تقييم امراضية عزلات مختلفة للفطر *Fusarium* spp المسبب لمرض تعفن التاج في القمح

محمد حمود خليفة* عدي نجم اسماعيل مطني

الباحث استاذ مساعد

قسم وقاية النبات - كلية الزراعة – جامعة بغداد

M_alkhalifah88@yahoo.com oadi77@yahoo.com

المستخلص

اجريت هذه التجربة في البيت الزجاجي التابع لقسم وقاية النبات/كلية الزراعة/جامعة بغداد بهدف اختبار المقدرة المرضية لـ 75 عزلة مختلفة تعود للفطر *Fusarium* spp المسببة لمرض التعفن التاجي في القمح.جمعت نباتات قمح تظهر عليها اعراض اصفرار وتلون السلاميات السفلى الى قطع بطول 1 سم وعقمت بمحلول هيبوكلورات الصوديوم 1% لمدة ثلاث دقائق، وغسلت بماء مقطر معقم وجففت على ورق ترشيح. زرعت القطع في الوسط الزرعي PDA، مضافاً اليه خليط من المضاد الحيوي Tetracycline وAmpicillin بمعدل 100 ملغم/لتر في اطباق بتري قطر 9 سم. حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±2 سْ لحين تجرثم الفطر، وشخصت عزلات الفطرين الفطر *Fusarium* spp باستخدام تقنية PCR. نميت انواع الفطر على حبوب قمح معقمة في اطباق بتري زجاجية بقطر 11 سم بدرجة حرارة 25±2سْ لمدة 21 يوم. لوثت تربة رملية بانواع الفطر المنماة على بذور القمح بمعدل 0.5%، وزرعت حبوب قمح صنف اباء 99 في اصص بلاستيكية قطر 6 سم بمعدل ثلاثة بذور/اصيص. قدرت نسبة وشدة الاصابة ودليل شراسة الفطر وكمية السم المنتج للعزلات بعد 35 يوماً من الزراعة. أظهرت نتائج العزل المختبري ان الفطر *F. graminearum* كان الأكثر ظهوراً وبنسبة تكرار بلغت 92%، مقارنة بالنوع *F. pseudograminearum* الذي بلغت نسبة تكراره 8%. اظهرت عزلات الفطر تفاوتاً واضحاً في مقدرتها الامراضية لبادرات القمح في ظروف البيت الزجاجي، إذ بلغ اعلى مقدار لشدة ونسبة الاصابة ودليل شراسة الفطر 0.856 و100% و5.67 بالنسبة للعزلة28 للفطر *F. graminearum* المعزولة من بغداد،كما ظهر اعلى مقدار لشدة ونسبة الاصابة ودليل شراسة الفطر، إذ بلغ 0.362 و100% و4.94 في العزلة 151 للفطر *F. pseudograminearum* المعزولة من أربيل. أما مقدار ما تنتجه عزلات الفطر *Fusarium* spp من السم DON في اثناء اصابته لبادرات القمح صنف اباء 99 فقد تراوحت بين 0.002 و0.807 µg/g. وجد ان هناك علاقة ارتباط معنوية بين كمية السم DON وكل من شدة الاصابة بالفطر *Fusarium* spp، ونسبة الاصابة ودليل شراسة الفطر وبقيم ارتباط بلغت r= 0.431 و0.409 و0.556 بالتتابع. اثرت المعاملة بعزلات الفطر بشكل سلبي في معظم معايير نمو بادرات القمح مثل ارتفاع النبات وعدد الاوراق والوزن الجاف.

كلمات مفتاحية: *Fusarium* spp، قمح، شدة إصابة، DON.

