الجمهورية العربية السورية
جـــامـــعــة دمـشــق
كـــلـــيـــة الـــزراعــة
قــسـم وقــايــة الـنــبات

انتخاب واختبار وتعريف عزلات بكتيرية محلية لمكافحة التفحم المغطى *Tilletia sp.* على القمح

Selection, Testing and Identification of local bacterial isolates to control wheat common bunt *Tilletia sp.*

رسالة مقدمة لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية

إعداد المهندسة

لارا معن صالح

المشرف
الدكتور محمد فواز العظمه
أستاذ في قسم وقاية النبات
كلية الزراعة – جامعة دمشق

المشرف المشارك
الدكتور عمر ناجي حمودي
باحث في الهيئة العامة
للبحوث العلمية الزراعية

2023

تصريح

قُدمت هذه الرسالة بعنوان " **انتخاب واختبار وتعريف عزلات بكتيرية محلية لمكافحة التفحم المغطى *Tilletia sp.* على القمح** " استكمالاً لمتطلبات الحصول على درجة الماجستير في الهندسة الزراعية (اختصاص وقاية نبات) من كلية الزراعة في جامعة دمشق. وأصرح أن هذا البحث لم يسبق أن قُبل للحصول على أي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة

لارا صالح

Declaration

This study entitled " **Selection, Testing and Identification of local bacterial isolates to control wheat common bunt *Tilletia sp.*** " has been submitted in partial fulfillment of the requirements for the M.SC. degree in Agriculture Engineering (Department of Plant Protection) at the Faculty of Agriculture,Damascus University. I hereby declare that this study has not been accepted for any degree, nor has been submitted concurrently for any other degree.

Candidate

Lara Saleh

شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة بعنوان (**انتخاب واختبار وتعريف عزلات بكتيرية محلية لمكافحة التفحم المغطى *Tilletia sp.* على القمح**) هو نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة لارا صالح بإشراف الأستاذ الدكتور محمد فواز العظمه من قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، والدكتور عمر ناجي حمودي ، باحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وبأن أية أعمال أخرى مذكورة في هذه الرسالة قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وفي قائمة المراجع.

المرشحة	المشرف المشارك	المشرف
لارا صالح	د.عمر حمودي	أ.د.محمد فواز العظمه

Certification

It is hereby certified that the work described in this thesis entitled(**Selection, Testing and Identification of local bacterial isolates to control wheat common bunt *Tilletia sp.***) is the result of candidate's own investigation, under the supervision of Prof. Dr. Mohamad Fawaz al Azmeh, Department of Plant Protiction, Faculty of Agriculture Damascus University, and Dr. Omar Naji Hamoudi, Researcher in General Commission for Scientific Agricultural Research. Any other works mentioned in this thesis is referenced to its sources and authors in the text and the bibliographic list.

Supervisor	Assistant Supervisor	Candidate
Prof Dr. Fawaz al-Azmeh	Dr.Omer Hamodi	Lara Saleh

قرار لجنة الحكم

قُدمت هذه الرسالة بعنوان " **انتخاب واختبار وتعريف عزلات بكتيرية محلية لمكافحة التفحم المغطى *Tilletia sp.* على القمح** " من قبل المرشحة لارا صالح استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية (اختصاص وقاية نبات) في كلية الزراعة، بجامعة دمشق، نوقشت الأطروحة في جلسة علنية بتاريخ 2023/8/17 وأجيزت أمام لجنة الحكم المؤلفة من السادة:

This thesis entitled " **Selection, Testing and Identification of local bacterial isolates to control wheat common bunt *Tilletia sp.*** " has been submitted by the candidate Lara Saleh as partial fulfillment of the requirements for the degree of M.SC. in Agricultural Engineering (Plant Protection), at the Faculty of Agriculture,Damascus University. This thesis has been approved by the jury on 17/8/2023.

أ.د.محمد فواز العظمه

الأستاذ في قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق عضواً مشرفاً

أ.د.جودة فضول

الأستاذ في قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق عضواً

أ.د.محمود أبو غرة

الأستاذ في قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق عضواً

شكر وتقدير

أتقدم بوافر الشكر وعظيم الامتنان الأستاذ الدكتور محمد فواز العظمه و الدكتور عمر ناجي حمودي لتفضلهما بالإشراف على هذا العمل .

كما أتقدم بجزيل الشكر للأستاذ الدكتور جودة فضول والأستاذ الدكتور محمود أبو غرة أعضاء لجنة الحكم لملاحظاتهما القيمة.

كل الشكر و التقدير لجامعة دمشق وعمادة كلية الزراعة ورئاسة وأعضاء قسم وقاية النبات ، أخص بالشكر مركز الهيئة العامة للتقانة الحيوية .

شكر وتقدير خاص الأستاذ الدكتور محمود أبو غرة الذي أحاطني بالرعاية العلمية الواسعة والمعاملة الأخلاقية خلال سنوات البحث.

شكر خاص للدكتور أحمد مهنا لتقديمه عدة معاملات حيوية تم اختبارها في هذا البحث.

الإهداء

إلى ملاكي الجميل صاحبة القلب الأبيض

أمي الغالية

إلى عِماد ومنارة بيتنا وأمنِنا

أبي العظيم

إلى كنزي وسندي وقلبي النابض

إخوتي (مرح – رنا – يوسف)

إلى من ذلل العقبات والصعاب في طريقي وبنى لي جسراً من الأمل، إلى معلمي وقدوتي ومشرفي

الأستاذ الدكتور محمد فواز العظمة

إلى من كان معي في كل خطوة وتفصيل ولحظة على طول الطريق بحلوه ومره ، إلى من شاركني بصدق أصعب وأجمل اللحظات، إلى من لم يبخل بدعم

صديقي العزيز أوس

إلى صديقة عمري ورفيقة أيامي(دلال)

إلى رفيقة الدرب اللطيفة الرقيقة الحنونة (إيمان)

إلى صديقة التجارب والمخابر والأيام الجميلة (ريم)

فهرس المحتويات

المحتوى	رقم الصفحة
الفصل الأول : الجزء التمهيدي (الإطار العام)	1
1-1 مقدمة (Introduction)	2
1-2 مبررات البحث	4
1-3 أهداف البحث	4
الفصل الثاني الدراسة المرجعية	5
2-1 التفحم المغطى على القمح Common bunt of wheat	6
2-2 دورة حياة الفطر المسبب لمرض التفحم المغطى على القمح *Tilletia sp.*	7
2-3 عوارض الإصابة بمرض التفحم المغطى على القمح	9
2-4 انتشار المرض	11
2-5 العوامل الملائمة لحدوث المرض	12
2-6 طرائق مكافحة التفحم المغطى على القمح	13
2-6-1 معالجة البذار كيميائياً وفيزيائيا"	13
2-6-2 المكافحة بالطرق الزراعية (الإجراءات الزراعية)	16
2-6-3 زراعة الأصناف المقاومة	16
2-6-4 المكافحة باستخدام مواد عضوية	17
2-6-5 المكافحة الحيوية	18
الفصل الثالث: المواد والطرائق	21
3-1 جمع عينات التربة	22
3-2 عزل البكتريا من التربة	23
3-3 تحضير اللقاح الفطري (الأبواغ التيلية للتفحم)	23
3-4 اختبار تأثير البكتريا في إنتاش أبواغ التفحم المغطى مخبرياً	23
3-5 اختبار تأثير البكتريا على إنبات حبوب القمح في المختبر	24
3-6 اختبار تأثير البكتريا في إصابة النبات بمرض التفحم المغطى حقليا	25

3-7 تعريف وتصنيف بعض العزلات البكتيرية التي أظهرت تأثيرا في مكافحة التفحم المغطى على القمح	27
3-7-1 إختبار صبغة غرام حسب طريقة RYV	27
3-7-2 اختبار متطلبات البكتيريا من الأوكسجين الحر	27
3-7-3 اختبار مقدرة البكتيريا على تشكيل الأبواغ الداخلية Endospores	28
3-7-4 صبغ البكتيريا بصبغة غرام	28
3-7-5 اختبار مقدرة البكتيريا على انتاج الصبغات الوميضية Fluorescent pigments	29
3-7-6 التحقق من احتواء البكتريا على إنزيم السيتوكروم أوكسيداز Cytochrome oxydase	29
3-7-7 اختبار فرط الحساسية على التبغ Hypersensitivity on tobacco	29
3-7-8 تحلل الجيلاتين Gelatin hydrolysis	30
3-7-9 تحلل النشا Starch Hydrolysis	30
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	31
4-1 عزل البكتريا من التربة	32
4-2 اختبار تأثير العزلات البكتيرية المحلية في تثبيط إنتاش أبواغ التفحم المغطى	32
4-3 اختبار تأثير العزلات البكتيرية في مكافحة التفحم المغطى حقليا"(الموسم الأول)	35
4-4 مقارنة تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط المرض مخبرياً و حقلياً	38
4-5 اختبار تأثير العزلات البكتيرية في مكافحة التفحم المغطى حقليا (الموسم الثاني)	40
4-6 مقارنة تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط المرض في الموسمين	44
4-6 تعريف وتصنيف العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً في مكافحة التفحم المغطى على القمح	46

الفصل الخامس :الاستنتاجات والمقترحات	**48**
الاستنتاجات	**49**
المقترحات	**49**
الفصل السادس : المراجع	**50**
المراجع العربية	**51**
المراجع الأجنبية	**52**
الملخص باللغة الانكليزية	**58**

فهرس الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1	أنواع أمراض التفحم التي تصيب محصول القمح	3
2	التصنيف العلمي للفطر المسبب لمرض التفحم المغطى على القمح	6
3	معلومات عن عينات التربة التي عُزلت البكتريا منها	22
4	مواصفات صنف القمح شام 3	24
5	تأثير العزلات البكتيرية في إنتاش أبواغ التفحم المغطى مخبرياً،متوسط نسبة إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى (%)	32
6	تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبريا"	33
7	تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبريا"	33
8	نسبة السنابل المصابة بالتفحم المغطى (%) إلى عدد السنابل الكلي وكفاءة معاملة بذور القمح ب 14 عزلة بكتيرية بالمقارنة مع الشاهد غير المعدى(أ)	35
9	تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة الإصابة % حقليا" للموسم الثاني	36
10	تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط مرض التفحم المغطى على القمح في المخبر والحقل	38
11	إنتاش الأبواغ التيلية للمعاملات البكتيرية مخبرياً والكفاءة حقلياً	40
12	تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة الإصابة حقليا" للموسم الثاني	41
13	تحليل one way anova لكفاءة المعاملات حقليا" للموسم الثاني	41
14	تحليل االفروق المعنوية لنسبة الاصابة بين الموسمين	44

15	تحليل الفروق المعنوية للكفاءة بين الموسمين	45
16	الصفات الشكلية للعزلات البكتيرية التي استخدمت في التجارب الحقلية	46
17	نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً في مكافحة التفحم المغطى على القمح	47

فهرس الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	الأبواغ التيلية للفطرين *Tilletia laevis* , *Tilletia tritici*	7
2	دورة حياة الفطر *Tilletia sp.* المسبب لمرض التفحم المغطى على القمح	8
3	إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى وتشكيل الأبواغ البازيدية الخيطية واقترانها بشكل حرف H	9
4	عوارض الإصابة بمرض التفحم المغطى على القمح	10
5	متوسط نسبة إنتاش الأبواغ التيلية في معاملات العزلات البكتيرية مقارنة بالشاهد في التجربة المخبرية	34
6	متوسط نسبة تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبرياً%	34
7	النسبة المئوية للسنابل المصابة في التجربة الحقلية وكفاءة المعاملات	37
8	تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط مرض التفحم حقلياً ومخبرياً	39
9	متوسط نسبة الاصابة بمرض التفحم المغطى في الموسم الثاني %	43
10	كفاءة المعاملات في مكافحة مرض التفحم المغطى على القمح في الموسم الثاني %	43
11	مقارنة متوسط نسبة الإصابة % للعزلات البكتيرية بين الموسمين	44
12	مقارنة كفاءة العزلات البكتيرية المحلية في مكافحة المرض في الموسمين	45

ملخص

هدفت الدراسة إلى عزل بكتريا من التربة و تقييم تأثيرها في تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية لمرض التفحم المغطى على القمح المتسبب عن الفطر *Tilletia tritici* مخبرياً و تقييم تأثيرها عند معاملة بذور القمح بالعزلات البكتيرية المحلية في مكافحة المرض من خلال تجربة حقلية نُفِّذت في الموسمين 2022 و2023. كما هدفت الدراسة إلى تعريف العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً في تثبيط المرض حقليا على مستوى الجنس من خلال الاختبارات البيوكيميائية. جُمعت 16 عينة تربة من حقول مزروعة بالقمح او بمحاصيل أخرى ومن حقول غير مزروعة في محافظات دمشق و اللاذقية و حماه وعُزل منها 150 عزلة بكتيرية. ثم اختبر تأثير هذه العزلات في تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبريا ضمن أطباق بتري على وسط آغار الماء . أبدت 14 عزلة بكتيرية منها تأثيرا في تثبيط إنتاش الأبواغ ، حيث تراوحت نسبة التثبيط بين 75% و 63%، وهي العزلات التي تم استخدامها في التجربة الحقلية. أظهرت نتائج التجربة الحقلية في الموسم الأول (2022) عند معاملة البذور بالعزلات المنتخبة أن العزلة البكتيرية B3 أظهرت أعلى كفاءة في تثبيط المرض بلغت 59.2% قاربت كفاءة المبيد الكيميائي(كربوكسين+ ثيرام) 58.9%. كما أظهرت ستة عزلات اخرى كفاءة عالية نسبيا تراوحت (من 58.6 % إلى 52.7 %). في التجربة الحقلية للموسم الثاني 2023 بالإضافة للعزلات البكتيرية ال6 التي أبدت أعلى تأثير في الموسم الأول, اختبر تأثير عوامل مكافحة حيوية جديدة في مكافحة مرض التفحم على القمح هي : الفطر *Serendipita (Piriformospora) indica* والبكتريا *Pseudomonas chlororaphis* MA والبكتريا *Bacilus subtilis* ومحرض المقاومة BTH(Benzothiadiazole) واختبر تأثير خلائط من هذه العوامل أيضا". استخدم المبيد ديفنوكونازول في الموسم الثاني الذي حقق كفاءة 100%. واختبرت مادة مصل اللبن في هذا الموسم وأعطت كفاءة 70.4%. حققت المعاملات البكتيرية *Pseudomonas chlororaphis* MA و *Bacilus subtilis* كفاءة مرتفعة في مكافحة المرض بلغت 90% و 94.6% على الترتيب متفوقة على العزلات البكتيرية المحلية وباقي المعاملات, إلا أن الخلائط من عوامل المكافحة الحيوية أحدثت خفضا" في الكفاءة مقارنة مع تأثير كل عامل على حدة. بمقارنة كفاءة العزلات البكتيرية المحلية التي اختبرت في الموسمين تبين عدم وجود فروق معنوية بين الموسمين .

أُجريت الاختبارات البيوكيميائية على العزلات البكتيرية المتفوقة المسماة B3/B4/B6/B10/B11/B13 وأظهرت النتائج أن هذه العزلات تنتمي للجنس *Bacillus*.

توضح النتائج إمكانية استخدام البكتيريا في مكافحة التفحم المغطى كبديل عضوي عن المبيدات الفطرية الكيميائية وقد يتطلب ذلك اختبار كفاءة مزائج تحتوي أكثر من نوع بكتيري للحصول على كفاءة مرتفعة.

الكلمات المفتاحية: عزلات بكتيرية مضادة , التفحم المغطى على القمح , *Tilletia tritici*

الفصل الأول

الجزء التمهيدي

(الإطار العام)

1-1 مقدمة (Introduction) :

يعد محصول القمح *Triticum spp.* من محاصيل الحبوب الرئيسة التي تحظى بأهمية كبيرة في العالم من حيث المساحة المزروعة والأهمية الاقتصادية (Gooding,Davies.1997)، إذ يعتبر الغذاء الرئيسي لحوالي 35% من سكان العالم. ويعتبر القمح مصدراً رئيسياً للكربوهيدرات والبروتينات والألياف وبعض الفيتامينات والمعادن، ممايجعله غذاءً مهماً وضرورياً لصحة الإنسان (Shewry,2009).

يحتوي القمح على حوالي 70% كربوهيدرات و 12% ماء و 12% بروتين و 2.2% ألياف و 2% دهون و1.8% معادن (FAO,2020). ويعتبر أهم المحاصيل بعد الذرة في حين يأتي الرز في المرتبة الثالثة (FAO,2021).

يُزرع القمح عالمياً ضمن بيئات ومناطق جغرافية واسعة، ويُعتقد أن الموطن الأصلي لمعظم الأنواع المزروعة هو منطقة الشرق الأوسط ويذهب البعض إلى القول أنّ زراعة القمح بدأت في سورية وفلسطين منذ نحو عشرة آلاف سنة، ثم انتقلت زراعته شرقاً إلى إيران وجنوباً إلى مصر، ثم إلى الهند والصين وروسيا، ومن مصر إلى أوروبا ثم انتقلت زراعته مع المهاجرين الأوروبيين إلى العالم الجديد (الأمريكيتين). يُزرع القمح ويُستهلك كغذاء أساسي في العديد من دول العالم، ويؤمن هذا المحصول مايعادل 22% من الطاقة و19% من البروتين لبناء جسم الإنسان في الدول النامية. يتميز القمح عن محاصيل الحبوب الأخرى بأنّه مصدر للألياف والعناصر المعدنية والفيتامينات وخاصة فيتامينات A وB وE . يتصف طحين القمح القاسي والطري على حد سواء بخاصية قابلية تشكيل العجين لصناعة العديد من المنتجات الغذائية التي تستهلك في غذاء كل شخص في العالم تقريباً، حيث يستهلك القمح القاسي على شكل معكرونة وسميد، وفريكة و برغل بينما يستهلك القمح الطري على شكل خبز و بسكويت و حلويات وكعك.

يحتل القمح المرتبة الأولى بين المحاصيل الاستراتيجية في القطر العربي السوري، لأن خبز القمح يشكل الغذاء اليومي للإنسان السوري. قُدّرت المساحة المزروعة بالقمح عام2020 بحوالي 1350538 هكتار أنتجت 2848472 طن (المجموعة الإحصائية الزراعية،2020).

تصاب جميع محاصيل الحبوب عموما والقمح خصوصا بجملة من الأمراض كأمراض الصدأ والتفحم والبياض الدقيقي والتبقعات المختلفة على الأوراق واللفحات على السنابل إضافة لأمراض أخرى.

تحتل أمراض التفحم المرتبة الثانية في الأهمية بعد أمراض الصدأ، وتتنتقل بعدة طرق إما محمولة بالبذور أو محمولة بالتربة أو منقولة بالرياح. ينحصر انتقال فطر التفحم المغطى على القمح بطريقتين إما عن طريق البذور الملوثة بأبواغ الفطر التيلية أو عن طريق التربة الملوثة، علماً أن الطريقة الأولى هي الأكثر أهمية في عملية انتقال المرض إلى النبات في الموسم الجديد (Wilcoxon and Saari,1996).

يصاب القمح بعدة أمراض تفحم ، من أهمها مرض التفحم المغطى (الشائع) Common bunt في معظم مناطق زراعته في العالم (Agrios,2005). بالإضافة إلى التفحم السائب Loose smunt والتفحم اللوائي Flag smunt والتفحم القزمي Dwarf bunt والتفحم الجزئي (تفحم كارنال) Karnal bunt.

جدول(1) أنواع أمراض التفحم التي تصيب محصول القمح

الاسم الشائع لنوع التفحم	الاسم الشائع باللغة الانكليزية	الفطر المسبب للمرض
التفحم المغطى – التفحم الشائع – التفحم النتن	Common bunt – Covered bunt	*Tilletia tritici* (DC.) Tul. & *T.laevis* (Whaler) Liro.
التفحم السائب	Loose bunt	*Ustilago tritici* (Pers.) Rostr.
التفحم اللوائي(اللولبي)	Flag smunt	*Urocystis agropyri* (Preuss.) Liro
التفحم القزمي	Dwarf bunt	*T.contraversa*
التفحم الجزئي(كارنال)	Karnal bunt	*T.indica*

وجدت بذور قمح ملوثة بأبواغ الفطر التيلية في بلاد مابين النهرين قُدِّر عمرها بأربعة آلاف سنة (Johnsson,1990).

