عليه اسم Enterobacter radicincitans sp.nov (Kämpfer وآخرون،2005).

تؤدي بعض البكتيريا الموجودة في الكومبوست المشترك أدوارًا مهمة أثناء عملية التسميد وزراعة النباتات بعد الإخصاب، وبعض السلالات متعددة الوظائف لديها إمكانية استخدامها في تسريع التحلل الحيوي، حيث تبين تأثير واضح للعزلة Citrobacter sedlakii في تعزيز نمو النبات من خلال (تثبيت النيتروجين؛ إذابة الفوسفور والبوتاسيوم والسيليكات ؛ إنتاج حمض الأندول 3–أسيتيك والأمونيا وحمض الحديد) ، والتحكم البيولوجي (إنتاج الكيتينيز والنشاط المضاد للجانوديرما) والسماد (تحلل اللجنين ، الزيلان ، والسليلوز)(Chine وآخرون،2017).

تعد السلالة البكتيرية (Citrobacter braakii) أفضل السلالات الجذرية لأنها تمتلك القدرة على تنشيط إنزيم الفايتيز الذي يعد مهماً لجعل الفيتات–الفوسفور (P) متاحًا للنبات ، لذلك تم استخدام هذا النوع من البكتريا الجذرية للتعديل الوراثي على سلالات بكتريا أخرى لرفع إفراز أنزيم الفايتيز (app) ، و أجريت بعض الدراسات على جميع سلالات من البكتيريا الجذرية ، وأظهرت التجارب أن سلالات البكتريا الجذرية المعدلة وراثيا لإظهار مستويات مختلفة من نشاط إنزيم الفايتيز ، تتراوح من 10 أضعاف إلى 538 مرة أعلى من سلالات البكتيرية الشاهد (غير المعدلة) المقابلة (Patel وآخرون،2010) .

في مقارنة بين السلالات واختبار الأدوار الوظيفية لـ PGPB مثل تثبيت النيتروجين وإذابة البوتاسيوم والفوسفات وإنتاج IAA، حيث تم تحديد البكتيريا باستخدام تسلسل جين srRNA16 والتحقق منها باستخدام BLAST لقاعدة بيانات NCBI. أظهرت النتائج أنه من بين 19 عزلة بكتيرية، أظهرت جميعها فعالية تثبيت النيتروجين، كان G5 أعلى معامل ذوبان الفوسفور والبوتاسيوم، في حين أنتجت سلالة Citrobacter braakii 167 أعلى تركيز IAA. أظهر تحليل التوافق أن سلالة Citrobacter freundii LMG 3246 و Citrobacter braakii DSM 17596 و G5 متوافقة مع كونسورتيوم البكتيريا. وجدت هذه الدراسة تركيبة سماد حيوي جديدة ومفيدة لتعزيز نمو النبات وتقليل استخدام الأسمدة الكيماوية(Denaya وآخرون،2021).

أيضاً يتم استخدام السلالة Enterobacter hormaechei (KSB–8) كبكتيريا جذرية محللة للبوتاسيوم ، وإمكانية تقليل استخدم البوتاسيوم الكيميائي عن طريق هذه السلالة مع فلدسبار البوتاس في المحلول المغذي للزراعات المائية المطبقة على محصول الخيار . وتبين ازدياد نمو المحصول عند التلقيح ببكتيريا KSB–8 وتأثيره الواضح على الغلة وعليه ينصح باستخدامها كمخصب حيوي وبديل عن الأسمدة الكيمائية وبالأخص للمحاصيل التي تحتاج كميات بوتاس مثل الخيار (Prajapati وآخرون،2016).

نلاحظ مما سبق عدد الدراسات والاهتمام في البكتريا الجذرية المحفزة للنمو والمحاولات الحثيثة لرفع إنتاجية النبات عن طريقها ودراسة وفهم آلية عمل كل سلالة بما يخدم الغاية المرجوة وفقا لكل بيئة أو طبيعة استخدام وهذا يدل على أن هذا النوع من الأسمدة الحيوية سيكون البديل الحتمي والمساعد لرفع إنتاجية النباتات في ظل ما يمر به العالم من تغيرات مناخية وتزايد سكاني واتجاهات إلى زراعة نظيفة للمحافظة على صحة الإنسان وموارد الأرض على حد سواء.

3-1 البكتريا الجذرية PGPR وأثرها في مقاومة الإجهادات البيئية.

تسهم البكتريا الجذرية المحفزة للنمو بشكل فعال في زيادة نمو النبات عبر عدة آليات، بطريقة مباشرة عبر إفراز منشطات النمو وزيادة قدرة النبات على امتصاص العناصر المغذية من التربة، أو بطريقة غير مباشرة عبر زيادة مقاومة النبات للمسببات الممرضة والإجهادات الملحية أو المائية في الدراسة المقامة على نبات الذرة (Ribeiro & Cardoso, 2012).

هناك عدة آليات نشاط PGPR يمكن أن تسهم في الخصائص الوظيفية للنبات سواء تم استخدامها كسماد بيولوجي أو معاملة بكتيرية (تلقيح بكتيري)، حيث ترفع استجابة النباتات الملقحة للإجهادات البيئية (Ruzzi & Aroca, 2015) ، وتوضح الدراسات أن استخدام التلقيح بالبكتيريا الجذرية تساعد النباتات الحساسة للملوحة بالقيام بعمليات فيزيولوجية وكيميائية بإفراز هرمونات النمو وتساعد على رفع استجابة النبات للإجهادات الملحية. (Radhakrishnan وآخرون،2017)

في إطار تطوير عامل تكنولوجي حيوي جديد لتحسين تكيف نباتات المحاصيل مع الجفاف في النظم البيئية القاحلة، تم عزل سلالة جديدة LTYR-11ZT التي تمثل نوعاً جديداً من جنس Pantoea ، وتم اقترح اسم Pantoea alhagi sp. كشفت الملاحظة المجهرية أن سلالة LTYR-11ZT تستعمر بشكل فعال جذور نبات القمح. وكانت قادرة على تعزيز نمو القمح وتعزز مقاومته لإجهاد الجفاف. حيث قامت بزيادة تراكم السكريات القابلة للذوبان، وتقليل تراكم البرولين و المالونديالديهيد (MDA)، وتقليل تدهور الكلوروفيل في أوراق القمح المجهد بالجفاف (Chen وآخرون،2021).

يتعرض إنتاج القمح القاسي للإجهادات البيئية و(ملوحة – وجفاف)، في جنوب الجزائر كما في مساحات كبيرة نسبيا في العالم، حيث تم العمل على عزل Pantoea agglomerans Pa المصنفة كبكتيريا جذرية (PGPR) من جذور القمح التي تم أخذ عينات منها في بو سعداء ، وهذا أدى إلى التخفيف من إجهاد الملح في نباتات القمح القاسي وسمح بنمو كبير، حيث قامت هذه العزلة بتعزيز نمو القمح عند تطبيق التلقيح بها ، وأعطت محتوى مرتفعاً من الكلوروفيل ، وتراكماً أقل للبرولين، وفضلت تراكم K + في النباتات الملقحة مقارنة بـ

Na + في النباتات غير الملقحة. وأوصت الدراسة باستخدام سلالة (Pa) Pantoea agglomerans كسماد حيوي فعال في زراعة نباتات القمح في المناطق الجافة والمتأثرة بالملوحة. (Cherif–Silini وآخرون،2012).

تعد سلالة Serratia. Liquefaciens (S1FG3) FG3 ، المعزولة من زهرة Stachytarpheta glabra في الحقول الغنية بالحديد في البرازيل ، لديها إمكانات مميزة للجينوم والتكيف والتكنولوجيا الحيوية، وعليه تم العمل على تطور الصفات التكيفية التي اكتسبتهاS1FG3 ، والتي تعرض ثاني أكبر صبغي يحتوي على أكبر بلازميدات اقتران موصوفة لـ .Serratia كشف التحليل المقارن عن وجود 18 موقعاً جينومياً و311 تشكيلاً بروتينياً نووياً فريداً يشارك في سمات تكيفية مميزة. و يحتوي S1FG3 على ذخيرة متنوعة من المورثات المرتبطة بالببتيدات غير الريبوزومية (NRPs / PKS) ، وهي مجموعة كاملة ووظيفية تتعلق بتخليق السليلوز ، وذخيرة واسعة ووظيفية من مورثات الأيض التأكسدي. بالإضافة إلى ذلك، يمتلك S1FG3 مسارًا كاملاً يتعلق بالتدهور الأولي، ومجموعة كاملة من المورثات المتعلقة بإصلاح الحمض النووي والحماية التي تشمل الآليات المتعلقة بتسامح ضوء الأشعة فوق البنفسجية، والقدرة المكتسبة جانبياً لحماية الحمض النووي باستخدام الفسفوروثيو.

تلخص هذه النتائج أنSIFG3 يتكيف جيداً مع حالات الإجهاد الأحيائية والمختلفة التي تفرضها الظروف القاسية المرتبطة بالحقول الغنية بالحديد، وهذا يفتح تأثير نقل الجينات الجانبي فيها لتعديل الجينوم للبيئات القاسية. (Caneschi وآخرون،2019).

أدى تلقيح Serratia Liquefaciens KM4 تحت الملوحة العالية إلى تقليل علامات الإجهاد التأكسدي بشكل كبير، وازداد نمو محصول الذرة وإنتاج الكتلة الحيوية جنباً إلى جنب مع تبادل أفضل لغاز الأوراق، وتنظيم التناضح، وأنظمة الدفاع المضادة للأكسدة، وامتصاص المغذيات تحت ضغط الملح، حيث وجد أن كل هذه التحسينات كانت مصحوبة بتنشيط الجينات المرتبطة بالإجهاد (APX، CAT، SOD، RBCS، RBCL، H +–PPase، HKT1، NHX1)، وتقليل تنظيم الجين المسؤول عن التخليق الحيوي ABA (NCED).

توضح النتائج الدور المفيد للعزلة المستخدمة في تحسين نمو النبات وتحمل الإجهاد الملحي في الذرة من خلال تنظيم التوازن الأيوني، وإمكانية الأكسدة والاختزال، وتبادل غاز الأوراق، والتعبير الجيني المرتبط بالإجهاد.

(El–Esawi,2018) ، ففي بعض الدراسات تم استخدام التلقيح البكتيري (ST–PGPR) لرفع مقاومة محصول القمح للإجهاد الملحي في الترب، وقد أوضحت النتائج زيادة فعالية تغذية النبات وامتصاصه للعناصر (N–P–K) الضرورية لنموه، كما انخفض محتوى الصوديوم في الأوراق ، مع ارتفاع غلة المحصول مقارنة مع الشاهد دون تلقيح (Upadhyay & Singh, 2014) .

يؤدي المُلقح البكتيري Azospirillum إلى تحسين ورفع مقدرة جذور نبات القمح على امتصاص النترات من التربة في حالة الإجهاد المائي وهذا يعطي نتائج إيجابية في الإنتاج، وأظهرت النتائج تفوقاً معنوياً واضحاً للمعاملات المجهدة الملقحة مقارنة مع عدم التلقيح وصلت إلى نسبة 170% في إحدى المعاملات، مع ملاحظة انخفاض الإنتاج بشكل كبير كلما ازدادت قيمة الإجهاد المائي المطبق (Nasser وآخرون،2011)

من النتائج المهمة للتلقيح البكتيري PGPR أنه يساعد على تخفيف الأثار السلبية للإجهاد المائي بتخفيض إفراز الإيتلين من الجذور عن طريق نشاط ACC–deaminase enzyme و أعطت نتائج فعالة برفع استجابة النبات (البندورة و الفليفلة) للإجهادات المائية عن طريق التلقيح البكتيري (Mayak وآخرون،2004)

تؤدي البكتيريا الجذرية التي تعزز نمو النباتات دوراً إيجابياً في إنتاجية المحاصيل خاصة عند تعرضها لضغط الملح. تم عزل بكتيريا مثبتة للنيتروجين من جذور القمح في منطقة قاحلة. وحددت السلالة على أساس اختبارات API20E وتسلسل الرنا الريباسي 16 S، مثل.Pantoea agglomerans Ima2 .

كان أداء الأنشطة المعززة لنمو نباتات P. agglomerans Ima2 أفضل بكثير في وجود الملح. زادت معدلات حامض الأندول الخليك (IAA) وإنتاج حامض الحديد وتذويب الفوسفات بين 100 و400 ملي مولار كلوريد الصوديوم مقارنة بالمجموعة الضابطة بدون ملح، يوجد ارتباط كبير بين هذه الأنشطة الثلاثة، وأظهرت هذه النتائج أن P. agglomerans Ima2 بخصائصها الجذرية المحفزة لنمو النبات (PGPR) وخصائصها الملحية يمكن أن تشكل سمادًا جيدًا في المناطق القاحلة والمالحة (Silini–Chérif وآخرون،2012) .

أوضحت الأبحاث أن بكتيريا E. Hormaechei (MF957335) يمكن استخدامها أيضاً في ظروف الإجهاد الملحي لتعزيز محصول البندورة في نمو النبات وتعزيز الغلة وتحمل الأمراض عن طريق إذابة البوتاسيوم والكالسيوم على التوالي (Ranawat وآخرون،2021)

نلاحظ مما ذكر وجود علاقة واضحة بين التلقيح البكتيري وتحمل النبات للإجهادات المائية لما يعانيه العالم من نقص الموارد المائية، وتبعا لذلك سنقوم بدراسة إمكانية استخدام التلقيح البكتيري في رفع استجابة نبات القمح المحلي للإجهاد المائي في المستويات المدروسة لعدة مستويات من الري الناقص ضمن ظروف حقلية، وأثر بكتيريا الجذرية في ذلك والذي أكدت الدراسات السابقة استجابته للتلقيح البكتيري من حيث الإنتاجية ونمو النبات.

الفصل الثاني

مواد وطرائق العمل Materials and Methods

2-1 منهج البحث:

يعتمد منهج البحث على تطبيق عاملين على محصول القمح ودراسة أثرهما من حيث الإنتاجية ونمو النبات. بتطبيق عدة مستويات من الري، وأكدت الدراسات السابقة التي تم عرضها تباين الاحتياج المائي للقمح تبعاً لموقع التجربة والصنف المستخدم وتغير استجابة القمح لمستويات الري المطبقة، وعليه سيتم عرض المادة النباتية المستخدمة في التجربة وموقع التجربة والخطوات المتبعة لتحديد الاحتياج المائي خلال سير التجربة. بالإضافة إلى مستويات الري المطبقة في التجربة والحسابات اللازمة للوصول إلى المقنن المائي في كل مستوى منها وفقا لمخطط التجربة وشبكة الري بحيث يتم تقديم كمية مياه الري المطلوبة وفي الموعد المحدد في كل مستوى من مستويات عامل الري في التجربة.

إضافة لما ذكر يتم استخدام العامل البكتيري لعدة عزلات مختلفة:

حيث تم استخدام بكتيرية جذرية محفزة للنمو تم عزلها من المحيط الجذري للنباتات النجيلية (القمح – الشعير) تم جمعها من عدة مناطق ومحافظات (دمشق – ريف دمشق – اللاذقية– طرطوس) . حيث كانت بداية البحث زمنياً بجمع عينات نبات القمح وإجراء عملية العزل البكتيرية وفق الخطوات المتبعة، ومن ثم إجراء الاختبارات المحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو لانتقاء واصطفاء البكتيريا ذات الخصائص المعززة لنمو النبات مثل (تحليل الفوسفات وتحليل البوتاس وتثبيت الأزوت وإنتاج حمض الأندول الخلي وتحليل كربونات الكالسيوم و إنتاج الأمونيا) وسيتم عرض الخطوات والطرق المنفذة للوصول إلى العزلات البكتيرية المستخدمة في التجربة و بالإضافة إلى اختبارات تعريفية للعزلات المختارة في التجربة الحقلية.

2-1-1 المادة النباتية والصنف المستخدم في الدراسة:

ينتمي نبات القمح إلى الفصيلة النجيلية وهو من النباتات الحولية التي تتبع الجنس Triticum ، و هناك عدة أصناف من القمح المزروع في العالم ينتمي معظمها إلى النوعي الطري T.aestivum و القاسي T.durum الصنف المستخدم في الدراسة هو (شام3): صنف محسن من القمح القاسي مقاوم للجفاف، اعتمد للزراعة البعلية في منطقة الاستقرار الثانية، وهو متوسط المقاومة للأصداء، يبدي ثباتية إنتاجية عالية عند زراعته في بيئات مختلفة، وهو متحمل لنقص البورون، حبوبه متوسطة الحجم وذات نوعية جيدة لذا أُستفيد منه في تحسين النوعية. يصل إلى مرحلة الإسبال خلال 132 يوماً والى النضج الكامل 164 يوماً، ويوزع على الفلاحين في منطقة الاستقرار الثانية، ومنطقة الدراسة في محافظة ريف دمشق، من قبل المؤسسة العامة لإكثار البذار.

(دليل أصناف القمح في سورية.2021 ص28)

2-1-2 التصميم التجربة وموقعها:

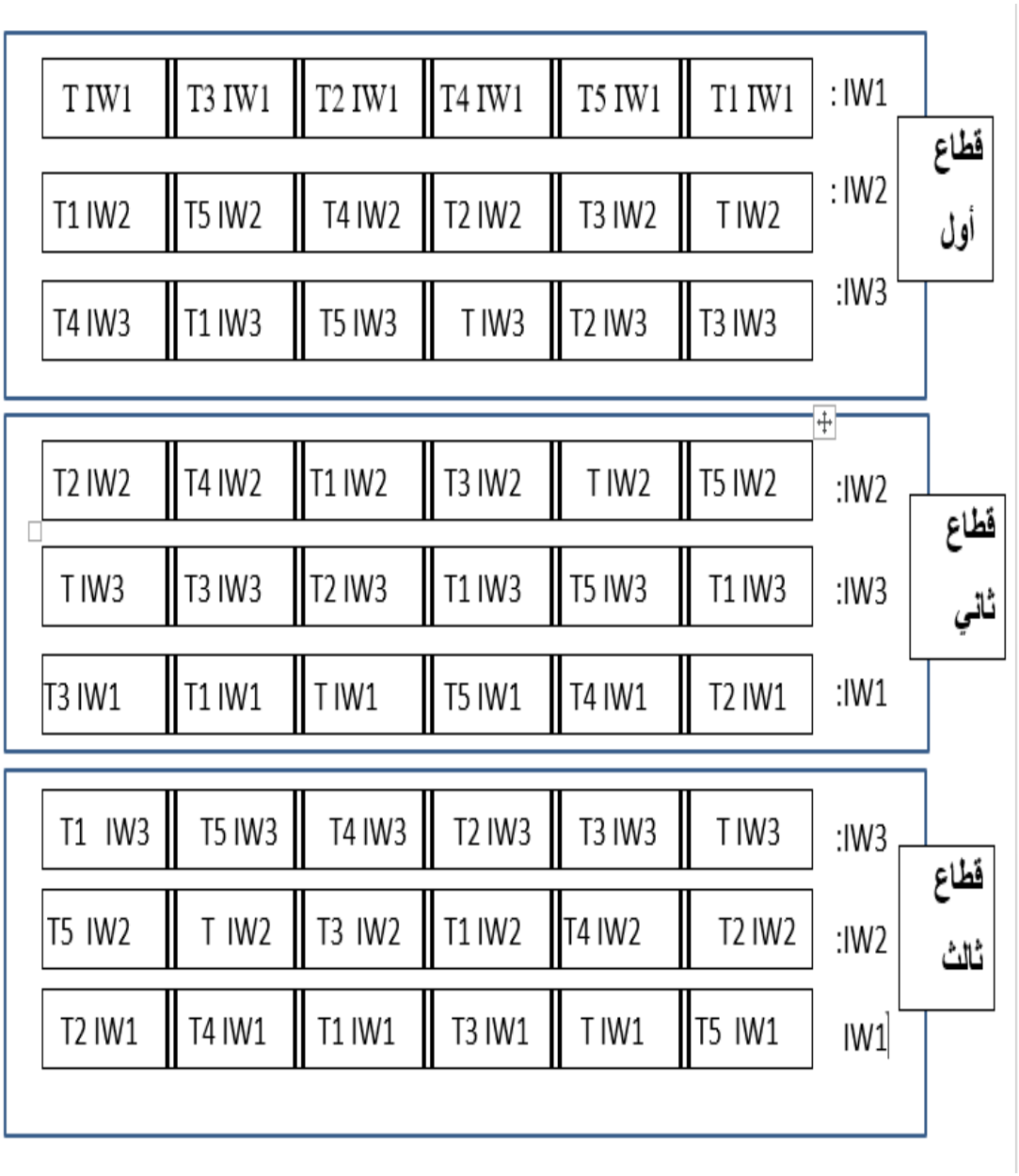
تم القيام بالتجربة في منشأة مزارع الثامن من آذار في محافظة ريف دمشق.

التي تقع على مسافة 19 كم إلى الجنوب الشرقي من مدينة دمشق على خط عرض 33.21 وخط الطول 36.28ْ وعلى ارتفاع 617 م عن سطح البحر. وهي منطقة لا يتجاوز المعدل السنوي للأمطار فيها 250 مم، وتتصف تربة المنطقة بأنها لوميه طينية رملية، تقع الرطوبة عند السعة الحقلية بين 30.7 و36.1 والرطوبة عند نقطة الذبول بين 11.5 و17.1%حجماً، أما الكثافة الظاهرية فتبلغ 1.11 إلى 1.21غ/سم^3 في الطبقة 0- 60 سم.

جدول (1) الخصائص الكيميائية والفيزيائية لتربة الحقل الذي تمت فيه التجربة

العينة	PH	EC	غرام لكل مية غرام تربة		ملغ / كغ		%		
		ds/m	كربونات الكالسيوم	المادة العضوية	الأزوت المعدني	الفوسفور المتاح	رمل	سلت	طين
1	7.48	0.36	46.4	4.12	12	عالي	21	27	52
2	7.5	0.34	48	3.59	9	عالي	15	31	54
3	7.58	0.3	47.2	2.26	16	9	20	31	49
النتيجة	قلوي غير مالح		مرتفع كربونات وكافية عضوي		مرتفع الفوسفور معتدل ازوت		قوام التربة طينية		

تم اختيار أرض التجربة بحيث تكون أرضاً غير مزروعة من عدة سنوات خالية من الأعشاب والأمراض والملوثات قدر الإمكان، وعقمت شمسياً لمدة 15 يوماً للقضاء على أنواع الميكروبات الموجودة بالتربة للقيام بالتجربة بتربة نظيفة ومعقمة خالية من الأمراض أو بذور الحشائش، بعد القيام بحراثة التربة المخصصة للتجربة بجرار 75 حصاناً مزود بسكة ثلاث شفرات، عدة مرات لضمان تجانس طبقات التربة، تم القيام بتسوية التربة بخربوش زراعي وتقسيم الأرض إلى قطع تجريبية وفقا للمخطط المصمم في الشكل التالي.



الشكل (1) مخطط التجربة الحقلية (IW مياه الري ، T العامل البكتيري).

تم تقسيم أرض التجربة كما هو موضح بالشكل على 54 قطعة تجريبية، موزعة بثلاثة قطاعات وكل قطاع يعد تجربة مستقلة يحتوي كامل المعاملات المدروسة، وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCPD) للتجربة العاملية المدروسة حيث يدل حرف IW على عامل الري ويضم ثلاثة مستويات (ري كامل، ري متوسط، ري مجهد)، وحرف Tعلى عامل التلقيح البكتيري (شاهد دون تلقيح، معاملات تلقيح ببكتيرية جذرية مختارة وفقا لاختبارات المحدد لـ / PGPR/ ، وكل مربع هو قطعة تجريبية بمسافات متباعدة تحدد بمترين لضمان عدم التداخل فيما بينهم.

2-1-3 طريقة الزراعة ومعدل البذار في القطعة التجريبية:

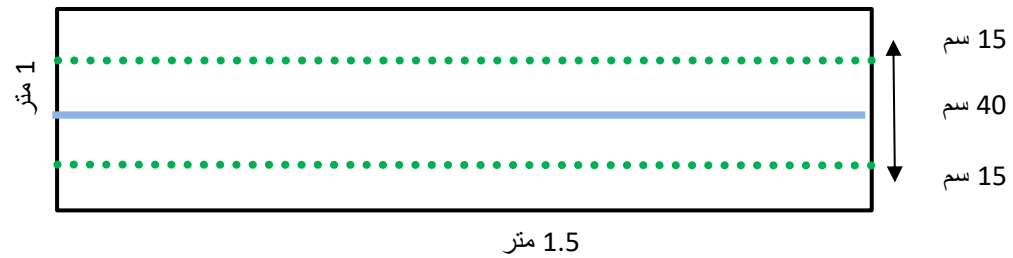
لتقدير معدل البذور لصنف القمح يجب الأخذ بالحسبان النقاط التالية (حجم الحبوب، المنطقة البيئية مروية أم بعلية، موعد الزراعة، طرق الزراعة آلياً أم يدوياً، جودة البذار) و توصي الجهات البحثية بأن يكون معدل البذار للقمح القاسي 140 كغ.هـ$^{-1}$وهو ما يعادل 275 –300 حبة .م$^{-1}$

وعليه تم زراعة كل قطعة تجريبية ومساحتها متراً مربعاً واحداً ب 300 حبة لأنها زراعة يدوية والتوزيع ضمن سطرين فقط، أي كل سطر يحتوي على 150 حبة قمح تقريباً على كامل الخط. لتلافي عد الحبات استخدم الميزان بحيث تم وزن أول 150 حبة في البداية ومن ثم القياس عليها في توزيع بقية المعاملات بأكياس قبل الزراعة لتسهيل عملية زراعة كل خط.

تصميم القطعة التجريبية:

تم زراعة خطين من القمح بمسافة فيما بينهم 40 سم وفق معدل البذار لكل خط ، ووضع أنبوب ري في منتصف المسافة للقيام بري موضعي عن طريق النقّاطات ذات التصريف 8 ل/ سا مقابل خط الزراعة بمعدل ثلاث نقّاطات لكل قطعة تجريبية ووزعت النقّاطات الثلاث بمسافة 15سم عن الكتف العرضي وما بين النقاطات 40 سم، كما هو موضح بالشكل حيث طول القطعة 1.5 متر وعرضها متر واحد فقط ولكن المساحة الفعلية للقطعة التجريبية مع ملاحظة أن العرض الكامل للقطع التجريبة يحتوي أكتاف ترابييه وبذلك تم اعتماد مسافة جانبية من الخط المزروع ب 15 سم (15+40+15=70سم)، وتم حساب المساحة الواجب تقديم الاحتياج المائي لها، (0.7*1.5)= 1 م2 لكل قطعة تجريبية حقلية.

.



الشكل (2) مخطط القطعة التجريبية.

2- 2 عامل الري ومعاملات الري الناقص:

2-2-1 عامل الري وطريقة جدولة الري المعتمدة

يتم تقديم الري وفقا لمعادلة الموازنة المائية والاحتياجات المائية المستخلصة من قراءات حوض كلاس A وعليه يتم حساب النتح والبخر المرجعي ET0 وفقا لقيم معامل المحصول kc يتم حساب الاحتياج المائي الفعلي ETC للمحصول خلال مراحل النمو من خلال (ETC=KC *ET0) وعليه يتم تقديم المقنن المائي المطلوب وفقا لكفاءة عمل الشبكة وتحديد زمن الري اللازم للوصول إلى المقنن المائي المطلوب.(Richard & Allen,1998) وفقا لجداول الفاو قيمة معامل محصول القمح كما هو موضح بالجدول التالي.

جدول (2) معامل محصول القمح

	Kc ini	Kc mid	Kc end
WHEAT	0.25	1.15	**0.4**

يتم تقسيم مراحل النمو:

المرحلة الابتدائية Kc_{ini} : تمتد هذه المرحلة من مرحلة الزراعة وحتى تبلغ نسبة تغطية المحصول للأرض (10%) إن الفترة الزمنية للمرحلة الابتدائية تتعلق بشكل كبير بنوع المحصول وصنفه وتاريخ الزراعة.

مرحلة تطور المحصول Kc_{mid} : تمتد هذه المرحلة من الوقت الذي يغطي فيه النبات (10%) من سطح التربة حتى تغطية المحصول لسطح التربة بشكل كامل.

مرحلة منتصف الموسم: تمتد هذه المرحلة من بداية الغطاء الكامل لغاية مرحلة النضج، ويستدل على النضوج باصفرار الأوراق أو تساقط الأوراق وتحول لون الثمار إلى بني.

مرحلة نهاية الموسم Kc_{end} : تمتد هذه المرحلة من بداية النضوج حتى الحصاد نهاية هذه المرحلة تكون إما الحصاد أو أن يجف النبات بشكل طبيعي أو بتساقط الأوراق في بعض النباتات الدائمة المحصول ينمو خلال كامل السنة لذلك تاريخ نهاية هذه المرحلة تعد تاريخ الحصاد نفسه. (FAO 56).

بالنسبة لمحصول القمح فإن مراحل النمو تتقسم وفق الشكل التالي بحيث تم تتابع المراحل في التجربة للوصول إلى القيمة المقابلة من معامل المحصول ودراسة طول المدة الزمنية في كل معاملة

نلاحظ بالجدول أسفل كل مرحلة تحديد المصدر للمدة الزمنية بالنسبة (Winter wheat)، فتكون مدة الإنبات (10-15) يوماً، مدة الإشطاء(15-25) يوماً، مدة الاستطالة والنمو(40-50) يوماً، مدة الإزهار و السنبلة(15-20) يوماً، مدة النضج اللبني (30-35) يوماً، مدة النضج الكامل (10-15) يوماً.