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 44(4): 480-489, 2013 Khalifah & Matny

PATHOGENICITY EVALUATION OF *FUSARIUM* SPP ISOLATES, CAUSAL AGENT OF CROWN ROT DISEASE IN WHEAT

M. H. Khalifah* **O. N. Matny**

Searcher **Assistant Prof.**

Dept. of Plant Protection- College of Agriculture - University of Baghdad

oadi77@yahoo.com M_alkhalifah88@yahoo.com

ABSTRACT

This study was carried out, at the greenhouse of plant protection department of college of agriculture university of Baghdad, to test the pathogenicity of 75 isolates of *Fusarium* spp causative agent of wheat crown rot. Wheat plants showing yellowing and brown coloring of lower internodes were collected, from several governorates of Iraq. The lower internodes were cutting to small pieces of 1 cm length, sterilized in sodium hypochlorite 1% for 3 min., rinsed in sterile distilled water and dried on filter papers. The pieces were cultivated on PDA amended with mixture of Ampicillin and Tetracycline at 100 mg/L, in petridishes of 9 cm diameter. The petridishes were maintained at 25±2C° for 7 days and the growing *Fusarium* spp were identified by polymerase chain reaction (PCR). The *Fusarium* spp were grown on sterile wheat seeds in petridishes of 11 cm diameter at 25±2C° for 21 days. Surface sterile wheat seeds were sowing in mixed soil contaminated with *Fusarium* spp, grown on wheat seeds, at 0.5% in pots of 6 cm diameter (3 seeds/ pots). The pots were maintained at the greenhouse and the disease incidence, disease severity, rate of fungus aggressiveness and DON toxin production in plant tissues were determined after 35 days of sowing. Results of isolation showed that *Fusarium graminearum* was more prevailing at 92% compared with 8% of *Fusarium pseudograminearum*. The isolates showed obvious variation in pathogenicity on wheat seedling under greenhouse conditions. The highest of disease severity, disease incidence and fungus aggressiveness rate, 0.856, 100% and 5.67 were found for the isolate 28 of *F.graminearum* isolated from Baghdad. Also the highest of disease severity, disease incidence and fungus aggressiveness rate 0.362, 100% and 4.94 were found for the isolate 151 of *F. pseudograminearum* isolated from Erbil. The concentration of mycotoxin produced by the isolates was found to be ranging from 0.002 to 0.807 µg/g. A significant correlation between DON mycotoxin concentration with disease severity, disease incidence and fungus aggressiveness were registered, r= 0.431, 0.409 and 0.556 respectively. Negative effects in most growth parameters of wheat seedling including plant highs, leaves number and dry weight upon treating with the fungus isolates were manifested.

Key words: *Fusarium* spp, wheat, disease severity, DON.