•

2-1 مبررات البحث:

1- الاستغناء عن استخدام المبيدات الكيميائية على الرغم من فعاليتها في مكافحة التفحم المغطى على القمح إلا أنها مستوردة عموما وغالية الثمن إضافة إلى مخاطر السمية التي ترافق استخدامها سواء على الإنسان أو على البيئة ، وصعوبة توفيرها وتوزيعها في البلدان النامية , بالإضافة إلى احتمال تشكل سلالة من التفحم المغطى مقاومة للمبيد الفطري المستخدم كما حدث في حال المبيد hexachlorobenzene (Kollomorgen & Jones,1975).

2- هناك توجه عالمي في السنوات الأخيرة نحو الزراعة العضوية التي يحظر فيها استخدام المبيدات الكيميائية مما يجعلنا نبحث عن بدائل لمكافحة مرض التفحم المغطى والحصول على قمح عضوي مما يزيد من جودته وأهميته التصديرية إذ تصدر سورية القمح القاسي لبعض البلدان.

3- إمكانية إنتاج المادة المضادة محليا وبالتالي التوفير الكبير في عمليات المكافحة وتوفير التكلفة الناتجة عن استخدام المبيدات، حيث أن استخدام الأنواع البكتيرية والفطرية المضادة للتفحم مسموح به في الزراعة العضوية.

3-1 أهداف البحث:

1- عزل بعض السلالات البكتيرية المحلية المضادة لفطر التفحم.

2- اختبار تأثير السلالات البكتيرية المعزولة في مكافحة التفحم المغطى على القمح مخبريا" وحقليا".

3- تعريف بعض العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً في تثبيط مرض التفحم المغطى على القمح حقلياً.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

Literature Review

2-1 التفحم المغطى على القمح Common bunt of wheat

يُعتبر مرض التفحم المغطى على القمح من المشاكل الزراعية الهامة التي تؤثر على إنتاجية المحصول وجودته في جميع أنحاء العالم، ويسبب خسائر في المحصول قد تصل إلى أكثر من 30% (Mamluk,1998). يعود تاريخ دراسة المرض إلى القرن الثامن عشر، وتم تسجيل أول حالة مؤكدة للمرض في العام 1779 في بريطانيا (Bhattacharyya,1987). منذ ذلك الحين، لوحظ انتشار المرض في العديد من دول العالم، مما أدى إلى خسائر كبيرة في إنتاجية المحصول وتأثيره على اقتصاديات تلك الدول. وبسبب أهمية المحصول، فإن من المهم أن يتم التعامل مع مرض التفحم المغطى على القمح بشكل فعال، والعمل على تطوير استراتيجيات متكاملة للحد من انتشاره وتقليل الخسائر الناجمة عنه. يُعد التفحم المغطى على القمح من الأمراض المنقولة بالبذور seed-borne بالإضافة لكونه منقولا" بالتربة soil-borne (Bockus,*et al*.,2010) .

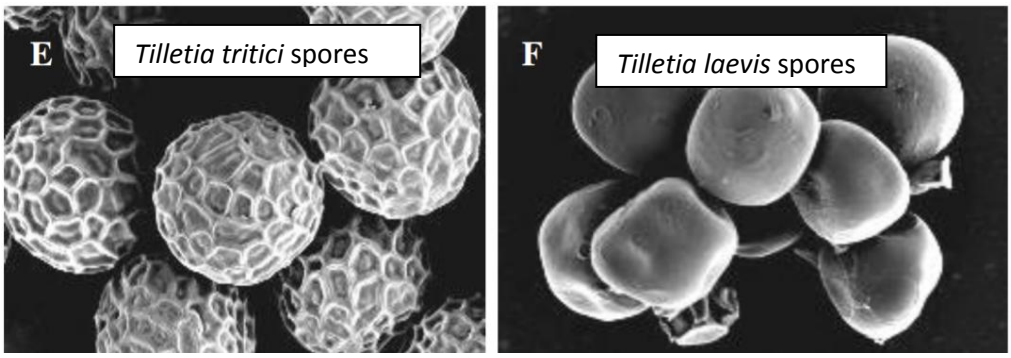
ينتمي الفطر المسبب لمرض التفحم المغطى على القمح إلى جنس *Tilletia* وهو من الفصيلة Tilletiaceae، والرتبة Ustilaginales ، والشعبة Basidiomycota ، والمملكة Fungi وقد تم تأكيد هذا التصنيف مؤخراً باستخدام العديد من التقنيات الجزيئية مثل تحليل تسلسل الحمض النووي. (Lutz,Cummins,et al.2020).

جدول(2) التصنيف العلمي للفطر المسبب لمرض التفحم المغطى على القمح

المملكة	Kingdom	Fungi
الصف	Class	Basidiomycota
الرتبة	Order	Ustilaginales
الجنس	Genus	*Tilletia*
الأنواع	Species	*T.tritici*
		T.laevis

J.G. Kühn, 1873

يسبب مرض التفحم المغطى على القمح النوعان الفطريان *T.laevis(foetida)* و *T.tritici* اللذين يختلفان عن بعضهما في الصفات الشكلية للأبواغ التيلية، حيث تكون كروية أو بيضاوية الشكل ذات جدار أملس ولون بني إلى زيتوني داكن وقطرها 14 – 22 µm في النوع الأول بينما تكون مكورة الشكل مزينة بنقوش شبكية بارزة على السطح وبلون أصفر إلى رمادي شاحب أو بني محمر وقطرها 14 – 23.5 µm في النوع الثاني (Goates *et al*., 1996).



شكل (1) الأبواغ التيلية للفطرين *Tilletia tritici* , *Tilletia laevis*

(Albughobeish,2015)

يتكيف مرض التفحم المغطى مع الظروف البيئية السائدة في منطقة الشرق الأوسط وهو يحتل المرتبة الثانية في الأهمية على محصول القمح بعد أمراض الصدأ (Mamluk et al., 1990).

كان مرض التفحم المغطى في سورية أكثر أمراض القمح أهمية من 50 عاما" خلت قبل انتشار ممارسة معالجة البذار بالمبيدات الفطرية، واستمرت خطورته حتى الآن(Mamluk et al.1990; Mamluk, 1992). سُجِّل المرض في أكثر من 50% من الحقول في ثلاث من أربع مناطق إنتاج القمح . سُجلت أعلى نسبة إصابة (60%) في صنف القمح مكسيباك و 33% في إحدى سلالات القمح المحلي (Mamluk *et al.*, 1990). شوهد المرض بكثرة في شمال سورية و وُجدت أبواغه في 83% من عينات الحبوب المعدة للطحن ، مما يشير إل معدلات الإصابة العالية للحقول التي أحضرت منها تلك الحبوب (William,1983) . معظم الأصناف المزروعة في سورية قابلة للإصابة (Mamluk et al., 1990).

2-2 دورة حياة الفطر المسبب لمرض التفحم المغطى على القمح *Tilletia sp.*

يتكاثر الفطر المسبب لمرض التفحم المغطى بواسطة الأبواغ التيلية التي يتزامن إنتاشها مع إنبات بذور القمح وقبل ظهور البادرة فوق سطح التربة، سواء كانت هذه الأبواغ محمولة مع بذور القمح أو تلك موجودة في التربة (Goates *et al.*, 1996).

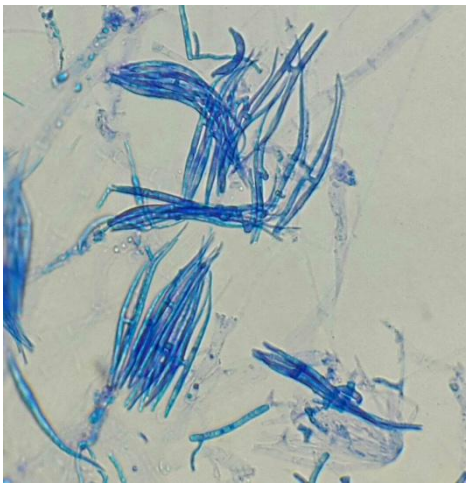
ينبت البوغ التيلي ليعطي دعامة تحمل في نهايتها 8 -16بوغاً دعامياً (سبوريدة أولية) صيغتها 1n نصفية الصبغيات. يتحد كل بوغين معاً على شكل حرف H وترحل نواة إحداهما إلى جوار الأخرى دون أن تندمجا،

هذا التركيب يمكن أن ينتش مباشرة ليعطي مشيجة ثانوية أو يعطي سبوريدات ثانوية ذات الصيغة (n+n)، والتي تنتش لتشكل المشيجة الثانوية المسؤولة عن إحداث الإصابة. تخترق هذه المشيجة أنسجة البادرة وتنمو بين الخلايا ملاحقة للقمة النامية وتهاجم الأنسجة الميرستيمية في السنابل المتشكلة قبل انبثاقها من أغمادها، وتتغذى على محتويات الحبوب وتستنفذها بالكامل عدا الطبقات الخارجية من الحبة. تتحول خلايا المشيجة في النهاية إلى أبواغ تيلية (n+n) ذات جدار سميك إذ تتحرر أثناء الحصاد والدراس ملوثة الحبوب السليمة كما قد تنتقل بالرياح وبالآلات الزراعية وأقدام العمال لمسافات قريبة أو بعيدة لتلوث التربة (Agrios,2005) (فضول والعظمة,1993)

شكل(2) دورة حياة الفطر *Tilletia sp.* المسبب لمرض التفحم المغطى على القمح (Agrios,2005)

الجراثيم التليتية تحت المجهر — شكل تخطيطي للجرثومة التليتية — جرثومة تليتية مكبرة

(From Wiese, M.V., 1987)



شكل(3) إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى وتشكيل الأبواغ البازيدية الخيطية واقترانها بشكل حرف H

3-2 عوارض الإصابة بمرض التفحم المغطى على القمح

قد لايعطي مرض التفحم المغطى عوارضا" يمكن تمييزها بسهولة قبل أن يبدأ النبات في تكوين سنابل (Agrios,2005). تكون النباتات المصابة أقصرعموما" من النباتات السليمة ببضع سنتيمترات، ويمكن في بعض الأحيان أن تكون النباتات المصابة ذات طول يساوي نصف طول النباتات السليمة. يمكن أن تظهر النباتات المصابة خضراء مزرقة قليلا إلى خضراء رمادية ولكن ليس من السهل تمييز ذلك . يكون المجموع الجذري في النباتات المصابة ضعيفاً كما تكوّن النباتات المصابة إشطاءات أكثر وقد تظهر تبرقشات على أوراق البادرات المصابة.

تظهر الأعراض بشكل أساسي بوضوح عندما تظهر سنابل النباتات المصابة (فضول والعظمة،1986) فيكون لونها أخضر مزرق عند مقارنتها مع اللون العادي الأخضر الشاحب لسنابل النباتات السليمة ، وتكون أقل سماكة من السنابل السليمة وتبدو السنيبلات والعصافات والسفا منفرجة وتشكل زاوية كبيرة مع محور السنبلة الرئيسي إذ تكون شعثاء وهذا يكون واضحا بالمقارنة مع السنابل السليمة .

تكون الحبوب المتفحمة أقصر وأسمك من الحبوب السليمة وتكون ذات لون بني مائل للرمادي والأسود إذا قورنت باللون العادي للحبوب وهو الذهبي المصفر أو المحمر. تتهشم الحبوب المصابة بسهولة بعد أن تنضج و يشاهد أنها مملوءة بكتلة مسحوقية سوداء هبابية ذات ملمس دهني من الأبواغ التيلية الناتجة عن الفطر المسبب، هذه الأبواغ تطلق رائحة نتنة وهذا سبب تسميته بالتفحم النتن stinking smunt. أثناء حصاد الحقول المصابة يمكن أن تنطلق سحابات كبيرة من الأبواغ في الهواء وراء آلة الحصادة و الدراسة إذا كانت نسبة الإصابة مرتفعة مما يؤدي إلى تلوث تربة الحقل وربما الحقول المجاورة.

تسبب الإصابة بمرض التفحم المغطى نقص كمية المحصول وتصبح الحبوب غير صالحة إذا زادت كمية الأبواغ المختلطة بها عن حد معين إضافة للرائحة النتنة التي تنطلق من الأبواغ التيلية للفطر والناتجة عن المركب النتروجيني Trimethylamin الذي يعطي رائحة تشبه رائحة السمك الفاسد، كما تؤثر الإصابة على جودة الطحين الناتج حيث يصبح لونه قاتما" بسبب وجود أبواغ الفطر الممتزجة به بسبب صبغة الميلانين (فضول والعظمة،1993).

أظهرت الاختبارات الحسية في السويد أن 50% من الناس يمكنها تمييز الرائحة النتنة لحبات القمح الملوث بما نسبته 1000بوغ فقط في كل غرام من البذار (Borgen and Davanlou,2001) ولاشك أن هذه الرائحة تلعب دورا هاما في خفض القيمة النوعية للحبوب لحد كبير، كما أن تلوث الحبوب يشكل مصدر عدوى هاما" في حال استخدامها للزراعة، قد يكون سبا" للحساسية عند تناول الحبوب والمنتجات الملوثة سواء على الإنسان أو بعض الحيوانات (Westermann et al.,1988) . وقد تسبب موت الناس ونفوق الحيوانات (فضول والعظمة،1986).

حبوب قمح متفحمة سنبلة مصابة إلى اليسار وسنبلة سليمة إلى اليمين

شكل(4) عوارض الإصابة بمرض التفحم المغطى على سنابل وحبوب القمح

من ناحية أخرى فإن نسبة 0.1% من السنابل المصابة بالتفحم المغطى في الحقل يمكن أن تزيد نسبة حدوث التفحم في العام التالي بحوالي 100 مرة في هذا الحقل. وبالطبع تتراوح هذه النسبة حول هذا المعدل تبعا للظروف المناخية والتربة و لقابلية الصنف (Borgen et al.,1995) .

يعتبر الفطران *Tilletia tritici* و*T.laevis* من الفطريات إجبارية التطفل biotrophs وهي الفطريات التي تتطفل على أنسجة النباتات الحية فقط وغير القابلة للنمو والتبوغ في الزجاج.

لاتملك أبواغ التفحم آليات داخلية لمنع الإنتاش في غياب العائل، فإذا كانت التربة باردة ورطبة تنتش أبواغ الفطر سواء أكان المضيف موجوداً أم لا، وتموت الأبواغ المنتشة في غياب العائل، لذا تعتبر الدورة الزراعية أو تبوير الحقل إجراءات مفيدة في إدارة المرض.

2-4 انتشار المرض

ينتشر فطر*Tilletia tritici* عالميا حيث يزرع القمح ، على حين ينتشر الفطر *T.laevis* ضمن مدى جغرافي أضيق حيث يسود في معظم القارة الأوروبية وشرق أمريكا الشمالية(Jacobsen&Backman.1993).

وللفطرين دورة حياة متشابهة ويمكن أن يتواجدا في نبات واحد. كما قد تشاهد حالات وسطية ناجمة عن إمكانية التهجين الطبيعي بين النوعين (Mamluk et al., 1990).

في سوريا: ينتشر مرض التفحم في سوريا وقد سجل في 50% من حقول زراعة القمح (Mamluk et al., 1990).

بينت نتائج المسح الحقلي (اسماعيل،1992) سيادة النوع *Tilletia tritici (T.caries)* في المنطقة الجنوبية والوسطى من سورية بينما ينتشر النوعان *T.tritici* و *T. foetida* بنسب متقاربة في المنطقة الشمالية (ادلب) أما في مناطق الفرات والجزيرة لوحظ سيادة النوع *T. foetida* وربط ذلك بنوع القمح السائد في كل منطقة إذ اختلفت نسب الإصابة بنوعي الفطر بين الأقماح الطرية والأقماح القاسية حيث ساد النوع *T.caries* على أصناف القمح القاسي بينما ساد النوع *T. foetida* على أصناف القمح الطري.

تعتبر التفحمات في تركيا أمراضاً بنفس الأهمية كالأصدئة (Finci1981, Iren 1981, Parlak 1981, Finci et al.1983, Bicici et al. 1991)

أظهرت الدراسات الأولية أن 10% من الحقول التي كانت مصابة بالتفحم المغطى سببت إصابة 60-90% من الحقول في المواسم اللاحقة .(Parlak 1981)

تحتل التفحمات والأصدئة في إيران الأهمية ذاتها,Zad 1972, Khazra and Bamdadian 1974

Sharif and Bamdadian 1974, Akbari and Zolghadri 1988, Mardoukhi 1989)

يسبب التفحم المغطى خسائر تصل ل 25-30% في أجزاء من إيران.(Bamdadian 1993a,b)

يحتل التفحم المغطى في أفغانستان المرتبة الثانية بعد الأصدئة (Shah Samin 1969) , كما وينتشر الفطر المسبب للتفحم المغطى *Tilletia laevis* بشكل أكبر (Gattani 1964, Osmanzai and Quayoun 1972).

يعتبر مرض التفحم المغطى على القمح في العراق المرض الأكثر أهمية على هذا المحصول بسبب ملائمة المناخ ووجود الأمطار(Hermis and Hussain 1979) و أبدى الصنف Mexipak مقاومة للفطريات المسببة أمراض التفحم .(Ibrahim et al. 1985)

بالرغم من المناخ الجاف وقلة هطول الأمطار في لبنان والأردن التي تقلل من إصابة القمح بالعديد من الأمراض إلا أن مرض الفحم المغطى ينتشر على نطاق واسع(Mazahreh 1981، Mamluk et al.

1984). ونظرا لأن المزارعين يعالجون البذور قبل الزراعة تكون الإصابة منخفضة نسبيا (Ghosheh 1975).

وجد في لبنان النوع *Tilletia laevis* الذي تم تحديده من قبل(Weltzien 1963، Saad and Nienhaus 1969، Khatib et al. 1970).

انتشرت الإصابة بمرض التفحم المغطى في شمال وادي البقاع اللبناني نتيجة زراعة أصناف قابلة للإصابة من القمح ودون معالجة البذور (EE Saari 1974، unpubl).

في مصر ينتشر مرض التفحم المغطى في أنحاء البلاد خاصة في سيناء إلا أن الخسائر قليلة عندما تكون البذور معالجة (Abdel-Hak and Ghobrial. 1969a).

سبب مرض التفحم المغطى خلال منتصف القرن العشرين خسائر في الولايات المتحدة الأمريكية أكثر من أي نوع آخر من التفحمات على القمح (Fischer and Holton 1957).

2-5 العوامل الملائمة لحدوث المرض

درجة الحرارة:

درجات حرارة التربة المناسبة لإنتاش الأبواغ التيلية لفطر التفحم المغطى 5-15 س والمثلى9-10 س، وتؤدي درجة الحرارة 22 س إلى خفض معدل الإصابة وذلك لأن هذه الحرارة تشجع الإنبات السريع للبذور وانبثاق البادرات قبل حدوث إنتاش أبواغ الفطر (Matanguihan et al.,2011).

الرطوبة:

تلعب الرطوبة دورا مهما في حدوث المرض، وتعد الرطوبة المثالية لحدوث الإصابة مابين نقطة الذبول الدائم والسعة الحقلية (Goates et ai.,1996).

عمق الزراعة:

إن زيادة عمق الزراعة حتى 7 سم تزيد من احتمال حدوث العدوى وذلك لأن درجة حرارة التربة قد تكون مناسبة أكثر لإنتاش الأبواغ التيلية كما أن البادرة تكون معرضة للعدوى الآتية من التربة الملوثة لمدة أطول (Goates et ai.,1996).