وكانت مراقبة مراحل النمو وتخطي كل مرحلة من مراحل نمو المحصول من الصفات المدروسة خلال سير التجربة، بالإضافة إلى الاعتماد عليها لتحديد قيمة معامل المحصول كما ذكرنا وعليه تقديم الاحتياج المائي.

باستخدام قراءات حوض التبخر، تم تتبع النتح والبخر المرجعي باعتماد حوض كلاسِ A المصمم وفق الشكل التالي بقياس ارتفاع حفة الحوض عن سطح الماء بشكل يومي وكل زيادة في القراءات تدل على كمية النتح والبخر المرجعي وفق معامل التصحيح المعتمد لهذا التصميم:

حيث يتم الوصول إلى قيمة النتح والبخر المرجعي بأخذ القراءة بوحدة (مم) وضربها بمعامل التصحيح kp=0.75 المتوافق مع التصميم أعلاه (FAO56). بعد تحديد الماء المتاح في التربة، وتقدير كمية مياه الري الواجب إضافتها لمعاملة الري الكامل، اعتمادا على حوض التبخر كلاس A وما يرمز له (IW-CPE)، اختصارا للمصطلح (مياه الري-قراءات حوض النتح والبخر) Irrigation Water (IW)-Cumulative Pan Evaporation (CPE)

بعدة مستويات:

IW_1: الري الكامل 100% (IW-CPE): يتم إضافة كامل الكميات المطلوبة، اعتمادا على قراءات حوض النتح والبخر المعدل بمعامل الحوض ويضرب بمعامل المحصول للقمح.

IW_2: الري المتوسط 80% (IW-CPE): يتم تخفيض الكميات إلى ثمانين بالمئة من الكميات المطلوبة وفق قراءات حوض التبخر المعدل مع معامل محصول القمح.

IW_3: الري الناقص70% (IW-CPE): يتم تخفيض الكميات إلى سبعين بالمئة من الكميات المطلوبة وفق قراءات حوض التبخر المعدل مع معامل محصول القمح.

2-2-2 مواعيد الري وكميات الري المقدمة خلال مدة التجربة لمعاملة الري الكامل:

وتم التحكم بمعاملات الري لكل خط ري وفقا للمخطط حيث يتم تقديم المياه بزمن محدد بحيث يتناسب مع معاملة الري المطبقة على الخط ولكل قطعة تجربية ثلاث نقّاطات تصريف 8 لـ / سا، أي لتقديم 10 ملم نقوم بالحسابات التالية : 8 *3 =24 ليتر.م$^{-2}$، بالساعة أي 240 م3 /هـ

كمية الري الواجب اضافتها وفقا لقراءات حوض التبخر ومعامل المحصول مقدرة بالـ مم

وكل 1 مم على المتر $\frac{\text{مم الى م3}}{\text{م2 الى هكتار}}$ $=\frac{1/1000}{1/10000}$ =10 م3/هـ

وتقدر كمية المياه الواجب إضافتها اعتمادا على معامل البخر والنتح المرجعي المأخوذ من حوض كلاس A بعد الضرب بمعامل التصحيح من الجدول الملحق لقيم معامل الحوض الذي يتعلق بسرعة الرياح وبعد الحوض عن مكان التجربة ويقدر وفق الجدول بـ kp =0.75 و معامل المحصول kc الذي يتغير دوريا تبعاً لمراحل نمو المحصول : مثال توضيحي لآلية جدولة الري المتبعة: أول عملية ري احتاجت التربة إلى 10 ملم لتعديل الرطوبة الأرضية الى السعة الكلية أي ما يعادل 10 م3 /هـ وفقا لتمديد الشبكة:

240 م3 /هـ تحتاج إلى 60 دقيقة (24 لتر بالساعة لثلاث نقّاطات)

100 م3/ هـ تحتاج إلى X دقيقة (10مم مطلوب في الرية الأولى)

X = $\frac{100*60}{240}$= 25 MIN أي يتم تشغل الشبكة لمدة 25 دقيقة للوصول إلى الاحتياج المائي في معاملة الري الكامل.

وتمت جدولة الري لكامل القطع التجريبية وفق ما ذكر أعلاه لكل معاملة ري وفق ما سيتم عرضه بشكل مفصل بالنتائج.

2-3 عامل التلقيح البكتيري (البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو):

2-3-1 جمع العينات:

للحصول على البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، تم جمع عدة عينات من نبات القمح المحلية المزروعة سابقاً بمناطق جافة وشبه جافة بمرحلة بداية ظهور الأوراق حتى مرحلة النضج، وتم جمع العينات من المزارع التي تقوم بزراعة القمح المحلية القريبة من دمشق وريفها، بالإضافة بعض العينات من محافظات أخرى (اللاذقية –طرطوس).

حيث يوضح الجدول (3) أرقام وأماكن جمع 22 عينة من عدة مناطق أغلبها ضمن محافظة ريف دمشق، والتي تم أخذ 70 عزلة بكتيرية مختلفة منها، كما سنلاحظ في النتائج واستجابة كل منها في الاختبارات.

جدول (3) أماكن جمع عينات جذور النباتات النجيلية.

التسلسلي	رقم العينة	مكان الجمع:	النبات :	تاريخ العزل	ملاحظات
1	1	منطقة دير الحجر- ريف دمشق	قمح بعل	04/03/2018	بعل في حقل زيتون
2	2	كلية الزراعة جامعة دمشق	قمح مروي	04/03/2018	
3	4	حقل صبار - منطقة دير الحجر	قمح بري	04/03/2018	
4	5	ريف جبلة - محافظة اللاذقية	قمح بري	04/03/2018	
5	6	ريف جبلة - محافظة اللاذقية	قمح بعل	04/03/2018	
6	12	منطقة دير الحجر - ريف دمشق	شعير بعل	14/03/2018	
7	17	الثانوية الزراعية - طرطوس	شعير مروي	14/03/2018	
8	21	كلية الزراعة جامعة دمشق	قمح بري	01/04/2018	
9	22	مزة جبل -محافظة دمشق	قمح بري	01/04/2018	
10	23	منطقة يعفور - محافظة ريف دمشق	قمح مروي	01/04/2018	
11	24	حقل قمح مروي (دير علي)	قمح مروي	01/04/2018	
12	25	حقل قمح مروي (دير علي)	قمح مروي	01/04/2018	
13	26	قمح بري (دير علي)	قمح بري	01/04/2018	
14	27	قمح بري (دير علي)	قمح بري	01/04/2018	
15	29	حقل قمح بعل (دير علي)	قمح بعل	01/04/2018	
16	36	منطقة دير الحجر - ريف دمشق	قمح بري	15/04/2018	
17	37	منطقة دير الحجر - ريف دمشق	شعير بعل	15/04/2018	
18	38	شعير بعل دير الحجر	شعير بعل	15/04/2018	
19	41	دير علي - محافظة ريف دمشق	قمح بعل	01/05/2018	
20	43	قمح بري دير الحجر	قمح بري	01/05/2018	
21	44	منطقة يعفور - محافظة ريف دمشق	قمح بري	01/05/2018	
22	45	منطقة يعفور - محافظة ريف دمشق	قمح بعل	01/05/2018	

2-3-2 عزل البكتيريا:

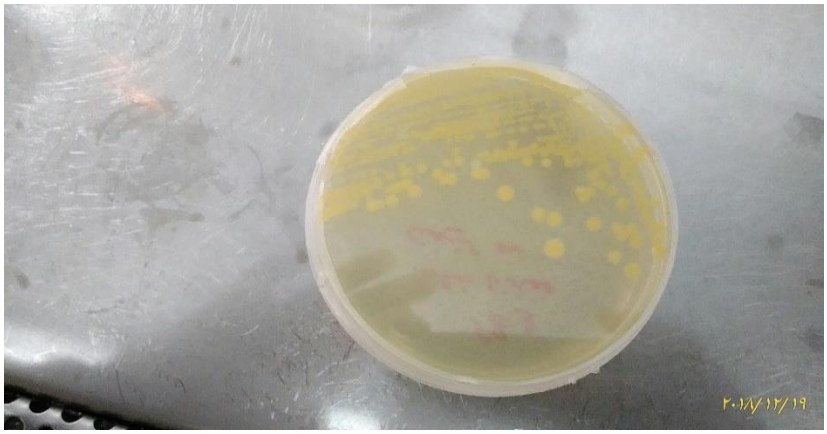
أجري العزل البكتيري في مخابر قسم وقاية النبات–كلية الزراعة–جامعة دمشق. حيث تزال عدة جذور من نبات القمح، وتغسل بالماء المقطر عدة مرات لإزالة التربة الملتصقة بها، ثم توضع في أنبوب اختبار يحتوي 10 ميلتر ماء مقطراً معقماً، وتُرج رجاً خفيفاً للحصول على معلق بكتيري.

يمدد المعلق البكتيري بحيث يؤخذ 1 مل من المعلق ويوضع في ماء مقطر يكمل إلى حجم 10مل وترج رجاً خفيفا ليحصل التجانس البكتيري، تكرر عملية التمديد ثلاث مرات لنصل إلى ثلاثة تراكيز ($\frac{1}{10}$ – $\frac{1}{100}$ – $\frac{1}{1000}$)، ثم يؤخذ من كل تمديد للعينة الواحدة 50 ميكرولتر، وينشر على سطح طبق بتري يحتوي بيئة مغذية صلبة (YPGA)، ثم (15 غ أغار – 7غ غلكوز –7غ ببتون – 7 غ مستخلص خميرة) لكل واحد لتر من الماء المقطر المعقم مجهز للصب في أطباق تُحضن الأطباق على درجة 28سْ لمدة أسبوع.

فُحصت الأطباق بدءاً من اليوم الثالث، حيث يتم اختيار مستعمرات مختلفة الحجم واللون والشكل. وتنقل كل مستعمرة منتخبة إلى وسط مائل صلب (PYDAC)، (3 غ ببتون – 5 غ غلكوز – 3 غ مستخلص خميرة – 15 غ آغار –40 غ كربونات كالسيوم لكل واحد لتر)، وبعد 48 ساعة من التحضين على درجة حرارة 25سْ تُغطى بزيت البارافين المعقم وتحفظ في الثلاجة إلى حين الاستخدام(Grigorova,1990).

أُعطت كل مستعمرة رقما يميزها بالمخبر حيث الرقم الأول يدل على الرقم التسلسلي للعينات للمحيط الجذري في المخبر، واختلاف التسلسل نتيجة وجود بحث في المخبر يقوم بالعزل البكتيري من المحيط الجذري للنبات أيضاً، والرقم الثاني يدل على المستعمرة البكتيرية من طبق العزل البكتيري لكل عينة بحيث من الممكن أن تحتوي العينات على عدة مستعمرات بكتيرية مختلفة بالحجم أو الشكل أو اللون ولتتميز فيما بينها تم إعطاء رقم ثان بعد الفاصلة.

ويوضح الجدول (1) جمع 22 عينة من عدة مناطق أغلبها ضمن محافظة ريف دمشق، وتم أخذ 70 عزلة بكتيرية مختلفة منها، وتم الترقيم حيث الرقم الأول يدل على رقم العينة والتي تحدد تاريخ ومكان جمع العينة بدقة، والرقم الثاني يدل على النمو البكتيري المختار من عزل ونشر العينة على الأطباق البكتيرية.



الشكل (3) صورة مخبرية للعزلات ضمن عينة واحدة

ومن ثم القيام بالتحاليل اللازمة والمحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، وتم إجراء اختبارات (تحليل البوتاس – تحليل الفوسفات – تثبيت الأزوت – إنتاج حمض الأندول الخلي–تحليل الامونيا–تحليل كربونات الكالسيوم–إنتاج HCN) لجميع العزلات عند ظهور النموات البكتيرية بعد التحضين بظروف مخبرية تم الاختيار منها لإعادة النشر بأطباق بكتيرية واصطفائها للقيام بالاختبارات المحددة للبكتريا الجذرية المحفزة لنمو النبات.

2-3-3 اختبارات محددة لصفات البكتريا الجذرية (PGPR) :

- **اختبار قدرة البكتيريا على إذابة الفوسفات:**

تم التلقيح البكتيري بالعزلات المأخوذة من العينات السابقة والقيام بالفحص النوعي لإمكانية البكتيريا إذابة فوسفات الكالسيوم الموجودة في الوسط المغذي الموصي به لاختبار إذابة الفوسفات للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (Deoraa وآخرون،2007) وبعد التحضين المناسب والموصى به.

حيث يتم الزرع البكتيري في أطباق بتري تحتوي على وسط مغذي NBRIP (10 غ / ل غلكوز ، 25 غ/ل $Ca_3(PO_4)_2$، 5غ/ل $Mgcl_2.6H_2O$، 0.25غ/ل $MgSO_4.7H_2O$، 0.1 غ/ل $(NH_4)2SO_4$)، 15 غ/ل أغار، بوسط PH=7) ،و أُجري الزرع البكتيري باستخدام إبرة الزرع البكتيري بأخذ جزء من النمو البكتيري ووضعه في الطبق البتري، ويتم التحضين على درجة حرارة 32 ْس لمدة 48 – 96 ساعة.

إن وجود هالة شفافة محيطة بالمزرعة البكتيرية دليل تحليل الفوسفات، وتم تقدير كفاءة العزلات بتحليل الفوسفات من خلال قياس عرض الهالة (المسافة بين حدود البكتيريا والوسط غير الشفاف). وتم التمييز بإعطاء علامة (+) واحدة عند قياس حتى (5) مم، وكل زيادة عن هذا الحد ب 2 مم تُعطى علامة أخرى لتصبح (++)، وعند تحلل مساحة أكبر من ذلك تُعطى ثلاث علامات (+++).

الشكل (4) تحليل الفوسفات

- **اختبار قدرة البكتريا على إذابة البوتاسيوم:**

تم زرع البكتيريا في أطباق تحتوي وسط آلكساندورف (15غ غلوكوز و 0.5 غ كبريتات المغنيزيوم $MgSO_4$ و 0.1غ كربونات الكالسيوم $CaCO_3$ و 0.006 غ كلوريد الحديد $FeCl_3$ و 2غ فوسفات الكالسيوم $Ca_3(PO_4)_2$ و20 غ أغار +2 غ فلدسبار البوتاس أو ميكا البوتاسيوم) (Manib وآخرون،1986).

تتجلى إيجابية التحليل عن طريق ظهور هالة شفافة تدل على تحليل البوتاس من الوسط، وتم استخدام آلية العمل نفسها المتبعة في الاختبار السابق بتحديد شدة تحليل البوتاس، حيث تظهر النتائج الإيجابية وجود هالة شفافة حول العزلة البكتيرية المدروسة.

ولتمييز التباين الحاصل بين البكتريا تم استخدام علامة (+) في حال وجود أثر لإذابة البوتاس كما هو واضح في الشكل (9) حيث حاولنا أن نضع عدة عزلات مختلفة الاستجابة، وبشرح بسيط لآلية التقييم المستخدمة نلاحظ أن العزلة 13.3 غير قادرة على تحليل البوتاس، في حين العزلة 20.2 تظهر هالة لتحليل البوتاسيوم (++) خلال حيز النمو البكتيري ولكن أصغر حجماً من العزلة 5.2 (+++) وهي مشابهة تقريبا للمساحة التي تنتج عن تحليل البوتاس في العزلة 14.2 . أيضا يمكن تميز باقي العزلات وخصوصية كل عزلة منها من حيث نوع البكتيرية وقدرتها على تحليل البوتاسيوم في الاختبار المقام.

الشكل (5) تحليل البوتاسيوم.

- **اختبار قدرة البكتريا على تثبيت الأزوت الحر:**

حيث تم زرع البكتريا في اطباق بتري وسط مغذي يحتوي على 15 غرام من ألأغار يضاف له المواد التالي

(5 غ سكروز – *0.2 غ* K_2HPO_4 – ***0.6 غ*** KH_2PO_4 – *0.2 غ* $MgSO_4.7H_2O$ – ***0.02غ*** $CaCl_2.2H_2O$ – *2 مل محلول فيتامين D– **15 غ أغار**).* ويكمل بحجم لتر من الماء المعقم والمقطر للوصول الى الوسط المغذية للاختبار المطلوب.

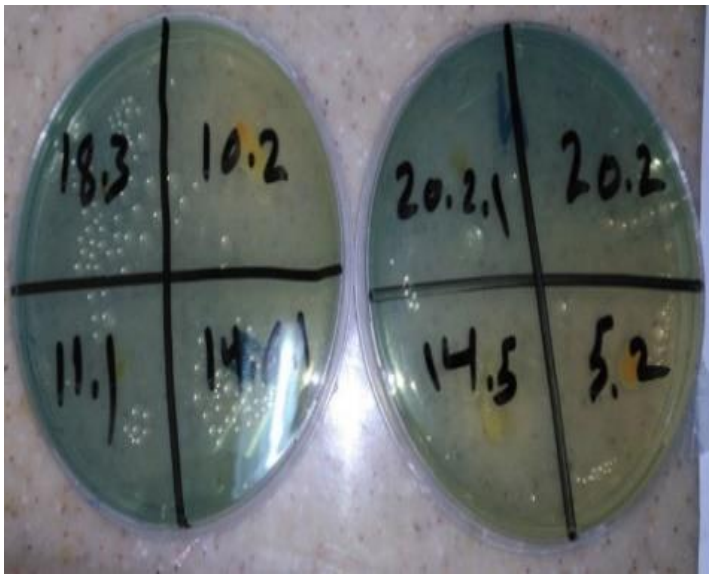
مل Bromthymol محلول أزرق (0.2N KoH) – ***4 مل محلول الحديدي (1.64%) Fe (III) EDTA*** – *2 مل محلول فيتامين*

حيث تم تقسيم الطبق الى أربعة أقسام تم وضع عزلة بكتيرية بكل جزء وكان الوسط المغذي أزرق اللون، و يدل ظهور اللون البرتقالي في الوسط المغذي الأزرق هو دليل على قدرة البكتريا على تثبيت الأزوت الجوي.

يعد اختبار مميز من حيث لون الوسط المغذي بالأطباق البترية أزرق غامق وفق المرجعية المستخدمة للكشف عن قدرة البكترية على تثبيت الأزوت الجويوفق البرتكول المعدل من قبل (Döbereiner ,1988) .

تظهر قدرة البكتيريا على تثبيت الأزوت من خلال أكسدة مركب EDTA في الوسط المغذي الذي يحتوي على الحديدي وهذا يؤدي إلى تغير اللون إلى البرتقالي في حيز نمو العزلة البكتيرية ويدل على إيجابية الاختبار.

يمكن أن تلاحظ من الشكل الاختلافات الواضحة بين العزلات المدروسة من حيث اللون المحيط بالعزلة البكتيرية والذي ينعكس بشكل واضح بقدرة البكتريا على تثبيت الأزوت الحر.



الشكل (6) تثبيت الأزوت الحر

- **اختبار قدرة البكتريا على تحليل كربونات الكالسيوم CaCO3** :

تم استخدام وسط مغذٍ يحتوي كربونات الكالسيوم في أطباق بتري ***(1غ مستخلص خميرة*** *– 10 غ مانيتول –* ***0.2 غ K_2HPO_4*** *– 0.5 غ سلفات المغنيزيوم –* ***0.1 غ الصوديوم*** *– 2 غ كربونات الكالسيوم –****15 غ أغار*** *)* وتم زرع البكتيريا في الأطباق بأخذ جزء من مزرعة بكتيرية ووضعها على الوسط المغذي، حيث تم وضع أربع عزلات في كل طبق. و التحضين لمدة أسبوع إلى أسبوعين. يدل ظهور هالة شفافة في الوسط الأبيض الكريم يدل على قدرة هذه البكتيريا على تحليل كربونات الكالسيوم، وتم اعتماد الية قياس شدة تحليل كل من الفوسفات والبوتاس نفسها في هذا الاختبار.

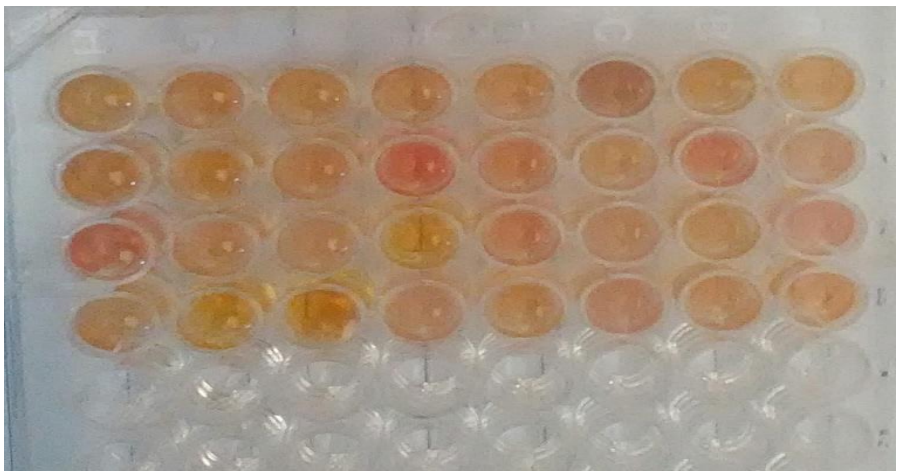
الشكل (7) تحليل كربونات الكالسيوم

استخدام أوساط مغذية تحتوي كربونات الكالسيوم في الأطباق البترية وفق المرجعية المستخدمة يساعد في تحديد قدرة العزلات البكتيرية على تحليل كربونات الكالسيوم فظهور هالة شفافة في الوسط الأبيض الكريم يدل على قدرة هذه البكتيريا على تحليل كربونات الكالسيوم.

- **اختبار قدرة البكتريا على إنتاج حمض الأندول الخلي** (IAA).

أُخذ جزء من بكتيريا فتية بعمر 24–48 ساعة لتلقيح 100 مل من سائل مغذٍ معقم NBRIP، يحتوي على 1 مل تريبتوفان بتركيز 0.2 %، ثم تحضن لمدة 24 ساعة مع اهتزاز خفيف(100 هزة بالدقيقة) ،على درجة حرارة 30 ْس، مع وضع عينة غير ملقحة كشاهد، وتؤخذ كمية 5 مل من كل دورق ، وتثفل بالطارد المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة دوران 12000 rpm ، يُؤخذ 1 مل من السائل الطافي من المعلق ويضاف له 4 مل من كاشف سالكولسكي ***(50 مل حمض بيركلوريك $HClO_4$ بتركيز 35%، 1مل من*** *محلول كلوريد الحديد $FeCl_3$)* ، يوضع الخليط في مكان معتم على درجة حرارة 37 ْس لمدة 30 دقيقة. تحول اللون إلى الوردي دليل وجود إنتاج لحمض الأندول الخلي، (Gutierrez وآخرون،2009).

تم اعتماد التدرج اللوني بين الأصفر والوردي لقياس شدة إنتاج حمض الأندول الخلي، في حال كان أصفر أعطي درجة واحدة(+)، وعند اللون الوردي أعطي (+++) ثلاث إشارات.



الشكل (8) اختبار حمض الأندول الخلي

ويعد هذا الاختبار من أهم الاختبارات لأهمية حمض الأندول الخلي في نمو النبات كهرمون نباتي محفز وتم إعطاء كفاءة للعزلة تبعا لتدرج الألوان بين الأصفر والوردي.

يظهر الشكل الاختلافات اللونية بين العزلات وفق التجربة المقامة، وهذا ما تم أخذه بالحسبان في تسجيل النتائج وفق الجدول المرفق.

- **اختبار قدرة البكتريا على إنتاج الأمونيا:**

تم الزرع البكتيري في 5 مل من الوسط السائل المغذي الذي يحتوي على (10 غ بيبتون – 5 غ كلوريد الصوديوم(، وبعد التحضين لمدة 24 ساعة ، نقوم بإضافة المشعر Nessler reagent 0.5 ml)) بمعدل 2:1 ، ظهور اللون الأصفر دليل قدرة البكتيريا على انتاج الامونيا ، تُحدد أعلى كفاءة لإنتاج الأمونيا بظهور اللون الأصفر بشكل واضح ويكون اللون البرتقالي أقل كفاءة (Cappuccino & Sherman, 1992)

الشكل (9) إنتاج الأمونيا

لاحظ من الشكل وجود اختلافات بين ثلاث عزلات لديها القدرة على انتاج الامونيا وبين الشاهد الشفاف، وعليه أيضا حددت كفاءة إنتاج الأمونيا بظهور اللون الأصفر كما هو واضح في أول معاملة بالصورة أعلاه، وجاء اللون البرتقالي أقل كفاءة.

2-3-4 اختبارات تعريفية للعزلات الخمس المختارة للتجربة الحقلية:

يمكن التوصل إلى معرفة الجنس الذي تنتمي له البكتيريا بدراسة عدد من صفاتها مثل: شكل البكتيريا، و قابليتها للصبغ بصبغة الغرام، و قدرتها على الحركة، و توزع الأهداب على سطحها الخارجي، و طبيعة التنفس عندها، و قدرتها على إرجاع النترات إلى نتريت، و تفاعلها مع اختبار الأوكسيداز، وعليه تم اجراء الاختبارات التالية للأنواع المختارة:

- **صبغة غرام (من ضمنها الشكل: مكورة أو عصوية)**

تعد صبغة غرام مهمة جداً لتصنيف وتحديد البكتيريا. وتعود هذه الأهمية إلى الاختلاف في تركيب جدار الخلايا البكتيرية التي يتفاعل بعضها إيجابيا مع صبغة غرام، في حين يتفاعل بعضها الأخر بشكل سلبي. وتستطيع البكتيريا الموجبة لصبغة الغرام الحفاظ على معقد صبغة الكريستال البنفسجي مع اليود حتى بعد الكحول الذي يزيل اللون بينما لا تحتفظ البكتيريا سالبة الغرام بصبغة الكريستال البنفسجي وتصبغ باللون الأحمر بعد إضافة الصفرانين.

صبغة الجنسيان البنفسجي الفينولية **(1 غ الجنسيان البنفسجي** – 5 غ فينول –**40 ميللتر كحول 97%** – 160مللتر غليسرين – 200 مللتر) مثبت أو محلول الليغول LUGOL (2 غ يود البوتاسيوم – 1 غ يود – 200 مللتر ماء مقطر) ، صبغة الفوكسين الفينولي (2غ فوكسين قاعدي – 10 غ فينول– 20 ميللتر كحول نقي – 200 ميللتر ماء مقطر)

الطريقة : ضع بواسطة أبرة تلقيح البكتيريا قطرة صغيرة من معلق بكتيري على شريحة زجاجية وانشرها ثبت البكتريا على الشريحة بتمريرها على اللهب 2– 3 مرات أو بتغطية الشريحة ببضع قطرات من الكحول 95% لمدة خمس دقائق يزال بعدها الزائد من الكحول .

يغمر المحضر بصبغة الجنسيان البنفسجي لمدة دقيقة واحدة ثم تزال الصبغة الزائدة وتغسل الشريحة بالماء يغمر المحضر بمحلول الليغول لمدة دقيقة ثم اغسل بالماء و يغمر المحضر بالكحول 95% لمدة 10 ثوانٍ يُغسل بعدها بالماء المقطر ويصبغ المحضر بالفوكسين الممدد الى 1\ 10 لمدة دقيقة ثم يغسل بالماء المقطر يفحص المحضر بالمجهر باستخدام العدسة الزيتية الغاطسة.

- **تخمير السكريات (غلكوز أو لاكتوز) :**

يضاف 1% من السكر إلى وسط Peptone water الحاوي على كاشف Phenol Red بنسبة 0.01% ، يُوزع الوسط في أنابيب ويعقم بدرجة حرارة 121 °س لمدة 15 دقيقة ، حيث تُحضن الأنابيب بعد التلقيح على درجة حرارة 25 °س لمدة 48 ساعة ، قراءة الاختبار : يتغير لون الوسط من الأحمر إلى الأصفر في الاختبار الموجب ويبقى بلون أحمر في الاختبار السالب (Harrigan,1998).

- **اختبار قدرة البكتيريا على تكوين الجراثيم الداخلية Indospores**

الجراثيم هي خلايا بكتيرية حية في طور سكون فيزيولوجي وهي شكل من أشكال البكتيريا التي تستطيع بوساطتها المحافظة على حياتها في أثناء الظروف غير الملائمة لنموها ويمكن العثور على الجراثيم في المزارع البكتيرية الهرمة (عدة أيام) السائلة والصلبة وتوجد عدة طرائق يمكن استخدامها لتلوين ورؤية الجراثيم وتجديد موقعها في الخلية البكتيرية. وتستخدم هذه الطريقة لتصنيف بعض البكتيريا مثل Clostridium و Bacillus وغيرها والجدير بالذكر أن معظم البكتيريا الممرضة للنبات لا تشكل جراثيم لذلك فليس من الضروري استخدام طرائق الصبغ المختلفة ويفضل اتباع الطريقة التالية للتأكد من تشكل الجراثيم أو عدم تشكلها.

يحضر معلق بكتيري من مزرعة بكتيرية هرمة عمرها عدة أيام.

يوضع المعلق في أمبولة مشكلة من ماصة باستور عُقم سطحها الخارجي بالكحول.

تُغمس الأمبولات في حمام مائي درجة حرارته 80مْ لمدة 15 دقيقة .