***Part of M.Sc. Thesis of the first author.**

المقدمة

يعد القمح *Triticum aestivum* L. المحصول الاقتصادي الأول في العالم. تشير الدلائل التاريخية إلى ان القمح زرع لأول مرة في العالم بمنطقة الهلال الخصيب من الشرق الاوسط قبل أكثر من 10000 سنة (16). يزرع في معظم بلدان العالم، وتقدر المساحة المزروعة في العالم بـ 217 مليون هكتار وبأنتاج كلي يقدر بـ 620 مليون طن سنوياً (15). بلغ انتاج القمح في العراق لعام 2011 حوالي 2.74 مليون طن وبغلة 469.8 كغم/دونم والحاجة الفعلية المحلية هي 3.25 مليون طن (10). يعاني العراق ومعظم الدول المجاورة والدول النامية من انخفاض الإنتاج، إذ لايغطي الانتاج الفعلي 20% من الحاجة الفعلية للسكان (5)، وقد دأب الباحثون وباستمرار على تحري الوسائل الممكنة والتي من شأنها رفع إنتاجية القمح وتحسين نوعيته، ومن جملة الوسائل الرئيسة التي يمكن أن تسهم في تحقيق هذه الغاية الحد من انتشار الآفات ومنها أمراض جذور القمح التي تتسبب في إحداث خسائر جسيمة حتى في الدول المتقدمة المنتجة للقمح، ومنها شمال ويلز في استراليا والولايات المتحدة الامريكية والصين وجنوب شرق أسيا وكينيا وسوريا (12 و14 و17 و21 و22 و25). يصاب القمح بأمراض عدة ومن بينها مرض التعفن التاجي الذي يسبب خسائر في معظم دول العالم المنتجة للقمح، وذلك نتيجة للضرر المباشر على السنابل التي تكون في الغالب فارغة تماماً من الحبوب، كما تنتج انواع الفطر *Fusarium* spp عدة نواتج ايض ثانوية، منها السم deoxynivalinol (DON) الذي له دور في زيادة شراسة الفطر(24). اجريت عدة دراسات للتحري عن دور السم DON في احداث الاصابة وزيادة شراسة الفطر *F. graminearum* المسبب لمرض التعفن التاجي في القمح، وقد وجد أن اعلى كمية للسم كانت 35 ميكغم/كغم وهذه الكمية وجدت في العزلات التي اظهرت اعلى مقدرة مرضية، وهذا دليل على ان للسم DON دور في زيادة شراسة الفطر الممرض (20). بينت العديد من الدراسات ان للسم DON تأثيرات عدة في الخلايا النباتية، فهو يعمل على منع تصنيع البروتين من خلال الارتباط مع الـ ribosomal subunit الأمر الذي يؤدي إلى موت الخلية في الغالب، فضلاً عن التأثير في كمية ونوعية بروتين القمح (gluten)، كما يعمل السم DON على تحفيز النبات على انتاج بيروكسيد الهيدروجين الذي يعمل على زيادة سرعة موت الخلايا (3 و13 و24). تزداد الخسائر المتسببة عن مرض التعفن التاجي في القمح في المناطق الجافة وشبه الجافة، ففي ولاية Montana الامريكية تقدر نسبة الأراضي المزروعة بحوالي 2.2 مليون هكتار و95.5% من هذه الأراضي هي جافة أو شبه جافة، وقدرت نسبة الخسارة بحوالي 3.2-34.9% (19). كما قدرت نسبة الخسارة بالقمح المصاب بالتعفن التاجي في شمال غرب Pacific بـ 18% اي ما يعادل 76 دولار/هـ (23). قدر Smiley وآخرون (26) نسبة الخسارة بالمرض بحوالي 9.5% من إجمالي المناطق المزروعة بالقمح في المنطقة نفسها. هدفت الدراسة الى تشخيص الأنواع المسببة لمرض التعفن التاجي في القمح في العراق وتقييم مقدرتها الامراضية وقابليتها على انتاج السم DON في بادرات القمح.

المواد والطرائق

جمع العينات

جمعت عينات نباتات القمح من الحقول المستهدفة بطريقة الاقطار المتعامدة للنباتات التي تظهر عليها اعراض الاصفرار التام مع قلة التفرعات، وتلون السلاميات السفلى من النبات وأغماد الاوراق باللون البني الغامق من عدة محافظات عراقية هي اربيل والموصل وكركوك وصلاح الدين وديالى وبغداد والانبار وواسط وبابل وكربلاء والنجف، وذلك للفترة من 4/23/2011 إلى 2011/5/7. جلبت العينات إلى المختبر وأزيلت منها الجذور والاوراق وتركت لتجف في درجة حرارة الغرفة لمدة اسبوع ثم وضعت في اكياس ورقية مثقبة مع تسجيل المعلومات عن مكان وتأريخ الجمع وحفظت في المختبر لحين اجراء العزل المختبري.