2-6 طرائق مكافحة التفحم المغطى على القمح

2-6-1 معالجة البذار كيميائياً وفيزيائيا"

ظهرت فكرة المكافحة بمعالجة البذار، حيث استخدمت الحراراة بأشكالها الثلاث الماء الساخن ، الهواء الساخن وأشعة الشمس. ولكن هذه المعاملات الحرارية يمكن أن تؤثر بشكل سلبي على إنبات البذور (Fischer and Holton,1957).

اكتشف ماءات الصوديوم بالصدفة ليستخدم مدة قرن من الزمن في مكافحة مرض التفحم المغطى وتزامن استخدامه مع استخدام الكلس ومزائجه والملح والملح الصخري ورماد الخشب. استبدل الكلس فيما بعد بمركبات النحاس الأكثر فعالية في المكافحة وكان ذلك في منتصف القرن الثامن عشر ولكن من عيوبها أنها تؤثر على حيوية البذار ، كما أن غبار المبيد يشكل خطرا" على العاملين.

اتبعت قديماً طريقة معاملة البذار بالمحلول الملحي لمدة طويلة من الزمن لمكافحة التفحم المغطى على القمح، وفي منتصف القرن الثامن عشر استخدمت سلفات النحاس التي أبدت فعالية أكثر في مكافحة المرض (Yarham,1993)، لكن يعاب على مركبات النحاس تأثيرها في حيوية البذور، وسميتها للعاملين. ظهر في القرن ذاته مركب الفورمالدهيد كمطهر للبذور، وكان أرخص تكلفة وأكثر فعالية وأقل تأثيراً في حيوية البذور مقارنة بسلفات النحاس. يمتاز هذا المركب بطبيعته الطيّارة العالية high volatility مما يمكن من استخدامه كمعالجة جافة على البذور، إلا أن الطريقة الأفضل لتطبيقه هي غمس البذار به، وبالتالي فهو يطهر البذور ولكن لايحميها من العدوى القادمة من التربة لذلك لم يستخدم بشكل واسع (الصعيدي ،2004).

بدأت ألمانيا في عام 1912 لأول مرة باستخدام المركبات الزئبقية العضوية كمطهرات بذار ضد مرض التفحم المغطى على القمح واستمر استخدامها حتى السبعينيات من القرن العشرين ، وقد أبدت هذه المركبات كفاءة عالية في مكافحة المرض ولكن تكاليفها مرتفعة وسميتها عالية جداً. ظهر الاهتمام بمركبات البنزين متعددة الكلور كمبيدات فطرية بشكل واضح في فرنسا وتحديدا في فترة نقص المركبات الزئبقية العضوية خلال الحرب

.(Fischer and Holton,1957)

في أوائل عام 1943 أثبت مبيد هكساكلوروبنزين كفاءة عالية ضد تفحم القمح بشكليه الجاف والسائل وبالتالي أصبح بديلاً جيداً عن مركبات اللنحاس ومركبات الزئبق العضوية السامة ، كما أعطى بنتاكلورونيتروبنزين (PCNB) كفاءة موازية ضد تفحم القمح (Fischer and Holton,1957).

اقتصرت فعالية هذا المركب على اللقاح المحمول بالبذور، كان ذلك حافزاً للتفتيش عن بدائل أفضل للمكافحة. ومن الجدير بالذكر أن استخدام هذه المركبات محرم في الولايات المتحدة الأمريكية حاليا .(Cook and Veseth.1991)

بدأ عهد جديد في تاريخ تعقيم البذار مع ظهور المبيدات الفطرية العضوية ذات الفعالية الجهازية ، حيث ظهرت مركبات Oxanthiin (كاربوكسين و أوكسي كاربوكسين) في الستينات من هذا القرن (Cook and Veseth.1991) .

منذ أوائل القرن العشرين استخدمت مركبات الزئبق العضوية التي أبدت كفاءة عالية في مكافحة المرض، مثل سيريزان و سيميزان، إلا أن الكثير من الدول منعت استخدامها نظراً لسميتها الشديدة وضررها على الطيور البرية، وبسبب الحوادث المميتة التي أوقعتها بالإنسان في بعض الدول النامية (خاصة في العراق 1972م) نتيجة استعمال البذار المطهر بمركبات الزئبق في الغذاء البشري(فضول والعظمة،1993). تلا هذه الفترة استخدام مركبات البنزين متعددة الكلور Polychlorobenzenes كمبيدات فطرية فعالة في مكافحة التفحم المغطى على القمح، منها مبيد هكساكلوروبنزين (Hexachlorobenzene) HCB وبنتاكلورونيتروبنزين (Pentachlorobenzene) PCNB، اللذين أعطيا كفاءة عالية في مكافحة المرض، إلا أن هذه المركبات فعّالة بشكل أكبر على اللقاح المحمول بالبذار وبنسبة أقل على اللقاح الموجود في التربة، خاصة عند توافر مستويات عالية من اللقاح بالتربة (Hoffmann and Waldher,1981).

بدأ بعد ذلك ظهور المبيدات الفطرية الجهازية الفعّالة على اللقاح المحمول بالبذور والموجود في التربة، حيث ظهر مركب كربوكسين Carboxin وأنتج تحت الاسم التجاري Vitavax (Mamluk,1998). وأظهرت التجارب أن معاملة البذار بالمبيدات الفطرية الجهازية هي الوسيلة الأكثر فعالية في مكافحة التفحم المغطى على القمح، إلا أنّ كلفتها عالية بالإضافة لصعوبة تطبيقها في الدول النامية (Hoffman,1982).

أظهرت التجارب أن معاملة البذار بالمبيدات الفطرية الجهازية هي الطريقة الأكثر فعالية في الحد من خطر مرض التفحم المغطى على القمح (Hoffmann,1982). أما العوائق الرئيسية التي تعترض تطبيقها فهي كلفتها

العالية وصعوبة تطبيقها في الدول النامية ، كما أنه في مناطق زراعة القمح كمحصول وحيد فنادرا مايستخدم المزارعون بذارا معاملا بالمبيدات اللازمة في كل موسم زراعة ، بالإضافة إلى عدم امتلاكهم التسهيلات والأدوات المطلوبة لمعالجة البذار (Hoffmann,1982).

من أهم المبيدات الفطرية المستخدمة في مكافحة المرض بشكليه المحمول بالبذور والتربة هي: Carboxin, Etaconazole, Thiabendazole, Triadimefon, Triadiminol وأثبت المبيد Triadiminol تفوقه على باقي المبيدات المذكورة (Goates *et al.*,1996). ومن المبيدات الفعالة في مكافحة اللقاح المحمول بالبذار فقط (Hoffmann and Waldher,1981) Chloroneb, Fuberidazole, Maneb, Pyrocarbolid.

أكدت نتائج تجارب محلية متعددة المواقع في سورية كفاءة المبيد الفطري Difenoconazole بجرعة منخفضة لاتزيد عن 30 غ مادة فعالة/طن بذور في تحقيق مكافحة تامة أو شبه تامة للتفحم المغطى، وهذا ما أدى إلى اعتماد عدة مبيدات من مجموعة التريازول بجرعة منخفضة (1لتر مستحضر تجاري/طن بذور)، حيث كانت كافية لتحقيق مكافحة كاملة للمرض، ومن بين المبيدات الأخرى التي حققت كفاءة جيدة تجاه اللقاح المحمول على البذور كل من carbendazim, mancozeb وهي من المبيدات الشائعة ورخيصة الثمن (العظمه، فواز. معطيات غير منشورة).

اختبرت في العراق (المعروف،2011) كفاءة المبيدين الفطريين Raxil DS (Tebuconazole) و Vitanis plus WP (Anilide+Dithiocarbamate) في مكافحة مرض التفحم الشائع عن طريق معاملة البذور قبل الزراعة مقارنة بالمبيد الكيمياوي ديفديند(Difenoconazole). زُرعت البذور الملوثة و المعاملة بالمبيدات المستخدمة في الدراسة في خطوط في موقعين بيئيين مختلفين .أظهرت نتائج الدراسة الكفاءة العالية لجميع المبيدات المدروسة في مكافحة المرض من خلال خفض نسب الاصابة مقارنة بمعاملة الشاهد حيث بلغت نسبة الإصابة بالمرض 57% و % 83 في محطتي المطيفية والرشيدية على التوالي .حيث أثبت مبيد ديفيديند كفاءة عالية جدا في مكافحة المرض وتفوق معنويا على بقية المبيدات المختبرة وفي كلا الموقعين من خلال سيطرته التامة على المرض وبنسبة % 100 ، في حين نتج عن استخدام المبيدين الفطريين فيتانيزبلاس و راكسيل مكافحة المرض بنسبة 96.7% و % 98.1 على التوالي في محطة المطيفية وبنسبة 94.6 و 96.1 %على التوالي في محطة الرشيدية والتي تفوقت بدورها معنويا على معاملة الشاهد.

تم استخدام المركب العضوي Dimethyl sulfoxide (DMSO) في المختبر لدراسة تأثيره في تثبيط انتاش الأبواغ التيلية لمرض التفحم المغطى، حيث تم استخدام عدة تراكيز (1, 2.5، 5، 7.5، 10%)، وذلك

بطريقة تسميم وسط الأغار، ثم نشرت الأبواغ على الوسط، وتبين تأثير كبير للتراكيز المرتفعة (5-10%) في تثبيط انتاش الأبواغ التيلية، لا سيما التركيزين 10و7.5% اللذين أحدثا تثبيطاً شبه كامل مقارنة بالشاهد، على عكس التراكيز المنخفضة (1 و2.5%) التي لم تعط تأثيراً في إنتاش الأبواغ التيلية مقارنة بالشاهد. والجدير بالذكر أن المعاملة بالتراكيز المرتفعة أدت إلى نمو غير طبيعي وتفرع للدعامة بالإضافة إلى ندرة تشكل السبوريدات الأولية (Ansari et al., 2015) .

2-6-2 المكافحة بالطرائق الزراعية (الإجراءات الزراعية)

يعتبر التبكير في موعد الزراعة في الخريف حتى النصف الأول من شهر 11 حيث تكون التربة دافئة ورطوبتها منخفضة ملائمة لإنبات بذور القمح والتطور السريع في نمو البادرة، بينما لاتكون هذه الظروف ملائمة لإنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى، وبالتالي هروب النباتات من الإصابة . كما ينصح بتجنب زراعة البذور على عمق كبير في التربة (نفّاع،2009).

كما تفيد الدورة الزراعية في خفض نسبة اللقاح المحمول بالتربة حيث تساعد التربة الرطبة في موسم عدم زراعة القمح على إنتاش الأبواغ التيلية الموجودة التربة بغياب النبات المضيف (Borgen,2001).

2-6-3 زراعة الأصناف المقاومة:

قد يكون تطوير أصناف القمح المقاومة للتفحم المغطى هو الطريقة الأفضل لمكافحة المرض في حال توفر مصادر المقاومة، غير أن تطوير هذه الأصناف يعتبر أمرا صعبا ومكلفا" ولكنه يعود بالنفع مباشرة على المزارع وبخاصة في المزارع الصغيرة في الدول النامية لضمان إنتاج أفضل . حيث ينخفض استخدام معاملات البذار الكيميائية تزداد الحاجة إلى تطوير الأصناف المقاومة. إن العائق الأساسي في تطوير أصناف القمح المقاومة للتفحمات هو نقص المعرفة بالتنوع الجيني للعوامل الممرضة للتفحمات ، يعود السبب في ذلك إلى العمل المجهد والوقت الطويل اللازم لتحديد السلالات والطرز الحيوية لفطريات التفحم (Wilcoxson and Saari,1996).

2-6-4 المكافحة باستخدام مواد عضوية:

من وسائل اختبار بدائل غير كيميائية لمكافحة التفحم المغطى استخدام مواد عضوية، فقد تم استخدام مسحوق الحليب منزوع الدسم والهقط (أحد منتجات الألبان منخفضة الدسم) بتركيز 160 غرام لكل كيلوغرام من البذور، على مدى أربع سنوات ، وحققت المعاملات نسب تثبيط بلغت 96% و 93% على التوالي مقاربة لنتائج المعالجة الكيميائية للبذور (كربوكسين + ثيرام)، وبالتالي توفر هذه العناصر الغذائية بديلاً فعالاً وآمناً للبيئة مقارنة بالمعالجات الكيميائية (El-Naimi *et al.*,2000).

استخدم مسحوق الحليب خالي الدسم أيضا في تجارب أجريت في كلية الزراعة بدمشق وفي حقول ICARDA (المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة) لأكثر من أربع سنوات ، ولوحظ انخفاض معدل الإصابة حتى 94.4 و 99.2% على مدار موسمين متتالين عند معاملة بذور القمح بمسحوق الحليب خالي الدسم. كما استخدم كل من حمض الخل وحمض اللبن (1.22 مول) وخل التفاح في مكافحة المرض وتم تحقيق كفاءة عالية في المكافحة حقلياً بلغت 95.2% و86.6% و99% على التوالي، فقد حافظت على تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية بشكل كلي تقريباً في المختبر. ولم تلاحظ أي تأثيرات سمية نباتية على الإنبات البذري وحيوية البادرة لهذه المركبات باستثناء حمض اللبن الذي أبدى سمية ملحوظة على إنبات البذور وحيوية البادرة. وكما امتاز الهقط بكفاءته العالية في مكافحة المرض التي بلغت 99.3% و94.4% على مدار موسمين متتالين، وتعتبر الظروف البيئية التي تشجع نشاط الجراثيم (البكتيريا) المسؤولة عن تثبيط انتاش الأبواغ التيلية في الحقل هي التي يمكن أن تعزز من فعالية الهقط ضد المرض بافتراض أن هذه المادة تشجع على نشاط البكتريا على سطح البذرة (الصعيدي ، 2004) إلا أن مايعيق استخدام هذه الطريقة هي اكمية الاثلة للمادة اللازمة معالجة البذار (160 غ/1كغ).

قام كل من Borgen and Nielsen بمعاملة البذار المحملة بالأبواغ بحمض الخل تركيز 5%، وتمت المعاملة بمعدل 20 مل/كغ، وتمت التجربة في الظروف الحقلية، لوحظ انخفاض معدل الإصابة للنباتات التي عوملت بذورها قبل الزراعة مقارنة بالشاهد بنسبة 91.5% وحتى 96.2% في الأقماح الربيعية وأكدوا أنه لم تظهر آثار سلبية لحمض الخل في إنبات البذور وسلامة البادرات.

استخدمت أيضاً أبخرة حمض الخل كمطهرات للبذور لمكافحة التفحم المغطى، حيث تم تبخير البذور الحاملة لأبواغ الفطر ببخار حمض الخل بمعدل 2 و4 غ/كغ لمدة 1 ساعة عند 20 س، وأظهرت التجارب أن المعاملة كانت فعالة، ولوحظ أن نسبة تثبيط الإصابة بالتفحم المغطى كانت أعلى عند المعاملة بالتركيز الأكبر، فبلغت 81.4% مقارنة بـ 71.7% للتركيز الأقل من حمض الخل (Sholberg et al., 2006) .

تبين نتائج احدى الدراسات (جحا،2020) أن مصل اللبن حقق نسبة تثبيط عالية لإنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى بلغت عند التركيز 60% لمصل اللبن 91.6% وارتفعت إلى 93.6% عند التركيز 80%، وجاء ماء جفتة الزيتون في المرتبة الثانية في كفاءة التثبيط فبلغت النسبة 82.3% و 86.6% عند التركيزين 80% و 90% على التوالي.

2-6-5 المكافحة الحيوية:

إن استخدام طرائق حيوية لمكافحة الأمراض كبديل للمعاملات الكيميائية للبذور مازالت محدودة (Nielsen and Jorgensen,1994).

في دراسة أجريت في سويسرا (Bonisch *et al*,2014) انتخبت 8عزلات جرثومية (بكتيرية) تابعة للجنس *Pseudomonas sp.* وعزلة تابعة للجنس *Bacillus* وعزلة تابعة للجنس *Streptomyces sp* واختبرت في تثبيط إنتاش أبواغ الفطر *Tilletia tritici* و معرفة تأثيرها على إنبات حبوب القمح و الحد من الإصابة

بمرض التفحم المغطى . بالنسبة لدراسة أثر هذه العزلات في تثبيط إنتاش أبواغ الفطر بلغت نسبة إنتاش الأبواغ في الشاهد 59% بينما بلغت نسبة التثبيط بالنسبة لعزلة من *Pseudomonas chlororaphis* 100% ، أما بالنسبة للعزلات المتبقية من جنس *Pseudomonas sp* فبلغت نسبة التثبيط حوالي 47%، بينما لم تظهر عزلات البكتريا الأخرى تأثيراً معنوياً في تثبيط الإنتاش. بالنسبة لتأثير العزلات البكتيرية على إنبات حبوب القمح فقد أنبتت الحبوب بشكل طبيعي عند معاملتها بالعزلات الجرثومية (البكتيرية) كافة .وبالنسبة لتأثير العزلات الجرثومية (البكتيرية) على الحد من ظهور عوارض المرض على النباتات حقليا أظهرت كافة عزلات جنس *Pseudomonas* تأثيرا معنويا بينما لم تكن لعزلات الأجناس الأخرى أي تأثير يذكر.

ركزت دراسة أخرى (Benada and Pospisil,1999) على اختبار تأثير كائنات حية دقيقة متوفرة على شكل مستحضرات تجارية في مكافحة مرض التفحم المغطى على القمح وهي: (*Pythium oligandrum , Trichoderma harzianum*) .

حيث أظهرت التراكيز المرتفعة من *Pythium oligandrum , Trichoderma harzianum* تأثيراً أعلى في تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية من التراكيز المنخفضة مخبرياً بينما كانت هناك فروق بسيطة بين تأثير التراكيز المرتفعة والمنخفضة بالنسبة للتجربة الحقلية .

كما وُجد أن بعض سلالات *Pseudomonas fluorescens* قادرة على تثبيط انتاش الأبواغ التيلية للنوع *T.laevis* وتقليل الإصابة بنسبة 65% عندما لقحت بذور القمح بهذه السلالات , بينما استخدم النوع *P.chlororaphis* في مكافحة النوع *T.tritici* وطورت هذه السلالة تجاريا واستخدمت كمبيدات حيوية في السويد والنمسا وفنلندا (Matanguihan et al.,2011).

التجربة الدنمركية:

أجريت التجارب الميدانية على مدى ثلاث سنوات في مزرعة تجريبية للجامعة الملكية البيطرية والزراعية ، تقع على بعد 18 كم شرق كوبنهاغن ، الدنمارك (28 متراً فوق مستوى سطح البحر). لم يتم تسجيل مرض التفحم المغطى في المنطقة التجريبية في وقت سابق.

اختبر تأثير العديد من العوامل في مكافحة مرض التفحم المغطى وهي:

السماد السائل ، و مسحوق حليب و مزيج منهما في مكافحة مرض التفحم المغطى, كما عوملت البذور بالمنتج التجاري Mycostop الذي يحتوي على Streptomyces griseoviridis stain K61 (Lahdenperä ,et al 1991) .

اختبر تأثير مسحوق الحليب والبكتريا Pseudomonas chororaphidis MA 342 (Gerhardson، 1997).

اختبر تأثير المنتج التجاري EM (Effective Microorganisms) الذي يحتوي على 80 كائن حي دقيق ، والجزء الرئيسي هو الخميرة وحامض اللاكتيك.

اختبر تأثير "Symbioplex" وهو منتج تجاري يحتوي على $5*10^8$ جرثومة لكل غرام واحد من بكتيريا حمض اللاكتيك *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium bifidus* و *Streptococcus thermophillus*.

تم اختبار سلالة واحدة من *Trichoderma harzianum* . تم استخدام نوعين من السماد. سماد ناتج عن نفايات حديقة تم تخزينها لأكثر من سنة واحدة ؛ وكان السماد الآخر روث الماشية والقش الطازج.

بنتيجة التجربة أمكن استخلاص مايلي:

* أدى استخدام *Pseudomonas* MA 342 إلى انخفاض الإصابة بنسبة 96% ، مقارنة مع الشاهد المعدى.

* أدى استخدام EM إلى انخفاض نسبة الإصابة بنسبة 76.5%. إلا أنها أثرت على حيوية ونسبة إنبات البذور.