تُخرج الأمبولات وتفتح في ظروف من التعقيم ويُزرع منها بضعة قطرات على بيئة مغذية في طبق بتري ثم تُحضن على درجة ملائمة لمدة 24–48 ساعة .

إذا نمت بعد التحضين مستعمرات بكتيرية فهذا يدل على تشكيل أبواغ التي سمحت للبكتيريا بمقاومة درجة الحرارة العالية، يمكن استخدام شاهد من بكتيريا مشكلة للجراثيم وشاهد من بكتيريا غير مكونة لها.

- **التعرف على طبيعة تنفس البكتريا:**

مبدأ الاختبار:

يضاف إلى بيئة مغذية البروموثيمول كدليل على درجة PH الوسط حيث يتحول من اللون الأزرق إلى الأصفر عند تغير الـ PH من 7.6 إلى 6. كما يضاف للوسط المغذي سكر الغلوكوز كمصدر للكربون والطاقة.

إذا استخدمت البكتريا هذا السكر بشكل هوائي أو لا هوائي فإنها ستنتج حمضاً يؤدي إلى خفض PH الوسط وبالتالي تغير اللون من الأزرق إلى الأصفر.

تركيب البيئة: (2 غ باكتوريتربتون 5 – Bactotryptone غ كلور الصوديوم 0.3 – (NaCl) غ فوسفات ثنائي البوتاسيوم 0.003 – (PO_4 Hk_2) غ أزرق البروموثيمول – 10 غ غلوكوز – 1000 ميللتر ماء مقطر– أغار) بضبط الـ PH على 6.9 فيصبح لون البيئة مخضراً –

يوزع الوسط على أنابيب Ivan Hall ذات الإنخماص بواقع 13 ميللتر في كل أنبوب ثم تعقم في الأوتوكلاف على درجة حرارة 120 مْ لمدة 20 دقيقة.

طريقة الاختبار:

يلقح قسما الأنبوب العلوي والسفلي بالبكتيريا ثم تحضن على درجة حرارة ملائمة لمدة قد تصل إلى أسبوع

في نهاية مدة التحضين يمكن أن تلاحظ التفاعلات التالية:

- اصفرار الجزء العلوي من الأنبوب وهذا يدل على أن البكتيريا هوائية.
- اصفرار الجزء العلوي والسفلي للأنبوب وهذا يعني أن البكتيريا هوائية لا هوائية اختياريا
- لم يحدث أي تغير في الأنبوب وهذا دليل على أن البكتيريا غير نشطة
- تحول لون الجزء العلوي إلى الأزرق وهذا يعني أن البكتيريا قد أنتجت مركبات قلوية وليست أحماضا

تم استخدام بيئة نصف صلبة بإضافة 3 غ / أغار. توزع البيئة في أنابيب اختبار عادية وتعقم كما في الطريقة السابقة ويستعاض عن كل أنبوب Ivan Hall بأنبوبين يلقح كلاهما بالبكتيريا ولكن يوضع أحدهما بشكل لاهوائي بإضافة زيت البارافين على سطح البيئة وبعد التحضين تتم الملاحظة.

التلقيح البكتيري:

تُجدد العزلات البكتيرية المختارة وتحضر معلقات بكتيرية منها بعد 48 ساعة من نمو العزلة البكتيرية بتركيز (3×10^8 CFU/ml) وتُلقح 1 مل من كل معلق ضمن دوارق تحوي 50 مل من وسط مستخلص الخميرة والمانيتول السائل YM (سائل مغذي)، وتم التحضين عند درجة حرارة 28° س، ثم تنقع البذور بالمستخلص لحين موعد الزراعة، على ألا يتجاوز ثلاثة أيام وفق معاملات التلقيح البكتيري على أن يكون Tمعاملة الشاهد دون تلقيح، ويتم الزراعة بالقطع التجريبية وفق التوزيع المعتمد في المخطط.

2-3-5 طريقة التحليل الجزيئي للعزلتين ذات النتائج الأفضل بالتجربة:

استخلاص الـ DNA و تفاعل الـ PCR وتحديد التتابع النكليوتيدي للعزلات البكتيرية:

تم عزل الـ DNA البكتيري من مستعمرات بكتيرية بعمر 24 ساعة باستخدام DNA wizard isolation and purification kit من شركة Promega وفق تعليمات الشركة الصانعة Wizard ® Genomic DNA Purification Kit- Technical Manual، وفق الخطوات التالية :

1- تم إضافة 1 مل من المعلق البكتيري إلى أنبوب طرد مركزي 1.5 مل
2- جهاز طرد مركزي بقوة 13000-16000 × جم لمدة دقيقتين لتكوير الخلايا، تم إزالة المادة الطافية والانتقال الى الخطوة 6 وفق الدليل لأن البكتريا سالبة غرام .
6- تم إضافة 600 مايكرولتر من محلول تحلل النواة. بواسطة الماصة الجينومية حتى يتم تعليق الخلايا.
7- ثم التحضين عند 80 درجة مئوية لمدة 5 دقائق لتحليل الخلايا وإطلاق جزيئات DNA؛ والتبريد إلى درجة حرارة الغرفة.
8- تم إضافة 3 مايكرولتر من محلول RNase إلى الخلية المحللة. اقلب الأنبوب 2-5 مرات للخلط.
9- وبعد ذلك قمنا بالتحضين عند 37 درجة مئوية لمدة 15-60 دقيقة. تبرد العينة لدرجة حرارة الغرفة.
10- قمنا بإضافة 200 ميكرولتر من محلول ترسيب البروتين إلى محلول الخلية المعالجة بـ RNase. تحرك بقوة وبسرعة عالية حركة دوامة لمدة 20 ثانية لخلط محلول ترسيب البروتين مع محلول الخلية.
11-تم تحضين العينة على الجليد لمدة 5 دقائق.
12-توضع بجهاز طرد مركزي بقوة 13000-16000 × جم لمدة 3 دقائق.
13-تنقل المادة الطافية التي تحتوي على الحمض النووي إلى أنبوب الطرد المركزي الدقيق 1.5 مل نظيفة تحتوي على 600 ميكرولتر الأيزوبروبانول في درجة حرارة الغرفة.
14- تم تحريك الانبوب عن طريق الانقلاب حتى تشكل خيوط الحمض النووي التي تشبه الخيوط بكتلة مرئية.
15- وبعد ذلك وضعها بجهاز طرد مركزي بقوة 13000-16000 × جم لمدة دقيقتين.
16- سكب المادة الطافية بحرص وصرف الأنبوب على ورق ماص نظيف. إضافة 600 ميكرولتر من الإيثانول 70٪ درجة حرارة الغرفة وعكس الأنبوب برفق عدة مرات لغسل بيليه الحمض النووي.
17- توضع بجهاز طرد مركزي بقوة 13000-16000 × جم لمدة دقيقتين. نضح بعناية الإيثانول.
18- صفي الأنبوب على ورق ماص نظيف واترك الحبيبات تجف في الهواء لمدة 10-15 دقيقة.
19- إضافة 100 مايكرولتر من محلول معالجة الحمض النووي إلى الأنبوب وترطيب الحمض النووي عن طريق التحضين عند 65 درجة مئوية لمدة 1 ساعة. قم بخلط المحلول بشكل دوري عن طريق النقر بلطف على الأنبوب. بدلا من ذلك ، ترطيب الحمض النووي عن طريق احتضان المحلول بين عشية وضحاها في درجة حرارة الغرفة أو عند 4 درجات مئوية.
20- يتم تخزين الحمض النووي في 2-8 درجة مئوية.

ثم حُدد تركيز ونقاوة الـ DNA للبكتيريا باستخدام جهاز المطياف الضوئي على أطوال أمواج A260/A230 نانومتر. حُضرت تمديدات الـ DNA بتركيز نهائي 10 نانوغرام/ميكرولتر لاستخدامها في اختبارات الـ PCR المعتمدة على الـ DNA في مركز البحوث الإيطالية في مدينة ميلانو –إيطاليا. (Milan Genome Center DNA sequencing laboratory) Macrogen–Europe .

أُجري تفاعل الـ PCR بحجم نهائي 50 ميكرولتر، يحتوي 5 ميكرولتر من الـ DNA و 2ميكرو لتر لكل بادئ من زوج بادئات المستخدم بتركيز 10 µl /poml ، حيث البادئ المباشر(f 27–8) For بتسلسل نكليوتيدي ′35–′ AGAGTTTGATCCTGGCTCAG والبادئ غير المباشر ′5– (r1492–1510) Rev ′3–GGCTACCTTGTTACGACTT وهي بادئات عامة يضخم جزء من مورثات 16SrRNA (Lane .1991). واستخدم 25 ميكرو لترمن (Hot Start Green Master Mix–Biocompare GoTap G2) وفق تعليمات الشركة (Promega)، وأكمل الحجم بإضافة 21 ميكرولتر من الماء المقطر المعقم.

أُجري تفاعل الـPCR باستخدام جهاز المدور الحراري المصنع من قبل شركة (BIORAD)، وفق البرنامج التالي: خمس دقائق على درجة حرارة 95ْ س لفصل سلسلتي الـ DNA، وتلته 35 دورة (95ْ س لمدة دقيقة) ، ومن ثم مرحلة ارتباط البادئات على درجة حرارة 65ْ س لمدة 45 ثانية ، بعدها استطالة الـ DNA على درجة حرارة 72ْ س لمدة دقيقة ونصف، و على درجة حرارة 72ْ س لمدة خمس عشرة دقيقة كمرحلة أخيرة لاستكمال الاستطالة. رُحلت نواتج تفاعل الـ PCR على هلامة Agarose (تركيزها 1%)، وباستخدام محلول منظم للرحلان 1X TBE بتركيبة التالية (Tris base g108=10x TBE ، boric acid g55 ، 1ml M EDTA g 9.3 / 1 لتر ماء مقطر) ، واستخدام (Agrobacterium.vitis) كشاهد موجب والماء المقطر المعقم كشاهد سالب ، بالمقارنة مع Kb Plus DNA Ladder1 المؤشر الجزيئي وفق الإرشادات المتبعة للوصول إلى حزمة الوزن الجزيئي.

تم تنقية نواتج تفاعل PCR باستخدام (QIAquick ,Hilden,Germany)، تبعاً لإرشادات الشركة المصنعة لتحديد الـDNA في كلا الاتجاهين باستخدام زوج من البادئات العامة 8–27 f و 1492–1510 r (Macrogen Korea) ، وتحديد التتابع النكليوتيدي بصيغة ملف (ab1)، وعليه تم تحديد نوع البكتيريا باستخدام قاعدة بيانات BLAST على موقع NCBI البنك الوراثي.

4-2 المؤشرات المدروسة في التجربة الحقلية:

- طول مراحل نمو المحصول ومكوثه في الأرض من موعد الزراعة وصولاً الى مرحلة النضج الكامل وموعد الحصاد.

- الصفات الشكلية: تم قياس مؤشر (ارتفاع النبات (سم)) في جميع القطع التجريبية.

- نسبة البروتين: تم حساب نسبة البروتين وفق طريقة كلداهل، بمخابر التقانة الحيوية للأغذية وفق المعايير التي يعمل بها المخبر.

- الغلة (طن.هـ$^{-1}$): تم حساب إنتاجية كل قطعة تجريبية بشكل مستقل وفق المخطط الحقلي.

- معامل استجابة المحصول للإجهاد المائي (Ky) تحت تطبيق الري الناقص، حيث يعبر عن جوهر الدراسة وأثر التلقيح البكتيري في تحسين قيمة هذا المعامل.

- كفاءة استعمال المياه (WUE) : كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ وأثر كل من عامل الري بمستوياته الثلاثة وعامل التلقيح البكتيري على معيار كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.

2-4-1 حساب معامل الاستجابة للمحصول (Ky) :

بعد القيام بالتجارب السابقة وتحليل النتائج تم تحديد مدى استجابة القمح للإجهاد المائي ودراسة استجابة المحصول لكل مستوى ري من المعاملات المطبقة في التجربة لتحديد الإجهاد الذي يتمكن المحصول من تحمله الذي يحدد من خلال المعادلة الخطية التالية:

$$Ky = \frac{1-\frac{y\,a}{y\,max}}{1-\frac{ETa}{ET\,max}}$$

(Stewart, 1977)

لأن معامل استجابة المحصول للإجهاد المائي Ky، تقاس بالانخفاض النسبي لمردود المحصول ($(1-(\frac{y\,a}{y\,max})$ نتيجة النقص النسبي في الاستهلاك المائي للمعاملة المطبق عليها الري الناقص بالنسبة إلى معاملة الري الكامل ($(1-(\frac{ETa}{ET\,max})$)، وهذه العلاقة يمكن أن تحدث بصفة مستمرة طيلة مرحلة النمو أو خلال مرحلة أو أكثر من فترات النمو.

حيث تعتبر قيم Ky خاصة بكل محصول و لها دلالة بحسب قيمتها المحسوبة وفقا لما يلي:

Ky> 1 : عندما تكون قيمة معامل الاستجابة أعلى من الواحد ، فهذا يدل على أن المحاصيل حساسة جدًا لعجز المياه ، بحيث تترافق بتخفيضات كبيرة في الغلة عندما يتم تقليل استعمال المياه بسبب الإجهاد

Ky <1 : عندما تكون قيمة معامل الاستجابة أقل من الواحد، فهذا يدل على أن المحصول أكثر تحملاً لنقص المياه ، ويتعافى جزئيًا من الإجهاد ، ويظهر أقل من التخفيضات النسبية في الغلة مع انخفاض استعمال المياه

Ky = 1 : عندما تكون قيمة معامل الاستجابة مساوية للواحد ، فهذا يدل عل أن تقليل الغلة يتناسب طرديًا مع تقليل استعمال المياه، بناءً على تحليل كمية كبيرة من المؤلفات المتوفرة حول إنتاجية المحاصيل والعلاقات المائية والري الناقص، تم وضع بعض القيم لعدة محاصيل ومنها محصول القمح والذي يقدر معامل الاستجابة له بقيمة 1.05 لمحصول القمح.

2-4-2 حساب كفاءة استعمال المياه (WUE) (كغ.مم$^{-1}$):

يعبر عن كمية الإنتاج الذي يقدمه النبات مقابل النتح وفق عمليات التمثيل الضوئي، فكلما ارتفعت قيمة هذا المعيار دلّ على كفاءة أعلى باستعمال المياه المتاحة.

وهناك عدة أساليب لحساب كفاءة الاستعمال منها بشكل مخبري عبر مقارنة كمية الماء الناتج من عملية النتح مقابل الكربونات المتمثلة بالمادة العضوية المضافة لكتلة النبات وتختلف فيزيولوجياً من نباتات تتشكل من خلال كربونات ثلاثية أو نباتات تتشكل بحلقات كربونات رباعية.

لصعوبة القيام بالاختبارات حقليا، ولسهولة تطبيق المرجعية الأساسية التي تعتمد على كمية النتح بكامل الموسم مقابل كم الحبوب الناتجة فقط، لذلك تم اتباع القانون التالي لحساب كفاءة استعمال المياه في محصول القمح بمستويات الري المطبقة، ودراسة أثر البكتيريا الجذرية في هذا المعيار.

$$WUE = GY / ET$$

(Briggs & Shantz ,1913)

GY : الغلة (كغ.هـ–1)

ET : النتح والبخر (مم) (معاملة الري المطبقة لأنها تعتمد على حوض التبخر كلاس A)

2–4–3 التحليل الإحصائي:

بعد تبويب نتائج المؤشرات المدروسة (إنتاجية القطعة التجريبية كغ.هـ$^{-1}$ –ارتفاع النبات (سم) – نسبة البروتين في حبوب القمح (%) للقطع التجريبية في التجربة الحقلية وفق المخطط الذي تم استعراضه.

يتم التحليل الإحصائي للبيانات باستخدام برنامج (GenStat–th12)، ودراسة أثر العاملين المطبقين في التجربة الحقلية في كل مؤشر من المؤشرات المدروسة، ودراسة أثر التفاعل فيما بينهم:

- عامل الري بثلاثة مستويات (IW_1: الري الكامل – IW_2: الري المتوسط– IW_3: إجهاد حاد) ،
- عامل التلقيح البكتيري بخمسة مُعامَلات ومعاملة شاهد (T5–T4–T3–T2–T1– T) } ،

يتم استخدام تحليل التباين الثنائي للوصول إلى أثر كل عامل من العاملين المدروسين في المؤشر المحدد، بداية يحدد جدول أنوفا وجود فرق بين المتوسط بين مستويات العامل الواحد، وفي حال أكدت الاختبارات الوصفية معنوية هذه الفروق يتم تحديدها عبر اختبارات مثل اختبار أقل فرق معنوي L.S.D.

للوصول إلى تأثير العامل المدروس في المؤشر المحدد لدينا.

يتم اختبار الأثر المتبادل بين العاملين وتأثير كل منهما بظل وجود الآخر على المؤشر المدروس، باختبارات وصفية تحدد فيما إذا كان الأثر المتبادل ذا دلالة إحصائية أم لا.

وفي حال وجود دلالة إحصائية عند مستوى معنوية 0.05 المعتمد في التجارب الزراعية، يتم تحديد مقارنات بين المتوسطات.

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة Results and Discussion

3–1 جدولة الري وتطبيقات معاملات الري الناقص على محصول القمح:

اعتمادا على خطوات العمل المنفذة، وجدولة الري المتبعة، يتعلق المقنن المائي بشكل واضح بمراحل نمو المحصول عن طريق معامل المحصول الذي يتغير تبعا لكل مرحلة كما تم متابعة ذلك في أثناء سير التجربة الحقلية.

تشير المرجعية المعتمدة (Land & Water –FAO–2023) إلى وجود اختلاف في مراحل نمو محصول القمح، تبعا لعدة عوامل أهمها موعد الزراعة، ونوع القمح (شتوي أو ربيعي)، بالإضافة إلى الموقع الجغرافي الذي يزرع به، حيث يصل إجمالي عدد أيام مكوث القمح الشتوي في التربة في منطقة حوض البحر المتوسط إلى 240 يوماً من يوم الزراعة ببداية شهر تشرين الثاني إلى يوم الحصاد.

وتعتمد المرجعية على مراحل النمو لتقديم المقنن المائي تبعا لمعامل المحصول في كل مرحلة وهو الإجراء الذي تم اتباعه في التجربة. وفقا لدراسات (Large,1954)، الذي وضع شكلاً يوضح مراحل نمو محصول القمح لكل من القمح ، بحيث تم اعتماد هذا التقسيم لمراحل النمو للمقارنة مع محصول القمح القاسي الصنف (شام3)، الذي دُرس أيضاً في محطة البحوث الزراعية المستنبطة له وحددت مدة بقائه في التربة 165 يوماً، كما تم الإشارة إليه عند استعراض المادة النباتية (دليل أصناف القمح في سورية، 2021 ص 28).

نلاحظ من الجدول أن صنف القمح المدروس احتاج إلى أقصى مدة زمنية موصى بها في المرجع، حيث وصلت مدة مكوثه بالأرض 165 يوماً وذلك يعتمد على الصنف والعوامل البيئية خلال مراحل نمو المحصول بالإضافة إلى موعد الزراعة، وعليه فإن محصول القمح القاسي (شام3) المستخدم يحتاج إلى المدة الزمنية الكاملة للوصول الى مرحلة النضج التام ، مع وجود فروق بسيطة في المعاملات المستخدمة حيث احتاج الري المتوسط الى 163 يوماً فقط للوصول الى النضج التام ، في حين أن الري الناقص كان مبكرا بالنضج ففي اليوم 160 تم حصاد معاملاته عند النضج لتلافي ضياع الحبوب وتأثيرها على القراءات.

يشير الجدول إلى مراحل نمو محصول القمح في ظروف التجربة، ومقارنته مع المرجعية المعتمدة تبعا للصنف وتقسيم مراحل نمو المحصول.

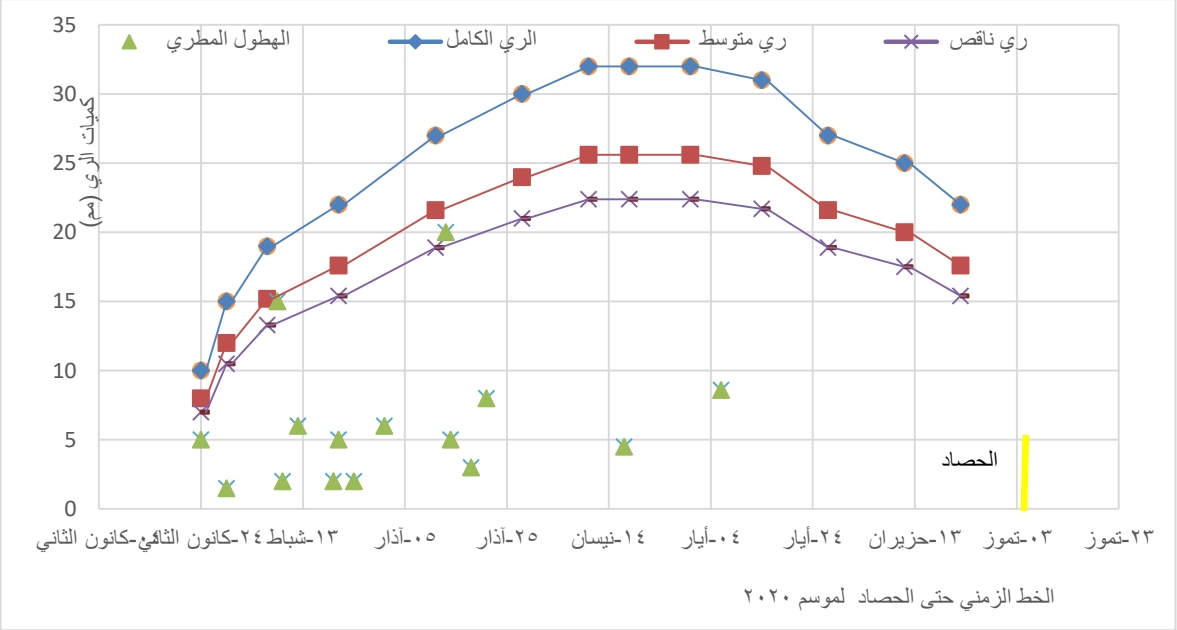
جدول (4) معامل المحصول ومراحل نمو محصول القمح.

	مرحلة الإنبات	مرحلة الإشطاء والاستطالة	مرحلة النمو (الانتفاخ والإسبال)	مرحلة الإزهار	مرحلة النضج اللبني والعجيني	مرحلة النضج التام
المدة الزمنية	20–15	25–15	50–40	20–15	35–30	20–15
Kc (FAO)	0.3			1.15		0.4
التجربة	20	25	50	20	35	20
KC التجربة	0.4	–	–	1.15	–	0.7

المصدر: FAO, (Large,1954) ونتائج التجربة.

بناء على قيم معامل المحصول المعتمدة (FA0)، تم جدولة الري وفق ما تم ذكره من استخدام حوض التبخر كلاس A، ومن الطبيعي أن تختلف القيم التجريبية لمعامل المحصول تبعا لظروف التجربة وموعد الزراعة وخصائص التربة وعليه كانت (0.4) في بداية التجربة، وتم تقديم كميات المياه وفق منحني Kc (FAO) ليستقر عند مرحلة الإزهار بمنحني التجربة أيضا عند القيمة 1.15 وعند بدء مرحلة النضج اللبني ينحدر المنحني ليصل في التجربة عند تمام النضج إلى 0.7 فقط.

إضافة لما ذكر ولما للتجربة الحقلية من خصوصية كان من الصعب ضبط جميع الظروف، لذلك يجب الأخذ بالحسبان الهطول المطري في موقع التجربة، ويبين الشكل (17) الهطولات المطرية في عام 2020 خلال التجربة إذ كانت معظم الهطولات غير فعالة لأنها أقل من 5 مم فلا تؤثر على الرطوبة الأرضية، يوجد هطولان مطريان فعالان بشكل واضح 15 مم في 8 شباط و20 مم في 13 آذار.



الشكل (10) معاملات الري المطبقة خلال التجربة.

عند اتباع جدولة الري تم إضافة مقنن مائي (324 مم) خلال اثنتي عشرة رية باستثناء رية الإنبات عند الزراعة وبكميات محددة تبعا للمعادلات كما هو موضح بالشكل (14)، أما للري المتوسط فيظهر المنحني للمقنن المائي المقدم في معاملة الري 80% والذي يتفق بمواعيد الري و ينخفض بكميات الري المقدمة بالنسبة المذكورة، أيضأ معاملة الري الناقص وهو اسفل المنحنيات الثلاثة متزامنا مع الري الكامل ولكن بكميات أقل وتوضح المساحة بينهما الفرق بنسبة 30% أي ما يعادل 972 م^3 .هـ$^{-1}$، وهي الكمية الممكن توفيرها عند اتباع الري الناقص خلال كامل الموسم، وللوقوف عند إمكانية الوصول إلى ذلك يجب تحديد أثر الري في إنتاجية القمح ومدى انخفاض الإنتاج عند تطبيقه، سيتم عرض ذلك أيضا في استعراض نتائج هذه التجربة .

جدول رقم (5) جدولة الري وفق المعاملات المطبقة في التجربة.

	التاريخ	P	P eff	IW_1	زمن تشغيل	IW_2	زمن تشغيل	IW_3	زمن تشغيل
1	24-Jan	5	0	10	25	8	20	7	17.5
6	29-Jan	1.5		15	37.5	12	30	10.5	26.25
14	06-Feb			19	47.5	15.2	38	13.3	33.25
16	08-Feb	15	10						
17	09-Feb	2							
20	12-Feb	6	1						
27	19-Feb	2							
28	20-Feb	5	0	22	55	17.6	44	15.4	38.5
31	23-Feb	2							
37	01-Mar	6	1						
47	11-Mar			27	67.5	21.6	54	18.9	47.25
49	13-Mar	20	15						
50	14-Mar	5							
54	18-Mar	3							
57	21-Mar	8	3						
64	28-Mar			30	75	24	60	21	52.5
77	10-Apr			32	80	25.6	64	22.4	56
84	17-Apr	4.5							
85	18-Apr			32	80	25.6	64	22.4	56
97	30-Apr			32	80	25.6	64	22.4	56
103	06-May	8.6	3.6						
111	14-May			31	77.5	24.8	62	21.7	54.25
124	27-May			27	67.5	21.6	54	18.9	47.25
139	11-Jun			25	62.5	20	50	17.5	43.75
150	22-Jun			22	55	17.6	44	15.4	38.5
160	02-Jul							حصاد	
163	05-Jul					حصاد			
165	07-Jul إجمالي			حصاد 324		259.2		226.8	

يوضح الجدول (5) التفاصيل لعملية الري في المستويات الثلاثة، حيث يقوم بتحديد المواعيد الزمنية للريات المقدمة مع الكميات لكل معاملة والزمن اللازم وفق تصميم الشبكة المتبع للوصول إلى كمية الري المقدمة، حيث وصل المقنن المائي المقدم بكامل الموسم إلى 3240 متر مكعب لكل هكتار. وتشير الرموز بالجدول إلى:

P: الهطول المطري خلال مدة التجربة (مم).

P eff: الهطول المطري الفعال كل ما يزيد عن خمسة ملم (لا تحدث تغيراً في رطوبة التربة) من كمية الهطول المطري وهو ما يدخل في معادلة الموازنة المائية و يؤثر على قراءات حوض التبخر.

IW_1: الري الكامل 100% (IW–CPE): يتم إضافة كامل الكميات المطلوبة، اعتمادا على قراءات حوض النتح والبخر المعدل بمعامل الحوض ويضرب بمعامل المحصول للقمح.

IW_2: الري المتوسط 80% (IW–CPE): يتم تخفيض الكميات إلى ثمانين بالمئة من الكميات المطلوبة وفق قراءات حوض التبخر المعدل مع معامل محصول القمح.

IW_3: الري الناقص70% (IW–CPE): يتم تخفيض الكميات إلى سبعين بالمئة من الكميات المطلوبة وفق قراءات حوض التبخر المعدل مع معامل محصول القمح.

بجوار كل معاملة ري زمن التشغيل اللازم للوصول إلى الكمية المقدمة عبر التصميم الموجود في القطعة التجريبية بثلاث نقاطات (8 ليتر/سا) كما وضحنا بخطوات التجربة.

تمت عملية الري بالمواعيد المحددة بالجدول بما يتناسب مع الهطولات المطرية الفعالة في موقع التجربة خلال الموسم. وبناءً على النتائج الموضحة بالجدول وصل المقنن المائي الإجمالي في كامل التجربة عند مستوى الري الكامل IW_1 إلى 324 مم من قراءات حوض النتح والتبخر خلال التجربة، وفق الأسس المتبعة بجدولة الري والتي تم شرحها في خطوات العمل.

3-2 العزلات البكتيرية وصفاتها المحفزة للنمو ونتائج الاختبارات البيوكيمائية والجزيئية لأفضل العزلات:

تظهر النتائج تبايناً واضحاً في استجابة العزلات البكتيرية للاختبارات المحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، وهذا يؤكد التنوع الميكروبي للمحيط الجذري للنباتات النجيلية، تم أخذ 70 عزلة بكتيرية مختلفة من العينات التي تم جمعها، واستُبعدت 24 عزلة كانت نتائجها سلبية في جميع الاختبارات وهي (1.1-2.1-2.2-2.3-2.4-2.5-4.1-4.2-5.1-6.1-6.2-6.3-12.1-24.1-24.2-24.3- 27.1 - 39.1- 39.2- 41.1 - 42.1-42.2 42.3 - 42.5) واصْطُفت العزلات التي تمتلك خاصية واحدة على الأقل من خصائص البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو كما هو موضح بالجدول (6) حيث وصل عددها إلى 46 عزلة بكتيرية . تبين النتائج وجود تباين بالعزلات البكتيرية في كل من الاختبارات المحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، وتختلف كل عزلة باستجابتها لهذه الاختبارات منها ما يمتلك صفة واحدة من الخصائص المدروسة، في حين يمتلك البعض عدة صفات مجتمعة حيث تم اعتماد كفاءة الاختبار وعدد الصفات التي تتمتع بها العينة لاختيار أنسب عزلة بكتيرية.