عزل الفطريات المصاحبة للمرض

اخذت 10 نباتات من كل حقل وبصورة عشوائية وقطعت السلامية السفلى للنبات إلى اجزاء بطول 1 سم. عقمت بمحلول هيبوكلورات الصوديوم 1% (كلور حر) لمدة دقيقة واحدة، وغسلت بماء مقطر معقم لمدة 2-3 دقائق للتخلص من بقايا المادة المعقمة. جففت النماذج بورق ترشيح معقم وزرعت أربعة قطع في اطباق بتري قطر 9 سم تحتوي على الوسط الزرعي PDA مضاف اليها 100 ملغم/لتر من خليط

المضادات الحيوية Tetracycline وAmpicillin. حضنت الاطباق في درجة حرارة 25±2 سْ لحين تجرثم الفطر. شخصت عزلات الفطرين الفطر *Fusarium* spp باستخدام تقنية PCR وبالاعتماد على بوادئ متخصصة كما مبين ادناه:

Fg 16NF	ACA GAT GAC AAG ATT CAG GCA CA
Fg 16NR	TTC TTT GAC ATC TGT TCA ACC CA
Fp1-1	CGG GGT AGT TTC ACA TTT CCG
Fp1-2	GAG AAT GTG ATG ACG ACA ATA

حسبت النسبة المئوية لتردد الفطريات المرافقة لمرض التعفن التاجي في القمح من خلال استخدام المعادلة الآتية:

نسبة الظهور= (عدد مرات ظهور النوع الواحد/العدد الكلي للعينات) × 100.

نُقيت انواع الجنس *Fusarium* spp بطريقة البوغ المفرد وذلك بأخذ مسحة من المستعمرة الفطرية بواسطة ابرة عزل معقمة ثم اجراء عملية تخطيط متعرج في طبق بتري يحتوي على الوسط الزرعي Water Agar (WA)، ومن خلال الفحص بالمجهر الضوئي المركب وعلى قوة تكبير 400 أخذ بوغ واحد وزرع في طبق بتري يحتوي على الوسط PDA وحضنت الاطباق في درجة حرارة 25±2 سْ لمدة اسبوع (2).

تحضير لقاح الفطر *Fusarium* spp

غسل 1 كغم من حبوب القمح بالماء لأزالة الشوائب، وغليت لمدة 20 دقيقة ثم نشرت على منضدة للتخلص من الرطوبة الزائدة. وزعت الحبوب بواقع 15 غم في اطباق بتري زجاجية قطر 11 سم، وعقمت باستخدام جهاز المؤصدة على حرارة 121 سْ وضغط 1.5 كغم/سم^2 لمدة 20 دقيقة. تركت الاطباق لتبرد ثم لقح كل طبق على حده بقرص قطره 0.5 سم^2 من مستعمرات عزلات الفطرين *F. graminearum* و*F.pseudogramn-earum* المنماة على وسط PDA بعمر سبعة ايام. حضنت في درجة حرارة 25±2 سْ لمدة 21 يوماً مع مراعاة رج الاطباق كل اربعة أيام لضمان تجنب تكتل الحبوب (7).

اختبار المقدرة الأمراضية لعزلات الفطر *Fusarium* spp على بادرات القمح في البيت الزجاجي

اجريت تجربة اختبار المقدرة الأمراضية لـ 75 عزلة من عزلات الفطر *Fusarium* spp في البيت الزجاجي التابع لقسم وقاية النبات/كلية الزراعة/جامعة بغداد. خلطت تربة رملية مع بتموس بنسبة (1:2) وعقمت مرتين ليومين متتاليين بجهاز التعقيم المؤصدة بدرجة حرارة 121 وضغط 1.5 كغم/سم^2. ملئت اصص بلاستيكية (6×8 سم) سعة 200 غم لحد الثلثين بالتربة المعقمة، ثم اضيف 0.5% من لقاح عزلات الفطر *Fusarium* spp المحمل على بذور القمح وغطيت بطبقة تربة 1-1.5 سم. زرعت ثلاثة حبوب قمح صنف اباء99/ أصيص وبثلاثة مكررات لكل عزلة، ثم غطيت بطبقة تربة وسقيت بالماء كلما دعت الحاجة. (27 و1). غطيت كافة الاصص بأكياس نايلون شفافة لمدة 24 ساعة وذلك لحفظ الرطوبة وتشجيع نمو الفطر. سجلت النتائج بعد 35 يوماً من تأريخ الزراعة. حسبت شدة المرض ودليل شراسة الفطر والنسبة المئوية للإصابة عن طريق المعادلات الآتية:

شدة المرض= (طول المنطقة التاجية المتعفنة/ارتفاع النبات) × عدد الاوراق المصفرة نتيجة التعفن.