* لم تظهر سلالة *Trichoderma harzianum* أي تأثير على منع نموالعامل الممرض.

* لم يظهر المنتج التجاري "Symbioplex" أي تأثير على منع نمو العامل الممرض.

* لم تظهر معاملة البذور بالسماد السائل تأثيرا ملحوظا على منع نمو العامل الممرض.

* استخدام السماد العضوي في التربة أدى إلى زيادة ملحوظة في العدوى.

2-7 لمحة عن الفطر *Serendipita (Piriformospora) indica*

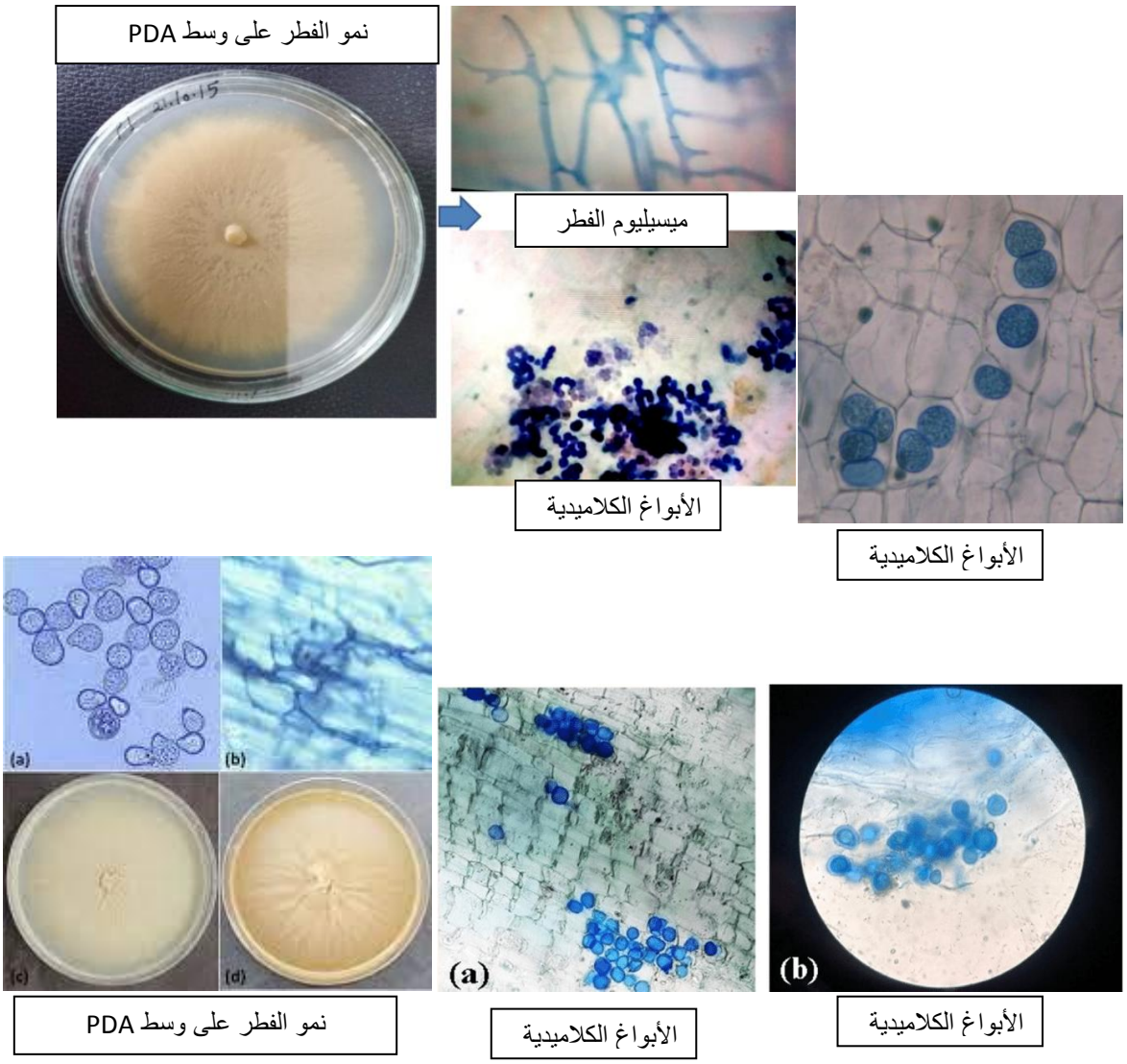
اكتشف الفطر من قبل البروفسور Varma وزملائه في صحراء Thar غرب الهند 1992 من المحيط الجذري لبعض النباتات الصحراوية (Varma et al.,1999;Varma et al.,1998) ويتميز الفطر بقدرته العالية على النمو والتكاثر على بيئات صناعية مختلفة (Kumar et al.,2011).

يُعد الفطر من الفطور المتعايشة على الجذور وتتشكل الأبواغ الكلاميدية داخل أنسجة الجذور وسطحها (Verma et al.,1998)، يعمل الفطر كمنظم نمو ومخصب حيوي إضافة لأنه عامل وقاية حيوي للعوامل الممرضة الحية وغير الحية وذلك لمجموعة واسعة من العوائل النباتية أحادية وثنائية الفلقة (Singh et al.,2003). أثبت العديد من الباحثين أن فطر البيري يمكن أن يشجع على النمو والتغذية المستمرة حتى تحت ظروف الملوحة والجفاف والحرارة العالية (Varma et al.,2012; Hussin et al.,2017).

إن معاملة النباتات بالفطر تؤدي إلى إنتاج بعض منظمات النمو كالجبريلينات والأوكسينات وبشكل خاص حمض الأندول الخلي (IAA) (Johnson et al., 2013). فضلاً عن التأثير الإيجابي للفطر في تحسين الخواص الفيزيائية والكيميائية والحيوية للتربة وتحسين كفاءة امتصاص الماء والعناصر الغذائية خاصة الغير متاحة في التربة مثل P و N الأمر الذي يحسن النمو الخضري للنبات (Pansuriya and Chauhan,2015;Swetha et al.,2016).

يحفز الفطر الجينات المسؤولة عن استقلاب الكربوهيدرات ، إفراز ونقل الأوكسين ، والجينات المسؤولة عن تطور المجموع الجذري بما فيها إفراز الشعيرات الجذرية لأنزيم phosphoinositide phosphatase 4 مما يساهم في تشجيع النمو الخضري وبالتالي يزيد من طول النباتات المعاملة بالفطر (Banhara et al., 2015; Dong,2013)

التصنيف: ينتمي الفطر إلى صف الفطريات البازيدية (Basidiomycota) Hymenomycetes رتبة Sebacinales عائلة Sebacinaceae (Weiss et al.,2004).



شكل(5) نموالفطر Serendipita indica على وسط PDA والأبواغ الكلاميدية للفطر

الفصل الثالث

المواد والطرائق

Materials & Methods

مواقع العمل:

أجريت التجارب المخبرية في مختبرات كلية الزراعة بجامعة دمشق و الهيئة العامة للتقانة الحيوية .

أجريت التجربة الحقلية في حديقة الهيئة العامة للتقانة الحيوية ضمن حرم كلية الزراعة بدمشق.

3-1 جمع عينات التربة:

أخذت 16 عينة تربة من مناطق مختلفة (حقول كلية الزراعة بدمشق/ بساتين أبو جرش ومن حقول حول مدينة جبلة مزروعة سابقا بالقمح وأراضي بور و أراضي حول مدينة حماه مزروعة سابقا بالقمح وبمحاصيل أخرى) خلال العام 2019-2020 وذلك بأخذ مقدار 100 غ تربة من أعماق مختلفة (5-10-15) سم ومن 5 مواقع مختلفة من كل حقل وتم خلط عينات كل حقل معاً ووضعها في أكياس بلاستيك مع معلومات خاصة عن الموقع ثم نقلت إلى المختبر لعزل البكتريا منها.

جدول(3) معلومات عن عينات التربة التي عُزلت البكتريا منها

رقم العينة	المكان	الوصف
1	دمشق	حقل حمضيات – كلية الزراعة
2	دمشق	حقل صنوبر
3	دمشق	أرض غير مزروعة
4	دمشق	حديقة منزلية تزرع خضار
5	دمشق	حقل زيتون
6	جبلة	أرض مزروعة قمح
7	جبلة	أرض غير مزروعة وغير مستخدمة
8	جبلة	غابة صنوبر وسنديان
9	جبلة	أرض مزروعة قمح في الموسم السابق
10	جبلة	حقل حمضيات
11	حماه	أرض تزرع خضار
12	حماه	أرض مزروعة قمح
13	حماه	أشجار جوز
14	حماه	أشجار زيتون
15	حماه	أرض غير مزروعة لسنوات
16	حماه	تربة حول جذور نبات القمح

3-2 عزل البكتريا من التربة:

وُضعت 10 غ من التربة من كل عينة في دورق مخروطي زجاجي يحتوي 100 مل ماء مقطر معقم، ورُجَّ الدورق مدة 5 دقيقة على رجاج كهربائي وتُرك حتى يرقد، أُخذت 50 مل من ماء غسل التربة و وُضعت في حمام مائي (80 درجة سلسيوس) لمدة 30 دقيقة.

ثم أُخذ 1 مل من معلق التربة من كل عينة ووُضع في دورق معقم يحوي 9 مل ماء مقطر معقم ومُددت كل عينة 6 مرات (10/1 ، 10^2/1 ، 10^3/1 ، 10^4/1 ، 10^5/1 ، 10^6/1) حيث أُضيف في كل مرة 1 مل من المعلق البكتيري إلى أنبوب اختبار فيه 9 مل ماء مقطر معقم ورُجَّ جيدا"، ثم نُشر 50 ميكروليتر من التمديد الثالث على طبق بتري يحوي وسط الآغار المغذي Nutrient agar ونُشر على سطح الوسط بطريقة أطباق التخطيط وكُررت العملية بالنسبة للتمديد السادس. نُفذت هذه العملية بالنسبة لمعلق التربة غير المعامل حرارياً ولمعلق التربة المعامل حرارياً.

تم تحضين الأطباق على درجة حرارة 25-27 سلسيوس لمدة 48 ساعة .

أُخذ مستعمرة بكتيرية منفردة من كل نوع من المستعمرات المختلفة بالصات الشكلية (اللون والقطر والشكل) (محدبة – مسطحة – منتظمة – غير منتظمة) وزُرعت في أطباق جديدة للحصول على مزارع متجانسة ونقية، أعطي لكل مزرعة بكتيرية رقماً يدل عليها ثم حفظت في وسط LB.

3-3 تحضير اللقاح الفطري (الأبواغ التيلية للتفحم):

تم الحصول على حبوب قمح مصابة بالتفحم المغطى من الشاهد السلبي لتجربة أصص مزروعة لبحث ماجستير سابق (جحا،2020) واستخدمت في تجارب الموسم الأول 2022 أما بالنسبة للموسم الثاني 2023 فتم الحصول على حبوب القمح المصابة بالتفحم المغطى من الشاهد السلبي للتجربة الحقلية في الموسم الأول, وسحقت هذه الحبوب يدويا بلطف ضمن جفنة خزفية ثم نخلت في غربال صغير لفصل بقايا الحبوب عن أبواغ الفطر. فحصت الأبواغ مجهريا" لتحديد النوع وتبين وجود نوع الفطر *Tilletia tritici* فقط.

3-4 اختبار تأثير البكتريا في إنتاش أبواغ التفحم المغطى مخبرياً:

نُشطت العزلات البكتيرية وذلك بزرع العزلات المحفوظة في وسط LB على وسط الآغار المغذي NA وحُضنت في وسط المرق المغذي ضمن أنابيب ابندورف لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 25 س، ثم ثُفل المعلق البكتيري على سرعة (4000 دورة في الدقيقة لمدة ربع ساعة) لمدة ربع ساعة ، ونُشرت الرشاحة البكتيرية على سطح وسط آغار الماء ضمن أطباق بتري(9سم) وتركت مفتوحة لمدة 5 دقائق ضمن غرفة العزل حتى تجف ، ثم نثر 1 مغ من الأبواغ التيلية للتفحم المغطى على السطح، حُضنت الأطباق على درجة

حرارة 11 درجة سلسيوس (وهي درجة ملائمة لإنتاش أبواغ الفطر) لمدة عشرة أيام. كُررت هذه التجربة بثلاث مكررات لكل معاملة بكتيرية.

أُخذت النتائج بفحص الأطباق تحت المجهر بعدسة جرمية تكبيرها 10 X وذلك بأخذ 5 حقول مجهرية من كل مكرر من كل معاملة على شكل مربع بمساحة 1سم^2 ثم تم حساب متوسط عدد الأبواغ المنتشة (اعتبر البوغ منتش عند تشكل دعامة طولها مساو لقطر البوغ أو أكثر).

حُسبت النسبة المئوية لتثبيط إنتاش الأبواغ وفق Bedawy وزملائه (2017) حسب المعادلة التالية:

((نسبة الإنتاش في الشاهد – نسبة الإنتاش في المعاملة) /نسبة الإنتاش في الشاهد) X 100

3-5 اختبار تأثير البكتريا على إنبات حبوب القمح في المختبر:

استخدمت العزلات البكتيرية التي أظهرت أثرا في تثبيط إنتاش أبواغ التفحم المغطى مخبريا ، في إنبات حبوب القمح صنف شام 3 حيث نُميت العزلات البكتيرية ضمن وسط المرق المغذي Nutrient Broth وحُضنت لمدة 48 ساعة ، عُقمت حبوب القمح سطحيا" بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم 2% بتغطيسها لمدة دقيقتين ثم غسلها 3 مرات بالماء المقطر المعقم للتخلص من آثار الكلور وتجفيفها هوائيا" على ورق ترشيح معقم داخل حجرة العزل ، ثم غُطست بالمعلق البكتيري لمدة دقيقة ثم نشرت لتجف على ورق ترشيح معقم ضمن غرفة العزل ووزعت في أطباق بتري على وسط آغار الماء .

نُفذت التجربة بواقع 4 مكررات (أطباق) لكل معاملة ، 25 بذرة للطبق الواحد.

حُضنت الأطباق على درجة حرارة 20 درجة سلسيوس لمدة أسبوع ثم أخذت نتيجة نسبة إنبات البذور%.

مواصفات الصنف شام 3 حسب دليل أصناف القمح في سورية : صنف من القمح القاسي، مقاوم للجفاف، اعتمد للزراعة البعلية في منطقة الاستقرار الثانية، متوسط المقاومة لأمراض الصدأ، يبدي ثباتي و إنتاجية عالية عند زراعته في بيئات مختلفة، متحمل لنقص البورون، حبوبه متوسطة الحجم وذات نوعية جيدة لذا يستخدم ضمن برامج التربية في تحسين النوعية.

جدول(4) مواصفات صنف القمح شام 3

الإنتاجية		1.946 طن.هكتار$^{-1}$	
الإسبال	126 يوم	نضج تام	164 يوم
طول النبات (سم)	61	الرقاد(الضجعان)	مقاوم
لون السنبلة	قشدي	لون السفا	قشدي
شكل السنبلة	هرمي	طول السنبلة (سم)	7-8
زغب السنبلة	غائب	الانفراط	مقاوم
لون الحبوب	عنبري	شكل الحبوب	بيضوي

3-6 اختبار تأثير البكتريا في إصابة النبات بمرض التفحم المغطى حقليا:

الموسم الأول 2021-2022

تضمّن هذا الموسم 18 معاملة هي: معاملة الشاهد السليم, معاملة الشاهد المعدى بالأبواغ التيلية للتفحم المغطى, معاملة المبيد (فيتافلو), معاملة السماد العضوي ألغا (طحالب بحرية), معاملات العزلات البكتيرية الأربعة عشر التي أبدت فعالية في تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبريا".

معاملة البذور بأبواغ الفطر و العزلات البكتيرية:

نُشطت العزلات البكتيرية ضمن أطباق بتري ثم نُميت في أنابيب ضمن وسط المرق المغذي السائل Nutrient Broth وحُضنت لمدة 48 ساعة .

عوملت بذور القمح بأبواغ التفحم والبكتريا كالتالي:

عولجت بذور القمح بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 2% إذ غُطست البذور لمدة دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم 3 مرات وتركت لتجف سطحياً.

أُخذ وزن 250 غرام من بذور القمح ووضعت ضمن كيس بلاستيكي، أضيف 15مل ماء مقطر للكيس بهدف ترطيب سطح البذور وتسهيل التصاق أبواغ فطر التفحم المغطى عليها، ثم وزن 0.5 غ من أبواغ التفحم وأضيفت إلى البذور ضمن الكيس مع التحريك بشكل جيد لضمان توزع الأبواغ على كامل سطح البذور(أي عوملت بذور القمح بمعدل 2غ من الأبواغ لكل كغ قمح)، قُسمت البذور إلى 4 غرام لكل معاملة ووضعت ضمن أطباق بتري حيث تمت معاملتها بالبكتريا والتي بلغ تركيزها 10^{10} وذلك بإضافة 2 مل من المعلق البكتيري إلى حبوب القمح ضمن أطباق بتري والتحريك بشكل جيد ، وتركت لتجف إلى اليوم التالي.

استخدمت في التجربة الحقلية بذور القمح القاسي صنف شام 3 تم الحصول عليها من الهيئة العامة للبحوث الزراعية . تضمنت التجربة 18 معاملة بواقع 3 مكررات لكل معاملة وتألف المكرر الواحد من خط بطول 1م زرعت فيه1.5غ بذور نثراً على طول الخط.

في الشاهد المعامل كيميائيا استخدم مبيد فيتافلو Vitaflo (Carboxin 15% + Thiram 13%) من مجموعتي Dithiocabamate + Anilide حيث حُضر محلول من المبيد بتركيز 0.1% وعوملت فيه البذور .

زُرعت التجربة في مزرعة كلية الزراعة بدمشق بتاريخ 2022/1/13 وفق تصميم القطع تامة العشوائية CRBD . أُخّر موعد الزرعة إلى منتصف كانون الأول لزيادة احتمال حدوث الإصابة نظراً لأن الأبواغ التيلية للتفحم المغطى تناسبها درجات حرارة منخفضة في التربة للإنتاش (حوالي 11درجة مئوية) .

تمت عملية الري سطحياً بمعدل 2 لتر للخط عند الحاجة كما سُمدت التجربة لمرة واحدة بعد شهر من إنبات البذور(بدء الإنبات 15 شباط- التسميد 15آذار).

حُصدت السنابل خلال يومين بتاريخ 1 و 2 من شهر حزيران وأُخذت النتائج في نفس الشهر من العام المذكور حيث تم حساب النسبة المئوية للسنابل المصابة في كل قطعة تجريبية وحُسبت كفاءة المعاملات في تثبيط الإصابة كما يلي:

النسبة المئوية السنابل المصابة = (عدد السنابل المصابة / العدد الكلي للسنابل) X 100

الكفاءة % = نسبة الإصابة في الشاهد المعدى – نسبة الإصابة في المعاملة / نسبة الإصابة في الشاهد المعدى *100

بلغت مساحة الأرض حوالي 50 m^2 ، قُسمت إلى (18) خط وتركت مسافة 1م كممر بين المكررات الثلاث ، وتركت مسافة فاصلة بين الخطوط حوالي 30 سم.

أجريت عمليات خدمة الأرض من تعشيب وري عند الحاجة بالإضافة إلى التسميد باليوريا بعد شهر من الإنبات.

الموسم الثاني 2022-2023

تضمنت التجربة الحقلية للمرسم الثاني 19معاملة وهي : معاملات العزلات البكتيرية الستة التي أعطت أعلى كفاءة في مكافحة المرض بين العزات ل14 المستخدمة في التجربة الحقلية للموسم الأول و وهي العزلات المسماة B3/B4/B6/B10/B11/B13, معاملة المبيد سبيرو (المادة الفعالة ديفنوكونازول 30غ/ل) بمعدل استخدام 1مل/1كغ بذور قمح (استخدم 0.01 مل/10غ بذور) , معاملة مصل اللبن, معاملات حيوية مصدرها (مهنا,أحمد, بحث قيد التنفيذ) وهي معاملة الفطر *Serendipita (Piriformospora) indica*, معاملة البكتريا *Bacillus subtilis*، معاملة البكتريا *Pseudomonas chlororaphis MA*, معاملة (Benzothiadiazole) BTH, بالإضافة لثلاث معاملات بكتيرية W1,W2,W3 مصدرها (البلخي,وسيم,بحث دكتوراه قيد التنفيذ), ومعاملة الشاهد السليم والشاهد المُعدى بالأبواغ التيلية للتفحم.