وأظهرت معظم العزلات القدرة على تحليل الفوسفات مخبرياً فقط، بفعالية متباينة، وكانت العزلات (24.4 28.2-37.3 – 41.4) متفوقة على جميع العزلات بالقدرة على تحليل الفوسفات (++++) في السلم الذي تم وضعه عند القيام بتجربة تحليل الفوسفات.

وبالنسبة إلى اختبار تحليل البوتاسيوم أيضا لم تملك جميع العزلات القدرة على تحليل البوتاسيوم، حيث تمكنت عدة عزلات من تحليل البوتاسيوم بالإضافة إلى قدرتها على تحليل الفوسفات أيضاً. و كانت العزلات(23.1.1 28.2- 29.2 – 41.4) أكثر كفاءة في تحليل البوتاس بالإضافة إلى تحليلها للفوسفات.

وأظهرت النتائج أن قدرة البكتيريا على تثبيت الأزوت الجوي لم تكن موجودة إلا في عشر عزلات فقط، واختلفت استجابة العزلات ففي ثلاث منها لم تكن النتائج إيجابية في بقية الاختبارات، وهذا يدل على اختلاف العزلات فيما بينها ولكل منها آلية معينة، في حين تمتعت العزلة 5.2 بالقدرة على تحليل البوتاس والفوسفات إضافة إلى تثبيت

الأزوت، كما تبين النتائج أيضا قدرتها على إنتاج حمض الأندول الخلي بنسب جيدة (+++) مقارنة مع سبع عزلات تمكنت من ذلك ويبين الجدول تفوق العزلة 4.3 بإنتاج حمض الأندول الخلي.

جدول (6) نتائج الاختبارات المحددة للبكتيرية الجذرية المحفزة للنمو.

التسلسلي	رقم العزلة	P	K	N	IAA	caco3	HCN	الأمونيا
1	2.6	-	+	-	++	-	-	-
2	4.3	-	+	-	++++	-	+++	++
3	4.4	-	-	-	-	-	-	++
4	5.2	++	+++	++	+++	+++	-	+++
5	6.4	-	-	-	-	++	-	+++
6	6.5	-	+	-	-	+	-	-
7	17.1	-	-	++	-	-	-	-
8	17.2	-	-	-	-	-	-	+
9	21.1	-	-	-	+	-	-	+
10	22.1.2	+		-	-	-	-	+
11	22.1.1	+++	+	-	++	-	++	++
12	23.1	+	-	+++		+	+++	+++
13	23.1.1	++	++++	-	-	-	-	-
14	23.2	-	-	-	-	-	-	++
15	24.4	++++	++	-	-	_+-	-	+++
16	25.1				++			
17	25.2	-	-	+++	+	_+-	-	-
18	26.1	+++	++	-	-	-	-	-
19	27.2	+	++	-		-	-	-
20	29.1	++	++	-	-	-	+	++
21	29.2	-	++++	-	+	_+-	-	++
22	36.1	+	+	++	-	-	-	++
23	36.2	+	-	++	+	-	-	++
24	36.3.1	++	++	-	-	-	+++	+++
25	36.3	+	+++	-	-	-	+	+++
26	37.1	+	-	-	-	-	+	++

الأمونيا	HCN	caco3	IAA	N	K	P	رقم العزلة	التسلسلي
-	-	+	++	-	-	+	37.2	27
+	-	-	-	-	+++	++++	37.3	28
+++	+++	-	-	-	++	++	38.1	29
++	-	-	+	-	-	+	38.2	30
-	-	-	-	++	++	+++	38.3	31
++	+++	-	-	-	+	+	39.3	32
-	-	-	+	-	-	+	39.8	33
-	++	-	-	-	+	++	41.2	34
++	-	-	-	-	+	++	41.3	35
++	-	+	+++	-	+++	++++	41.4	36
+++	++	-	-	-	+++	-	42.4	37
+++	+	-	+	-	+	+	43.1	38
++	+	-	+	-	++	++	44.1	39
++	-	-	+	-	+	+	45.1.1	40
-	-	-	-	-	-	+	45.1.2	41
++	+	-	+	-	++	++	45.2.2	42
-	+	-		-	-	++	45.2.1	43
+++	-	-	-	-	-	-	45.3.2	44
-	-	-	-	++	+	+	46.2.1	45
+++	-	-	+	++	++	++	46.2.2	46

3-2-1 اختيار العزلات الأكثر فعالية في الاختبارات السابقة المحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو:

بعد القيام بالاختبارات المحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو كما أوضحنا تفصيلاً لكل اختبار قمنا بغربلة العزلات اعتماداً على النتائج بحيث يتوضح لدينا في الجدول (6) أهم العزلات ذات النتائج الإيجابية، ونلاحظ أن بعض العزلات لم تكن إيجابية سوى باختبار واحد مثل العزلة رقم 31.1 التي كانت إيجابية في تحليل الفوسفات في حين لم تبدي أي نشاط في الاختبارات الأخرى.

أما العزلة رقم 16.3 كانت إيجابية في ثلاثة اختبارات أساسية مثل (تحليل الفوسفات – تحليل البوتاس – وتثبيت الأزوت) بنسب جيدة جدا، في حين لم تبدِ أي تفاعل في باقي الاختبارات وبالأخص إنتاج حمض الأندول الخلي. تبعا لنتائج الاختبارات السابقة ونتيجة التباين الواضح في نشاط العزلات البكتيرية لها تم اختيار خمس عزلات مميزة لاستكمال التجربة واستخدامها كبكتيريا جذرية محفزة للنمو في التجربة المقامة، حيث تم الاختيار وفق ما يلي:

- العزلة رقم (4.3) التي تتميز عن جميع العزلات بنشاط بإفراز حمض الأندول الخلي بالإضافة لإنتاج HCN والأمونيا بنسب جيدة، مع وجود نشاط بسيط في تحليل البوتاسيوم، ولكن لم تكن لديها القدرة على تحليل الفوسفات أو كربونات الكالسيوم بالإضافة الى نتائجها السلبية في تثبيت الأزوت.
- العزلة رقم (5.2) معظم نتائج هذه العزلة إيجابية حيث تقوم بتحليل البوتاس وكربونات الكالسيوم بنسب جيدة جدا ، بالإضافة الى إنتاج حمض الأندول الخلي بمعدل جيد وقدرتها على تحليل الفوسفات وتثبيت الأزوت الجوي بنسبة جيدة أيضا مع تفوقها في إنتاج الأمونيا. الاختبار الوحيد الذي لم تكن العزلة إيجابية فيه هو اختبار إنتاج HCN.
- العزلة رقم (28.2) تم أخذ هذه العزلة من المخبر (مسببات مرضية –قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق) **يقوم طالب الدكتوراه وسيم البلخي** (أطروحته قيد الإنجاز) بعزلها وأعطت نتائج إيجابية مخبرية وقد تميزت هذه العزلة بنشاط كبير جدا بتحليل كل من الفوسفات والبوتاس مقارنة مع بقية العزلات. وعلى الرغم من ذلك كانت ذات نتائج سلبية في اختبار تثبيت الأزوت الحر وفي اختبار إنتاج حمض الأندول الخلي. ولم تعط أي نشاط في كل من اختبار تحليل كربونات الكالسيوم واختبار HCN.

- العزلة رقم (35.1) تم أخذ هذه العزلة من المخبر (مسببات مرضية –قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق) **يقوم طالب الدكتوراه وسيم البلخي** (أطروحته قيد الإنجاز) بعزلها وأعطت نتائج مخبرية إيجابية وقد تميزت هذه العزلة بنشاطها في تحليل الأمونيا وكربونات الكالسيوم معاً بالإضافة إلى مقدرتها على اجتياز الاختبارات الأساسية مثل (تحليل الفوسفات –تحليل البوتاس – تثبيت الأزوت)، ومن الممكن أن تؤثر في استجابة القمح للإجهاد المائي، لذلك تم اضافتها إلى العزلات المختارة.
- العزلة رقم (41.4) تتميز بنشاط قوي في ثلاثة اختبارات رئيسية تحليل الفوسفات والبوتاس بالإضافة الى قدرتها العالية على إنتاج حمض الأندول الخلي، مع قدرة خفيفة على تحليل كربونات الكالسيوم وإنتاج الأمونيا، رغم أنها لا تملك القدرة على تثبيت الأزوت وإنتاج HCN إلا أنها تملك خصائص مهمة من الممكن أن تساعد نبات القمح في النمو والاستجابة للإجهاد المائي.

3-2-2 الاختبارات البيوكيمائية للعزلات المختارة للتجربة:

نلاحظ بعد إجراء هذه الاختبارات المحددة للبكتريا الجذرية تم استخدام أشهر الاختبارات التعريفية للعزلات، وتبين لدينا اختلافات بالنتائج تدل على أن كل معاملة مختلفة من حيث الجنس والنوع البكتيري ويمكن مقارنة بسيطة مع أهم أنواع البكتيرية الجذرية المدروسة من حيث الأداء (تحليل البوتاس–تحليل الفوسفات–تثبيت ازوت حر–انتاج حمض الأندول الخلي) مع صفات البكتيريا التعريفية والوصول إلى نتيجة تقريبية:

- جميع العزلات المختارة كانت سالبة غرام وهو المتوقع حيث معظم أنواع البكتريا الجذرية تتصف بأنها سالبة غرام، وهو ما يميز معظم البكتيرية الجذرية المحفزة للنمو.
- أما في اختبار التنفس فمن المتوقع ان تكون أغلب العزلات لديها القدرة على التكيف مع أغلب الظروف سواء الهوائية منها واللاهوائية وهو ما شاهدناه في العزلات (5.2–28.2 –35.1)، باستثناء العزلتين رقم (4.3 – 41.4) اللتين لم تتمكنا من النمو في ظروف غير هوائية وهو ما يوضح تأثرهما بخصائص التربة الفزيائية والمسامية ومستوى الرطوبة عند التلقيح بهما.
- القدرة على تشكيل الأبواغ صفة مميزة ومن المتوقع أنها تعطي دلالة واضحة في قدرة البكتريا على الاستمرار حتى في ظروف غير ملائمة، ونلاحظ أن كلاً من العزلتين (5.2 – 28.2) لهما القدرة على تشكيل أبواغ أما بقية المعاملات فلم تكن قادرة على تشكيل أبواغ.
- الناحية الشكلية لها دلالة تصنيفية في معظم الأصناف وعليه تم الكشف على العزلات مجهريا، وفقا للجدول (2) نلاحظ اختلاف العزلات شكلياً حيث العزلة 4.3 تظهر بشكل أسطواني، في حين كل من العزلتين (5.2–35.1) تظهر الشكل العصوي، وتتفرد العزلة 28.2 بالشكل الخيطي المميز عن بقية العزلات، أما العزلة 41.4 فقد ظهرت بشكل كروي عصوي وأيضا تدل على اختلاف العزلات البكتيرية المختارة ويمكن مقارنة هذه الصفات ببعض صفات البكتريا الجذرية وتحديد العزلات الأكثر تشابها مع المدروسة.

الجدول (7) اختبارات بيوكيمائية تعريفية للعزلات المختارة للقيام بالتجربة الحقلية.

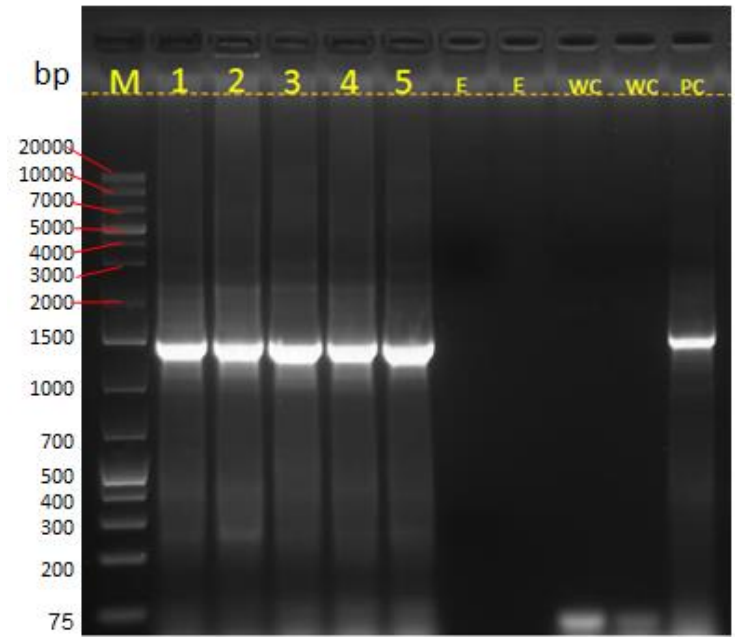
	رقم العزلة	صبغة غرام	التنفس	التبوغ	الشكل
T1	4.3	-	هوائي	-	اسطواني
T2	5.2	-	هوائي ولا هوائي	-	عصوي
T3	28.2	-	هوائي ولا هوائي	+	خيطي
T4	35.1	-	هوائي ولا هوائي	-	عصوي
T5	41.4	-	هوائي	-	كروي عصوي

3-2-3 نتائج التحليل الوراثي للعزلات البكتيرية المميزة في التجربة المقامة:

أظهرت نتائج الاختبارات البيوكيميائية التعريفية للعزلة (5.2) وللعزلة (41.4) بأنها سالبة غرام، عصوية الشكل، ليس لديها القدرة على التبوغ، اختيارية التنفس، وأعطت نتائج إيجابية في اختبار H2s، وسالبة في اختبار الأوكسيداز، وهذه الاختبارات لم تكف لتعريفها على مستوى النوع لذلك تم تعريفها على المستوى الجزيئي بتحديد تتابع النكليوتيدات في مورثة 16 Sr DNA.

حيث بينت نتائج الرحلان الكهربائي على هلامة (Agarose 1 %) وجود الحزمة المرغوبة بوزن جزيئي 1400 bp تقريبا وفق مقياس 1kb plus DNA Ladder، وأن الـ DNA للبكتيريا المدروسة سليمة وتقع أسفل الشاهد الموجب بقليل.

M: 1kb plus DNA Ladder
1: SY-41.4
4: SY-5.2
WC: شاهد سالب (الماء)
PC: (A.VITIS) شاهد موجب
E: empty
2- 3 –5 : غير معرفة



الشكل (11) الرحلان الكهربائي للعزلات.

أ- الاختبار الوراثي للعزلة 5.2 :

تشير نتائج التحليل الوراثي للعزلة المدروسة (5.2) انها تتبع للعائلة Enterobacteria جنس citerobacter وتتبع إلى النوع c.braakii بنسبة تشابه وراثي تتجاوز 96% وفق البنك الوراثي للتسلسلات النكليوتيدية .

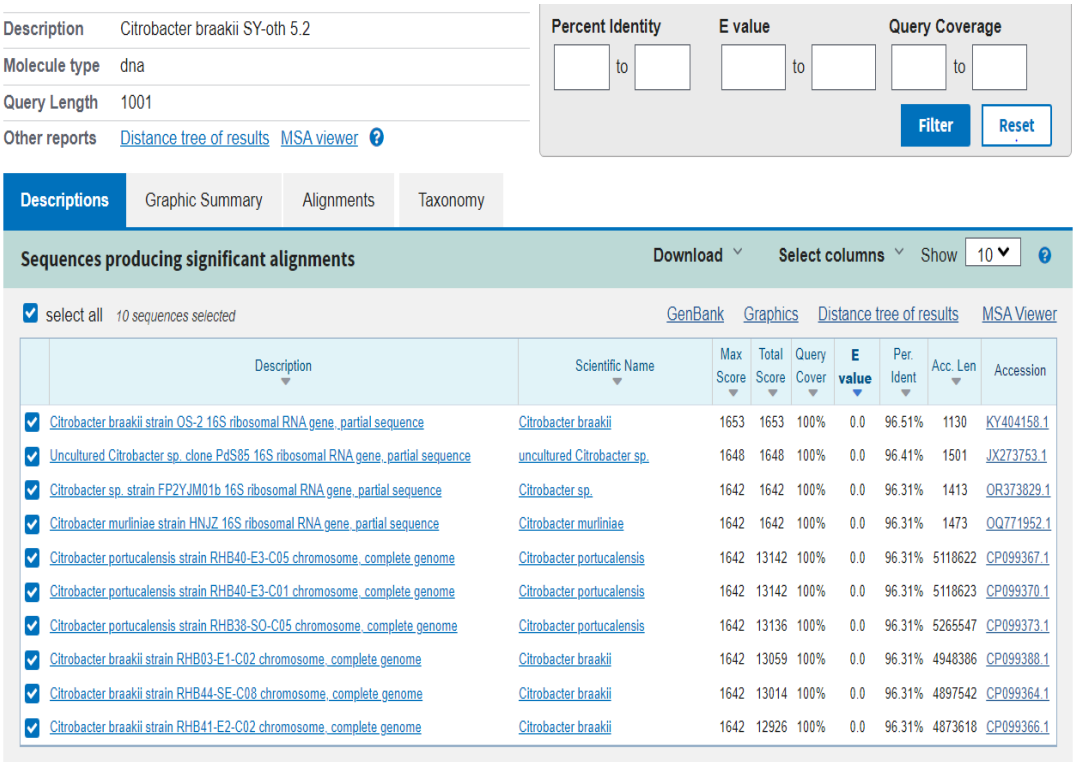
توجد بكتيريا (Citrobacter braakii) في كل مكان في الهواء والماء والتربة والانسان، وقد تم عزلها من جذور النبات سابقا وتصنيفها كبكتيريا جذرية محفزة للنمو (PGPR) التي تقوم بفرز أنزيمات تحليل الفوسفات (Lim, 2007)

>220328-001_O17_ SY-5.2
TCCACAGAGGAGCTTGGCTCCTTTGGGTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGT
AATGTCTGGGAAACTGCCCGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAG
CTAATACCGCATAACGTCCCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCT
TGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCT
CACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTG
GAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT
GCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGC
CTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGAGGAGGAAGGTGTTGGGGTTAATA
ACCGTGTCCATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGC
CAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGG
CGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGC
TCAACCTGGGAACTGCATTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGG
GGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATA
CCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAGA
GCGTGGGGAGCACACAGGATTATATACTCTGGTAGTCCACGCCGTAAACG
ATGTCAACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGC
GTTAAGTCTACCGCCTGGAGAGTACCGCCGCAGGGTTAAGACTCATATGA
ATTGACGGGGGCGCGCACACGCGGTGGAGCGTGTGGTTTATTTCTATGCA
ACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACGTCCAGAGAATTAGATAAAGATG
CATTAGTGCCTTCGGGAACTCTGAAACAGGTGCTGCATGCCTGTCGTCAC
CTCCTCCTCCCGAATGGTGGATTTATGTCCTCCACCACCCGCACCCCTCA
CCCTTGTTTGGTTGGGGTTAAGGCGGGGAGCTCAGGGGAAAAATACCCCG
CCCCCCCCGCCACAAAAGGGGGGAGGGGGGGGGGTAATTTTTCCCTTTGG
GGGGGTGGCTCAACCAAAGGGAAACAGGGGGGGGCAAGGGGGAAGAAAAA
ACCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCACCCCGCCCCTTTAAAAAGGGGGGG
GGGGGGGGCCCCCCCCCCCTCCCCTCCCCCCCGAAAAAGTT

الشكل (12) التتابع النكليوتيدي للعزلة (5.2)

لدينا التسلسل النكليوتيدي للعزلة 5.2 والذي يعد المفتاح الوراثي لتصنيفها وإدراجها ضمن العائلة الوراثية الأقرب لها ليتم مقارنتها مع الدراسات السابقة للنوع والجنس البكتيري نفسه.

باستخدام قاعدة البيانات Blastعلى موقع NCBI، أظهر التحليل أن العزلة البكتيرية تنتمي إلى عائلة Enterobacteria جنس citerobacter وتتبع إلى النوع c.braakii و أقرب وراثياً إلى Citrobacter braakii OS–2 ، ونسبة تشابه 96.51 بالمئة ،



الشكل (13) التقارب الوراثي للعزلة 5.2 وفق بنك المعلومات العالمي.

تم استخراج تتالي النكليوتيدات لعدد من العزلات من البنك NCBI وهي:

1. KY404158.1:26-1024 Citrobacter braakii strain OS-2
2. CP118774.1:456931-457929 Citrobacter braakii strain ASE1
3. ON557391.1:36-1034 Citrobacter braakii strain LZH-C2
4. CP045771.1:3852-4850 Citrobacter braakii strain MiY-A
5. CP069788.1:534836-535834 Citrobacter braakii strain
6. CP046348.1:1541672-1542670 Citrobacter portucalensis

وبحسابات إحصائية للعزلات الداخلة في التحليل الوراثي، نلاحظ من مصفوفة التشابه الناتجة بموقع (Secuences Identites And Similarities)، للملف الناتج بصيغة (Fasta) من البرنامج المستخدم،

ويتوضح لدينا بأن أقرب سلالة 96.06 % مع العزلة المدروسة هي سلالة OS–2 ، في حين تتطابق السلالتان (ASE1–LZH–C2) بنسبة 99.9 % مع بعضهما البعض وبنسبة تشابه مع العزلة تصل إلى 95.9 % .

في حين تبتعد السلالات الثلاث المتبقية وراثيا كما هو موضح بالشجرة الوراثية، وتتخذ فرعاً اخر بحيث لم تتجاوز نسبة التشابه مع العزلة المدروسة الى 37 % ، مع تطابقها فيما بينها بنسبة مئوية وصلت إلى 96 % .

SIAS

Secuences Identites And Similarities

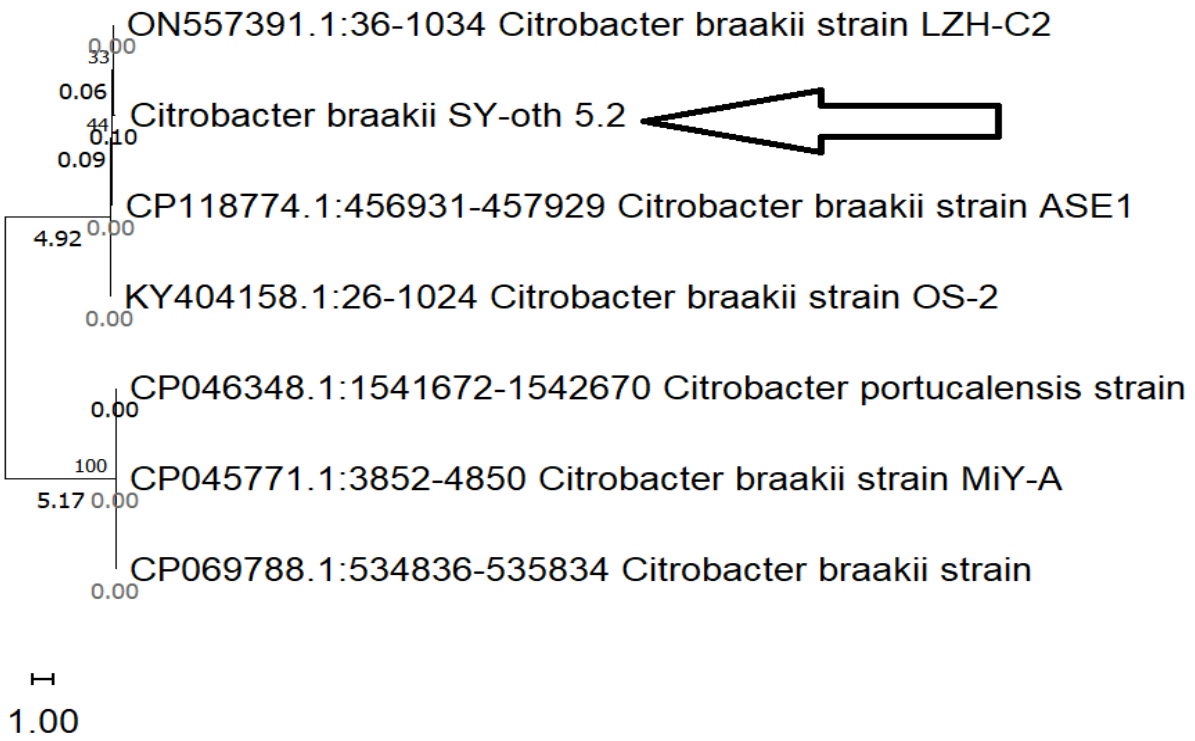
MSA NAME

IDENTITY RESULTS

24_Citrobacter_braakii_strain_OS-2	100%					
1-457929_Citrobacter_braakii_strain_ASE1	99.51%	100%				
34_Citrobacter_braakii_strain_LZH-C2	99.51%	100%	100%			
72- ter_portucalensis_strain_FDAARGOS_738	37.75%	37.85%	37.85%	100%		
4850_Citrobacter_braakii_strain_MiY-A	37.65%	37.75%	37.75%	99.9%	100%	
6-535834_Citrobacter_braakii_strain	37.65%	37.75%	37.75%	99.9%	100%	100%
ii_SY-oth_5.2	96.09%	95.9%	95.9%	36.97%	36.87%	36.87%
	KY404158.1:26-1024_Citrobacter_braakii_strain_OS-2	CP118774.1:456931-457929_Citrobacter_braakii_strain_ASE1	ON557391.1:36-1034_Citrobacter_braakii_strain_LZH-C2	CP046348.1:1541672-1542670_Citrobacter_portucalensis_strain_FDAARGOS_738	CP045771.1:3852-4850_Citrobacter_braakii_strain_MiY-A	CP069788.1:534836-535834_Citrobacter_bra

الشكل (14) مصفوفة التشابه Citrobacter braakii

انقسمت شجرة القرابة الوراثية للعزلة (5.2) التي تم استخراجها باستخدام الطريقة (Neighbor–Joining) method. و حساب مسافات التقارب الوراثي باستخدام الطريقة الإحصائية (Maximum Composite Likelihood) بين العزلات البكتيرية الداخلة بالتحليل باستخدام برنامج MEGA11 (Tamura, 2021).



الشكل (15) شجرة القرابة الوراثية للعزلة البكتيرية(5.2).

انقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى فرعين رئيسيين الشكل(15) أن حيث تقع العزلة (5.2) المسماة **C. braakii SY–oth 5.2** مع ثلاث سلالات بكتيرية من النوع C.braakii وهم (OS–2 ، ASE1 ، LZH–C2) ، وهذا يؤكد التقارب الوراثي مع هذه السلالات البكتيرية مع تطابق كبير مع السلالة LZH–C2

و يضم الفرع الثاني من الشجرة الوراثية سلالتين من النوع C.braakii وهما (MiY–A ، Strain) وتقاربهما وراثياً مع نوع C.portucalensis ، وتباعدهما وراثيا مع الفرع الذي يحوي العزلة المدروسة.

ب– الاختبار الوراثي للعزلة 41.4:

تشير نتائج التحليل الوراثي للسلالة المدروسة إلى أنها تتبع للعائلة Enterobacteria جنس Pantoea وتتبع إلى نوع Pantoea agglomerans من هذا الجنس بنسبة تشابه وراثي تتجاوز 82% وفق البنك الوراثي للتسلسلات النكليوتيدية .