دليل شراسة الفطر = طول المنطقة التاجية المتعفنة × عدد الاوراق المصفرة نتيجة التعفن.

نسبة الاصابة = (عدد النباتات المصابة/ العدد الكلي للنباتات) × 100 (2 و18).

اختير التصميم تام التعشية CRD وحللت النتائج باستخدام برنامج التحليل الاحصائيGen Stat ed3، كما حللت نتائج الارتباط باستخدام برنامج التحليل SPSS ed20.

استخلاص السم DON من بادرات القمح

استخلص السم DON من بادرات القمح بعمر 35 يوماً (3-5ورقة). قلعت النباتات ووضعت في اكياس ورقية، وجففت في فرن كهربائي بدرجة حرارة 45 سْ لحين استقرار الوزن. وزن كل نبات على حده وقطع الى قطع صغيرة، ووضعت في قناني زجاجية سعة 30 مل وأضيف اليها 10 مل من خليط ماء مقطر: اسيتونايتريل 85:15. رجت العينات في جهاز الرجاج لمدة ساعتين. رشح الخليط باستخدام ورق ترشيح Whatman No.4 في قناني زجاجية نظيفة وجففت باستخدام فرن كهربائي بدرجة حرارة 45 سْ. حفظت القناني في المجمدة لحين اجراء تقدير السم (7).

التقدير الكمي والنوعي للسم DON

استخدمت عدة قياسية من انتاج شركة Quicking Biotech Co. الصينية للتقدير الكمي والنوعي للسم DON، إذ اجريت

عملية الكشف الكمي والنوعي باتباع البروتوكول المرفق مع العدة القياسية الخاص بالشركة المنتجة وذلك باتباع الخطوات الآتية:

تركت العدة القياسية في درجة حرارة المختبر لمدة ساعة قبل الاستخدام. اضيف 1 مل ماء مقطر معقم لكل انبوبة بلاستيكية حاوية على العينة مع التحريك الخفيف لحين الذوبان التام للعينة. أُخذ 50 مايكروليتر من المحاليل القياسية للسم DON والعينات في حفر طبق ELISA كلٌ على حده وبالترتيب. اضيف 50 مايكروليتر من Enzyme-linked conjugate لكل حفرة مع التحريك الخفيف للطبق باليد. حضن الطبق لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة 2±25 سْ بعيداً عن الضوء.اهملت مكونات الطبق، ثم قلب الطبق على ورق ترشيح مع الطرق الخفيف للتخلص من كافة المواد السائلة الموجود في الحفر بشكل كلي. غسلت الحفر لأربع مرات بإضافة 250 مايكروليتر من محلول Washing buffer في كل مرة، ثم قلب الطبق على ورق ترشيح مع الطرق الخفيف على ورق نشاف للتخلص من محلول الغسل بشكل كلي. اضيف 50 مايكروليتر من Substrate A، وأضيف بعدها مباشرة 50 مايكروليتر من Substrate B مع التحريك الخفيف للطبق لخلط المواد جيداً. حضن الطبق لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة 2±25 سْ بعيداً عن الضوء. اضيف 50 مايكروليتر من محلول ايقاف التفاعل مع التحريك الخفيف باليد. استخدم جهاز قارىء ELISA Reader من انتاج شركة Biotek الامريكية 2011 على طول موجي 450 nm لقراءة الامتصاص الضوئي. وحسب تركيز السم كما في المعادلة:

تركيز السم= (امتصاص العينة/امتصاص المحلول القياسي 0 للسم DON)× 100.