استخدم مصل اللبن السائل المتبقي بعد تصفية اللبن الرائب لإنتاج اللبنة.

عوملت بذور القمح بأبواغ التفحم وبالعزلات البكتيرية بالطريقة ذاتها التي تم ذكرها في الموسم الأول باستثناء المعاملات الحيوية (معاملة الفطر *Serendipita (Piriformospora) indica*, معاملة البكتريا *Bacillus subtilis*، معاملة البكتريا *Pseudomonas chlororaphis MA*, معاملة BTH (Benzothiadiazole)) حيث تم نقع بذور القمح في معلق هذه المعاملات لمدة 24 ساعة ثم عوملت بالأبواغ التيلية للتفحم المغطى بنفس المعدل 2غ أبواغ / كغ بذور قمح.

زرعت التجربة في مزرعة كلية الزراعة بدمشق بتاريخ 2023/1/26 وفق تصميم القطع تامة العشوائية, حُصدت السنابل خلال يومين بتاريخ 25 و 26 من شهر حزيران 2023 وأخذت النتائج

حيث تم حساب النسبة المئوية للسنابل المصابة في كل قطع تجريبية وحُسبت كفاءة المعاملات في تثبيط الإصابة بنفس الطريقة المذكورة سابقا".

بلغت مساحة أرض التجربة 60 m^2, قُسمت إلى 19 خط وتركت مسافة 1 متر كممر بين المكررات الأربعة وتركت مسافة فاصلة بين الخطوط حوالي 30سم.

أجريت عمليات خدمة الأرض من تعشيب وري عند الحاجة بالإضافة إلى التسميد باليوريا 2023/3/22.

3-7 تعريف وتصنيف بعض العزلات البكتيرية التي أظهرت تأثيرا في مكافحة التفحم المغطى على القمح:

عُرفت وصُنفت 6 عزلات بكتيرية وفق عدة اختبارات للوصول إلى الجنس البكتيري حسب BERGY'S MANUEL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY (Ninth Edition , 1994)

3-7-1 إختبار صبغة غرام حسب طريقة RYV (Suslow et al ., 1982) :

أخذت مستعمرة بكتيرية فتية بعمر 24 ساعة من كل عزلة , ووضعت على شريحة زجاجية تحوي على قطرة من محلول من ماءات البوتاسيوم (KOH) بتركيز 3% , حُركت المستعمرة البكتيرية في هذا المحلول بواسطة إبرة الزرع فإذا شوهد أثناء التحريك خيط مخاطي تكون البكتريا سالبة غرام وإذا انفصلت الكتلة البكتيرية بسهولة بدون تكوين خيوط لزجة فهذا يشير إلى أن البكتيريا موجبة غرام .

3-7-2 اختبار متطلبات البكتيريا من الأوكسجين الحر (Hugh and Leifson, 1953) :

حضر الوسط المغذي على الشكل التالي : يوضع 1 ليتر من الماء المقطر في دورق زجاجي ويضاف اليه (بيبتون 2غ +NaCl 5غ + أزرق البروموثيمول 0,003 غ + فوسفات ثنائي البوتاسيوم K2HPo4 +0,3 غ + غلوكوز 10 غ + آغار 3 غ) . وتضبط درجة الحموضة للوسط 7.1 ليصبح لونه أزرقاً مخضراً . سخن الدورق على حمام مائي حتى ذوبان المكونات ثم وزع المحلول على أنابيب زجاجية ووضع في كل انبوب 5مل وعقمت على درجة حرارة 121 س° , لمدة 20 دقيقة . أخذ من كل عزلة من العزلات الـ 9 انبوبان ولقح كل أنبوب بخزعة من العزلة البكتيرية من مزرعة حديثة نشيطة (24) ساعة مزروعة على وسط غذائي YPGA وأضيف لأحد الأنبوبين طبقة من زيت البارافين المعقم بسماكة (1,5سم) بعد تلقيحه بالبكتيريا مباشرة لعزل البكتيريا عن

الأوكسجين الحر وحضنت الأنابيب على درجة حرارة 23-25س° لمدة 8 أيام . وبعد انتهاء فترة التحضين أخذت القراءات كالتالي:

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

2 - إذا تغير لون الوسط المغذي في الأنبوب الحاوي على البارافين دون الآخر إلى اللون الأصفر فهذا يعني أن البكتيريا لاهوائية .

3 - إذا لم يتغير لون الوسط في كلا الأنبوبين فهذا يعني أن البكتيريا قلوية غير نشطة .

3-7-3 اختبار مقدرة البكتيريا على تشكيل الأبواغ الداخلية Endospores (Philipp et al., 1981):

يعد تشكل الابواغ البكتيرية الداخلية (Endospores) شكلا من أشكال الدفاع التي تمكن البكتريا من خلالها المحافظة على حياتها في الظروف غير المناسبة لنموها , وللتأكد من إن البكتريا تشكل أبواغاً داخلية اتبعت الخطوات التالية :

1) حضر معلق بكتيري من مزرعة بكتيرية قديمة بعمر خمسة أيام لكل عزلة بكتيرية من العزلات المراد تعريفها .
2) وضع المعلق البكتيري لكل عزلة في أنبوب زجاجي معقم حراريا .
3) وضعت الأنابيب في حمام مائي درجة حرارته 80 س° لمدة 15 دقيقة .
4) أخذ من كل أنبوب قطرة ووزعت على سطح وسط مغذي (YPGA) في طبق بتري وحضنت الأطباق على درجة حرارة 25 س° لمدة 48 ساعة وكررت 3 مرات.
5) إذا نمت مستعمرات بكتيرية فهذا يدل على أن العزلة البكتيرية استطاعت أن تقاوم درجة الحرارة المرتفعة وشكلت أبواغاً داخلية (Endospores) , وإذا لم يشاهد نمو للمستعمرات البكتيرية فهذا يدل على أن العزلة البكتيرية غير مكونه للأبواغ الداخلية .

3-7-4 صبغ البكتيريا بصبغة غرام (Bradbury,1970) :

فحصت العزلات البكتيرية تحت المجهر الضوئي لتحديد شكل ومواصفات الخلية البكتيرية لكل عزلة بعد صبغها بصبغة غرام . حضر معلق بكتيري من مزرعة بكتيرية فتية من عزلة بكتيرية مع الماء المقطر المعقم , وضعت قطرة من هذا المعلق على شريحة زجاجية ممسوحة بالكحول ونشرت على شكل لطخة ثم تركت لتجف , وبعد 10 دقائق ثبتت البكتيريا بتمرير أسفل الشريحة بسرعة فوق اللهب عدة مرات غطيت الشريحة بمحلول مائي من صبغة الكريستال البنفسجي بتركيز 0,5 % لمدة 30 ثانية , أزيلت الصبغة ثم غسلت بمحلول الايودين 1%

في محلول مائي من يوديد البوتاسيوم KI 2% بعد 30 ثانية غسلت الشريحة بالايثانول حتى توقف جريان اللون, ثم غسلت بالماء وتركت لتجف. صبغت الشريحة بمحلول مائي لصبغة أحمر الفوكسين بتركيز 0.5% لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بالماء وتركت لتجف ,ثم أضيفت عليها قطرة من زيت الأرز وفحصت تحت العدسة الشيئية الغاطسة X100.

3-7-5 اختبار مقدرة البكتيريا على انتاج الصبغات الوميضية Fluorescent pigments (King et al ., 1954)

تتميز بعض أنواع البكتيريا من جنس Pseudomonas بمقدرتها على إنتاج صبغات وميضية إذا نمت على الوسط المغذي King B وهذه الصبغات لا تنحل في الكلوروفورم ولكن تنحل في الماء , وتبدو وميضية اذا ما عرضّت إلى الأشعة فوق البنفسجية . زرعت كل من العزلات البكتيرية المراد تعريفها بشكل ثلاث خطوط طولية على الوسط المغذي King B في طبق بتري ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 25س° لمدة 72 ساعة , ثم اختبرت الأطباق بتعريضها إلى الأشعة فوق البنفسجية بطول موجة 365 نانومتر (nm) للتحقق من إنتاج العزلة البكتيرية للصبغة الوميضية التي تعطي البكتيريا لوناً أصفراً مخضراً , مقارنةً مع الشاهد(طبق من نفس الوسط غير مزروع بالبكتيريا) .

3-7-6 التحقق من احتواء البكتريا على إنزيم السيتوكروم أوكسيداز Cytochrome oxydase (Leboffe and Pierce,2011):

يتم تحضير محلول 1% من مركب Chlorhydrate aionmine أو OxalateN,N,dimethylparaphenylen.

طريقة العمل: توضع قطرة من المشعر على ورقة ترشيح Watman Ns موضوعة في طبق بتري. في الوقت نفسه يمزج مع القطرة جزء من مزرعة بكتيرية حديثة مأخوذة بوساطة إبرة زرع مصنوعة من البلاتين، إن ظهور لون أحمر خلال 10 ثواني يدل على أن البكتريا موجبة لهذا الاختبار وتحوي على إنزيم السيتوكروم أوكسيداز.

3-7-7 اختبار فرط الحساسية على التبغ Hypersensitivity on tobacco:

يُجرى هذا الاختبار للتأكد من كون البكتريا المعزولة ممرضة للنبات. ويتم ذلك بحقن معلق من البكتريا المراد اختبارها (10^9 خلية بكتيرية/ميليلتر) بوساطة مِحقن Seringue. يتم الحقن في العصب الأساسي للورقة أو أحد الأعصاب الثانوية، يسمح هذا الحقن بترشيح المعلق البكتيري ضمن نسيج الورقة الذي يجب أن تكون مساحة الجزء المحقون لاتقل عن 1-2 سم. بعد 24 ساعة من الحقن يتم فحص النسيج إذ يُلاحظ موت وذبول

النسيج النباتي الذي لامس البكتريا عندما تكون البكتريا ممرضة للنبات أما في حال بقي النسيج النباتي سليماً فهذا يدل على أن البكتريا غر ممرضة للنبات.

3-7-8 تحلل الجيلاتين Gelatin hydrolysis (Leboffe and Pierce,2011):

مبدأ الاختبار: الجيلاتين هو بروتين ذو وزن جزيئي مرتفع، يأخذ الشكل الصلب على درجة حرارة أقل من 25 درجة سليسيوس. يؤدي تحلل الجيلاتين بوساطة أنزيم الجيلاتيناز gelatinase الذي تفرزه بعض أنواع البكتريا إلى تحلل البروتين مما يحدث تغيراً في صفاته الفيزيائية (كعدم تحوله إلى الشكل الصلب على درجات حرارة منخفضة – عدم تكون رواسب معتمة بوجود ثنائي كلور الزئبق).

يتكون الوسط اللازم للاختبار من (مستخلص الخميرة 3غ/ليتر – بيبتون 5غ/ليتر – جيلاتين 120غ/ليتر)، بعد انحلال المواد يوزع الوسط ضمن أنابيب وتعقم ،تزرع الأنابيب ببكتريا حديثة النمو بوخز الوسط من منتصفه بإبرة الزرع. تحضن الأنابيب على درجة حرارة ملائمة لمدة تصل إلى 15 يوم توضع بعدها على درجة 6 درجة سيلسيوس لمدة 10 دقائق لكي يأخذ الجيلاتين الشكل الصلب وبعد إخراج الأنابيب من البراد نلاحظ حالتين :

- الجيلاتين في حالة سائلة دليل إفراز البكتريا لانزيم الجيلاتيناز.
- الجيلاتين في حالة صلبة دليل عدم إفراز البكتريا لانزيم الجيلاتيناز.

3-7-9 تحلل النشا Starch Hydrolysis (Leboffe and Pierce,2011):

يتألف النشا من عديدات الغلوكوز Polyglucose غير المنحل، وهو يتركب من الأميلوز Amylose (سلسلة من جزيئات الغلوكوز المرتبطة مع بعضها عند $\alpha\gamma 1/4$ والأميلوبكتين Amylopectine (سلسلة متفرعة من جزيئات الغلوكوز التي ترتبط مع بعضها في $\alpha 1/6$) يهاجم أنزيم الأميلاز amylase α الرابطة $\alpha\gamma 1/4$ في مكان دون أن يؤثر في الرابطة $\alpha 1/6$ فنحصل بذلك على مزيج من الدكسترين dextrines والمالتوز Maltose و Maltotriose.

يتكون الوسط اللازم للاختبار من (مستخلص الخميرة 5غ/ل– بيبتون 5 غ/ل – نشا قابل للانحلال20 غ/ل – آغار 15 غ/ل) بعد انحلال المواد يُعقم الوسط على درجة 120 سلسيوس لمدة 20 دقيقة ثم تصب في أطباق بتري. تجفف الأطباق قبل استخدامها ثم تزرع البكتريا الحديثة النمو على سطح الأطباق بشكل لطع أو خطوط صغيرة (أربع لطع أو خطوط في كل طبق) ثم تحضن الأطباق على درجة حرارة مناسبة للحصول على نمو جيد للبكتريا بعد ذلك يضاف للأطباق ماء اليود اليودي (الليغول) الذي يلون النشاء باللون البني ويترك هالة غير

ملونة حول البكتريا التي تحلل النشا. يمكن الاستعاضة عن الليغول بالكحول 95% الذي يعمل على تعتيم الوسط عدا المنطقة التي تحلل فيها النشا.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

4-1 عزل البكتريا من التربة:

حصلنا على 150 عزلة بكتيرية نقية من 16 عينة تربة واختبر تأثيرها في تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبريا .

4-2 اختبار تأثير العزلات البكتيرية المحلية في تثبيط إنتاش أبواغ التفحم المغطى:

أظهرت 14 عزلة بكتيرية من أصل 150 عزلة تأثيرا في تثبيط إنتاش أبواغ التفحم المغطى على القمح مخبريا ضمن أطباق بتري على وسط آغار الماء وهي العزلات المسماة بالرموز التالية:
B1/B2/B3/B4/B5/B6/B7/B8/B9/B10/B11/B12/B13/B14 والتي استخدمت في التجربة الحقلية.

رُمّزت العزلات بوضع رقم عينة التربة حسب مصدرها كما هو مبين في الجدول(3) ثم الرمز A الذي يشير إل معلق التربة الطبيعي أو B الذي يشير إلى معلق التربة المعامل حرارياً ثم رقم أو رمز المستعمرة البكتيرية المعزولة من هذه العينة.

ولسهولة الترميز استخدمت الرموز المبينة أدناه مرتبة من الرقم 1 إلى الرقم 14.

12A10	7B1	1A1	6BC	6Ba	3A4	6B2	10Ae	6Bi	3Ba	12Af	10A3	4A5	6Bg
B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14

جدول(5) تأثير العزلات البكتيرية في إنتاش أبواغ التفحم المغطى مخبرياً،متوسط نسبة إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى (%)

المعاملة	متوسط نسبة إنتاش الأبواغ %	متوسط نسبة **تثبيط** إنتاش الأبواغ %
شاهد	60^{a}	
B1	20^{b}	66.6
B2	18^{b}	70
B3	15^{b}	75
B4	16^{b}	73.3
B5	19^{b}	68.3
B6	18^{b}	70
B7	19^{b}	68.3
B8	19^{b}	68.3
B9	20^{b}	65
B10	15^{b}	75
B11	16^{b}	73.3
B12	21^{b}	63
B13	16^{b}	73.3
B14	22^{b}	63.3

جدول(6) تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبريا"

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
r	1	787	786.9	7.512	0.00889 **	
Residuals	43	4504	104.7			
Signif. codes:	0	'***' 0.001	'**' 0.01	'*' 0.05	'.' 0.1	' ' 1

LSD=16.8

جدول(7) تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبريا"

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
r	1	10.7	10.74	0.359	0.552
Residuals	43	1287.0	29.93		

حُللت كافة النتائج باستخدام برنامج GenStat

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (5) مايلي:

1- بلغت النسبة المئوية لإنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى على وسط آغار الماء 60% في حين بلغت في نتائج دراسات سابقة 40.1% (Benada,Pospisil,1999).

2- تبين لدينا من خلال تحليل التباين الأحادي one way anova وجود فرق معنوي بين الشاهد وباقي المعاملات بينما لايوجد فروق معنوية فيما بين هذه المعاملات.

3- أحدثت المعاملات البكتيرية خفضا معنويا في النسبة المئوية لإنتاش الأبواغ حيث وصلت نسبة الإنتاش 15% إلى 20% مقارنة بالشاهد 60% وتراوحت النسبة المئوية لتثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم الغطى مخبريا بين 63%و 75% .

4- تبين من خلال إجراء تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة تثبيط إنتاش الأبواغ مخبريا" عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات وبالتالي لايمكن إجراء اختبار المقارنات الزوجية.

5- أحدثت العزلات البكتيرية B3 و B10 خفضاً معنويا في النسبة المئوية للأبواغ المنتشة (15%) مقارنة بالشاهد 60% وهذا ماتوافق مع أثر الفطر Pythium oligandrum والفطر Trichoderma harzianum (Benada,Pospisil,1999).

4-3 اختبار تأثير العزلات البكتيرية في مكافحة التفحم المغطى حقليا:

الموسم الأول 2022

جدول(8) نسبة السنابل المصابة بالتفحم المغطى (%) إلى عدد السنابل الكلي وكفاءة معاملة بذور القمح ب 14 عزلة بكتيرية بالمقارنة مع الشاهد غير المعدى(أ)

المعاملة	نسبة السنابل المصابة%	الكفاءة %
أ (شاهد غير معدى وغير معامل)	$^{e}0$	
د(شاهد معامل سماد عضوي ألغا (طحالب بحرية))	$^{de}20.32$	61.7^{cde}
العزلة البكتيرية B3	$^{cd}34.86$	59.2^{cde}
ج (شاهد معامل بالمبيد الكيميائي فيتافلو)	$^{cd}35$	58.9^{cde}
العزلة البكتيرية B10	$^{cd}35.36$	58.6^{cde}
العزلة البكتيرية B13	$^{cd}36.63$	57^{cd}
العزلة البكتيرية B11	$^{cd}36.83$	56.8^{cd}
العزلة البكتيرية B4	$^{cd}37$	56.5^{cd}
العزلة البكتيرية B6	$^{bcd}40.26$	52.7^{cd}
العزلة البكتيرية B2	$^{bcd}40.5$	52.5^{cd}
العزلة البكتيرية B7	$^{bcd}41.2$	51.6^{cd}
العزلة البكتيرية B8	$^{bcd}43.8$	48.6^{c}
العزلة البكتيرية B5	$^{bcd}46.76$	45.2^{c}
العزلة البكتيرية B1	$^{bcd}52.63$	38.3^{c}
العزلة البكتيرية B9	$^{abc}57.8$	53.3^{cd}
العزلة البكتيرية B12	$^{abc}65$	23.7^{b}
العزلة البكتيرية B14	$^{ab}70$	17.6^{b}
ب(شاهد معدى بأبواغ التفحم)	$^{a}85.23$	0^{a}

تشير الأحرف المشتركة بين نسب الإصابة إلى عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات

جدول(9) تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة الإصابة % حقليا" للموسم الثاني

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F	
r	18	24725	1373.6	92.89	<2e-16 ***	
Residuals	57	843	14.8			
Signif. codes:	0	'***' 0.001	'**' 0.01	'*' 0.05	'.' 0.1	' ' 1

يبين الجدول وجود فروق معنوية في متوسط نسبة الإصابة بين المعاملات وبالتالي يمكن إجراء اختبار المقارنات الزوجية.

Critical Value of t: 2.002465 / least Significant Difference: 5.444839

أظهرت النتائج المبينة في الجدول(8) أن:

1- معاملة الشاهد غير المعدى (أ) لم تظهر فيها أية سنبلة مصابة مما يشير إلى عدم وجود تلوث بأبواغ التفحم في تربة التجربة.