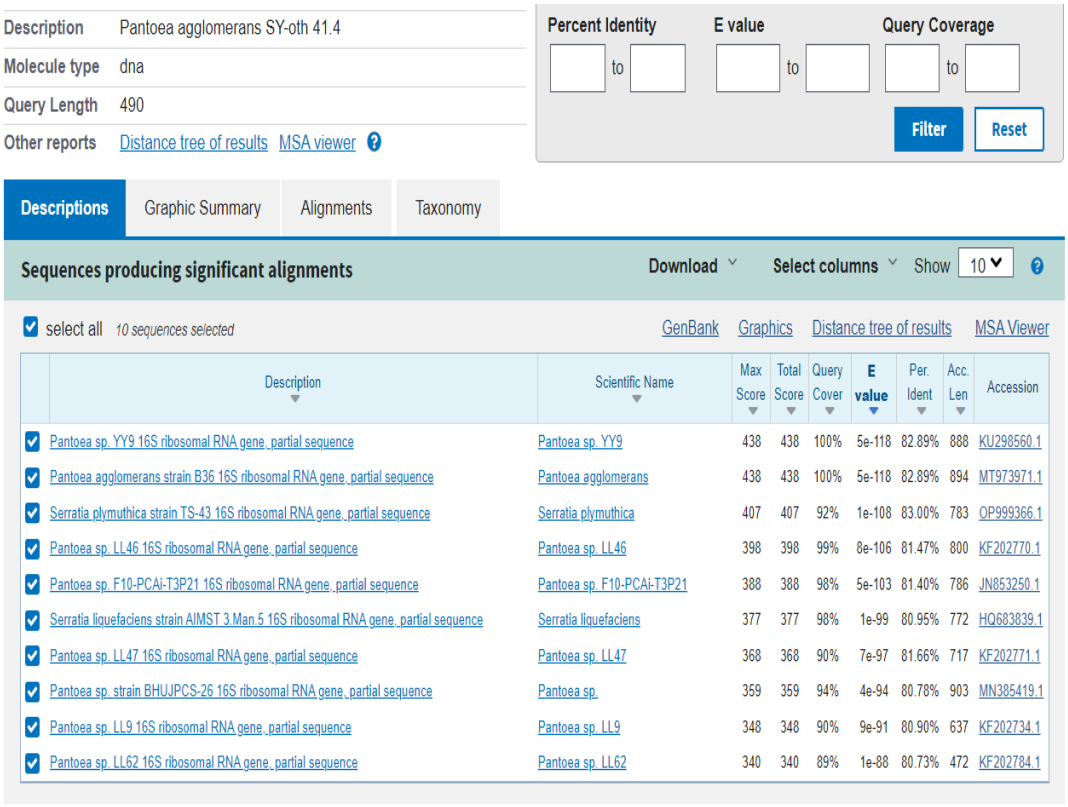
حيث توجد بكتيريا (Pantoea agglomerans) في كل مكان في الهواء والماء والتربة ، وقد تم عزلها من جذور النبات سابقا وتصنيفها كبكتيرية جذرية محفزة للنمو (PGPR) (Lim, 2007)

```
>220328-001_I19_Pantoea agglomerans SY-oth 41
AGTCACAGGAGACTTTGGTTCCTCTGGTGACAAGAGCCGCACAGGTGAGT
AAAGTCTCTGAAACTGCGTGAGGGAGGGGGAGATCTACAGGAAAAGGGGG
ATCAAACAGCGCATCACCTCCACACACCAGTGTGGGACCCTCTCGCCCCA
CGCCCCCTCATATGCCCCCATATGATTATCTATTATATGGGGTAAAGGGT
CACCTATGCGACAATATCTATCTGGTCTCAGAGGAGAACCCCCCCCCACTG
TGACTCTGACACGGTCCCCACACCTACAGGAGGCGCCACTGTGGAAAATT
TTGCAATGGGCGCACACCTGATGCGCCCCTGCCCCGTGTGTGAAAAAAAC
CTTTTCGTTTTAAAACACTTTTTCCGAGGAGAAAAGGGTTTCTGTTTTTA
TCACTGTTCTTTTTCATTTCTCTCACAAAAAACACCCCCTAACTCCCTGC
CCCCACCCCCGCTAATACAGAGGGGGCGCACGTTTATCTCAAATTTTGGG
CGTAAAGCGCACACACGCGCGTTGTTATATCTCATATGTAATCTCCCCGC
TTTTCGTGGGAACTGCGCTTTTAACTGTGAAACTATAGTCTCGTATAGAG
GGGTATAAATTTCCGGGTATCCCTGTAATGTGCATATATATCTCGGGGTA
TACCTGGGGGGAAAGTCCCCCTGTGGACACACAGTGACTCTCATGTGAAA
AAGTGTGTGGAGAACAGGGGGATATATACCCCGGGGGGTCCTCCCTGTAA
ACTCTTCCTCATTGAGGGTGCCCCCGTTATGCCTCCCTCTCTAGAGATAA
CTCCTTGTCTGTCTCCTCCGAGGGGTGTTCCCGCGTGAGGGGAGACATCA
TATGTTTTGACAGCGCACCCGCGCGGGCGGTGGAGAGCGTGTGTATATCA
AGAGACGGGGAGAACCTCTATTTTTACTGGGCGTCGGGAGAAGATCTAGA
CATGTTTTCTGCGAAGAGAGTACAGGACGTGTGTGTAGCGGTGCTCCTCT
CGTCGTGGGAGATGGGTGTAAAACCCAGAGGCATCGCAACACTTATCTGT
TTTGTGTCCGCGGGTAGAGCCGAGAGATTATGACCACGCGTCGCTGCACA
CAAAGAGATGGAGATCATCTTCTTGCGTGGCTGCTCACCACAGGAAGCAT
CGTGTGTCTGGCGATGATCAGCTGACACACAGCGACCGCGCCAGTTAAAT
GTGGAGTCGTACGCATACATGGT
```

الشكل (16) التتابع النكليوتيدي للعزلة (41.4)

لدينا التسلسل النكليوتيدي للعزلة 41.4 والذي يعد المفتاح الوراثي لتصنيفها وإدراجها ضمن العائلة الوراثية الأقرب لها ليتم مقارنتها مع بعض العزلات للنوع والجنس البكتيري نفسه.

و باستخدام قاعدة البيانات Blastعلى موقع NCBI، أظهر التحليل أن العزلة البكتيرية تنتمي إلى عائلة Enterobacteria جنس pantoea وتتبع إلى النوع Pantoea agglomerans و أقرب وراثياً إلى Pantoea agglomerans strain B36 ، ونسبة تشابه 82.65 بالمئة ،



الشكل (17) التقارب الوراثي للعزلة 41.4 وفق بنك المعلومات العالمي.

تم استخراج تتالي النكليوتيدات لعدد من العزلات من البنك NCBI وهي:

1. MT973971.1:31-743 Pantoea agglomerans strain B36
2. MN006238.1:71-755 Pantoea agglomerans strain LA131
3. MN006192.1:58-764 Pantoea agglomerans strain NA212
4. KJ529102.1:36-761 Pantoea agglomerans strain SGS9
5. MK883053.1:39-780 Pantoea agglomerans strain P8_BA2H
6. MK905511.1:32-759 Pantoea agglomerans strain NAC64
7. KP887099.1:48-775 Pantoea agglomerans strain MG-TSK

وبحسابات إحصائية للعزلات الداخلة في التحليل الوراثي، نلاحظ ويتوضح لدينا من مصفوفة التشابه الناتجة بموقع (Secuences Identites And Similarities)، للملف الناتج بصيغة (Fasta) من البرنامج المستخدم، أن

أقرب سلالة 82.65 % مع العزلة المدروسة هي سلالة strain B36 ، في حين تتطابق السلالة (LA131) بنسبة 80.61 % مع العزلة (41.4)

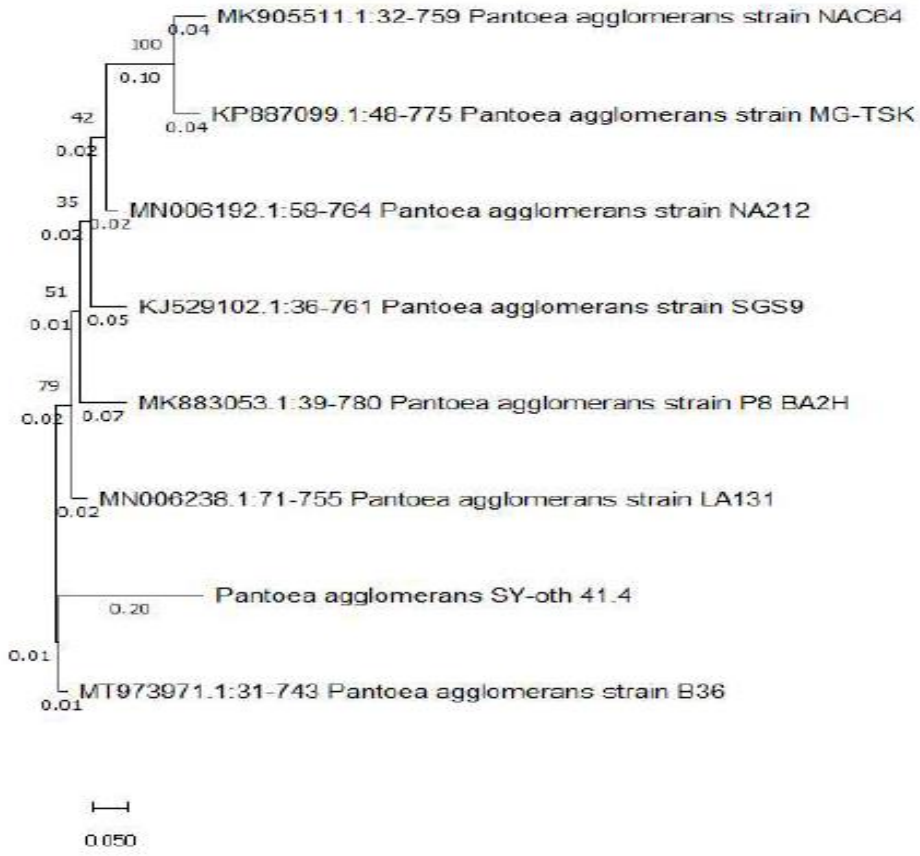
Pantoea_agglomerans_SY-oth_41.4	100%			
MT973971.1:31-743_Pantoea_agglomerans_strain_B36	82.65%	100%		
MN006238.1:71-755_Pantoea_agglomerans_strain_LA131	80.61%	91.09%	100%	
MN006192.1:58-764_Pantoea_agglomerans_strain_NA212	79.18%	87.69%	92.99%	
KJ529102.1:36-761_Pantoea_agglomerans_strain_SGS9	79.59%	89.76%	90.94%	
MK883053.1:39-780_Pantoea_agglomerans_strain_P8_BA2H	77.95%	87.37%	88.17%	
MK905511.1:32-759_Pantoea_agglomerans_strain_NAC64	74.48%	80.92%	83.64%	
KP887099.1:48-775_Pantoea_agglomerans_strain_MG-TSK	72.85%	80.78%	84.52%	
	Pantoea_agglomerans_SY-oth_41.4	MT973971.1:31-743_Pantoea_agglomerans_strain_B36	MN006238.1:71-755_Pantoea_agglomerans_strain_LA131	MN006192.764_Pantoe

IDENTITY STATS

min - 72.85
max - 93.68
mean - 84.6267857142858
stddev - 5.2178204628612

الشكل (18) مصفوفة التشابه للعزلة (41.4)

تم رسم شجرة القرابة الوراثية للعزلة (41.4) ، باستخدام الطريقة (Neighbor–Joining method). و تم حساب مسافات التقارب الوراثي باستخدام الطريقة الإحصائية (Maximum Composite Likelihood) بين العزلات البكتيرية المختارة للتحليل الوراثي باستخدام برنامج MEGA11 (Tamura, 2021).



الشكل (19) شجرة القرابة الوراثية Pantoea.agglomerans

انقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى عدة فروع حيث كما هو واضح في الشكل(19) أن ، العزلة (41.4) المسماة **Pantoea.agglomerans SY–oth 41.4** توجد مع السلالة البكتيرية P.agglomerans B36، وهذا يؤكد التقارب الوراثي مع هذه السلالة وبنسبة تشابه 82.65 % .

ومن ثم تليها السلالة LA131 بنسبة تشابه 80 % ، وتنخفض نسبة التشابه لتصل الى 72 % في السلالة TSX التي تتبع إلى النوع Pantoea.agglomerans نفسه .

3-3 أثر الري الناقص في نمو القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية

3-3-1 أثر الري الناقص في ارتفاع نبات القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية:

تشير النتائج إلى اختلاف صفات نمو نبات القمح الشكلية خلال سير التجربة، حيث تم التنويه في الجدول (4) إلى اختلاف المدة الزمنية للوصول الى مرحلة النضج بالإضافة إلى الاختلاف الواضح بين المعاملات المطبقة في ارتفاع النبات، يتبين لدينا تفوق معاملة الري الكامل بشكل معنوي حيث وصل متوسط ارتفاع النبات في القطعة التجريبية في هذه المعاملة إلى 92 سم، في حين انخفض متوسط ارتفاع النبات في معاملات الري الناقص إلى 67 سم بشكل معنوي بمقارنته مع متوسط كل من الري الكامل والمتوسط كما هو موضح بالجدول.

جدول (8) أثر الري الناقص في ارتفاع نبات القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية.

ارتفاع نبات القمح (سم)	معاملات البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو T (PGPPR)					
	T_0	T_1(4.3)	T_2(5.2)	T_3(28.8)	T_4(35.5)	T_5(41.4)	المتوسط
الري الكامل	90	87	95	92	87	100	92^{a}
الري المتوسط	77	80	92	83	82	83	83^{b}
الري الناقص	62	64	73	70	62	70	67^{c}
المتوسط	76^{c}	77^{c}	87^{a}	82^{ab}	77^{c}	84^{a}	
C.V =10.4	**LSD**$(t-iw)_{0.05}$ = 13.8		**LSD**$(iw)_{0.05}$=5.6		**LSD**$(T)_{0.05}$= 8		

كما يوضح الجدول التباين الواضح في ارتفاع النباتات في القطع التجريبية بين المعاملات المجهدة ومعاملات الري الكامل والتي انعكست بالتحليل الإحصائي بفروق ذات دلالة إحصائية عند مستوى ثقة 95%، حيث أقل فرق معنوي يساوي 5.6 سم بالنسبة لعامل الري.

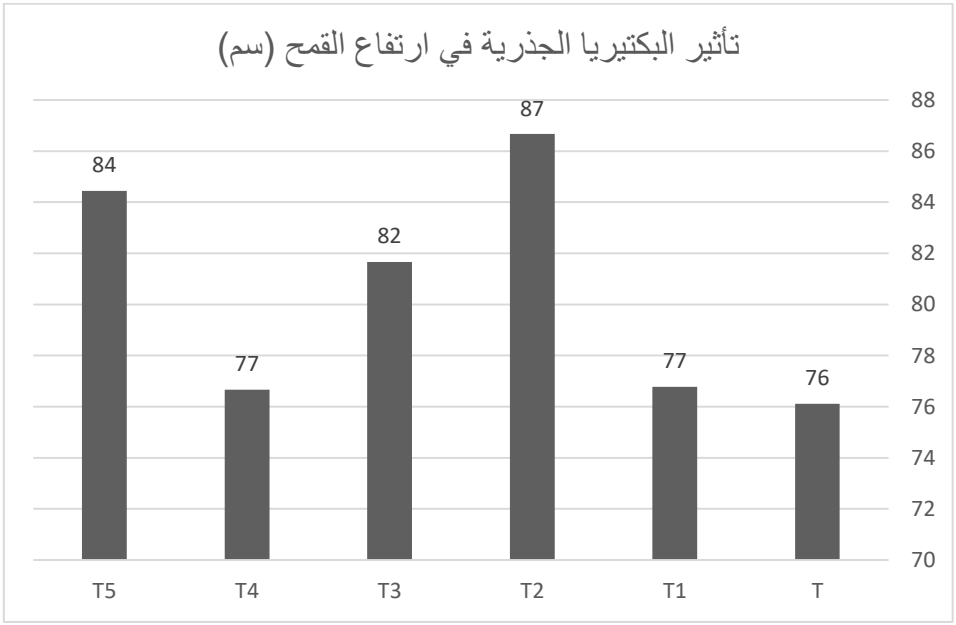
هذا يؤكد العلاقة بين المقنن المائي والصفات الشكلية لمحصول القمح، وبالأخص نمو النبات وارتفاعه، كما هو واضح في الشكل المرفق، لتسهيل عملية قراءة النتائج بما يخص تأثير الري في ارتفاع النبات.

كما توضح نتائج التحليل الإحصائي تأثر القمح في التلقيح البكتيري من حيث ارتفاع النبات، وتميز عزلتين وتفوقهما بشكل معنوي على كل من معاملة الشاهد دون تلقيح، ويوضح الجدول بأن قيمة LSD بالنسبة لعامل التلقيح البكتيري في مؤشر ارتفاع النبات 8 سم.

عند تطبيق معاملات البكتيريا الخمسة المختارة في الدراسة الجذرية المحفزة للنمو، نلاحظ تفوقاً معنوياً للعزلة (5.2)، حيث وصل متوسط ارتفاع النبات إلى 87 سم مقارنة بمتوسط ارتفاع القمح في معاملة الشاهد دون تلقيح الذي وصل الى 76 سم فقط.

وفي العزلة (41.1) اقترب متوسط ارتفاع النبات إلى العزلة السابقة وكانت قيمته 84 سم، متفوقين معنويا على كل من معامل الشاهد دون تلقيح وعلى العزلتين الثانية والرابعة، اللتين كان تفوقهما ظاهريا فقط دون وجود دلالة إحصائية.

مع اقتراب نتائج العزلة الثالثة من العزلتين المميزتين بفروق ظاهرية ولكن هذا التفوق لم يكن ذا دلالة إحصائية مع معاملة الشاهد دون تلقيح.



الشكل (20) أثر التلقيح البكتيري في ارتفاع النبات.

نلاحظ وجود فروق ظاهرية بارتفاع النبات وفق المعاملات البكتيرية، دون وجود دلالة إحصائية ذات معنى في الشكل الموضح أعلاه، مع اقتراب العزلة الثالثة إلى العزلتين المميزتين دون وجود فروق معنوية فيما بينهما.

يوضح جدول التحليل الإحصائي عدم وجود أثر تفاعلي بين العاملين المدروسين إحصائياً في مؤشر ارتفاع النبات، مع وجود تأثير واضح كما ذكرنا لكل عامل على حده إحصائياً.

وكان لعامل الري تأثير أكبر في نمو المحصول وارتفاع القمح، ووجود اختلافات ظاهرية ومعنوية كما ذكرنا بين مستوياته، في حين تميزت عزلتان بعامل التلقيح البكتيري من حيث المؤشر المدروس.

بشكل عام يؤكد لنا هذا المؤشر تأثر نمو القمح في العاملين المطبقين، وهذا سنلاحظه أيضا على إنتاجية القمح في الفقرة التالية.

3-3-2 أثر الري الناقص في نسبة البروتين للقمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية:

تتأثر الصفات النوعية لحبوب القمح بالإجهادات البيئية، وبالأخص الإجهاد الملحي أو المائي، قمنا بتقييم أثر الإجهاد المائي بتطبيق الري الناقص في نسبة البروتين.

تبين الدراسة أن نسبة البروتين ترتفع عند التعرض إلى الإجهاد المائي بمعاملات الري، حيث كان متوسط نسبة البروتين في معاملة الري الكامل 12% في حين كان في معاملة الري المتوسط 12.6 % ولم يكن الارتفاع ذا دلالة إحصائية عند التحليل الإحصائي، وعليه يمكن القول بإن الري المتوسط وفق النسبة المدروسة لا يؤثر بشكل معنوي عل نوعية حبوب القمح، بينما الاجهاد المطبق نتيجة الري الناقص وفق التجربة كان له أثر واضح وذا دلالة إحصائية حيث وصل متوسط نسبة البروتين بحبوب القمح في معاملة الري الناقص إلى 13.5% ، تعد هذه النسبة مرتفعة نسبياً.

جدول (9) أثر الري الناقص في نسبة البروتين في حبوب القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية.

نسبة البروتين في حبوب القمح (%)	معاملات البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPPR) T					
	T_0	T_1(4.3)	T_2(5.2)	T_3(28.8)	T_4(35.5)	T_5(41.4)	المتوسط
الري الكامل	11.97	12.44	12.32	12.08	11.33	11.90	12.01^{a}
الري المتوسط	12.44	12.68	12.56	13.58	11.97	12.32	12.59^{a}
الري الناقص	13.28	14.10	12.56	14.00	14.00	13.04	13.50^{b}
المتوسط	12.56	13.07	12.48	13.22	12.43	12.42	
C.V =2.1 **LSD**$(t-iw)_{0.05}$ = 0.43 **LSD**$(iw)_{0.05}$=0.176 **LSD**$(T)_{0.05}$=0.249							

عند تطبيق المعاملات الخمسة المقترحة في الدراسة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، وبعد استخراج نسبة البروتين كم تم ذكرها سابقا، تشير النتائج إلى وجود فروق ظاهرية فقط في نسبة البروتين ولم تكن ذات دلالة إحصائية، وتراوحت نسبة البروتين في معاملة الري الكامل بين (11.33 حتى وصلت إلى 12.44) % كما هو ظاهر بالشكل المرفق. وعليه لم يكن للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو أثر واضح في تغير نسبة البروتين في حبوب القمح، الأمر الذي يحافظ على نوعية القمح المنتج اتباعا لعوامل أخرى ممكن أن تكون جينية كأصناف القمح، أو زراعية كعامل الري أو موعد الزراعة.

3-3-3 أثر الري الناقص في إنتاجية القمح تحت تأثير البكتيريا الجذرية:

تؤكد النتائج التي وصلنا إليها في الدراسة تأثر محصول القمح بمستويات الري المطبق، من حيث الصفات الشكلية ومراحل نمو المحصول، الذي انعكس بشكل واضح على إنتاجية القمح.

بعد القيام بعملية الحصاد اليدوي وتبويب نتائج كل قطعة تجريبية وفق المعاملات المطبقة، قمنا بالتحليل الإحصائي للبيانات وفق ما هو معتمد بالدراسة، فتبين وجود أثر واضح لمستويات الري الناقص في إنتاجية القمح، إذ ينخفض إنتاج القمح معنوياً عند انخفاض كمية المقنن المائي المقدم.

جدول (10) أثر الري الناقص في إنتاجية القمح تحت تأثير البكتيرية الجذرية.

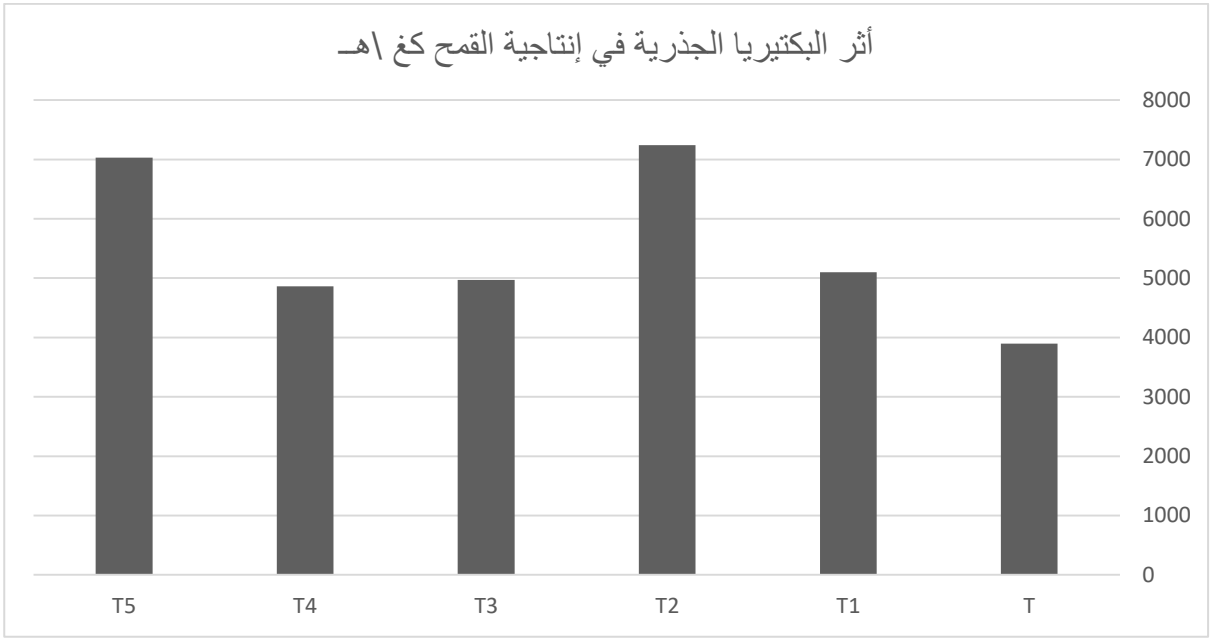
إنتاجية القمح (كغ.هـ$^{-1}$)	معاملات البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPPR) T						
	T_0	T_1(4.3)	T_2(5.2)	T_3(28.8)	T_4(35.5)	T_5(41.4)	متوسط
الري الكامل	4811	5696	8298	6498	5405	8750	6576[a]
الري المتوسط	3834	5196	6936	4800	4953	6757	5413[b]
الري الناقص	3045	4403	6486	3609	4226	5578	4558[c]
متوسط	3897[c]	5098[b]	7240[a]	4969[b]	4861[b]	7028[a]	
LSD$(T)_{0.05}$= 949 **LSD**$(iw)_{0.05}$=671 **LSD**$(t-iw)_{0.05}$ = 1643 **C.V** =18							

وصل متوسط إنتاجية القمح في معاملة الري المتوسط المطبقة في التجربة إلى 5413 كغ.هـ$^{-1}$ بانخفاض معنوي عن متوسط إنتاجية الري الكامل الذي وصل إلى 6576 كغ.هـ$^{-1}$، في حين تدهور الإنتاج بشكل ملحوظ في معاملة الري الناقص فوصل متوسط الإنتاجية إلى 4558 كغ.هـ$^{-1}$.

أدت معاملة الإجهاد المائي بتطبيق 70% من الاحتياجات المائية لمحصول القمح، إلى انخفاض واضح بغلة الحبوب حيث تدنت غلة الحبوب إلى النصف مقارنة مع الري الكامل، هنا نلاحظ تأثراً واضحاً للري الناقص في إنتاجية القمح وعدم استجابة المحصول للإجهاد المائي مترافقاً مع ضعف نمو النبات وارتفاعه كما ذكرنا في الفقرة السابقة.

هناك فروق واضحة لبعض العزلات البكتيرية المطبقة من حيث الصفات الشكلية مثل (نمو النبات وارتفاعه وعدد الاشطاءات) خلال مراحل التجربة الحقلية، الأمر الذي انعكس بشكل واضح على إنتاجية المعاملات وفق الشكل (5) الذي يبين تفوقاً معنوياً لمتوسط العزلات (T2–T5) مقارنة مع معاملة الشاهد الذي لم تتجاوز متوسط انتاجيته (3897) كغ بالهكتار في حين لم تعطي بقية العزلات فروق معنوية بينها وبين الشاهد.

تظهر النتائج تأثراً واضحاً لنمو محصول القمح بالتلقيح البكتيري المطبق، حيث وصلت إنتاجية الدونم في المعاملة البكتيرية (T5) إلى 7028 كغ، والتي تعد أعلى إنتاجية في جميع المعاملات، بالإضافة إلى المعاملة البكتيرية (T2) التي استطاعت أيضاً أن تصل الى إنتاجية ممتاز حوالي (7240 كغ/هكتار).



الشكل (21) أثر التلقيح البكتيري في إنتاجية القمح.

على الرغم من أن العزلتين T1–T3 كانتا متفوقتين ظاهرياً بشكل واضح على معاملة الشاهد بإنتاجية القمح حيث وصل متوسط العزلة T1 إلى (5098) كغ/ هكتار ،في حين كان المتوسط في العزلة أقل من ذلك بفرق بسيط حيث وصل إلى (4969) كغ/هكتار لكن هذا التفوق لم يكن ذا دلالة إحصائية وفق الجدول أعلاه.

نلاحظ الفروق المعنوية بين المعاملات في صف متوسط كل عينة، حيث يتبين تقارب كل من المعاملتين (T2–T5) بتفوقهما على كل المعاملات البكتيرية الأخرى، فعند المقارنة بين أعلى معاملة مباشرة نلاحظ أن العزلة T1

التي وصلت إلى (5098) كغ/ هكتار وهي أقل بفارق معنوي واضح مقارنة مع متوسط العينتين، حيث وصل متوسط كل منهما لما فوق 7000 كغ / هكتار وعليه تعد نتائج هاتين العزلتين مميزة جداً.

بالعودة إلى خصائص كل عزلة منهما لتفسير آلية عمل كل عزلة وأثرها في نمو الجذور والنبات ورفع إنتاجية القمح:

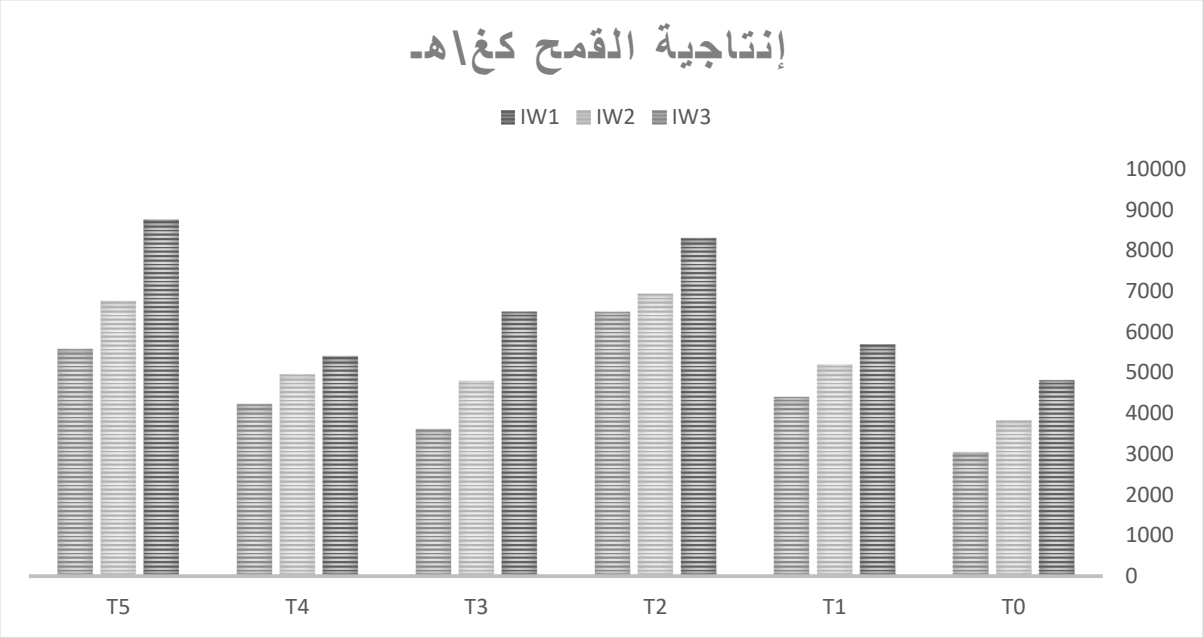
المعاملة (T2) وهي العزلة 5.2 والتي تتميز وفق الجدول (4) تميزت هذه العزلة بأنها إيجابية في جميع الاختبارات ، حيث قامت بتحليل الفوسفات والبوتاس مخبريا ، وهذا لاشك أتاح هذه العناصر بشكل ميسر للامتصاص من قبل المجموع الجذري بشكل أفضل.