ثم رُسم المنحنى القياسي للسم بالاعتماد على امتصاصات تراكيز المحاليل القياسية للسم DON وبتعامد امتصاص العينات مع امتصاص التراكيز القياسية تم حساب تركيز السم في كل عينة.

النتائج والمناقشة

اشارت النتائج تشخيص الـ PCR باستخدام البوادىء المتخصصة ان جميع العزلات قيد الدراسة تتبع النوعين *F. graminearum* و*F.pseudograminearum*. اظهرت نتائج جدول 1 إلى ان معظم عزلات الفطرين *F. graminearum* و*F.pseudograminearum* المسببة لمرض تعفن التاج في القمح احدثت تفاوتاً واضحاً في مقدار شدة ونسبة اصابة بادرات القمح في ظروف البيت الزجاجي، إذ بلغ معدل شدة الاصابة 0 لعشر عزلات مختلفة تعود للنوع *F. graminearum* هي 1 و15 و50 و96 و97 و139 و140 و159 وB2 وB7، وعزلة واحدة للفطر *F. pseudograminearum* هي B4، اما باقي العزلات فقد لوحظ ان هناك تبايناً في شدة اصابتها لبادرات القمح، إذ اظهرت عزلات الفطر *F. graminearum* 28 و 21 و 98 و41 و42 و157 اعلى شدة اصابة في بادرات القمح وبفرق معنوي على جميع العزلات، إذ بلغ فيها معدل شدة الاصابة 0.856 و0.496 و0.333 و0.309 و0.286 و0.265 على التوالي، اما بالنسبة للفطر *F. pseudograminearum* فقد تفوقت العزلة 151 التي بلغ فيها معدل شدة الاصابة 0.362 وبشكل معنوي على جميع عزلات الفطرين باستثناء العزلات 28 و21 . وفيما يخص بقية عزلات الفطرين فقد لوحظ تباين كبير في مقدرتها المرضية وبشكل واضح، إذ تراوح فيها معدل شدة الاصابة بين 0.001 و0.256 بالتتابع. اظهر تحليل الارتباط وجود علاقة ارتباط موجبة متوسطة المعنوية بين شدة الاصابة وكمية السم DON المنتجة من قبل الفطر الممرض *F. graminearum*، إذ بلغت0.431 =r، اي ان السم DON له تأثير وعلاقة في زيادة شدة اصابة بادرات القمح بعزلات الفطر الممرض *Fusarium* spp، وقد يعود السبب في ذلك إلى ان السم DON يعمل على تثبيط تصنيع البروتين النباتي ومنع انتاج الانزيمات المسؤولة عن تحفيز دفاعات النبات العائل، إذ بينت دراسة اجريت من قبل Wang وآخرون (28) ان زيادة كمية السم deoxynivalinol تزيد من أمراضية الفطر *F. graminearum* في القمح. اما فيما يخص نسبة الاصابة فقد لوحظ ان هناك تفاوتاً كبيراً في نسبة اصابة بادرات القمح في البيت الزجاجي بالفطرين *F. graminearum* و *F. pseudograminearum*، وتفوقت معظم العزلات في احداث نسبة اصابة وبفارق معنوي عن معاملة القياس التي بلغت فيها نسبة الاصابة 0 %، إذ تفوقت العزلات 28 و41 و53 و55 و70 و78 و88 و151 و157 في احداث اعلى نسبة