2- نسبة السنابل المصابة للشاهد المعدى بالأبواغ التيلية بلغت 85.23% وهذا يتجاوز نسبة الإصابة في بحث سابق (جحا،2020) والتي بلغت على الشاهد المعدى من صنف شام3 (78%) وهي نسبة مرتفعة جدا".

3- أحدثت باقي المعاملات خفضا معنويا في النسبة المئوية للسنابل المصابة مقارنة مع الشاهد.

4- تبين النتائج عدم وجود فروق معنوية بين أثر العزلة البكتيرية B3 ومعاملة المبيد حيث بلغت نسبة السنابل المصابة 34.86% و35%على التوالي وتقاربت كفاءة هذه العزلة (59.2%) مع كفاءة المبيد (58.9%) في مكافحة المرض.

5- كانت كفاءة المبيد الكيميائي منخفضة نسبيا مقارنة مع دراسات سابقة حيث بلغت لنفس المبيد في تجربة سابقة بالعراق 96.7% و 94.6% (المعروف،2011) وقد يعود السبب إلى اختلاف نسبة المادة الفعالة للمبيدات المستخدمة (كربوكسين 37% + ثيرام 37%) في تجربة العراق بينما كانت نسبتها في مبيد التجربة

الحالية منخفضة (كربوكسين 15% + ثيرام 13%) كما لايستبعد احتمال اكتساب الفطر الممرض صفة المقاومة لفعل المبيد بسبب الاستخدام المتكرر لمبيدات نفس المجموعة (Dithiocabamate + Anilide) لفترة طويلة كما حدث في كل من استراليا واليونان (Weise,1987)،أو لاختلاف الظروف البيئية بين التجربتين .

6- أحدثت عدة معاملات خفضا معنويا في النسبة المئوية للسنابل المتفحمة مقارنة مع الشاهد المعدى ، إذ تراوحت نسبة الإصابة في معاملات العزلات البكتيرية بين 34.8% و 70%.

7- تقاربت عدة عزلات بكتيرية (B3\B10\B13\B11\B4) في تأثيرها المثبط للمرض بنسب إصابة تراوحت بين 34.86 % و 37.0% ، وكذلك العزلات (B6\B2\B7\B8\B5\B1) بنسب إصابة تراوحت بين 40.26% و 52.63% ، بينما لم تظهر العزلات المتبقية (B9\B12\B14) أثرا معنويا في خفض نسبة إصابة السنابل مقارنة مع الشاهد المعدى مما أدى إلى استبعادها من التجارب اللاحقة.

4-4 مقارنة تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط المرض مخبرياً و حقلياً:

جدول(10) تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط مرض التفحم المغطى على القمح في المخبر والحقل

المعاملة	متوسط نسبة إنتاش الأبواغ % (في المخبر)	النسبة المئوية للسنابل المصابة (في الحقل)
شاهد غير معامل	60^{abc}	85.2^{a}
B1	20^{ef}	52.6^{bcd}
B2	18^{ef}	40.5^{bcdef}
B3	15^{f}	34.9^{cdef}
B4	16^{ef}	37.0^{cdef}
B5	19^{ef}	46.8^{bcde}
B6	18^{ef}	40.3^{cdef}
B7	19^{ef}	41.2^{bcdef}
B8	19^{ef}	43.8^{bcdef}
B9	20^{ef}	57.8^{abc}
B10	15^{f}	35.4^{cdef}
B11	16^{ef}	36.4^{cdef}
B12	21^{def}	65.0^{abc}
B13	16^{ef}	36.6^{cdef}
B14	22^{def}	70.0^{ab}

تشير الأحرف المشتركة إلى عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات

يبين الجدول (10) مايلي:

1- العزلات البكتيريةB3\B4\B6\B10\B11\B13 كان لها تأثيراً معنوياً في خفض الإصابة بالمرض مخبرياً وحقلياً.

2- اختلف تأثير العزلات البكتيرية B12\ B14\B9\B1 في تثبيط المرض بين المخبر والحقل وقد يعود ذلك إلى عدة أسباب منها :

- تأثر البكتريا بملوحة التربة.

- تأثر البكتريا بدرجة PH التربة.
- وجود بكتريا منافسة للبكتريا المستخدمة منعت نموها ونشاطها بالشكل الذي يؤثر على الأبواغ التيلية للفطر الممرض.
- وجود ملوثات أو بقايا لمبيدات كيميائية.

4-5 اختبار تأثير العزلات البكتيرية في مكافحة التفحم المغطى حقليا:

الموسم الثاني 2023

جدول(11) نسبة السنابل المصابة بالتفحم المغطى (%) إلى عدد السنابل الكلي وكفاءة معاملة بذور القمح ب 6 عزلات بكتيرية مختبرة للموسم الثاني مع بعض المعاملات الإضافية بالمقارنة مع الشاهد غير المعدى(1)

المعاملة	متوسط نسبة الاصابة في الموسم الثاني %	الكفاءة %
1(شاهد سليم)	0^{h}	
2(شاهد مُعدى بأبواغ التفحم)	79.5^{a}	
3 (مبيد ديفنوكونازول 0.1%)	0^{h}	100^{a}
4(مصل اللبن)	23.5^{e}	70.4^{d}
5(العزلة B3)	34.5^{bcd}	56.6^{efg}
6(العزلة B4)	35.7^{bc}	55.0^{fg}
7(العزلة B6)	34.8^{bcd}	56.3^{efg}
8(العزلة B10)	32.3^{cd}	59.4^{ef}
9(العزلة B11)	33.0^{bcd}	58.4^{efg}
10(العزلة B13)	33.8^{bcd}	57.5^{efg}
11(*Serendipita (Piriformospora) indica*)	29.8^{d}	62.6^{e}
12(*Pseudomonas MA*)	7.8^{fg}	90.0^{bc}
13(*Bacillus subtilis*)	4.2^{gh}	94.6^{ab}
14(*P.MA+B.subtilis*)	21.0^{e}	73.5^{d}
15(BTH)	6.7^{fg}	91.5^{bc}
16(*Piri+B.subtilis*+BTH)	11.7^{f}	85.3^{c}
17(العزلة W1)	29.9^{d}	62.4^{e}

18(العزلة W2)	24.0^{e}	69.7^{d}
19(العزلة W3)	38.0^{b}	52.2^{g}

تشير الأحرف المشتركة في أرقام العمود الواحد إلى عدم وجود فرق معنوي

جدول(12) تحليل التباين الأحادي one way anova لمتوسط نسبة الإصابة حقليا" للموسم الثاني

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F	
r	18	24725	1373.6	92.89	<2e-16 ***	
Residuals	57	843	14.8			
Signif. codes:	0	'***' 0.001	'**' 0.01	'*' 0.05	'.' 0.1	' ' 1

Critical Value of t: 2.002465 / least Significant Difference: 5.444839

يظهر الجدول وجود فروق معنوية بين المعاملات وبالتالي أمكن إجراء اختبار المقارنات الزوجية .

جدول (13) تحليل one way anova لكفاءة المعاملات حقليا" للموسم الثاني

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
t	16	16159	1010.0	41.22	<2e-16 ***	
Residuals	51	1250	24.5			
Signif. codes:	0	'***' 0.001	'**' 0.01	'*' 0.05	'.' 0.1	' ' 1

يظهر الجدول وجود فروق معنوية بين المعاملات وبالتالي أمكن إجراء اختبار المقارنات الزوجية .

Critical Value of t: 2.007584 / least Significant Difference: 7.027095

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (11) مايلي:

1 -معاملة الشاهد غير المعدى (1) لم تظهر فيها أية سنبلة مصابة مما يشير إلى عدم وجود تلوث بأبواغ التفحم في تربة التجربة على الرغم من زراعة التجربة في نفس قطعة أرض تجربة الموسم السابق مما يؤكد على إمكانية تنفيذ مثل هذه التجارب دون تلويث التربة شريطة العناية بجمع كافة السنابل عند النضج.

2- نسبة السنابل المصابة للشاهد المعدى بالأبواغ التيلية بلغت 79.5% وهذا يقارب نسبة الإصابة في بحث سابق (جحا،2020) والتي بلغت على الشاهد المعدى من نفس الصنف (شام3)78 % وهي أيضا" نسبة قريبة لما حصلنا عليه في الموسم الأول (85.23%) وهي نسب مرتفعة جدا" في مثل هذه التجارب وتدل على نجاح العدوى الاصطناعية.

3- تبين النتائج وجود فروق معنوية بين أثر جميع المعاملات ومعاملة المبيد حيث بلغت نسبة السنابل المصابة في معاملة المبيد 0% مما يدل على كفاءة المبيد في تثبيط ومكافحة مرض التفحم المغطى على القمح المتسبب عن الفطر *Tilletia tritici* علما" أن المستحضرات التجارية للمبيد الفطري ديفنوكونازول مستخدمة على نطاق واسع في معالجة بذار القمح المنتج من قبل مؤسسة إكثار البذار منذ سنوات عديدة.

4- بلغت نسبة الإصابة في معاملة مصل اللبن 23.5% وحققت كفاءة 70.44% في حين بلغت نسبة الإصابة في معاملة مصل اللبن المكثف في تجربة سابقة (جحا،2020) 3.05% وحققت كفاءة 90.54% , وقد يعود الفرق في النسب إلى تكثيف مصل اللبن في البحث المذكور بينما لم يتم تكثيفه في هذا البحث. وقد تعود فعالية مصل اللبن إلى احتوائه على كمية كبيرة من حمض اللبن Lactic acid الذي استخدم في معاملة بذور القمح بتركيز 1.22مول/ل بجرعة 0.5% واختبر تأثيره في تثبيط التفحم المغطى على القمح (الصعيدي,2004) وبلغت كفاءة المعاملة في مكافحة المرض 86%.

5- أحدثت جميع المعاملات البكتيرية المستخدمة في الموسم الأول خفضا معنويا في النسبة المئوية للسنابل المتفحمة مقارنة مع الشاهد المعدى ، إذ تراوحت الكفاءة في معاملات العزلات البكتيرية بين 55% و 59.4% كما بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات البكتيرية (المستخدمة في الموسم الأول) في تأثيرها على العامل المرض.

6- بلغت كفاءة الفطر *Serendipita (Piriformospora) indica* 62.57% في مكافحة المرض وأظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فارق معنوي بين كفاءة الفطر كفاءة العزلات البكتيرية المحلية .

7- بلغت كفاءة المعاملة *Pseudomonas MA* 90% والمعاملة *Bacilus subtilis* 94.6% وبالتالي أظهرت تفوقها بفوارق معنوية على العزلات البكتيرية المحلية في مكافحة المرض , في حين انخفضت الكفاءة إلى 73.49% عند اختبار خليط من المعاملتين السابقتين بفارق معنوي عن الكفاءة لكل معاملة على حدة وقد يفسر ذلك بحدوث شكل من أشكال التضاد بين العزلات المستخدمة.

8- أظهر محرض المقاومة BTH كفاءة عالية بلغت 91.49% قاربت كفاءة المعاملة *Pseudomonas MA* وكفاءة المعاملة *Bacilus subtilis*، وأظهرت نتيجة التحليل الاحصائي عدم وجود فرق معنوي بين تأثير هذه المعاملات الثلاث.

9 – عند استخدام خليط من المعاملات *Bacilus subtilis* + *Serendipita (Piriformospora) indica* + BTH بلغت الكفاءة 85.33% وأظهرت نتيجة التحليل الإحصائي أن هذا الخليط ذو كفاءة أقل من كفاءة كل معاملة على حدة .

10 – حققت العزلات البكتيرية W1 و W2 و W3 كفاءة معتدلة إلى جيدة بلغت 62.38% , 69.7% , 52.17% بالترتيب , مع عدم وجود فوارق معنوية بينها وبين عزلات التجربة.

4-6 مقارنة تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط المرض في الموسمين:

جدول(14) تحليل الفروق المعنوية لنسبة الاصابة بين الموسمين

البيان	شاهد معدى بأبواغ التفحم	المبيد	العزلة البكتيرية B3	العزلة البكتيرية B4	العزلة البكتيرية B6	العزلة البكتيرية B10	العزلة البكتيرية B11	العزلة البكتيرية B13
متوسط نسبة اللإصابة في الموسم الأول%	85.22	35.00	34.85	37.00	40.27	35.35	36.83	36.62
متوسط نسبة الإصابة في الموسم الثاني %	79.70	0.00	34.50	35.75	34.75	32.00	33.00	33.75
قيمة t	1.32	7.78**	0.03	0.5	0.48	0.36	0.5	0.31

من خلال قيمة t يتبين لنا وجود فرق معنوي في تأثير المبيد المستخدم في الموسم الأول والمبيد المستخدم في الموسم الثاني ويظهر الجدول عدم وجود فروق معنوية بين تأثير العزلة البكتيرية الواحدة في تثبيط المرض خلال الموسمين 2022-2023

جدول (15) تحليل الفروق المعنوية للكفاءة بين الموسمين

البيان	المبيد	العزلة البكتيرية B3	العزلة البكتيرية B4	العزلة البكتيرية B6	العزلة البكتيرية B10	العزلة البكتيرية B11	العزلة البكتيرية B13
الكفاءة في الموسم الأول %	58.92	59.11	56.55	52.73	58.52	56.78	56.94
الكفاءة في الموسم الثاني %	100	56.60	55.03	56.29	59.43	58.49	57.55
قيمة t	-7.78**	0.18	0.53	-0.27	-0.09	-0.19	-0.05

من خلال قيمة t يتبين لنا وجود فرق معنوي في كفاءة المبيد المستخدم في الموسم الأول والمبيد المستخدم في الموسم الثاني ويظهر الجدول عدم وجود فروق معنوية بين كفاءة العزلة البكتيرية الواحدة في تثبيط المرض خلال الموسمين 2022-2023.

4-7 تعريف وتصنيف العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً في مكافحة التفحم المغطى على القمح:

جدول(16) الصفات الشكلية للعزلات البكتيرية التي استخدمت في التجارب الحقلية

رمز العزلة	لون المستعمرة	شكل المستعمرة	شكل الحواف	الارتفاع	الصفات الضوئية	السطح	القطر mm
B1	أبيض	دائري	منظمة	مسطحة	شفافة	لامع	3
B2	كريمي	غير منتظم	مفصصة	مرتفعة	معتمة	غير لامع	4
B3	أصفر	دائرية	منتظمة	محدبة	شبه شفافة	لامع	4
B4	كريمي	غير منتظم	مفصصة	مرتفعة قليلا"	معتمة	خشن غير لامع	3/4
B5	كريمي	غير منتظم	مفصصة	مرتفعة	شبه شفافة	خشن مجعد غير لامع	120/150
B6	أصفر فاتح	دائرية	منتظمة	مسطحة	شبه شفافة	لامع	1
B7	أبيض	دائرية	مسننة	مسطحة	شبه شفافة	غير لامع	2
B8	زهري	دائرية	منتظمة	مسطحة	شفافة	لامع	1
B9	أصفر فاتح	دائرية	منتظمة	مسطحة	شبه شفافة	لامع	4
B10	كريمي	دائرية	منتظمة	مرتفعة مع وجود حلقة مرتفعة في المركز	معتمة	غير لامع	3
B11	أبيض	غير منتظم	مسننة	مطحة	معتمة	غير لامع	2
B12	أبيض باهت	غير منتظم	مجعدة	مرتفعة	شبه شفافة	باهت	
B13	أبيض	غير منتظم	غير منتظم	مسطحة	شبه شفافة	باهت	150
B14	كريمي	دائرية	منتظمة	محدبة	معتمة	غير لامع	2

جدول(17) نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً في مكافحة التفحم المغطى على القمح

رمز العزلة البكتيري	الاختبارات البيوكيميائية						
	صبغة غرام	اختبار التنفس	اختبار الأوكسيداز	إنتاج الصبغة الوميضية	تكوين الأبواغ الداخلية	تحلل الجيلاتين	تحلل النشاء
B3	−	هوائية لاهوائية	−	+	−	+	−
B4	+	هوائية لاهوائية	−	−	+	+	+
B6	−	هوائية لاهوائية	−	+	−	+	−
B10	+	هوائية لاهوائية	−	−	+	+	+
B11	+	هوائية لاهوائية	−	−	+	+	+
B13	+	هوائية لاهوائية	−	−	+	+	+

أظهرت نتائج الاختبارات البيوكيميائية التي أجريت على العزلات البكتيرية الأربعة المسماة B4/B10/B11/B13 و المراد تعريفها ،التي أبدت تأثيراً في مكافحة التفحم المغطى على القمح حقلياً أن هذه العزلات موجبة لصبغة غرام، وهي هوائية لاهوائية اختياريا، وأن هذه العزلات ليس لها قدرة على إفراز الصبغة الوميضية على الوسط المغذي (King B) واستطاعت هذه العزلات أن تكوّن جراثيم داخلية، وكان تفاعل هذه العزلات سالبا تجاه اختبار الأوكسيداز.

بمقارنة نتائج الاختبارات البيوكيميائية السابقة مع دليل تصنيف البكتريا

(BERGY'S MANUEL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY) نستنتج أن هذه العزلات الأربع تنتمي إلى الجنس *Bacillus* . وهذا ماتوافق مع العديد من الدراسات التي أثبتت قدرة أنواع من البكتريا

التابعة للجنس *Bacillus* في تثبيط مرض التفحم المغطى على القمح مخبريا وحقليا وذلك بسبب قدرتها على تشكيل endospores وأيضا" النشاط والطيف الواسع من المضادات الحيوية التي تنتجها.

الفصل الخامس

الاستنتاجات والمقترحات

Conclusion & Recommendation

الاستنتاجات:

1- أثبتت 6 عزلات بكتيرية والمسماة B3\B4\B6\B10\B13\B11 كفاءة في مكافحة المرض قاربت كفاءة المبيد الكيميائي فيتافلو المستخدم في الموسم الأول دون أن يكون لها تأثير على حيوية وإنبات البذور, ولم تظهر فروق معنوية في كفاءة هذه العزلات عند استخدامها في تجربة الموسم الثاني.

2- أثبتت المخصب العضوي ألغا المستحضر من الطحالب البحرية كفاءة عالية في تثبيط المرض تقارب كفاءة أفضل العزلات البكتيرية.

3- بعض العزلات البكتيرية لم تظهر تأثيرا معنويا في تثبيط المرض حقليا" في الموسم الأول لذلك تم استبعادها من تجربة الموسم الثاني.

4- أثبتت معاملة مصل للبن كفاءة جيدة في مكافحة المرض.

5- أثبتت عوامل المكافحة الحيوية *Pseudomonas chlororaphis MA* و *Bacillus subtilis* تفوقها على العزلات البكتيرية المحلية في مكافحة الرض بفوارق معنوية في حين اقتربت الكفاءة من كفاءة العزلات عند خلط هذين العاملين.

6- أعطى الفطر *Serendipita (Piriformospora) indica* كفاءة قاربت كفاءة العزلات البكتيرية المحلية في مكافحة المرض.

7- أظهر محرض المقاومة BTH كفاءة عالية في مكافحة المرض.

8- استخدام خلائط من العوامل الحيوية أعطى كفاءة أقل من كفاءة كل معاملة على حدة.

9- أعطت النتائج الأولية مؤشرا إيجابيا لمتابعة الدراسات والاختبارات الحيوية في مكافحة مرض التفحم المغطى على القمح باختبار معاملات تتضمن أكثر من سلالة مؤثرة في آن معا .

المقترحات:

1- متابعة العمل على العزلات البكتيرية والمعاملات الأخرى التي أبدت كفاءة عالية في مكافحة المرض وتعريفها , واختبار خلائط منها (أكثر من معاملة) في مكافحة المرض.

2- تطوير إنتاج العزلات المتفوقة بهدف اعتمادها كبدائل للمبيدات الفطرية الكيميائية في معالجة بذار القمح , مع الأخذ بعين الاعتبار أهمية الوصول إلى إنتاج قمح عضوي قابل للتصدير في سورية.