تتميز هذه العزلة أيضاً بالقدرة على تثبيت الأزوت الحر مما اعطى ميزة إضافية، من خلال تقديم احتياج القمح من الأزوت كامل الموسم للمساعدة على النمو، لأن طبيعية عنصر الأزوت يتعرض للغسل بشكل دوري مما يجعل من الصعب على النبات تأمينه وأغلب برامج التسميد تعتمد على إضافات متكررة للأزوت خلال مراحل نمو المحصول.

إنتاج حمض الأندول الخلي الذي يعد هرمون نمو يساعد بشكل واضح على نمو وانتشار الجذور وتواجده بمحيط الجذر، اجتماع كل هذه الصفات في عزلة واحدة أعطاها ميزات انعكست بشكل واضح على إنتاجية القمح والنتائج المميزة وبفروق معنوية واضحة مقارنة مع بقية المعاملات.

المعاملة T5وهي العزلة البكتريا (41.4) ومن الجدول (3) نلاحظ أن العزلة إيجابية في جميع الاختبارات باستثناء تثبيت الأزوت فكانت نتيجتها المخبرية سلبية ولكن بالمقابل كانت في اختبار تحليل الفوسفات من أفضل العزلات المدروسة بالإضافة إلى قدرتها على تحليل البوتاسيوم بنسبة جيدة وهذا ساعد أيضاً بتوفر كلا العنصرين بكمية مناسبة ومتاحة للجذور، وحمض الأندول الخلي كانت نتائجه جيدة مخبريا وهذا يعطي نشاطاً في نمو المجموع الجذري وانتشاره الأمر الذي أعطى نتائج مميزة في إنتاجية القمح ضمن هذه المعاملة.

سنقوم بعرض شكل توضيحي لمتوسط المكررات لفهم النتائج بطريقة أبسط، ومحاولة إيجاد العلاقة والأثر المتبادل لكلا العاملين في إنتاجية القمح واتباع المعايير الأساسية في دراسة استجابة المحصول للإجهاد المائي أو رفع كفاءة استعمال المياه.



الشكل (22) إنتاجية القمح وفق المعاملات المطبقة لكلا العاملين (الري–البكتيريا).

يوضح الشكل متوسط إنتاجية القمح في المكررات الثلاثة للقطع التجريبية المتشابهة من حيث عامل الري وعامل التلقيح البكتيري، نلاحظ وجود أثر للتلقيح البكتيري يتفاوت من عزلة لأخرى.

التفوق المعنوي للعزلتين الثانية والخامسة أدى إلى ارتفاع الإنتاجية في ظل الري الناقص إلى ما هو أعلى من معاملة الري الكامل دون تلقيح، وهذا يعد نتيجة مهمة جدا بحيث نلاحظ رفع في كفاءة استخدام المياه والوصول الى إنتاجية أعلى وتوفير مياه الري. كما العزلات الأخرى نلاحظ تقارباً ظاهرياً في الشكل لمتوسط الإنتاجية، وهذا يكون ذا دلالة في استجابة القمح للإجهاد المائي.

يؤكد الجدول كما يوضح الشكل وجود اختلافات بين إنتاجية القمح وفق كل معاملة من معاملات كلا العاملين ولتوخي الدقة في دراسة أثر كل معاملة بكتيرية وفق مستويات الري المطبقة مقارنة مع الشاهد دون تلقيح، سيتم أخذ كل عزلة من العزلات المطبقة ومقارنة إنتاجيتها في مستويات الري الثلاثة مع دراسة مدى استجابة المحصول للإجهاد المائي في ظل كل عزلة. حيث كل معاملة بكتيرية تختلف تماما عن الأخرى من حيث الصفات المحددة

للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو والصفات التعريفية الأولية، وهذا انعكس بشكل واضح على أداء كل منهم في نمو القمح سواء في معاملة الري الكامل أو في المستوين المطبقين من الري الناقص.

وهذا أدى إلى اختلاف استجابة القمح للإجهاد المائي المطبق بالري الناقص في كل معاملة بكتيرية مقارنة مع الشاهد من دون تلقيح.

3-3-4 عامل الاستجابة للقمح وكفاءة استعمال المياه والاثر البكتيري فيهما:

يعد عامل الاستجابة أحد أهم المعايير التي وضعت لمعرفة قدرة النبات على الاستجابة بظل تطبيق إجهاد مائي معين، بحث يتم مقارنة الانخفاض النسبي في الإنتاج بالانخفاض النسبي المطبق ضمن مستوى الري.

وتم تحديد قيم مرجعية لأغلب المحاصيل وفق دراسات الري الناقص والإجهاد المائي، وقدرت المنظمة العالمية للأغذية (FAO) قيمة ky لمحصول القمح، بعد مقارنة العديد من الأبحاث المتعلقة بالري الناقص والإجهاد المائي بقيمة 1.05، هذا يدل وفقا للمفهوم العام للمعامل على ارتباط معنوي واضح بين انخفاض المقنن المائي المقدم للقمح مع الانخفاض النسبي للإنتاج المقابل.

تؤكد نتائج التجربة الحقلية المقامة تطبيق الري الناقص موضعياً، خلال المستوين المدروسين، وجود انخفاض بالإنتاج يتناسب طردا مع انخفاض كمية الاحتياجات المائية المقدمة.

نظريا وتبعا لما ذكر يجب أن تكون قيمة معامل المحصول أعلى من الواحد في كلا المستويين المدروسين. وذلك بسبب الانخفاض المعنوي الحاصل عند تطبيق الري الناقص.

عند العودة الى جدولة الري نلاحظ بأن مجموع كميات الرية المقدمة في معاملة الري الكامل كانت وفقاً للجدول (324 مم) أي ما يعادل 3240 م^3.هـ$^{-1}$ خلال جميع مراحل نمو محصول القمح.

بينما تم تطبيق كميات ري وفق الجدولة المتبعة لمعاملة الري المتوسط بمجموع 295.2 مم أي ما يعادل 2952 م^3.هـ$^{-1}$ خلال مراحل نمو محصول القمح.

أما بالنسبة للري الناقص المجهد فقد تم تطبيق كميات ري وفق الجدولة المتبعة بمجموع 226.8 مم أي ما يعادل 2268 م^3.هـ$^{-1}$ خلال مراحل نمو محصول القمح.

لحساب قيمة معامل الاستجابة وفق المرجعية المعتمدة بالبحث يجب العودة إلى متوسط إنتاجية كل مستوى من الري المطبق مقارنة مع متوسط إنتاجية الري الكامل وعليه يتم الوصول إلى قيمة المعامل.

- عند تطبيق مستوى الري المتوسط كان متوسط إنتاجية 3830 كغ.هـ$^{-1}$ ، بانخفاض معنوي مع متوسط إنتاجية الري الكامل 4810 كغ.هـ$^{-1}$.

مما ذكر من احتياج مائي في مستوى الري المتوسط والانخفاض الحاصل بالإنتاج وبتطبيق المعادلة لإيجاد معامل استجابة المحصول، ينتج لدينا بأن قيمة Ky في معاملة الري المتوسط ودون تطبيق أي معاملة بكتيرية أي معاملة الشاهد بكتيرياً يساوي 1.02 وهي متقاربة مع القيمة المرجعية.

- عند تطبيق مستوى الري الناقص المجهد كان متوسط إنتاجية 3050 كغ.هـ$^{-1}$ ، بانخفاض معنوي مع متوسط إنتاجية الري الكامل 4810 كغ.هـ$^{-1}$.

مما ذكر من احتياج مائي في مستوى الري الناقص المجهد والانخفاض الحاصل بالإنتاج وبتطبيق المعادلة لإيجاد معامل استجابة المحصول، ينتج لدينا بأن قيمة Ky في معاملة الري الناقص ودون تطبيق أي معاملة بكتيرية أي معاملة الشاهد بكتيرياً يساوي 1.22 وتختلف عن القيمة السابقة وتدل على تأثر إنتاجية القمح عند الري الناقص المطبق.

جدول (11) معامل استجابة القمح تحت تأثير الري الناقص والتلقيح البكتيري.

حساب معامل الاستجابة تبعا لمستوى الري والانخفاض النسبي في الإنتاجية							
T5	T4	T3	T2	T1	T0	الاحتياج المائي م3	
8750	5405	6498	8298	5696	4811	IW1	3240
6757	4953	4800	6936	5196	3834	IW2	2592
5578	4226	3609	6486	4403	3045	IW3	2268
1.14	0.42	1.31	0.82	0.44	1.02	ky 0.8	
1.21	0.73	1.48	0.73	0.76	1.22	ky 0.7	

يوضح الجدول معاملة استجابة القمح للإجهاد المائي في كل من مستوي الري الناقص والري المتوسط، تحت تأثير العزلات البكتيرية المستخدمة، ونلاحظ تبايناً بقيمة المعاملة في ظل تطبيق التلقيح البكتيري، بشكل إيجابي لمعظم العزلات مقارنة مع الشاهد دون تلقيح الذي يتوافق نوعا مع القيمة المرجعية المحددة لقيمة معامل استجابة القمح بالرقم 1.05 بشكل متوسط.

3-3-5 كفاءة استعمال المياه (WUE) في مستويات الري الناقص تحت تأثير البكتريا الجذرية:

تؤكد النتائج تأثر إنتاجية القمح بالتلقيح البكتيري وفي مستويات الري المطبقة، لمعرفة أثر العامل البكتيري بشكل دقيق يجب حساب أحد أهم المعايير المتبعة والتي تدل على كمية الإنتاج (كيلوغرام) من محصول معين التي يعطيها الهكتار الواحد عند تقديم مقنن مائي واحد بملم.

حيث كلما ارتفعت هذه القيمة دلت على فعالية استعمال المياه، بحيث نرفع الإنتاجية باستعمال المعدل نفسه من المياه في مستوى الري المطبق، ويعتمد الري الناقص عادة لتحديد القيمة المثلى من كفاءة استعمال المياه والتي تصبح الإضافات المائية للري عندها غير مجدية، حيث كميات المياه المقدمة لا تتناسب بشكل جيد مع الزيادة الناتجة بالإنتاج. نعرض في الجدول هذا المعيار المهم في كل من مستويات الري المطبقة، مع عرض تأثير كل عزلة بكتيرية في قيمتها وفق لنتائج إنتاجية حبوب القمح ومستويات الري المقدمة.

جدول (12) نتائج كفاءة استعمال المياه للمحصول وفق عاملي الري والتلقيح البكتيري.

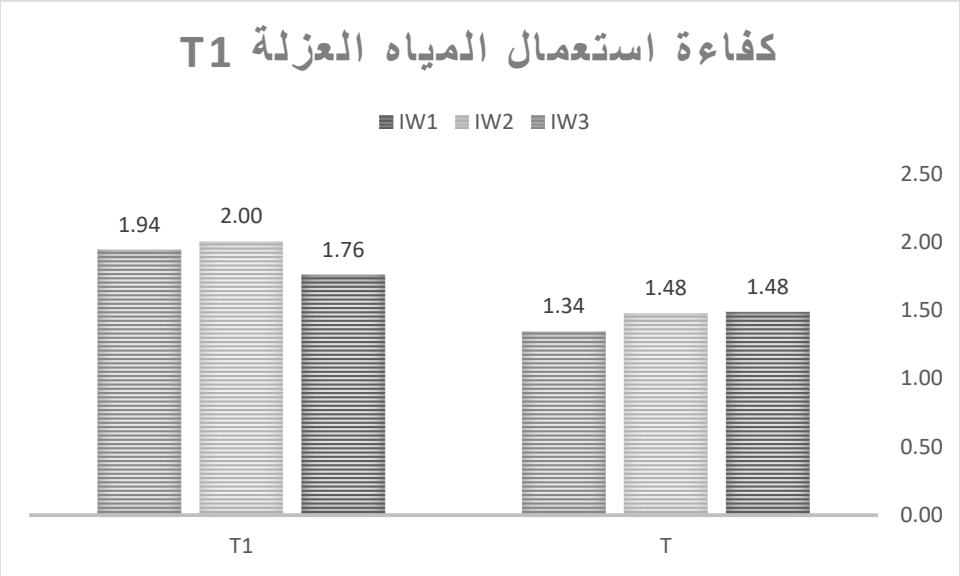
T5	T4	T3	T2	T1	T0	كفاءة استعمال المياه
2.70	1.67	2.01	2.56	1.76	1.48	IW 1
2.61	1.91	1.85	2.68	2.00	1.48	IW 2
2.46	1.86	1.59	2.86	1.94	1.34	IW 3

نلاحظ من الجدول أن قيمة كفاءة استعمال المياه في مستوى الري الكامل ومستوى الري المتوسط كانت متساوية في معاملة الشاهد دون تلقيح بكتيري، وهذا يؤكد أن استخدام الري المتوسط يعطي معدل الإنتاج نفسه تماما مقارنة بوحدة المساحة المزروعة وكمية المياه المقدمة، في حين ينخفض المعدل في حال تم تطبيق الري الناقص، وهذا يدل على خسائر في الإنتاج نسبة للكمية المقدمة.

يشير الجدول إلى ارتفاع قيمة كفاءة استعمال المياه عند تطبيق التلقيح بالبكتيرية الجذرية المحفزة للنمو، مع اختلاف في استجابة كل عزلة عن الأخرى، الأمر الذي يستدعي دراسة مائية تفصيلية لكل عزلة على حدا للوصول إلى الاختيار الأنسب من حيث الإنتاجية ورفع كفاءة استعمال ومعدل استجابة القمح للإجهاد المائي المطبق.

1- أثر العزلة(T1=4.3) في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة المحصول للقمح.

تؤكد نتائج التحليل الإحصائي على وجود فروق معنوية بين المعاملة البكتيرية وبين الشاهد دون تلقيح في جميع مستويات الري المطبق. حيث وصل متوسط إنتاجية 5700 كغ.هـ$^{-1}$ في الري الكامل بفرق معنوي مع الشاهد دون تلقيح، وبفروق ظاهرية فقط عند المقارنة بمتوسط إنتاجية الملقحة بكتيريا في مستوى الري المتوسط بقيمة 5190 كغ.هـ$^{-1}$. نلاحظ أيضا أن انخفاض الإنتاجية في الري الناقص المجهد لم يكن معنويا مقارنة مع الري المتوسط، واقترب رغم انخفاضه من قيمة متوسط إنتاجية الشاهد دون تلقيح في الري الكامل بقيمة 4403 كغ.هـ$^{-1}$.



الشكل (23) أثر العزلة (4.3) في كفاءة استخدام المياه لمحصول القمح.

يوضح الشكل قيمة كفاءة استعمال المياه في ظل العزلة البكتيرية المدروسة وفق ثلاثة مستويات ري مطبقة ومقارنتها مع الشاهد دون تلقيح، حيث ارتفعت قيمة كفاءة استعمال المياه ووصلت إلى 2 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ ، هذا يدل على أن تقديم المقنن المائي نفسه في وحدة المساحة يعطي إنتاجية أعلى في ظل العزلة المدروسة.

مما ذكر نلاحظ بأن العزلة البكتيرية حافظت على الإنتاج رغم وجود الري الناقص، علميا يجب توضيح أثر المعاملة البكتيرية في استجابة القمح للإجهاد المائي وفق معيار معتمد مرجعياً، سنقوم بتطبيق معادلة ky معامل الاستجابة وفق ما تم ذكره سابقاً، مع بقاء قيمة الاحتياجات المائية كما هي في المعاملات واختلاف الإنتاجية بالنسبة للمعاملة البكتيرية.

يتوضح لدينا تغير قيمة معامل الاستجابة في كلا المستوين $Ky_{0.8}$= 0.44 ، $Ky_{0.7}$= 0.76 ، مقارنة مع القيمة المرجعية والمستخدمة في حالة الشاهد دون تلقيح ، ومنه نلاحظ أثر العزلة البكتيرية الجذرية المستخدمة في رفع استجابة محصول القمح للإجهادات المائية .

أي أن الانخفاض النسبي في إنتاج القمح مقارنة مع الانخفاض المائي المطبق في معاملات الري الناقص كان أقل ما يمكن وانخفض بشكل واضح مقارنة مع المرجعيات أو مع الشاهد دون تلقيح.

بكلمات أخرى فإن إضافة البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو إلى بذور القمح، يؤدي إلى المحافظة على إنتاجية القمح، من خلال الخصائص المميزة للعزلة البكتيرية المستخدمة والتي تتوضح في الجدول (13)

حيث كانت لديها القدرة على إنتاج حمض الأندول الخلي بشكل ممتاز، وهذا يكون سبب واضح في نمو النبات وقيام العزلة بتنشيط نمو القمح بزيادة تركيز هرمون النمو في محيط جذر النبات الملقح بكتيريا.

بالإضافة إلى تحليل الأمونيا وتأمين الأزوت المتاح للنبات خلال مراحل نمو النبات والذي يعد مهماً جداً لمحصول القمح، وأوجد فروقاً معنوية مقارنة مع عدم التلقيح.

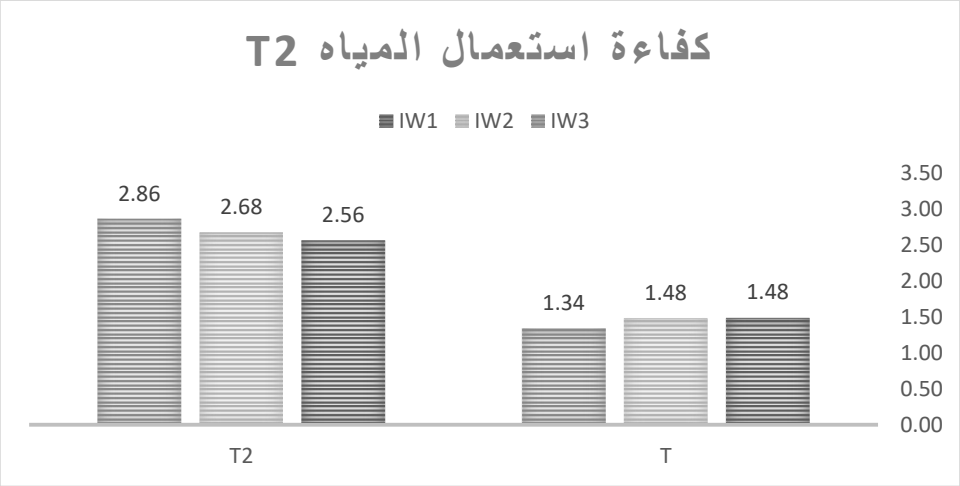
جدول (13) الخصائص المحددة للعزلة رقم (4.3)

T1 : العزلة رقم 4.3			
IAA	N	K	P
++++	-	+	-
	NH3	HCN	CaCo3
	++	+++	-
الشكل	التبوغ	التنفس	صبغة غرام
أسطواني	–	هوائي	–

2- أثر العزل (T2=5.2) المعرفة جزيئياً Citrobacter braakii في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة المحصول للقمح :

تبين النتائج وجود فروق معنوية بين المعاملة البكتيرية وبين الشاهد دون تلقيح في جميع مستويات الري المطبق، حيث وصل متوسط إنتاجية 7240 كغ.هـ$^{-1}$ في الري الكامل بفرق معنوي واضح مع الشاهد دون تلقيح، وبفروق معنوية أيضا عند المقارنة بمتوسط إنتاجية الملقحة بكتيريا في مستوى الري المتوسط بقيمة 6940 كغ.هـ$^{-1}$.

نلاحظ أيضاً ان انخفاض الإنتاجية في الري الناقص المجهد لم يكن معنويا مقارنة مع الري المتوسط، واقترب رغم انخفاضه من قيمة متوسط إنتاجية الشاهد دون تلقيح في الري الكامل بقيمة 6490 كغ.هـ$^{-1}$.



الشكل (24) أثر العزلة (5.2) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.

يوضح الشكل كفاءة استعمال المياه في ظل تطبيق هذه العزلة البكتيرية حيث وصلت إلى قيم جيدة جدا مقارنة مع الشاهد دون تلقيح. حتى في ظل تطبيق الري المجهد الناقص حافظت على إنتاج القمح ورفعت كفاءة استعمال المياه إلى قيمة 2.86 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ ، التي تعد أحد أهم أهداف البحث وعليه سيتم التوسع بدراسة هذه العزلة.

مما ذكر نلاحظ بأن العزلة البكتيرية حافظت على الإنتاج رغم وجود الري الناقص، علميا يجب توضيح أثر المعاملة البكتيرية في استجابة القمح للإجهاد المائي وفق معيار معتمد مرجعياً، سنقوم بتطبيق معادلة ky معامل الاستجابة وفق ما تم ذكره سابقاً، مع بقاء قيمة الاحتياجات المائية كما هي في المعاملات واختلاف الإنتاجية بالنسبة للمعاملة البكتيرية.

يتوضح لدينا تغير قيمة معامل الاستجابة في كلا المستوين $Ky_{0.8}$= 0.82 ، $Ky_{0.7}$= 0.73 ، مقارنة مع القيمة المرجعية والمستخدمة في حالة الشاهد دون تلقيح ، ومنه نلاحظ أثر العزلة البكتيرية الجذرية المستخدمة في رفع استجابة محصول القمح للإجهادات المائية .

يتوضح لدينا أهمية العزلة الثانية المدروسة وأثرها الواضح في إنتاجية القمح في كل المستويات المطبقة، ومن الممكن أن تجد تفسيراً جلياً بإلقاء نظرة على الجدول (14) الذي يذكرنا بالخصائص المميزة لعزلة بكتيرية جذرية محفزة للنمو.

جدول (14) الخصائص المحددة للعزلة (5.2)

العزلة رقم 5.2			
IAA	N	K	P
+++	++	+++	++
	NH3	HCN	CaCo3
	+++	-	+++
الشكل	التبوغ	التنفس	صبغة غرام
أسطواني	–	هوائي	–

حيث تقوم العزلة بتأمين العناصر الكبرى كاملة، عن طريق تحليل الفوسفات والبوتاس بكمية جيدة وتقدم الأزوت بطريقتين فلها القدرة على تثبيت الأزوت الجوي الحر وجعله متاحاً للنبات، أو من خلال تحليل أملاح الأمونيا وجعلها ميسرة للنبات.

بالإضافة لما ذكر فلها خاصية مميزة عن طريق إفراز حمض الأندول الخلي الذي يعد محفزاً قوياً لنمو جذور النبات وانتشارها، الامر الذي ينعكس على الصفات المورفولوجية كاملة وعلى إنتاجية القمح كما تبين لاحقا.

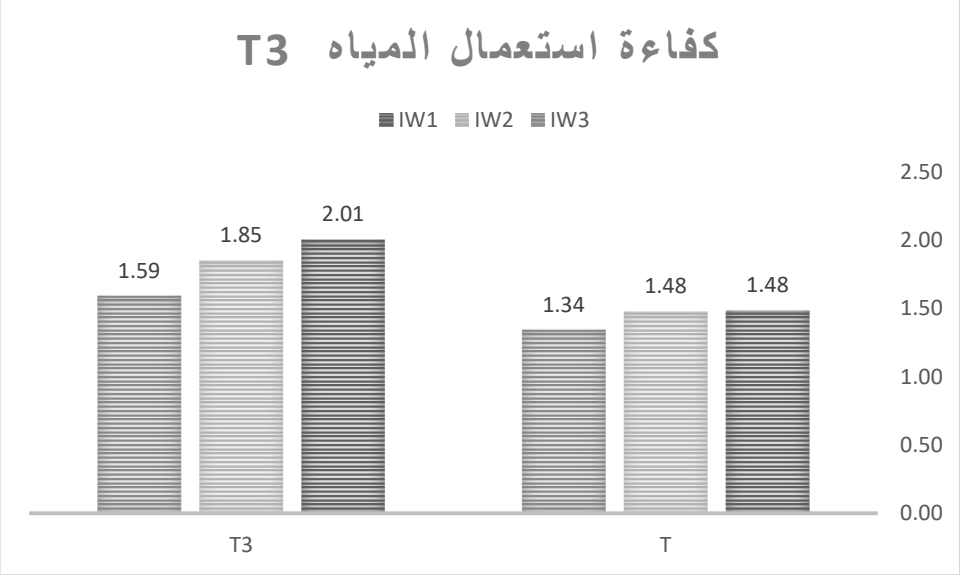
ولهذه العزلة أهمية خاصة بالاستخدامات المحلية لقدرتها على تحليل كربونات الكالسيوم الذي يعد عائقاً في التربة ويمنع امتصاص العناصر المغذية من قبل الجذور ويحد من انتشارها، فعند قيام العزلة بتحليله يفسح المجال للوصول إلى إنتاجية أعلى في الترب الكلسية.

مما ذكر نلاحظ أن هذه العزلة مميزة ولها نتائج ممتازة في زيادة إنتاجية القمح، ورفع استجابته للإجهاد المائي المطبق تبعا لمستويات الري الناقص، لذلك تم العمل على تعريفها وتحديد نوعها وجنسها.

3– أثر العزلة (T3=28.2) في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة المحصول للقمح:

تبين النتائج وجود فروق معنوية بين المعاملة البكتيرية وبين الشاهد دون تلقيح في مستويين فقط من مستويات الري المطبق، حيث وصل متوسط إنتاجية 6498 كغ.هـ$^{-1}$ في الري الكامل بفرق ظاهري مقارنة مع الشاهد دون تلقيح، بفروق معنوية عند المقارنة بمتوسط إنتاجية الملقحة بكتيريا في مستوى الري المتوسط بقيمة 4800 كغ.هـ$^{-1}$.

نلاحظ أن متوسط الإنتاجية في الري الناقص المجهد في المعاملة البكتيرية لم يكن معنويا مقارنة مع الشاهد دون تلقيح، حيث تدهورت وانخفضت قيمته إلى 3609 كغ.هـ$^{-1}$ مقارنة مع متوسط إنتاجية الشاهد دون تلقيح في الري الناقص بقيمة 3050 كغ.هـ$^{-1}$.



الشكل (25) أثر العزلة (28.2) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.

يوضح الشكل أن للعزلة المدروسة أثراً في رفع كفاءة استعمال المياه عند مستوى الري الكامل، ولكن تتأثر بالري الناقص لتصل إلى قيمة 1.6 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ وهي أعلى من قيمة الري الكامل دون تلقيح.

مما ذكر نلاحظ أن العزلة البكتيرية المدروسة كان لها تأثير في الري المتوسط ولكن لم تعط قيمة تذكر بوجود الري الناقص، عند توضيح أثر المعاملة البكتيرية في استجابة القمح للإجهاد المائي وفق معامل الاستجابة ky مع الاخذ بالحسبان بقاء قيمة الاحتياجات المائية كما هي في المعاملات واختلاف الإنتاجية بالنسبة للمعاملة البكتيرية.

يتوضح لدينا تغير قيمة معامل الاستجابة في كلا المستويين $Ky_{0.8}$= 1.31 ، $Ky_{0.7}$= 1.48 ، مقارنة مع القيمة المرجعية والمستخدمة في حالة الشاهد دون تلقيح ، ومنه نلاحظ أن العزلة البكتيرية الجذرية المستخدمة لم تكن ذات فعالية في رفع استجابة محصول القمح للإجهادات المائية.

حيث تنشط هذه العزلة في ظروف الري الكامل وتنخفض إنتاجية القمح الملقح بها بشكل كبير عند تخفيض المقنن المائي للمعاملة، بإلقاء نظرة على خصائص العزلة في الجدول (15) لمحاولة فهم الآلية التي اتبعتها هذه العزلة حقليا والذي أدى لظهور هذه النتائج .

جدول (15) الخصائص المحددة للعزلة (28.2)

العزلة رقم 28.2			
IAA	N	K	P
-	-	++++	++++
	NH3	HCN	CaCo3
	+++	-	-
الشكل	التبوغ	التنفس	صبغة غرام
خيطي	+	هوائي ولا هوائي	–

لدى العزلة المدروسة القدرة على تحليل البوتاسيوم والفوسفات بنسبة جيدة، وأيضاً بإمكانها تحليل أملاح الأمونيا ، وهذا لا شك ساعد في نمو النبات ورفع كفاءة استعمال المياه لحدود جيدة نوعا ما.

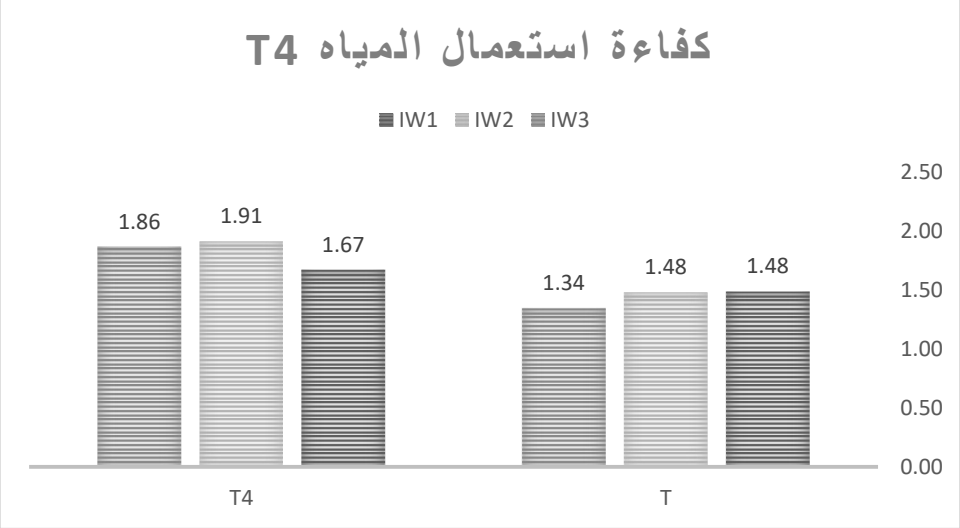
ولكن لم يكن للعزلة القدرة على إنتاج حمض الأندول الخلي وفق الجدول أعلاه، وعدم القدرة على تحليل كربونات الكالسيوم، من الممكن أن يكون السبب في عدم فعالية العزلة عند تطبيق الري الناقص.

رغم ان الصفات الشكلية والتعريفية الأولية توحي بان لديها القدرة على النشاط في الظروف الهوائية واللاهوائية مما يدعنا نعتقد بفعاليتها بكافة مستويات الرطوبة الأرضية المطبقة. لكن رغم بعض النتائج الإيجابية لفعالية هذه العزلة الا انها اقل من بقية العزلات وسنكتفي بالخصائص التعريفية البسيطة المذكورة فقط، وترك الفرصة لدراسة واستخدام عزلات ذو فعالية أكبر.

4– أثر العزلة (T4=35.1) في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة المحصول للقمح:

تبين النتائج عدم وجود فروق معنوية بين المعاملة البكتيرية وبين الشاهد دون تلقيح عند مستوى الري الكامل. حيث كان متوسط إنتاجية 5405 كغ.هـ$^{-1}$ في الري الكامل بفرق ظاهري فقط مع الشاهد دون تلقيح، وبفروق معنوية أيضا عند المقارنة بمتوسط إنتاجية الملقحة بكتيريا في مستوى الري المتوسط بقيمة 4953 كغ.هـ$^{-1}$.

نلاحظ أن متوسط الإنتاجية في الري الناقص المجهد في المعاملة البكتيرية لم يكن معنويا مقارنة مع الشاهد دون تلقيح، حيث انخفضت قيمته إلى 4226 كغ.هـ$^{-1}$ مقارنة مع متوسط إنتاجية الشاهد دون تلقيح في الري الناقص بقيمة 3050 كغ.هـ$^{-1}$.



الشكل (26) أثر العزلة (35.1) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.

بينما في معاملة الري المتوسط ظهرت فعالية العزلة نوعا ما حيث وجد فرق معنوي بين المعاملة البكتيرية ومعاملة الشاهد. ويوضح الشكل أن كفاءة استعمال المياه ارتفعت في مستوى الري المتوسط والري الناقص، وهذا يدل على استجابة القمح للإجهاد المطبق في ظل تطبيق هذه العزلة البكتيرية.

إن نتائج العزلة الحقلية غريبة نوعا ما، حيث لم يكن هناك فروق معنوية بين الري الكامل والري المتوسط والري الناقص. وحافظت العزلة على إنتاجية القمح رغم التعرض للإجهاد مائي المطبق التجربة بفروق ظاهرية فقط.

بناء على ذلك نتوقع أن معامل الاستجابة سيكون أقل من الواحد وايجابي من حيث رفع استجابة القمح للإجهاد المائي.

يتوضح لدينا تغير قيمة معامل الاستجابة في كلا المستويين $Ky_{0.8}= 0.42$ ، $Ky_{0.7}= 0.73$ ، مقارنة مع القيمة المرجعية المستخدمة في حالة الشاهد دون تلقيح ، ومنه نلاحظ أن العزلة البكتيرية الجذرية المستخدمة ذات فعالية كبيرة في رفع استجابة محصول القمح للإجهادات المائية.

حيث تحافظ العزلة على نشاطها حتى في ظروف الري الناقص المطبق وتعطي إنتاجية قمح جيدة نوعا ما.

سنقوم بتفحص خصائص العزلة في الجدول (16) لتفسير عمل هذه العزلة حقليا والذي أدى لاختلاف نتائجها بشكل واضح عن غيرها من العزلات.

جدول (16) الخصائص المحددة للعزلة رقم(35.1)

العزلة رقم 35.1			
IAA	N	K	P
-	+	++	+
	NH3	HCN	CaCo3
	+++	-	++
الشكل	التبوغ	التنفس	صبغة غرام
عصوي	–	هوائي ولا هوائي	–

الصفتان المميزتان للعزلة هما القدرة على تحليل كربونات الكالسيوم بشكل واضح، بالإضافة إلى تحليل أملاح الأمونيا وجعله متاحاً للنبات، مع قدرتها على تحليل الفوسفات والبوتاس وتثبيت الأزوت الحر بنسب مقبولة.

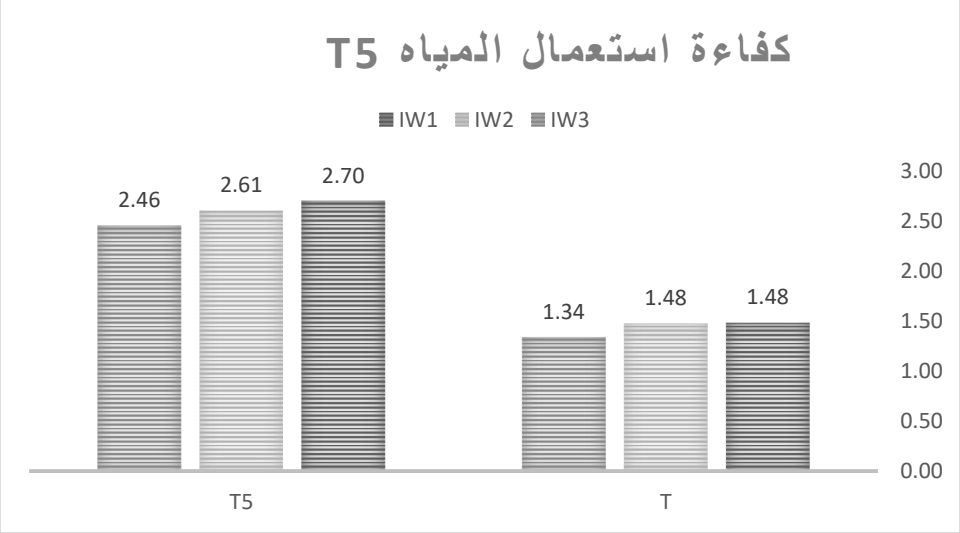
من الواضح أن تحليل كربونات الكالسيوم له أثر واضح في رفع استجابة القمح للإجهاد المائي المطبق، ومن الممكن أن تكون صفة العزلة وقدرتها على النمو والنشاط في الظروف الهوائية واللاهوائية أثرت في استمرار نشاط البكتيريا في مستويات الري الناقص.

يوضح الجدول أيضا عدم قدرة العزلة على إنتاج حمض الأندول الخلي والذي يعد مهم جدا كهرمون نمو للنبات وهذا يفسر عدم ازدياد الإنتاجية بشكل معنوي في معاملة الري الكامل مقارنة مع الشاهد دون تلقيح.

نستخلص مما ذكر على الرغم من تأثير العزلة في معامل الاستجابة للإجهاد المائي الا أنها لم تصل إلى فروق معنوية. في ظل الري الكامل، مما يمكن استخدامها للزراعات البعلية حيث تحافظ على إنتاجية بظل الإجهادات المائي.

5- أثر العزلة (T5=41.4) المعرفة جزيئياً Pantoea agglomerans في كفاءة استعمال المياه ومعامل استجابة المحصول للقمح:

تبين النتائج وجود فروق معنوية بين المعاملة البكتيرية وبين الشاهد دون تلقيح في جميع مستويات الري المطبق. حيث وصل متوسط إنتاجية 8750 كغ.هـ$^{-1}$ في الري الكامل بفرق معنوي واضح مع الشاهد دون تلقيح، وبفروق معنوية أيضا عند المقارنة بمتوسط إنتاجية الملقحة بكتيريا في مستوى الري المتوسط بقيمة 6757 كغ.هـ$^{-1}$. بالرغم من انخفاض الغلة بشكل معنوي بالري الناقص المجهد المطبق حيث كان المتوسط 5578 كغ.هـ$^{-1}$. إلا أنه رغم ذلك تفوق بشكل معنوي عن معاملة الري الكامل دون تلقيح، وهذه تعد نقلة نوعية ونتيجة ممتازة من حيث رفع الإنتاجية بمقنن مائي أقل.



الشكل (27) أثر العزلة (41.4) في كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح.

يوضح الشكل أن هذه العزلة أفضل العزلات المستخدمة من حيث كفاءة استعمال المياه، بحيث وصلت قيمته في معاملة الري الكامل إلى 2.7 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$، بتفوق واضح على معاملة الشاهد دون تلقيح. كما حافظت على كفاءة استعمال مياه ممتازة في معاملة الري المتوسط والمجهد.

يتوضح لدينا تغير قيمة معامل الاستجابة في كلا المستويين $Ky_{0.8}$ = 1.14، $Ky_{0.7}$= 1.21، مقارنة مع القيمة المرجعية والمستخدمة في حالة الشاهد دون تلقيح، نلاحظ أن قيمة معامل الاستجابة تدل على حساسية القمح

للإجهاد المائي عند تطبيق التلقيح البكتيري، ويدل على الانخفاض النسبي الذي يرتبط بشكل مباشر عند انخفاض المقنن المائي المقدم.

مما لا شك فيه أن النتائج التي تم التوصل اليها بهذه العزلة تؤدي إلى رفع كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح. رغم ذلك نلاحظ تأثراً واضحاً للغلة في الري الناقص وهذا سيؤدي لا شك إلى أن العلاقة المتبادلة بين القمح والعزلة البكتيرية حساسة نوعا ما لمستوى رطوبة التربة، وسيعطي قيمة لمعامل استجابة المحصول أعلى من الواحد ويدل على حساسية القمح لتغيرات الرطوبة بتطبيق مستوى الري الناقص.

بنظرة سريعة لخصائص العزلة المستخدمة في الجدول (17) للوصول الى تعليل مناسب لعمل هذه العزلة .

جدول (17) الخصائص المحددة للعزلة (41.4)

العزلة رقم 41.4			
IAA	N	K	P
+++	+	+++	++++
	NH3	HCN	CaCo3
	++	-	+
الشكل	التبوغ	التنفس	صبغة غرام
كروي عصوي	–	هوائي	+

كما هو واضح إنتاج حمض الأندول الخلي صفة مميزة للعزلة أدى الى ارتفاع الغلة بشكل ممتاز في كل المعاملات بالإضافة إلى توفير العناصر الكبرى الأساسية عبر (تحليل الفوسفات – تحليل البوتاس) بنسب ممتازة، ولا شك في أن تحليل أملاح الأمونيا هو الذي عوض عن قدرة العزلة على تثبيت الأزوت الحر بشكل خفيف وزود النبات بالأزوت المتاح لاستمرار نمو المحصول، وهذا انعكس بشكل واضح على إنتاجية القمح. بالإضافة لما ذكر فإن قدرة العزلة على تحليل كربونات الكالسيوم من الممكن أن تساعد في المحافظة على تفوق معنوي لمعاملاتها تحت ظروف الري الناقص.

خلاصة العزلة: على الرغم من أن العزلة لم تؤثر على معامل الاستجابة بالشكل المتوقع، إلا أن متوسط إنتاجية الري المجهد مع تطبيق العزلة أعلى من متوسط الري الكامل للشاهد دون تلقيح. وتكون ذات فعالية أعلى عن تقديم المقنن المائي المناسب للقمح وبناءً على هذه النتائج الممتازة تم تصنيفها وتحديد جنسها ونوعها كبكتيريا جذرية محفزة للنمو.

3-4 مناقشة النتائج:

3-4-1 جدولة الري واستجابة القمح لمعاملات الري الناقص.

تتقاطع النتائج التي تم الوصول إليها في مجال جدولة الري وأثر الري الناقص في نمو محصول القمح مع الدراسات العالمية المنفذة، من حيث دراسة علاقة إنتاجية القمح وكفاءة استعمال المياه تبعا للعمليات الزراعية المقدمة. حيث بينت نتائج البحث أن استخدام الري الموضعي وجدولة الري عن طريق تقديم المقنن المائي تبعا لقراءات حوض التبخر، ينظم نمو القمح ويحافظ على إنتاجية القمح في الحدود الدنيا وفق الموارد المائية المتاحة.

إن تقديم مقنن الري الناقص 2268 م^3. هـ$^{-1}$ وفق الجدولة المتبعة كما ذكرنا، حافظ على نمو القمح وأعطى كمية إنتاج مقبولة وصلت الى متوسط 4558 كغ.هـ$^{-1}$ والتي من الصعب الوصول إليها في حال تم تقديم نفس الكميات عن طريق الري السطحي أو عدم استخدام الجدولة في الري. حيث تم توضيح هذه العلاقة من قبل (Zamanوآخرون ،2019) التي أكدت على أهمية حساب المقنن المائي وجدولة الري. في الدراسة المقامة لم يتم تحديد المعايير والتفاعلات الحيوية وآلية عمل نبات القمح عند التعرض إلى الإجهاد المقدم عن طريق الري الناقص المُجدول، ولكن نفترض أن محافظة النبات على الإنتاج نوعا ما بكفاءة استعمال مياه وصلت إلى 1.34 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ كان باعتماد النبات على الاستراتيجية التي تم توضيحها من قبل (Rane وآخرون ،2022) من خلال تعزيز الاستعمال الفعال للمياه (EUW) عن طريق التوازن المناسب بين توفير المياه والنمو المتقطع على مستوى النبات بالكامل خلال فترات الإجهاد والتعافي بعد الإجهاد. أي التلاعب بتفاعلات ROS–AOS الأمر الذي يشكل دورًا مهمًا في آليات توفير المياه والكتلة الحيوية المتراكمة الناتجة عن عمليات النمو التي تشمل انقسام الخلايا، وتمدد الخلايا والتمثيل الضوئي.

بإلقاء الضوء على المقنن المائي المقدم الذي وصل في معاملة الري الكامل إلى 324 مم، والذي وصلنا إليه وفق الجدولة المتبعة والمعادلات المائية المطبقة على محصول القمح وضمن الظروف المناخية لعام 2020 في محافظة ريف دمشق. ومقارنة النتيجة مع التوصيات التي وصل إليها (Sun وآخرون ،2006) في جدولة الري خلال مراحل النمو المختلفة للقمح الشتوي (Triticum aestivum. L) حيث تبين أن 300مم هي الكمية المثلى للري. والذي أوصى بالقيام بجدولة الري المناسبة وفق هذا المقنن وتبعا لكل منطقة والبخر والنتح.

وعليه نؤكد أن جدولة الري تعطي قيماً متقاربة عالمياً مع اختلافات بسيطة تتبع لكل منطقة جغرافية، ومن الأفضل اتباع هذه الطرق في المحاصيل الاستراتيجية في الحد من الهدر الحاصل في عملية الري، كما أن استخدام حوض التبخر كلاس A يسهل عملية الجدولة بتقنية واضحة وبسيطة. كما يمكن التحكم في المقنن المائي دون التخفيض الموضوع بالدراسة أي 70 % من قراءة حوض التبخر، لأنه وتبعا للانخفاض الحاصل بالإنتاج يتوقع تدهوراً أكبر في حال تم تطبيق نسبة خفض أكبر وذلك يعتمد على توفر مياه الري بكل منطقة، كما تتوافق هذه النتيجة مع الدراسات المقامة من قبل (Deo وآخرون ،2017) على محصول القمح باستخدام حوض التبخر إلى عدم تطبيق 60% من قراءة الحوض لأنه يؤدي الى تدهور الإنتاج بشكل كبير.

كما ذكرنا سابقا فإن كفاءة استعمال المياه تختلف تبعا لصنف ونوع النبات، العمليات الزراعية المطبقة، ويعد الري الناقص أحد أساليب رفع كفاءة استعمال المياه للمحاصيل التي تستجيب لهذه الآلية من تقديم الري بحيث. سجل الري المعتدل (D2) أعلى WUE–GY (1.63 كجم / م 3) في التجربة المقدمة من قبل (Cheikh M'hamed وآخرون ،2015,) بالمقابل انخفضت هذه القيمة عند تطبيق الري الناقص، وهذا ما حدث أيضا في دراستنا بحيث كانت قيمة كفاءة استعمال المياه في معاملة الري الكامل والري المتوسط 1.48 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ متشابهة تماما وهذا يدل على إمكانية الصنف المدروس القمح (شام3) على إعطاء كمية الإنتاج نفسها من الحبوب مقابل كمية المياه المقدمة عند مستوى 80% ، في حين تنخفض إلى 1.34 في حال تطبيق الري الناقص بمستوى 70% وهذا مطابق لنتائج الدراسة المشابهة .

كما يمكن أن نوضح الفرق المعنوي لارتفاع النبات تبعا لمستويات الري الناقص، بضعف النمو الخضري للقمح الذي يترافق مع تأثر نمو وكثافة المجموع الجذري وهذا يتفق مع دراسة (Chen وآخرون ،2014) التي تؤكد على تأثير نظام الري المستخدم وكميات المياه المقدمة للمحصول على نمو وكثافة المجموع الجذري وعمق انتشاره ونشاطه. بشكل عام تؤكد الدراسة على تأثر نمو القمح القاسي (شام3)، بأسلوب الري المطبق، والمقنن المائي.

3-4-2 أثر البكتيريا الجذرية في نمو القمح واستجابته للري الناقص:

تؤكد نتائج الدراسة التي قمنا بها وجود أثر واضح للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (PGPR)، في تعزيز نمو نبات القمح، من خلال عدة طرق وآليات، أهمها الاختبارات المحددة للبكتيريا الجذرية (تحليل الفوسفات–تحليل البوتاس–تثبيت الأزوت–إنتاج حمض الأندول الخلي). وتتفق هذه الخلاصة مع النتائج والدراسات الحديثة (Agustiyan, 2021) التي تفسر وتوضح عمل البكتيريا الجذرية من خلال تثبيت الأزوت الجوي بشكل حر بالإضافة إلى تحليل العناصر المعدنية في التربة (الفوسفات والبوتاسيوم) الأمر الذي يسهل امتصاصهما من قبل جذور النبات بالإضافة إلى إفرازهما هرمون النمو حمض الأندول الخلي (IAA) الذي يحفز نمو وانتشار المجموع الجذري.

تشير نتائج البحث أيضاً إلى ارتفاع إنتاجية القمح عند التلقيح بالبكتيريا الجذرية، بفروق معنوية وأخرى ظاهرية تبعاً لنوع العزلة، ولكن إجمالا كان لكل عزلة أثر مميز بطريقة ما، وهذا يؤكد على وجود عدة إستراتيجيات تتبعها البكتيريا بحسب النوع البكتيري وأيضا تبعا لنوع النبات وصنفه. التي تبين وجود تفاعل وتواصل بيئي معقد بين البكتيريا الجذرية وبين النبات أدى إلى زيادة الإنتاجية في دراسات سابقة كما تم الإشارة إلى ذلك من قبل كل من (Schmidt وآخرون،2014) و (Berg وآخرون،2009).

كما هو واضح من نتائج البحث أيضاً في الصفات الشكلية للقمح بأن عزلات البكتيرية الجذرية المحفزة المستخدمة أدت إلى ارتفاع مؤشرات النمو مثل ارتفاع النبات بشكل معنوي ببعض العزلات، وهذا يتوافق مع (Khalid وآخرون،2004) الذي أكد أن استخدام البكتريا الجذرية (PGPR) في تلقيح القمح، تؤدي إلى ارتفاع مؤشرات النمو (انتشار الجذور– المجمع الخضري – ارتفاع النبات–الوزن الجاف للنبات) وترافق ذلك بارتفاع واضح في الغلة، مقارنة مع عدم التلقيح والذي ينطبق مع العزلات المستخدمة في التجربة.

كما توضح جداول الاختبارات المحددة للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو في الدراسة بأن العزلات البكتيرية التي كانت متفوقة بتحليل الفوسفات والبوتاس أعطت نتائج إيجابية وممتازة في نمو القمح بالتجربة الحقلية المقامة، ومما لا شك فيه بأن ذلك يتقاطع بشكل كبير مع الدراسات المقامة على القمح أيضا باستخدام التلقيح البكتيري ببكتريا محللة

للفوسفور (Phosphate solubilizing bacteria) لمحصول القمح، والذي أعطاه نتائج جيدة بالغلة (Afazal وآخرون ،2008) حيث يمكن اعتماده كمؤشر واضح لفعالية البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو.

ومن المؤشرات التي قمنا بدراستها أيضا إفراز حمض الأندول الخلي الذي يعد هرموناً نباتياً يساعد على النمو وتوضح النتائج أن العزلة التي تستطيع إنتاج حمض الأندول الخلي أعطت إنتاجية وصلت إلى 7000 كغ.هـ–1 في بعض منها بتفوق واضح نتيجة تحفيز وتعزيز محصول القمح تبعا لهذه الخاصة، كما تم دراسة أثر إفراز البكتيريا الجذرية للهرمونات كالأُكسينات وغيرها وفعاليتها بتحفيز نمو القمح في التجارب التي اجراها (Kämpfer وآخرون ،2005). بالإضافة إلى تركيزه على العزلات التي لديها القدرة على تثبيت الأزوت. كما يوضح الجدول وجود العزلة الثانية ذات قدرة على تثبيت الأزوت وأعطت نتائج جيدة بغلة القمح.

تشير خلاصة البحث من حيث أرقام إنتاجية القمح ونسبة ارتفاع الغلة بوصول الغلة إلى 7240 كغ/هـ في إحدى المعاملات البكتيرية بنسبة ارتفاع وصلت إلى 185 %، وكانت نسبة ارتفاع الغلة في أقل قيمة من العزلات البكتيرية 125 % بقيمة 4861 كغ/هـ مقارنة مع الشاهد دون تلقيح. كما تتوافق مع تطبيق التلقيح البكتيري Azospirillum الذي أدى إلى زيادة نسبة إنتاج القمح في تجربة (Nasser وآخرون ،2011) الى 170 % ، وهذا يوثق استجابة إنتاجية القمح للتلقيح البكتيري بنسبة جيدة، ويوضح بشكل عام دور وفعالية البكتيرية الجذرية المحفزة للنمو في زيادة انتاج القمح.

إضافة لما تم ذكره، أكدت نتائج الدراسة رفع كفاءة استعمال المياه عن تطبيق التلقيح البكتيري في جميع العزلات وبتفاوت مختلف تبعا لكل عزلة وخصائصها، باختلاف كل عزلة عن الأخرى ليس فقط بالخصائص المحددة للبكتيرية الجذرية بل باستجابتها ونشاطها بظل الري الناقص، حيث تفوق بعضها بشكل كبير ورفعت من استجابة القمح للإجهاد المائي وهذا يعد إضافة علمية تفتح الأبواب نحو تقييم أداء هذه البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو بمستويات رطوبة أرضية مختلفة.

نلاحظ أن معامل الاستجابة وصل إلى 0.4 في بعض العزلات عند مقارنته مع الشاهد دون تلقيح 1.02 وهذا يعد ذا فائدة كبيرة بالحفاظ على إنتاجية القمح بظل الموارد المائية المتاحة. لا يوجد دارسات واضحة تقوم بربط نشاط

البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو بمحيط القمح بمستوى الري الناقص ولكن هناك بعض الأبحاث التي أشارت (Ribeiro & Cardoso, 2012) إلى الناحية الفيزيولوجية لعمل البكتيريا في جذور القمح عند التعرض للإجهاد المائي.

بشكل عام ارتفعت قيمة كفاءة استعمال المياه في جميع المعاملات البكتيرية إلى قيم متفاوت بمتوسط يصل 1.8 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ بفارق واضح عن الشاهد الذي وصل الى 1.48 كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$، وهذا يدل على تعزيز البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو لمحصول القمح وكفاءة استعمال المياه ويقلل من المقنن المائي اللازم للوصول إلى الإنتاج نفسه، ويمكن ربط ذلك علميا مع الدراسات التي توضح آليات وإستراتيجيات عمل البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو حيث يوضح (Radhakrishnan وآخرون ، 2017) في دراسته أن استخدام التلقيح بالبكتيريا الجذرية تساعد النباتات بالقيام بعمليات فيزيولوجية وكيميائية بإفراز هرمونات النمو وهذا يساعد على رفع استجابة النبات للإجهادات الملحية والمائية.

تتوافق نتائج البحث مع الخلاصة التي وصل إليها كل من (Upadhyay & Singh, 2014)، باستخدام التلقيح البكتيري (ST–PGPR) لرفع مقاومة محصول القمح للإجهاد الملحي في الترب، فقد أوضحا دور البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو في زيادة فعالية تغذية النبات وامتصاصه للعناصر (N–P–K) الضرورية لنموه.

تؤكد هذه الدراسة وجود علاقة واضحة بين التلقيح البكتيري وتحمل القمح للإجهادات المائية المطبق من الري الناقص ورفع كفاءة استعمال المياه واستجابة القمح للإجهاد المائي، بحيث تشير نتائج البحث إلى الأثر الواضح للبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو في نمو محصول القمح، ووجود تباين واختلاف واضح بألية عمل كل عزلة وفق السلالة والنوع الذي تتبع له، وعليه يجب التوسع في تحديد السلالات الأكثر فعالية لرفع إنتاجية القمح والمحافظة على الموارد المائية وفق التغير المناخي العالمي بشكل عام والجفاف الذي يضرب المنطقة بشكل خاص.

3-4-3 أثر Citrobacter braakii في نمو القمح واستجابته للري الناقص.

بعد التحليل الوراثي للعزلة الثانية المميزة، اتضح بأنها تمتلك خصائص مفيدة جدا لنمو القمح ضمن ظروف التجربة المقامة وتعد من البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، يمكن تأكيد الأثر الإيجابي للنوع C.braakii في نمو نبات القمح بشكل عام، حيث وصل متوسط إنتاجية القمح (8298 –6936–6486) كغ.هـ$^{-1}$ في معاملات الري الثلاثة على التوالي (الري الكامل – الري المتوسط– الري المجهد) بفرق معنوي واضح مع الشاهد دون تلقيح، بمتوسط إنتاجية في مستويات الري الثلاثة المطبقة (4811– 3834–3045) على التوالي أيضاً.

كما توضح السلالة المستخدمة من النوع البكتيري C.braakii، المصنفة كبكتيريا جذرية محفزة للنمو، بقدرتها الواضحة على رفع استجابة القمح لإجهاد المائي تبعا لمستوى الري الناقص $Ky_{0.8}$= 0.82 ، $Ky_{0.7}$= 0.73 ، مقارنة مع حالة الشاهد دون تلقيح الذي كانت قيم معامل الاستجابة $Ky_{0.8}$= 1.02 ، $Ky_{0.7}$= 1.22 ، وعليه نؤكد أن C.braakii لها آلية مميزة في رفع استجابة القمح للإجهاد المائي بشكل عام ، وغالباً ما تقوم بتغيرات حيوية بألية عمل جذور القمح.

تثبت السلالة البكتيرية من C.braakii فعالية ممتازة في الحفاظ على الموارد المائية وإعطاء كميات جيدة من إنتاج القمح حيث وصلت كفاءة استعمال المياه (2.86 – 2.68 –2.56) كغ.هـ–1.مم–1 في مستويات الري المطبقة على التوالي أيضاً (الري الكامل – الري المتوسط– الري المجهد)

وتعد هذه الكفاءة مميزة جدا ونقلة نوعية في استثمار وإدارة مياه الري للمحاصيل الإستراتيجية كالقمح لدى مقارنتها بقيمة كفاءة استعمال المياه بالشاهد دون تلقيح (1.48–1.48–1.34)، وأيضا عند المقارنة بالمراجع التي تحاول رفع كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح باستخدام الري المعتدل (D2) أعلى في المقارنات المدروسة –WUE GY (1.63 كجم / م 3) في تجربة الري الناقص المقدمة من قبل (Cheikh M’hamed وآخرون ،2015) .

تعد هذه النتيجة خلاصة البحث في البحث عن البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو والمناسبة لمحصول القمح، وتساعد على رفع إنتاجيته وفق أقل كمية مياه ري مقدمة للوصول إلى ترشيد في استعمال مياه الري تبعا لمحدودية المياه في العالم والمنطقة.

كما تؤكد نتائج الدراسة التي قمنا بها إمكانية C.braakii، العالية على تحليل الفوسفات والبوتاس وتثبيت الأزوت الجوي وإنتاج حمض الأندول الخلي، ضمن الاختبارات المقامة وهذا واضح في دراسة مشابهة قامت بعزلها من الكومبوست (Yukihiro Tashiro وآخرون ،2017) وأكدت فعالية C.braakii في اختبارات الفوسفات .

حيث تقوم العزلة بتأمين العناصر الكبرى كاملة، عن طريق تحليل الفوسفات والبوتاس بكمية جيدة وتقدم الأزوت بطريقتين فلها القدرة على تثبيت الأزوت الجوي الحر وجعله متاحاً للنبات، أو من خلال تحليل أملاح الأمونيا وجعلها ميسرة للنبات، بالإضافة لقدرتها على إنتاج حمض الأندول الخلي الذي يعد محفزاً قوياً لنمو جذور النبات وانتشارها، الأمر الذي انعكس على الصفات المورفولوجية كاملة وعلى إنتاجية القمح.