3- دراسة المركبات الفعالة التي تنتجها هذه العزلات البكتيرية ومعرفة المواد التي تؤثر على إنتاش أبواغ الفطر الممرض.

4- دراسة تأثير العزلات البكتيرية على أمراض أخرى تصيب محصول القمح وغيره من المحاصيل.

5- التوسع في اختبار عزلات بكتيرية أخرى وفطرية مضادة يمكن أن يكون لها تأثير ملموس.

الفصل السادس

المراجع

References

المراجع العربية:

1- اسماعيل،سها.(1992).**التوزع الجغرافي لنوعي التفحم المغطى *Tilletia foetide (walk) liro and T.caries(DC) Tul* على القمح وتفضيلها المضيفي على الأقماح الطرية والصلبة وتعريف سلالاتهما السائدة في القطر العربي السوري**.67.

2- جحا، سوسن. (2020). **تأثير مستحلصات نباتية ومواد عضوية في تثبيط الإصابة بالتفحم المغطى على القمح *Tilletia spp.* وفي حيوية البذور**. ماجستير.وقاية النبات. كلية الزراعة. جامعة دمشق. دمشق : سوريا.58-75.

3- (دليل أصناف القمح في سورية- مديرية الإرشاد الزراعي- وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي- رقم النشرة 504 – دمشق 2021)

4 - الصعيدي، باسمة. (2004).**اختبار بدائل غير كيميائية لمكافحة فطري مرض التفحم المغطى *Tiletia tritici* و *T.laevis* ومرض التفحم اللوائي *Urocystis agropyri* على القمح**. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

5- العظمة, فواز و جودة فضول.(1986).**علم أمراض النبات**.مديرية الكتب الجامعية،جامعة دمشق.

6- فضول، جودة وفواز العظمه.1993. علم أمراض النبات، الطبعة الرابعة، منشورات جامعة دمشق.727صفحة.

7- المجموعة الإحصائية الزراعية(2020).

8- المعروف،عماد.(2011). **اختبار كفاءة مبيدي ألراكسيل والفيتانيز بلاس في مقاومة مرض التفحم المغطى في محصول القمح** .(26 لغاية 27 نيسان 2011). المؤتمر العلمي الخامس لكلية الزراعة جامعة تكريت, قسم وقاية النبات.العراق.

9- نفّاع، وليد. (2008-2009). **أمراض النبات الفطرية**.دمشق:سورية.منشورات جامعة دمشق.425.

المراجع الأجنبية:

1. Abdel-Hak, T., and E. Ghobrial. 1969a. Studies on the control of bunt of wheat, Tilletia foetida Wallr. in U.A.R. Tech. Bull. No. 7, 1968. Plant Protection Dept., Min. of Agric., Cairo. 25 pp.
2. Agrios,G.N.(2005).**Plant pathology, fifth edition,Elsevier Academic Press**. Printed in the United States of America. P.590.
3. Akbari, A., and M. Zolghadri. 1988. **Current statusof crop production, research, infrastructure and constraints in Iran**. In pages 181-189, J.P. Srivastava, M.C. Saxena, S. Varma, and M. Tahir, eds., Winter Cereals and Food Legumes in Mountainous Areas. ICARDA, Aleppo, Syria.
4. Ansari, S., Moosavi, M. R. Carris, L. M. Nasrollahi M.and Mirzaee, M. R..2015. **Dimethyl sulfoxide inhibits *Tilletia laevis* teliospore germination**. Australasian Mycologist .P: 2-5.
5. Bamdadian, A. 1993a. **Wheat smuts**. In pages 18-51, Diseases of Wheat in Iran. In press.
6. Bamdadian, A. 1993b. A **short report on the wheat bunt in Iran**. Plant Protection Research Institute.Evin, Iran. 2 pp.
7. BANHARA, A.L.; I DING,Y KÜHNER, R.; ZUCCARO, A.; AND PARNISKE, M., ***Colonization of root cells and plant growth promotion by Piriformospora indica occurs independently of plant common symbiosis genes*.** Frontiers in Plant Science Vol. 6, 2015,1-11.
8. Bhattacharyya, M. K., & Singh, R. P. (1987). **Wheat diseases and their management**. Plant Pathology, 36(2), 125-141.
9. Bockus,W.,Bowden,R.,Hunger,R.,Morrill,W.,Murray,T.,and Smiley,R.,2010.**Compendium of Wheat Diseases and Pests,Third Edition**.
10. Borgen, A. and Davanlou, M. (2001). **Biological control of common bunt (*Tilletia tritici*)**. Journal of crop production.P: 157-171.
11. Borgen, A. and Davanlou,M. (2001). **Biological control of common bunt (*Tilletia tritici*).** Journal of crop production, P: 157-171.
12. Borgen, A. and Nielsen,B. (2001). **Effect of seed treatment with acetic acid in control of seed borne diseases**. In Proceedings of the BCPC Symposium Seed Treatment: Challenges and Opportunities. (P: 76). Farnham.
13. Borgen,A., Kristensen,L. and Kolster,P.(1995**). Direkte bekoemplese af havedens stinkbrand unden brug af Pesticider. Control of common bunt (Tilletia caries) without use of Pesticides.** Page 149-158, In 12th Danish Plant Protection Conference.SP.

14. **Cook, R. J .and R.J. Veseth .1991 Wheat Health Management** .APS Press, S T . paul, MN, p. 46.
15. Denise Bonich,Irene Banziger and Laure Weisskopf. (2014).**The potential of bacteria for the control of common bunt in organic wheat production**.Agroscope ISS. Ecology of Noxious and Beneficial ORGANISMS, CH-8046 Zurich, www.agroscope.ch. Laure.weisskopf@agroscope.dmin.ch.
16. DONG, S.; TIAN, Z.; CHEN, P. J.; KUMAR,R. S.; SHEN, C.H.; CAI, D.; OELMÜLLER, R.; AND YEH, K. W. **The maturation zone is an important target of Piriformospora Indica in Chinese cabbage roots, Experimental Botany**. VOL. 64, NO. 14,2013, 4529–4540.
17. El- Naimi, M. H. Toubia-Rahme, and Mamluk,O.F. (2000). **Organic seed treatment as a substitute for chemical seed treatment to control common bunt of wheat**. European J. of plant pathology.P: 433-437.
18. **Finci, S., Parlak, Y. Bilgin, O. Gümüstekim, H. Aktuma, I. and Tunadeunir, M.** (1983**). Investigation on the distribution of the pathogenic races of wheat bunt [*Tilletia foetida* (Wallr.) Liro and *T. caries* (DC)Tul.] in Turkey.** Bitli Koruma Büll. P:124-147.
19. Fischer,G.w.and Holton, C.S. (1957). **Biology and control of the smut fung**.New York Ronald Press.P:662.
20. Gattani, M.L. 1964. **Report to the Government of Afghanistan on Plant Diseases and Their Control.Report** No. 1817. FAO, Rome. 24 pp.
21. Gattani, M.L. 1964. **Report to the Government of Afghanistan on Plant Diseases and Their Control.Report** No. 1817. FAO, Rome. 24 pp.
22. Ghosheh, Z. 1975. **Wheat improvement in Jordan**.In pages 532-535, Proc.2nd International Winter Wheat Conference, Zagreb, Yugoslavia, June 9-19, 1975. USDA, USAID, and Univ. of Nebrasaka, Lincoln, NE.
23. Goates,B., Wilcoxson, R. and Saari, E.(1996).**Common bunt and dwarf bunt. Bunt and smunt disease of wheat: concepts and methods of disease management, CIMMYT,Mexico,DF.**P:15-16.
24. Gooding,M.J.and W.P.Davies (1997). **Wheat production and utilization systems , quality and environment. Royal Agric**. College of Cirencester, UK Cambridge. PP.147-165.
25. Hermis, Y.A., and S.A.A. Hussain 1979. **Constraints to cereal production and possible solutions in Iraq**. In pages 69-78, The Gap between: Present Farm Yield and the Potential.Proc., Fifth Cereals Workshop, Vol. I, Algiers,Algeria, May 5-9, 1979.
26. Hoffmann, J. A. (1982). **Bunt of wheat**. Plant Disease, P: 979-986.

27. Hoffmann, J. A. and Waldher,J.T. (1981). **Chemical seed treatments for controlling seedborne and soilborne common bunt of wheat**. Plant Disease, 65(3): 256-259.
28. Hugh, R and Leifson, H. 1953. **The taxonomic signicance of fermenative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram-negative bacteria**. Journal of Bacteriology 66:24-26.
29. HUSSIN, S.; KHALIFA, W.; GEISSLER,N. AND KOYRO, H.W. ***Influence of the root endophyte Piriformospora indica on the plant water relations, gas exchange and growth of Chenopodium quinoa at limited water availability*.** Journal of Agronomy and Crop Science, Vol. 2, 2017, 1-12.
30. Ibrahim, I.F. 1988. **A new record of a hybrid between Tilletia caries and T. foetida in Iraq. Indian Phytopath**. 41:155-156.
31. Ibrahim, I.F., K.M. Tamimi, H.A. Hadwan, A.H.Mahmood, and H.O. Haidar. 1985**. Response of cultivated wheat to local collections of common bunt fungus in Iraq**. Indian Phytopath. 38:569-571.
32. Jaroslay Benada and Antonin Pospisil.(1999).**Antagonistic Microorganisms and Medium Moisture as possible Sources of Variation in Common Bunt (Tilletia tritici) Incidence**.Plant Protection Science.P:121-123.
33. John G.Holt,Noel R.Krieg,Peter H.A.Sneath,James T.Staley and Stanley T.Williams.(1994).**Bergey's Manual of DETERMINATIVE BACTEROLOGY(Ninth Edition).**P:754.
34. Johnsson,L.(1990).**Survival of common bunt (Tilletia caries(DC)Tul.) in soil and manure**.Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz.97:502-507.
35. Khatib, H., P. Davet, and G. Sardy. 1970**. Liste des maladies des plantes au Liban. Inst. Rec**. Agron.Lab. de Phytopathologie, Fanar. Lebanon. 41pp.
36. Khazra, H., and A. Bamdadian. 1974**. The wheat disease situation in Iran**. In pages 292-299, Proc. Fourth FAO/Rockefeller Foundation Wheat Seminar, Tehran, Iran, 21 May-2 June 1973.FAO, Rome.
37. Kollomorgen,J.F., and Jones,L.C.(1975).**The effect of soil-borne micro-organisms on the germination of the chlamydospores of *Tilletia caries* and *T.foetida*.Soil Biol**.Biochem.7:407-410.
38. KUMAR, V.; SAHAI, V. AND BISARIA, V.S**. High-density spore production of *Piriformospora indica*, a plant growth-promoting endophyte, by optimization of nutritional and cultural parameters**. Bioresour. Technol., Vol. 102, 2011, 3169–3175.

39. Lutz, M.P., Cummins, G.B., Hiratsuka, Y. et al. (2020**). "Outline of the classification of fungi - 2020"**. Mycoscience, 61: 343–490. doi: 10.1016/j.myc.2020.06.001.
40. Mamluk, O.F. 1992. **Seedborne diseases of wheat and barley**. In pages 40-47, Proc. Workshop on Quarantine for Seed in the Near East Region. FAO/ICARDA/DGISP, 2-9 November 1991. Aleppo, Syria.
41. Mamluk, O.F., and A. Zahour. 1993. **Differential distribution and prevalence of Tilletia foetida (Wallr.) Liro and T. caries (DC) Tul. On bread wheat and durum wheat**. Phytopath. Medit.32:25-32.
42. Mamluk, O.F., M. Al Ahmed, and M.A. Makki.1990. **Current status of wheat diseases in Syria**. Phytopath. Medit. 29:143-150.
43. Mamluk, O.F., M.P. Haware, K.M. Makkouk, and S.B. Hanounik. 1989.Occurrence**, losses, and control of important cereal and food legume diseases in West Asia and North Africa**. In pages 131-140, Proc. 22nd Inter. Symp. on Tropical Agric. Res., 25-27 August 1988. Kyoto, Japan.
44. Mamluk, O.F., O. Tahhan, R.H. Miller, B. Bayaa, K.M. Makkouk, and S.B. Hannounik. 1992. **A checklist of cereal, food legume, and pasture and forage crop diseases and insects in Syria**. Arab J. Plant Prot. 10:166-225.
45. Mamluk, O.F., W.I. Abu Gharbieh, C.G. Shaw, A.Al-Musa, and L. Al Banna. 1984. **A Check List of Plant Diseases in Jordan**. University of Jordan.Amman, Jordan. 107 pp.
46. Mamluk, Omar, F. (1998). **Bunts and smuts of wheat in North Africa and the Near East**. Euphytica, 100(1-3): 45-50.
47. Mamluk,O.F.,W.I.Abu Gharbieh,C.G.Shaw, A.Al-Musa and L.Al-Bana.(1990).**A checklist of plant diseases in Jordan**.University of Jordan.Aman,Jordan.P:107.
48. Mardoukhi, W. 1989. **Laboratory and farm methods of distinguishing Tilletia controversa, cause of dwarf bunt and its control**. In pages 64-67, Abstracts, Cereal Research Seminar. Seed and Plant Improvement Institute, 14-19 January 1989. Iran Agric. College Tehran Univ., Plant Pests and Dis. Res. Inst. and Water Soil Res. Inst. Karaj, Iran (English and Farsi).
49. Matanguihan, J. B., K. M. Murphy and S. S. Jones. (2011). **Control of common bunt in organic wheat.** Plant disease, P: 92-103.
50. Matanguihan, J. B., Murphy,K.M. and Jones,S.S. **Control of common bunt in organic wheat**. Plant disease.P: 92-103.
51. Mazahreh E. 1981. Covered Smut of Wheat in Jordan, Causal Agents and Losses. Fac. Agric.,University of Jordan. Amman, Jordan. 14 pp.
52. Michael J.Leboffe, and Burton E.Pierce.(2011).**A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory**.4th EDITION.P:73-87-92.

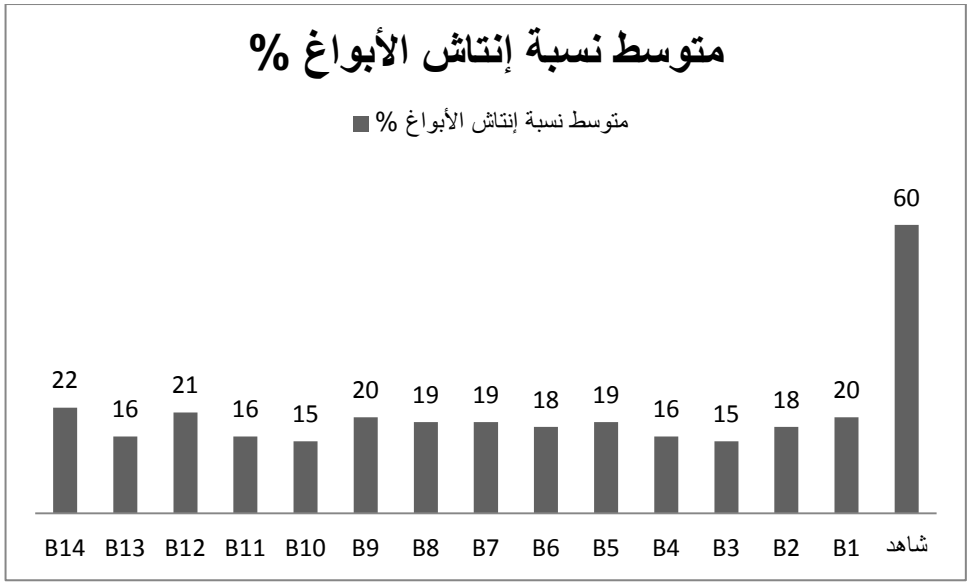
53. -**Nielsen, B. J., Jorgensen, L. N. (**1994). **Control of common bunt (Tilletia caries (DC) Tull.) in Denmark**. In: Martin, T. (Hrsg.): Monograph (P. 57): Seed treatment: Progress and Prospects. British Crop Protection Council, Farnham (UK).
54. Osmanzai, M., and A. Quayoum. (1972).**Afghanistan Uniform Wheat Variety Screening Trial for Bunt, 1970-1971**. In pages 1-5, Regional Wheat Workshop, Volume 1—Diseases. The Ford Foundation, Beirut, Lebanon, February 14-17, 1972.
55. PANSURIYA, P.B. AND CHAUHAN, R.V., **Effect of Integrated Nutrient Management on Growth, Yield and Quality of Gladiolus (Gladiolus grandifloru L.) Cv. Psittacinus Hybrid**. Journal of Horticulture. Vol. 2, No. (2), 2015, 3p.
56. **Parlak, Y.** (1981). **Seed – borne pathogens on wheat (particularly) smuts in Turkey** .Eppo Bulletin,11,83-86.
57. Philipp G, R. G. E. Murray Ralphn. Costilow, Eugenew. Nester, Willisa. Wood, Noel R. Krieg, G. Briggs Phillips**.(1981)**. **Manual of Methods for General Bacteriology.** P 422.80: 1298-1300.
58. Saad, A.T., and F. Nienhaus. (1969). **Plant diseases in Lebanon.** Z. Pfl. Krankkh. Pfl. Sch. 76:537-551.
59. Shah Samin, S.M. (1969). **Plant Diseases Found in Afghanistan.** Tech.Bull. No. 12. Kabul, University,Kabul, Afghanistan. 112 pp.
60. Shariff, G., and A. Bamdadian. 1974. **Importance and situation of wheat and barley diseases in Iran**. In pages 300-305, Proc. Fourth FAO/ Rockefeller Foundation Wheat Seminar, Tehran, Iran, 21 May-2 June 1973. FAO, Rome.
61. Shewry,P.R.2009.Wheat.J.Expe.Bot.,60(6):1537-1553.
62. Sholberg, P. L., Gaudet, Puchalski, D.A. and Randall,P. (2006). **Control of common bunt (*Tilleta tritici and T. laevis*) of wheat (*Triticum aestivum* cv.„Laura") by fumigation with acetic acid vapour**. Canadian journal of plant science. P: 839-843.
63. SINGH, A.K., **Flower Crops Cultivation and Management**. New India Publishing Agency, New Delhi, India, 2006.
64. SWETHA, S. AND PADMAVATHI, P. **Study of acid phosphatase in solubilization of inorganic phosphates by Piriformospora indica**. Polish Journal of microbiology, Vol. 65, No.(4), 2016, 407-40122.
65. VARMA, A.; BAKSHI, M.; LOU, B.; HARTMANN, A. AND OELMUELLER, R., ***Piriformospora indica*: a novel plant growth promoting mycorrhizal fungus**. Agric. Res., Vol.1, No.(2), 2012, 117-131.
66. Weltzien, H. 1963. **Plant diseases in the Middle East. Observation in the Republic of Lebanon,1962**. Phytopath. Medit. 2:260-264.

67. Wilcoxson, Roy. and Saari,Eugene . (1996). **Bunt and Smut Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management**. Mexico, D.F.: CIMMYT.
68. William,P.C.(1983).**Incidence of stinking smut (Tilletia spp.) on commercial wheat sample in northern Syria**.Rachis 2:21.
69. **Yarham, D.** (1993). **Soilborne spores as a source of inoculum for wheat bunt**. Plant Pathol. P:654-656.
70. Zad,J.(1972).**Wheat covered smut in Iran.Proceed**.In pages 36,iii Congress Medit.Phytopath.Union.Oeiras,Portugal 22-23 October 1972.
71. Westermann,H.D.,Barnikol,H.,Fedler,H.Rang and Halmann,T.(1988). **Gesundtheitsliche Risken Bei Verfutterung von brandweizen**. Landwirtschaftliche Forchung 41:169-176.