وتؤكد نتائج البحث قدرة السلالة المدروسة من النوع البكتيريC.braakii على تحليل كربونات الكالسيوم الذي يعد عائقاً في(الترب السورية بشكل خاص) ويمنع امتصاص العناصر المغذية من قبل الجذور ويحد من انتشارها، فعند قيام العزلة بتحليله يفسح المجال للوصول الى إنتاجية أعلى في الترب الكلسية، حيث لا توجد أي دراسة تؤكد او تنفي قدرة النوع C.braakii، على تحليل كربونات الكالسيوم .

وهذا أسهم بشكل واضح في فعاليتها ونشاطها في المحيط الجذري لنبات القمح ومن الدراسات التي تؤكد فعالية C.braakii، كبكتيريا جذرية محفزة للنمو وذات فعالية عالية ومتفوقة على بقية الأنواع، كما تؤكد الدراسات أن النوع البكتيري (Citrobacter braakii) من أفضل أنواع البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو لأنها تمتلك القدرة على تنشيط أنزيم الفايتيز الذي يعد مهماً لجعل الفيتات–الفوسفور (P) متاحًا للنبات ، تبعا لذلك يتم استخدام هذا النوع للتعديل الوراثي على سلالات بكتيريا أخرى لرفع إفراز أنزيم الفايتيز (app). (Patel وآخرون ،2010) كما من الممكن أن تختلف نسبياً نشاط كل سلالة من النوع البكتيري C.braakii، حيث تم دراسة 19 سلالة، وأظهرت جميعها فعالية تثبيت النيتروجين، وتحليل الفوسفات والبوتاسيوم، وإنتاج تركيز IAA بنسب متباينة بين

السلالات، وتم التوصية باستخدامها كتركيبة سماد حيوي جديدة ومفيدة لتعزيز نمو النبات بشكل عام وتقليل استخدام الأسمدة الكيماوية. (Denaya وآخرون ،2021). وعليه نؤكد خلال نتائج البحث المقام بأن السلالة المدروسة تمتلك كافة الخصائص السابقة كافة ولها دور فعال في إنتاجية القمح وتحمله للإجهاد المائي ونوصي باستخدامها كسماد حيوي جيد وفعال لمحصول القمح.

3-4-4 أثر Pantoea.agglomerans في نمو القمح واستجابته للري الناقص.

بعد التحليل الوراثي للعزلة الخامسة المميزة، اتضح بأنها تمتلك خصائص مفيدة جدا لنمو القمح ضمن ظروف التجربة المقامة وتعد من البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، يمكن تأكيد الأثر الإيجابي للنوع Pantoea.agglomerans في نمو نبات القمح بشكل عام، حيث وصل متوسط إنتاجية القمح (8797 – 6757–5578) كغ.هـ$^{-1}$ في معاملات الري الثلاثة على التوالي (الري الكامل – الري المتوسط–الري المجهد) بفرق معنوي واضح مع الشاهد دون تلقيح، بمتوسط إنتاجية في مستويات الري الثلاثة المطبقة (4811– 3834– 3045) على التوالي أيضاً.

تبين النتائج وجود فروق معنوية بين المعاملة البكتيرية وبين الشاهد دون تلقيح في جميع مستويات الري المطبق. حيث وصل متوسط إنتاجية 8797 كغ.هـ$^{-1}$ في الري الكامل بفرق معنوي واضح مع الشاهد دون تلقيح، وبفروق معنوية أيضا عند المقارنة بمتوسط إنتاجية الملقحة بكتيريا في مستوى الري المتوسط بقيمة 6757 كغ.هـ$^{-1}$. بالرغم من انخفاض الغلة بشكل معنوي بالري الناقص المجهد المطبق حيث كان المتوسط 5578 كغ.هـ$^{-1}$. إلا انه رغم ذلك تفوق بشكل معنوي عن معاملة الري الكامل دون تلقيح، وهذه تعد نقلة نوعية ونتيجة ممتازة من حيث رفع الإنتاجية بمقنن مائي أقل.

ومن قيمة معامل الاستجابة في كلا المستويين $Ky_{0.8}$ = 1.14، $Ky_{0.7}$= 1.21، مقارنة مع القيمة المرجعية والمستخدمة في حالة الشاهد دون تلقيح، نلاحظ أن قيمة معامل الاستجابة تدل على حساسية نشاط هذ النوع البكتيري لمستوى الرطوبة الأرضية الأمر الذي انعكس على نمو القمح تحت ظروف الإجهاد المائي عند تطبيق التلقيح البكتيري، ويدل على الانخفاض النسبي الذي يرتبط بشكل مباشر عند انخفاض المقنن المائي المقدم.

أي أن الظروف المثالية لعمل ونشاط النوع البكتيري Pantoea.agglomerans هي ظروف الري الكامل للوصول إلى إنتاجية تصل بزيادة 185% مقارنة مع عدم التلقيح.

ولا يمكن انكار أن متوسط إنتاجية قمح بنوع Pantoea.agglomerans حتى في ظروف الاجهاد المائي ازدادت بنسبة تقدر 143% مقارنة مع الري الكامل ولكن دون تلقيح وسوف ينعكس بشكل واضح على قيمة كفاءة استعمال المياه.

توضح النتائج ارتفاع كفاءة استعمال المياه بشكل ملحوظ وفعالية Pantoea.agglomerans بزيادة إنتاج القمح مع المحافظة على الموارد المائية بحيث تكون القيم (2.7 – 2.61–2.46) كغ.هـ$^{-1}$.مم$^{-1}$ وفق معاملات الري الثلاثة على التوالي (الري الكامل – الري المتوسط– الري المجهد) بفرق معنوي واضح مع الشاهد دون تلقيح، بمتوسط إنتاجية في مستويات الري الثلاث المطبقة (1.48– 1.48–1.34) على التوالي. يمكن اعتماد Pantoea.agglomerans لرفع كفاءة استعمال المياه لمحصول القمح بحيث وصلت قيمته في معاملة الري الكامل إلى 2.7 ، بتفوق واضح على معاملة الشاهد دون تلقيح. كما حافظت على كفاءة استعمال مياه ممتازة في معاملة الري المتوسط والمجهد، وعليه تعتبر من أفضل العزلات المطبقة.

كما أن التوجه عالميا مستمر لاستخدام النوع البكتيري Pantoea agglomerans Pa في شمال غرب الصين التي بينت الملاحظة المجهرية قدرتها على أن تستعمر بشكل فعال جذور نبات القمح. وكانت قادرة على تعزيز نمو القمح وهذا يعزز مقاومته لإجهاد الجفاف (Chen وآخرون ،2021).و تتطابق نتائج هذا البحث إلى حد كبير مع نتائج دراستنا التي اعتمدت على سلالة Pantoea.sp ، ولكن من التناقضات التي تستحق البحث أن السلالة التي قمنا بدراستها كان لديها القدرة على إنتاج حمض الأندول الخلي وتحليل الفوسفات ولكن كانت القدرة على تثبيت الأزوت **أقل نوعا** ما مقارنة مع بعض العزلات، وأعطت نتائج إيجابية عند تطبيقها على القمح في حين بدراسة مشابهة (Silini–Chérif وآخرون ،2012) أيضا مقامة على القمح تبين بأن العزلة .Pantoea agglomerans lma2. بالإضافة الى قدرتها على إنتاج حمض الأندول الخلي وتحليل الفوسفات تمتلك قدرة عالية على تثبيت الأزوت الجوي، كما أظهرت هذه الدراسة المشابهة بقدرتها على تحفيز نمو القمح ومقاومته للإجهاد الملحي وقامت بالتوصية باستخدامها كسماد حيوي في المناطق القاحلة والمالحة.

تؤكد الاختبارات المحددة التي قمنا بها على قدرة Pantoea.agglomerans على إنتاج حمض الأندول الخلي، بالإضافة إلى توفير العناصر الكبرى الأساسية عبر (تحليل الفوسفات – تحليل البوتاس) بنسب ممتازة، ومن الممكن أن تحليل املاح الامونيا (توفير الازوت للنبات) هو الذي عوض عن قدرة العزلة الضعيفة على تثبيت الازوت الحر مما يزود النبات بالأزوت المتاح والميسر لاستمرار نمو المحصول، وهذا انعكس بشكل واضح على إنتاجية القمح.

بشكل عام كلتا الدراستين تؤكد أهمية Pantoea.agglomerans في رفع إنتاجية القمح ورفع كفاءة استعمال المياه حتى تحت ظروف الإجهاد المائي، ونوصي باستخدامه كسماد حيوي مناسب للقمح.

الاستنتاجات Conclusion

- أثبتت نتائج هذه الدراسة فعالية البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو على محصول القمح، من حيث رفع الإنتاجية ورفع كفاءة استعمال المياه برفع إنتاجية القمح عند مستوى الري نفسه، أي الحصول على غلة حبوب قمح أعلى بتقديم المقنن المائي نفسه، وهذا يعد نقلة نوعية علمية تساهم بالتوجه العالمي لزيادة إنتاجية المحاصيل المهمة بأقل الموارد المائية الممكنة.
- قامت البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو برفع استجابة محصول القمح، للإجهادات المائية، بحيث تحافظ على تفوق الإنتاج بالرغم من انحسار المقنن المائي عن حاجة المحصول. وهذا يشكل خطوة إيجابية لتعميم واستخدام الأنواع البكتيرية التي حققت ذلك بالزراعات البعلية أو التي يصعب تأمين مياه الري لها للوصول إلى أعلى إنتاجية من محصول القمح بما يتوافر من هطولات مطرية أو المياه الصالحة للري.
- استخدام البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو (Citrobacter.braakii) و (Pantoea.agglomerans)، ، الذي تم تصنيفهما في البحث حيث أكدت نتائجهما التفاعل الواضح لمحصول القمح معهما في الظروف المحلية ، واستخدامهما كسماد حيوي بما يضمن رفد القطاع الزراعي بكميات مضاعفة من القمح وضمن الموارد المائية الموجودة ،كما يجب التنويه إلى أنها تستخدم عالميا كبديل نظيف عن الأسمدة الكيمائية بحيث لا تسبب تلوثاً لمصادر المياه الجوفية.
- علمياً، يجب التوسع في الدراسات المقامة على أنواع البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو حيث تم ملاحظة التباين بتأثير كل منها على محصول القمح وبالأغلب يتفاوت تأثيرها من محصول الى آخر تبعا للظروف المحيطة بجذر النبات بشكل عام.

التوصيات Recommends

- يجب تحديد المقنن المائي وجدولة الري وفق المعادلات، تبعاً للتغيرات المناخية بشكل موسمي بما يتوافق مع احتياجات المحصول.
- يجب تحديد وتقديم الاحتياج المائي بشكل دقيق بما يضمن كفاءة استعمال المياه.
- إمكانية استخدام المقنن المائي للوصول إلى نوعية حبوب مرغوبة (نسبة بروتين) عن طريق التحكم بمستويات الري وفقاً للصناعة الغذائية الموجه لها القمح.
- العمل على تصنيف واستخدام البكتيريا الجذرية المحفزة للنمو ذات النتائج الإيجابية واستخدامها كبديل عن الأسمدة الكيميائية ذات التكاليف العالية والأثار الملوثة والضارة.
- استخدام (Citrobacter.braakii) و (Pantoea.agglomerans)، في رفع كفاءة استخدام المياه، الأمر الذي يرشد استخدام مياه الري وزيادة الإنتاجية ودراسة أثرهما في محاصيل أخرى.
- إقامة أبحاث ودراسات متعلقة بالبكتيريا الجذرية المحفزة للنمو، وأثرها في المحاصيل المهمة محلياً وفق الظروف والعوامل البيئية.
- العمل على تسجيل السلالتين في بنك المعلومات الوراثي كسلالات سورية من البكتيرية الجذرية المستخدمة لأغراض زراعية وذات فعالية جيدة وفقاً للمقالات المرفقة ونتائج الأطروحة.

المراجع العربية:

1- الهيئة العامة للبحوث الزراعية السورية.2021.**دليل أصناف القمح في سورية**. دمشق: سورية. ص 28
دليل أصناف القمح في سورية(gcsar.gov.sy)

References:

1- Afazal.A,Bano.A (2008) **Rhizobium and Phosphate Solubilizing Bacteria Improve the Yield and Phosphorus Uptake in Wheat (Triticum aestivum)** International Journal of Agriculture and Biology · January 2008
2- Agustiyani, D., Dewi, T. K., Laili, N., Nditasari, A., & Antonius, S. (2021). **Exploring biofertilizer potential of plant growth-promoting rhizobacteria candidates from different plant ecosystems. Biodiversitas** Journal of Biological Diversity, 22(5).
3- Al-Ghazi.S ,(2021) **THE WHEAT AND BREAD CRISIS IN SYRIA AND ITS IMPACT ON THE POPULATION** www.orsam.org.tr Center for Middle Eastern Studies 179
4- Aliyeva, D. R., Aydinli, L. M., Zulfugarov, I. S., and Huseynova, I. M. (2020). **Diurnal changes of the ascorbate-glutathione cycle components in wheat genotypes exposed to drought. Funct**. Plant Biol. 47, 998–1006. doi: 10.1071/FP19375
5- Allen.G.R, Smith.M, Raes.D, Luis S. Pereira، (1988) **Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water Requirements** - FAO Irrigation and drainage paper 56) FAO1998. http://www.kimberly.uidaho.edu/water/fao56/fao56.pdf
6- Berg .G (**Plant microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture** Appl. Microbiol. Biotechnol., 84 (2009),
7- Bramley.H,Turner.N,Siddique.K.HM,2013 **Water Use Efficiency** https://www.researchgate.net/publication/268872656
8- Briggs and Shantz ,1913
9- Caneschi, W.L., A.B.S., E.B.F., L.A.M., N.F.A., R.S.S., A.M.V., J.C.S. and L.M.M. AND , et al**,** (2019) **Serratia liquefaciens FG3 isolated from a metallophyte plant sheds light on the evolution and mechanisms of adaptive traits in extreme environments**) (2019)
10- Castro.A.M, Gimenez.D, Tocho.E, Tacaliti.M,Barragán.M, Bottini.R , Snape.J (2010**)** **Tolerance to Stress in Wheat** The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology ©2010 Global Science Books
11- Cheikh M'hamed.H , Rezig.M, Ben Naceur..M (2015)**Water Use Efficiency of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf) under Deficit Irrigation** Journal of Agricultural Science; Vol. 7, No. 8; 2015
12- Chen.C, Xin.K, Liu .H, Cheng.J, Shen.X, Wang.Y, Zhang.L, 2021 (**Pantoea alhagi, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat**) Sci Rep. 2021 Apr 9;11(1):8160.
13- Cherif-Silini.H, Thissera .B, Bouket.A.C, Saadaoui.N, Silini.A, Eshelli .M, Alenezi.F.N, Vallat .A, Luptakova.L, Yahiaoui.B, Cherrad.S, Vacher.S, Rateb.M.E, Belbahri.L(2012) **Durum Wheat Stress Tolerance Induced by Endophyte Pantoea agglomerans with Genes Contributing to Plant Functions and Secondary Metabolite Arsenal**)

14- Chin.C.F.S, Furuya1.Y, Zainudin.M.H.M, (2017)(**Novel multifunctional plant growth promoting bacteria in 1 co-compost of palm oil industry waste**)
15- Dalal, M., Sahu, S., Tiwari, S., Rao, A. R., and Gaikwad, K. (2018). **Transcriptome analysis reveals interplay between hormones, ROS metabolism and cell wall biosynthesis for drought-induced root growth in wheat. Plant Physiol. Biochem**.
16- Denaya. S, Yulianti.R, Pambudi.A and Effendi.Y . 2021 (**Novel microbial consortium formulation as plant growth promoting bacteria (PGPB)** agent)
17- Deo ,k, SR Mishra.SR, Singh. AK, Mishra. AN and Singh.A 2017**(Water requirement of wheat crop for optimum production using CROPWAT mode**)
18- Deoraa A, Hashidokoa Y, Rahmana A, Itoa T, Taharaa S (2007) **Isolation and identification of potential phosphate solubilizing bacteria from the rhizoplane of Oryza sativa L**. cv. BR29 of Bangladesh. Z Naturforsch 62(c):103–110
19- Döbereiner, 1988 Nitrogen fixation Dobereiner, J., Reis, V., and Lazarini, A.C. 1988. **New N2 fixing bacteria in association with cereals and sugarcane. In: Nitrogen Fixation**
20- Dong, W., Wang, M., Xu, F., Quan, T., Peng, K., Xiao, L., et al. (2013). **Wheat oxophytodienoate reductase geneTaOPR1 confers salinity tolerance via enhancement of abscisic acid signalling and reactive oxygen species scavenging**.
21- El-Esawi.M.A, , Alaraidh.I.A,. Alsahli .A.A, Alzahrani.S.M،Ali.H.M,. Alayafi.A.A ,Ahmad.M,2018 **(Serratia liquefaciens KM4 Improves Salt Stress Tolerance in Maize by Regulating Redox Potential، Ion Homeostasis, Leaf Gas Exchange and Stress-Related Gene Expression**)
22- Elliot,1984.
23- Fahad.S ,Hussain.S, Bano.A , Saud.S , Hassan.S , Shan.D ,Khan.F.A ,Khan.F , Chen.Y & Chao Wu.C ,Tabassum.M.A , Chun.M.X , Afzal.M , Jan .A,Jan .M.T, Huang.J (2014) **Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing Environment**
24- Grigorova and Colwell,1987
25- Gutierrez CK, Matsui GY, Lincoln DE, Lovell CR (2009). **Production of the phytohormone indole-3-acetic acid by the estuarine species of the genus** *Vibrio*. Appl. Environ. Microbiol. 75:2253-2258
26- Harrigan,1998
27- Hatfield. JL, Dold. C(2019) **Water-Use Efficiency: Advances and Challenges in a Changing Climate.** Front. Plant Sci. 10:103.doi: 10.3389/fpls.2019.00103
28- Huang.Y, Chen.L*, Fu.B, Huang.Z, Gong.J (2005) **The wheat yields and water-use efficiency in the Loess Plateau: straw mulch and irrigation effects Agricultural Water** Management 72 (2005) 209–222
29- Jin-ting, Xue-ping Han, Li Tang, Can Wang, Wei-yu Zhang and Jian-hui Ma (2018) (**20-Hydroxyecdysone protects wheat seedlings from salt stress) Arch Biol Sci. 2018;70(2):379-386**
30- Kämpfer.P,Ruppel.S, Remus.R.(2005) **Enterobacter radicincitans sp. nov., a plant growth promoting species of the family Enterobacteriaceae)**

31- Khalid. A , Arshad. M and Zahir. Z.A. 2004 (**Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat**) Journal of Applied Microbiology 2004, 96, 473–480 (University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan)
32- Khan.S, Anwar.S, Shaobo.Y, Gao.Z, Sun.M, Ashraf.Y,Ren.A,Yang.Z (2020) **Soil water consumption, water use efficiency and winter wheat production in response to nitrogen fertilizer and tillage** DOI 10.7717/peerj.8892
33- Kloepper JW, Schroth MN. (1978) **Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. Proceedings of the 4th international conference plant pathogenic bacteria. France: Angers**.
34- Large, E. C. (1954) **Growth stages in cereals-ill he Feekes scale**. Plant Pathology, 3, ustration of t128-129.
35- Lawas, L. M. F., Erban, A., Kopka, J., Jagadish, S. V. K., Zuther, E., and Hincha, D. K. (2019a). **Metabolic responses of rice source and sink organs during recovery from combined drought and heat stress in the field**.
36- Manib.M, Zahra.M.K, S.H.I.(1986) **Abdel-Al and A. Heggo, Role of silicate bacteria in releasing K and silicone from biotite and orthoclase. In: Soil biology and consevation of the biosphere**
37- Man.J, Yu Shi, Zhenwen Yu,Zhang.Y (2016) (**Root growth, soil water variation, and grain yield response of winter wheat to supplemental irrigation**) Agriculture Plant Production Science, 2016
38- Mayak S, Tirosh T, Glick BR.(2004) **Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and pepper.** Plant Sci 2004b;166:525–30.
39- Mega.R, Abe.F ،Kim.J ،Tsuboi،.Y, Tanaka.K , Kobayashi.H ،Abe.Y ،Sakata.F ،Kousuke et al,(2019) **Tuning water-use efficiency and drought tolerance in wheat using abscisic acid receptors**
40- Mu.Q, Cai.H,, Sun ,S, Wen,S, Xu.J, Dong.M, Saddique,Q (2021) **The physiological response of winter wheat under short-term drought conditions and the sensitivity of different indices to soil water changes**
41- Nasser.A , Zahra .H , Rez.s.m, 2011 (**Azospirillum inoculation alters nitrate reductase activity and nitrogen uptake in wheat plant under water deficit conditions**) Department of soil science ,faculty of agriculture , university of Tabriz , iran (n-aliasghar"tabrizu.ac.ir) .
42- Pál.M, Majláth.I, Németh.E, Hamow.K.A, Szalai.G, Szabolcs (2018) **The effects of putrescence are partly overlapping with osmotic stress processes in wheat**
43- Patel, Kuldeep J.1, Saurabh Vig1, G. Nareshkumar2, and G. Archana – (2010) **Effect of Transgenic Rhizobacteria Overexpressing Citrobacter braakii appA on Phytate-P Availability to Mung Bean Plants**) J. Microbiol. Biotechnol. (2010), 20(11), 1491–1499
44- Prajapati.K, Modi.H.A,(2016) (**Growth Promoting Effect of Potassium Solubilizing Enterobacter hormaechei (KSB-8) on Cucumber (Cucumis sativus))**
45- Quddus.F ,(2021) **Recent Advances in Biofertilizer**
46- Radhakrishnan.R , Baek.K.H .(2017) **Physiological and biochemical perspectives of non-salt tolerant plants during bacterial interaction against soil salinity**
47- Ranawat.B, Bachani.P, Singh.A, Mishra.S,(2021) **Enterobacter hormaechei as Plant Growth-Promoting Bacteria for Improvement in Lycopersicum esculentum**)

48- Rane.J, Singh.A.K, Tiwari.M, P. V,Vara Prasad.V ,Krishna Jagadish.K, (2022) **Effective Use of Water in Crop Plants in Dryland Agriculture: Implications of Reactive Oxygen Species and Antioxidative System**
49- Ribeiro, C.M., Cardoso, E.J.B.N. (2012)**Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (Araucaria angustifolia).**
50- Richard G Allen, Martin Smith ،Dirk Raes ، Luis S. Pereira, (1998). (**Crop evapotranspiration - Guidelines for computing crop water Requirements - FAO Irrigation and drainage paper 56) FAO1998.**
51- Ruzzi and Aroca, 2015
52- Sanal F. J..(2019), **The Effects of Heavy Metal Stress in Wheat Plant on Certain Phenolic Compounds** BioSci. Biotech
53- Schmidt.R, M. Köberl, A. Mostafa, E.M. Ramadan, M.Monschein, K.B. Jensen, R. Bauer , G. Berg (2014) **Effects of bacterial inoculants on the indigenous microbiome and secondary metabolites of chamomile plants** Front. Microbiol., 5 (2014), p. 64
54- Silini-Chérif .H, Silini.A, Ghoul.M, Yadav.S , (2012) **Isolation and characterization of plant growth promoting traits of a rhizobacteria: Pantoea agglomerans lma2**
55- Sorensen J. (1997) **The rhizosphere as ahabitat for soil microorganisms.** In: Dirk van Elsas J, Trevors JT, Wellington EMH, editors. Modern soil microbiology. New York: Marcel Dekker; 1997. p. 21–45.
56- Sun.H , Liu.C , Zhang.X a, Shen .Y, Zhang.Y,(2006) **Effects of irrigation on water balance, yield and WUE of winter wheat in the North China Plain**
57- Tambussi.E.A, Bort,J , Araus.J.L(2006) **Water use efficiency in C3 cereals under Mediterranean**
58- Tamura K., Stecher G., and Kumar S. (2021). MEGA 11: **Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11**
59- Tull, K. (2017). **Agriculture in Syria**. K4D Helpdesk Report. Brighton, UK: Institute of Development Studies. https://opendocs.ids.ac.uk/opendocs/handle/20.500.12413/13081
60- Upadhyay.S.K and Singh.D.P ,(2014)**Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment**)
61- Wang.L, Shangguan.Z,(2014) **Water–use efficiency of dryland wheat in response to mulching and tillage practices on the Loess Plateau**
62- Wang.Y, Yan Mu, Yang.S,Wang,L(2022) **water consumption and water use efficiency of winter wheat** International Journal of Plant Production volume 16, pages705–721 (2022)
63- Whipps ,John ,M 1990 **Substrate flow in the rhizosphere** *(*Plant and Soil (1990)
64- ZAMAN,2019 ZAMAN.R (2019) **WATER STRESS EFFECT ON WHEAT AT DIFFERENT MECHANICAL SEEDING SYSTEMS** E-mail: rokonae99@gmail.com
65- Zhong.Z ,McDonald.B.A, Palma-Guerrero.J (2021) **Tolerance to oxidative stress is associated with both oxidative stress response and inherent growth in a fungal wheat pathogen**

Websites used in this study:

- FAO Cereal Supply and Demand Brief **Release date: 02/12/2022** FAO Cereal Supply and Demand Brief | World Food Situation | Food and Agriculture Organization of the United Nations

- (Crop evapotranspiration - Guidelines for computing crop water Requirements - FAO Irrigation and drainage paper 56). http://www.kimberly.uidaho.edu/water/fao56/fao56.pdf
  http://www.engr.scu.edu/~emaurer/classes/ceng140_watres/handouts/FAO_56_Evapotranspiration.pdf
- Nucleotide-NCBI Home - Nucleotide - NCBI (nih.gov)
- Land &Water FAO –(2023) Land & Water | Food and Agriculture Organization of the United Nations | Land & Water | Food and Agriculture Organization of the United Nations (fao.org)
- Wizard Genomic DNA Purification Kit TM050
  Wizard® Genomic DNA Purification Kit Protocol (promega.com)
- AOAC International. (1980). *Official methods of analysis of AOAC International*. Arlington, Va: AOAC International.

Abstract

The research aims to raise Water Use Efficiency for Durum wheat (sham3) under many levels (100-80%-70%) From IW-CPE Irrigation Water (IW) -Cumulative Pan Evaporation (CPE) by used isolations of Plant Growth-Promoting Rhizbacteria (PGPR), which were isolated from the sphere of the roots of wheat for about (46) samples, and about (120) bacterial isolates were extracted. Then specific tests for(PGPR) were got as (phosphate analysis - potassium analysis - nitrogen fixation - Indole acetic acid production - Calcium carbonate analysis - ammonia analysis - HCN production), and selection of the best isolates that gave good laboratory results. so use them in the field experiment.

The results of the application of deficit irrigation show a decrease in wheat productivity when applying water stress at the level of (80%-70%) IW-CPE, where the averages were respectively (5410-4550) kg.ha-1, compared to full irrigation with an average productivity of (6570).) kg. ha-1, with significant differences between them as well. The average percentage of protein in grains at (70%) IW-CPE was equal to 13.5%, with a significant increase over both levels (100%-80%) IW-CPE, where the protein percentage was (12-12.6)%, respectively, while it was not. There are significant differences between them.

The results show generally effective of wheat by Plant Growth-Promoting Rhizbacteria (PGPR) , and after Genetic test , we can determent bacterial spices for excellent isolation in result following:

the strain which belong to **Citrobacter braakii** increased the average yield of wheat at irrigation levels (100-80%-70%) from IW-CPE to (6486-6936-8298) $kg.ha^{-1}$ respectively, in addition to raising the efficiency of Water use for the following values (2.86 - 2.68 -2.56) $kg.h^{-1}.mm^{-1}$

the strain which belong to **Pantoea sp** increased the average yield of wheat at the applied irrigation levels (100-80%-70%) from IW-CPE to (8797-6757-5578) $kg.ha^{-1}$ respectively, in addition to raising Water use efficiency so that the values are (2.7 - 2.61-2.46) $kg.h^{-1}.mm^{-1}$.

With a clear significant difference for both strains compared with the average productivity values of the control without no isolations (4811- 3834-3045) $kg.ha^{-1}$, respectively, and each of them led to an improvement in water use efficiency compared with the values of the control treatment (1.48- 1.48-1.34), respectively.

The results assure the effectiveness of the use of Plant growth Promoting Rhizobacter, especially **(Citerobacter.braakii)** and **(Pantoea.sp)** in increasing wheat production, raising water use efficiency, and raising wheat's response to water stress. We recommend using it as a biofertilizer on a large scale to raise productivity, according to the available water resources

Key Words: Deficit irrigation, Durum Wheat, PGPR, Citrobacter braakii ,Pantoea.sp.

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty agriculture
Department rural engineering

Effect of Deficit Irrigation on Wheat Plant Growth Under Effective By Plant Growing Promoting Rhizobcateria (PGPR)

A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of (Ph.D.) in rural engineering at the faculty of Agriculture, Damascus University

By
Ali Mhmad Othman

Supervisors

Mahmoud Abo Ghorrah
Professor، Dep. Plant protection .
Assistant Supervisor

Riyadh Bladia
Professor، Dep. Rural engineering
Supervisor

2023