الملاحق

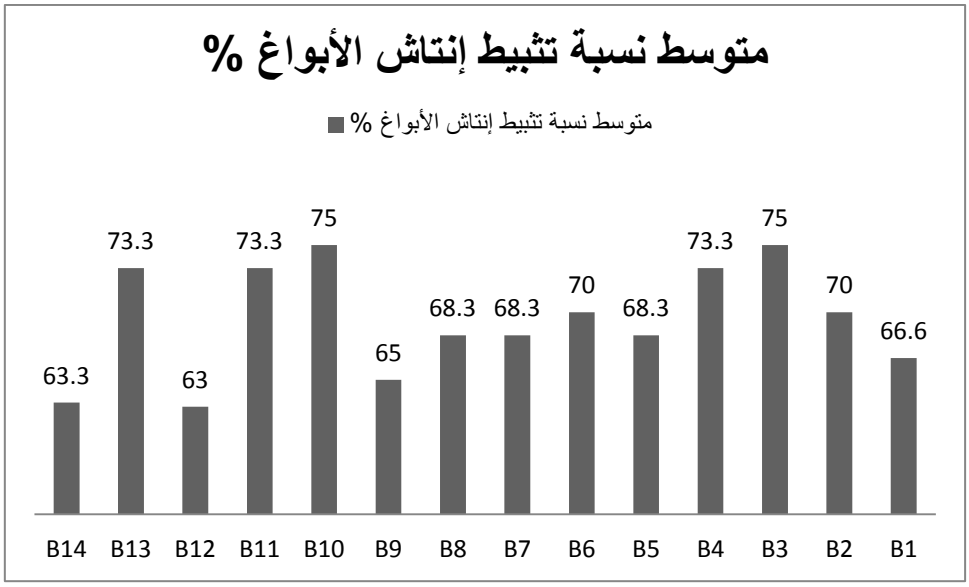
ملحق 1

متوسط نسبة إنتاش الأبواغ التيلية في معاملات العزلات البكتيرية مقارنة بالشاهد في التجربة المخبرية



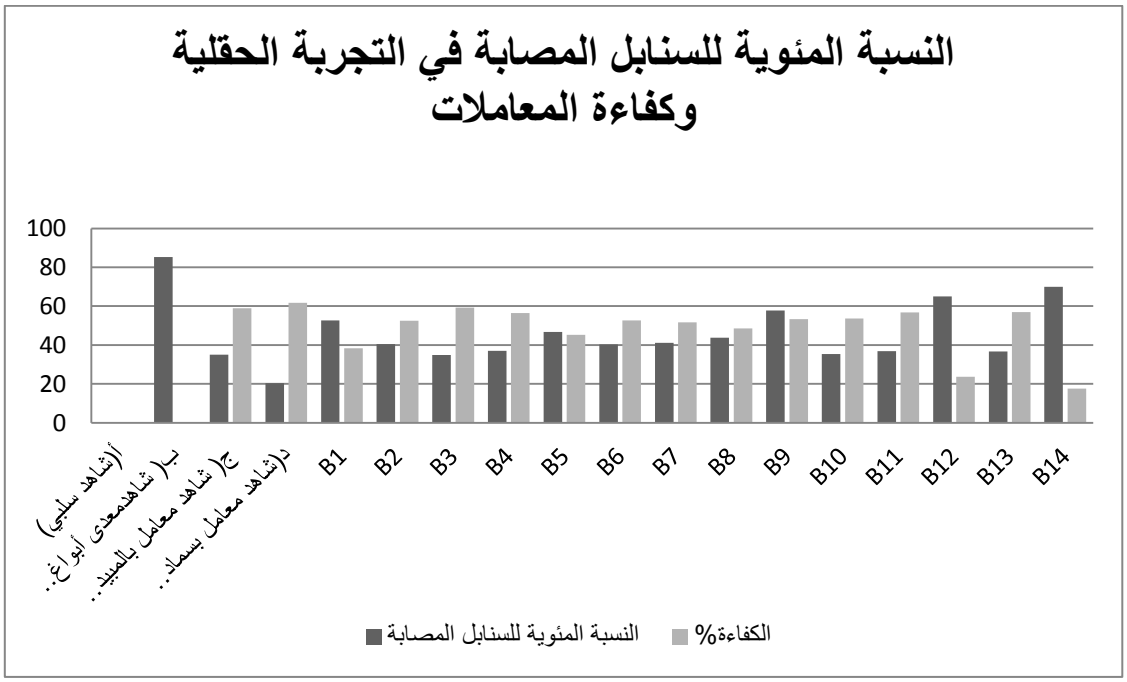
ملحق 2

متوسط نسبة تثبيط إنتاش الأبواغ التيلية للتفحم المغطى مخبرياً%



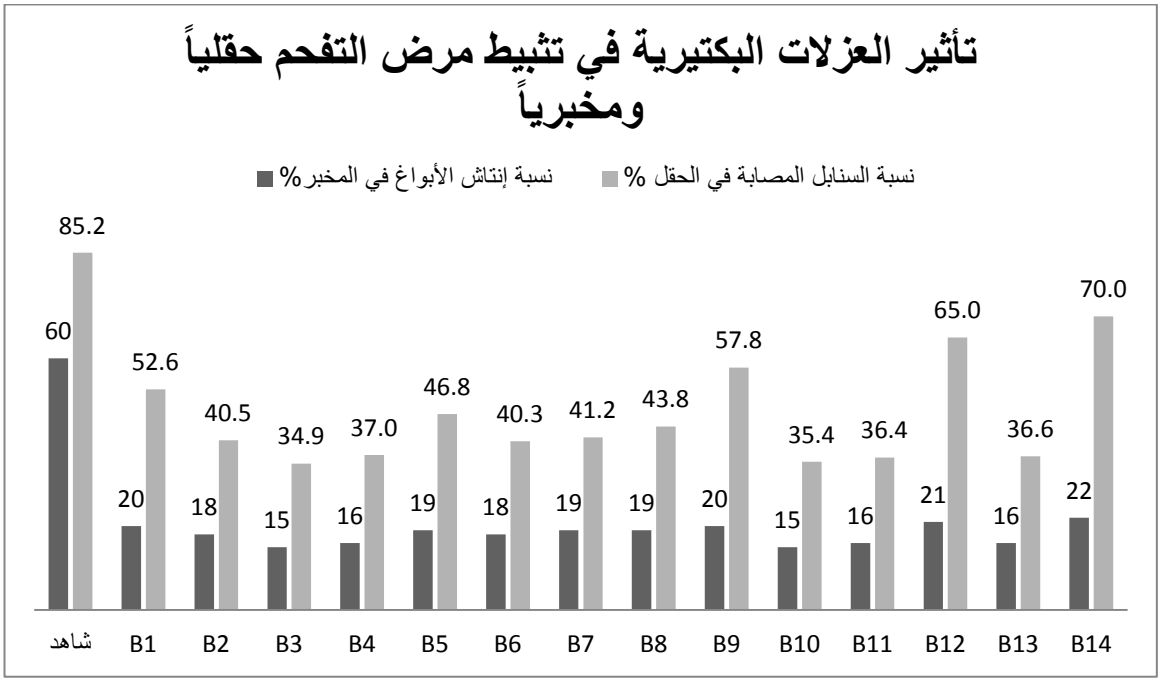
ملحق 3

النسبة المئوية للسنابل المصابة في التجربة الحقلية وكفاءة المعاملات



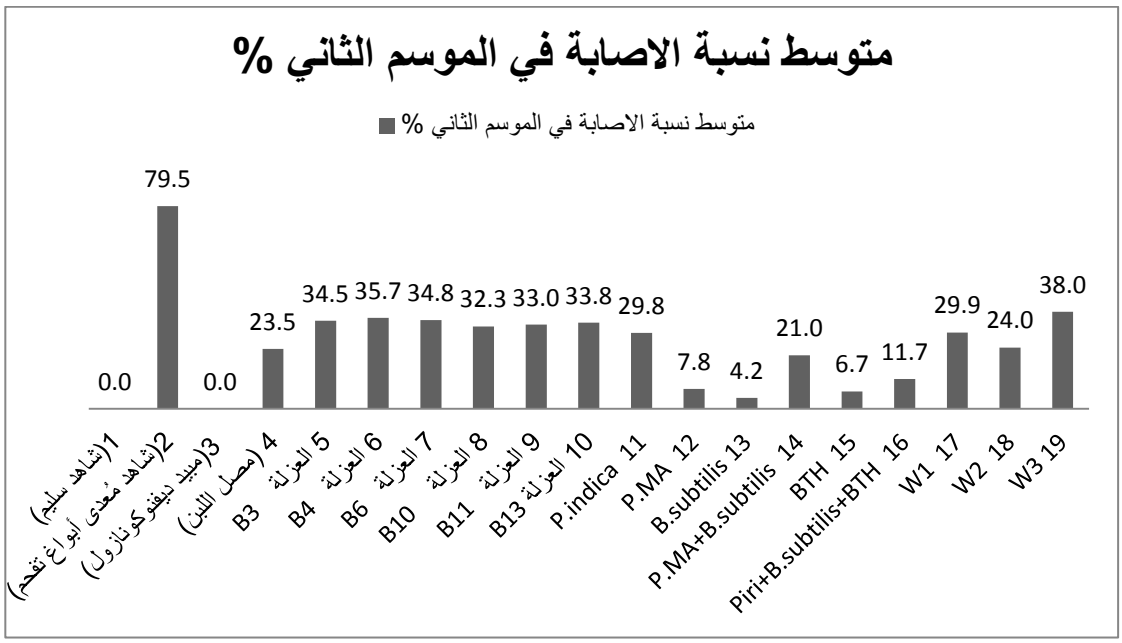
ملحق 4

تأثير العزلات البكتيرية في تثبيط مرض التفحم حقلياً ومخبرياً



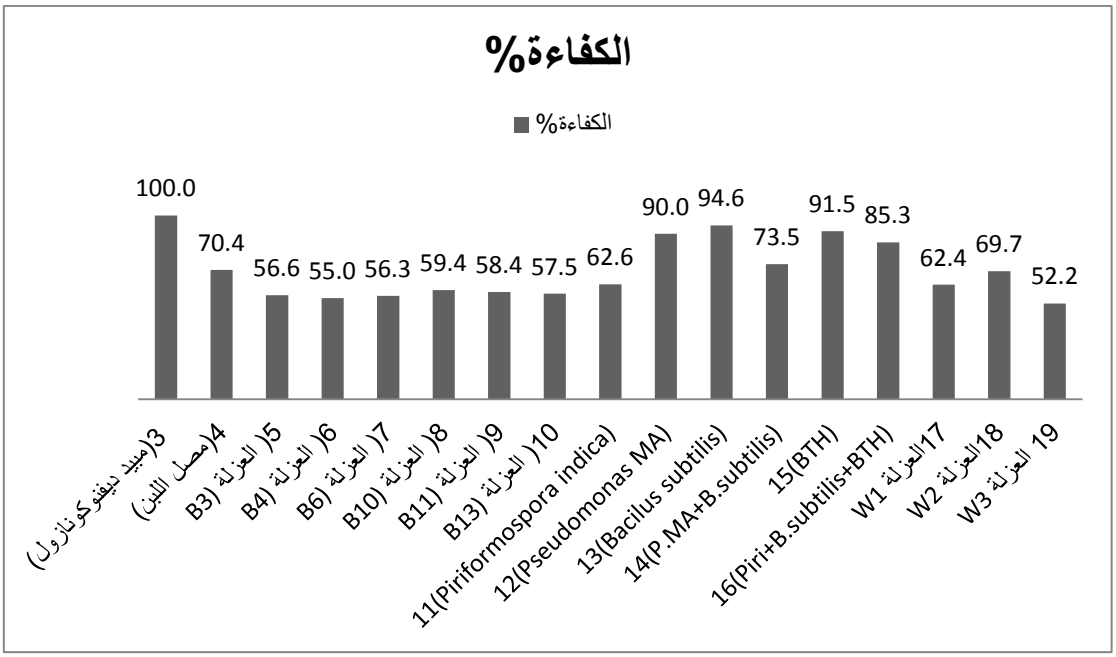
ملحق 5

متوسط نسبة الاصابة بمرض التفحم المغطى في الموسم الثاني %



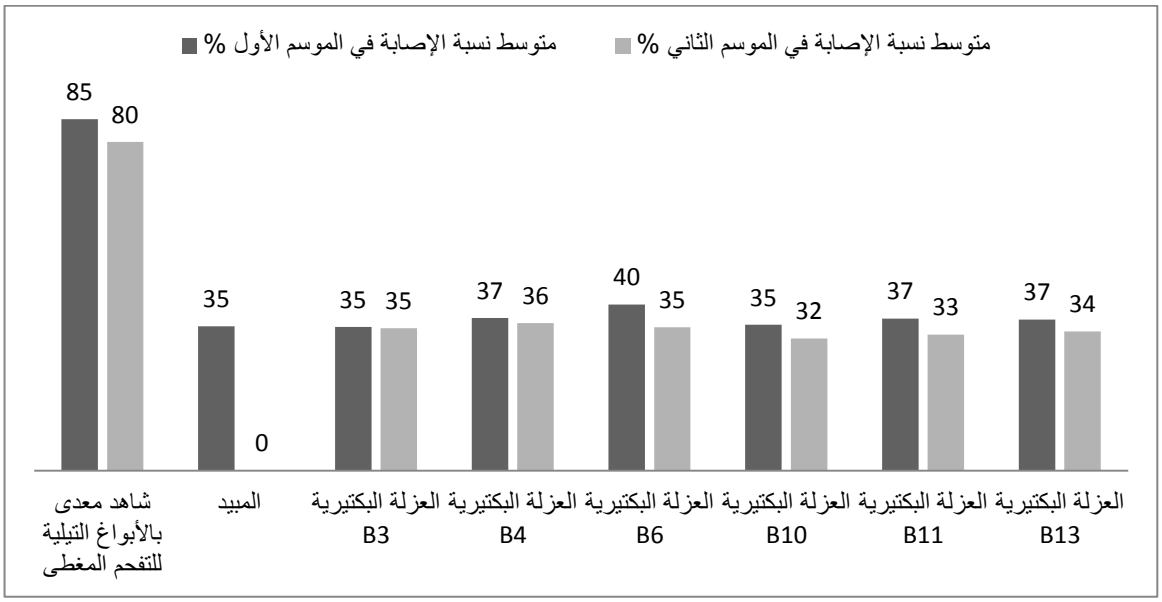
ملحق 6

كفاءة المعاملات في مكافحة مرض التفحم المغطى على القمح في الموسم الثاني %



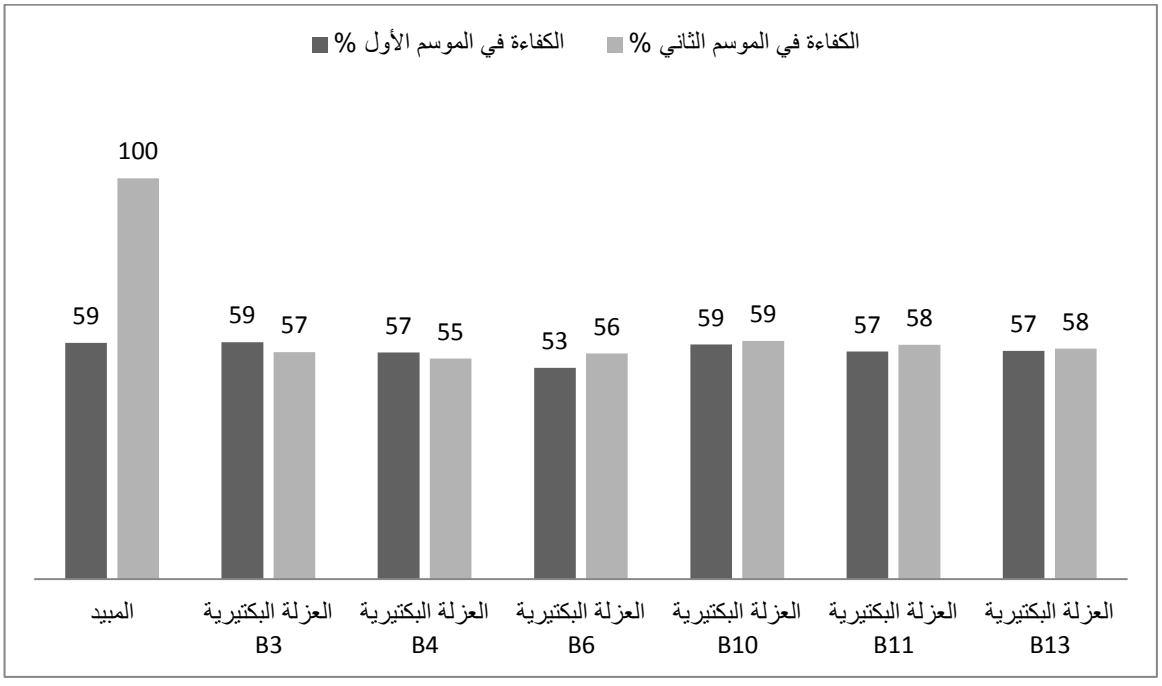
ملحق7

مقارنة متوسط نسبة الإصابة بالتفحم المغطى عند المعاملة بالعزلات البكتيرية المضادة % بين الموسمين



ملحق8

مقارنة كفاءة العزلات البكتيرية المحلية في مكافحة المرض في الموسمين



Selection, Testing and Identification of local bacterial isolated to control wheat common bunt *Tilletia sp.*

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of wheat seed treatment using local bacterial isolates in controlling common bunt disease, caused by the fungus *Tilletia tritici*, through two field experiment carried out in 2022 and 2023.The study also aimed to identify the local bacterial isolates that showed effectiveness in inhibiting the disease in the field through biochemical tests. 150 bacterial strains were isolated from 16 soil samples (from cultivated fields with wheat or other crops and uncultivated fields), in Damascus, Lattakia and Hama governorates. The effect of these bacterial isolates was tested for inhibition of teliospores germination of *Tilletia tritici* on water agar *in vitro*, and 14 bacterial isolates showed significant effect in inhibiting the spore germination and were used in the field experiment. Wheat seeds previously inoculated with common bunt teliospores were treated with the selected bacterial isolates. Results showed that the bacterial isolate B3 demonstrated the highest efficiency in inhibiting the disease with an infection rate of 34.86% compared to the untreated inoculated control with a high infection rate of 85.2%, while the infection rate of the chemical pesticide treatment (Carboxin + Thiram) was 58.9%. Six other isolates showed relatively high efficiency as well (infection rate from 35.5% to 40.3%).In the field experiment for the second season 2023, in addition to the 6 bacterial isolates that showed the highest effect in the first season, the effect of new biological control agents in controlling common bunt disease on wheat were tested: the fungus Piriformospora indica, the bacteria Pseudomonas chlororaphis MA, the bacteria Bacilus subtilis, and the resistance inducer BTH (Benzothiadiazole) and tested the effect of Mixtures of these factors as well. The pesticide difnoconazole was used in the second season, which achieved 100% efficiency with an infection rate of 0%. Acide whey was tested in this season and it achieved efficiency of 70.4%. Bacterial treatments Pseudomonas chlororaphis MA and Bacilus subtilis achieved high efficiency in controlling the disease, amounting to 90% and 94.6%, respectively, superior to local bacterial isolates and the rest of the treatments, but the mixtures of

biological control agents caused a decrease in the efficiency compared to the effect of each agent separately. Comparing the efficiency of the local bacterial isolates that were tested in the two seasons, it was found that there were no significant differences.

Biochemical tests were conducted on the efficient bacterial isolates the results of these tests showed that the isolates B4/B10/B11/B13 belong to the genus *Bacillus* .The results indicate the possibility of using antagonist bacteria in the control of common bunt as an organic alternative to chemical fungicides. This could necessitate efficiency testing of mixtures containing more than one bacterial isolate to obtain high efficiency.

Key words : Wheat common bunt , *Tilletia tritici*, antagonist bacterial isolates

Syrian Arab Republic

Damascus University

Faculty of Agriculture

Department of Plant Protection

Selection, Testing and Identification of local bacterial isolates to control the common bunt in wheat *Tilletia sp.*

A dissertation submittd in partrial fulfillment of the requirements for degree of Master in Plant Protection

By

Lara Maan Saleh

Supervisors:

Supervisor:

Dr. Mohammad Fawaz al-Azmeh

Professor in
Plant Protection Department

Damascus University

Co- Supervisor:

Dr.Omar Naji Hamoudi

Researcher in General
Commission for Scientific
Agricultural Research

2023