اصابة بلغت 100% وبفارق معنوي عن جميع العزلات. كما اظهرت العزلات 1 و15 و50 و96 و97 و139 و140 و159 وB2 وB4 وB7 نسبة الاصابة 0 %، اما باقي العزلات فقد تراوح فيها معدل نسبة الاصابة بين 11.11 و89.22% على التوالي، وقد يعود السبب في هذا التباين بين عزلات الفطر *Fusarium* spp في قابليتها على اصابة بادرات القمح إلى اختلافات وراثية في الجين المسيطر على صفة الأمراضية وعوامل اخرى مثل الحرارة والرطوبة وغيرها (26 و18). وجد ان هناك علاقة ارتباط معنوية بين كمية السم DON المنتجة من قبل عزلات الفطر *Fusarium* spp ونسبة الاصابة، إذ بلغت قيمة الارتباط r= 0.409، وهذا يفسر ان للسم DON تأثيراً مباشراً كأحد العوامل المساعدة في زيادة أمراضية وشراسة الفطر الممرض، وقد جاءت هذه النتيجة متفقة مع ما وجده Cardoza وآخرون (9). أما دليل شراسة الفطر الممرض فقد بينت النتائج (جدول 1) ان هناك اختلافات معنوية واضحة بين عزلات الفطرين وتأثيرهما في بادرات القمح في ظروف البيت الزجاجي (جدول 1)، إذ بلغ اعلى معدل لمقدار دليل الشراسة 5.67 و5.27 و4.94 و3.24 و3.10 في العزلات 157 و28 و151 و55 و42 على التوالي وبفارق معنوي عن جميع العزلات. كما لوحظ ان العزلات 1 و15 و50 و96 و97 و139 و140 و159 وB2 وB4 وB7، كانت الأقل تأثيراً في بادرات القمح، إذ بلغ فيها معدل مقدار شراسة الفطر 0. اما باقي عزلات الفطرين فقد تراوح فيها مقدار دليل الشراسة بين 0.01 و3.02. قد يعود سبب اختلاف مقدار دليل الشراسة إلى التباين الوراثي العالي بين عزلات النوع الواحد في الجنس *Fusarium* (23). بين تحليل الارتباط ان هناك علاقة ارتباط معنوية بين كمية السم DON ودليل شراسة الفطر وبقيمة ارتباط بلغت r= 0.556، ولقد اتفقت هذه النتائج مع ما ذكره Burlakoti وآخرون (8) من وجود علاقة طردية بين كمية السم DON المنتجة في اثناء الاصابة وشراسة الفطر *F. graminearum*، وأن سبب العلاقة الطردية بين كمية السم DON المنتجة وأمراضية وشراسة الفطر الممرض قد يعود إلى تأثيره في تصنيع البروتين في خلايا النبات، فضلاً عن دوره في تحفيز النبات لإنتاج بيروكسيد الهيدروجين الذي يعمل على تحفيز ظاهرة الموت المبرمج للخلايا النباتية (3 و13 و24). إن التباين الواسع بين عزلات الفطر *Fusarium* spp في مدى احداثها للإصابة، وتأثيرها في باردات القمح، وكمية السم DON المنتج قد يعود الى التنوع الوراثي الواسع فيما بينها، إذ ان الجنس *Fusarium* يعد من أكثر الفطريات انتشاراً في الطبيعة، وله القابلية على التكيف في الظروف البيئية غير الملائمة، الأمر الذي ادى الى انتاج سلالات جديدة باستمرار نتيجة للضغط البيئي وحصول طفرات عديدة ادت الى اختلافات كثيرة بين عزلات النوع الواحد من بينها امراضية الفطر (6 و11). اثرت المعاملة بعزلات الفطرين *F. graminearum* و *F. pseudograminearum* (الجدول 1) وبشكل سلبي في معظم معايير النمو في بادرات القمح صنف اباء 99، إذ تأثرت صفة ارتفاع النبات وبشكل معنوي بالمقارنة مع معاملة القياس التي بلغ فيها معدل ارتفاع النبات 31.53 سم، باستثناء العزلة 153 التي لم تختلف عن معاملة القياس، إذ بلغ فيها معدل ارتفاع النبات 31.63 سم. اظهرت العزلة 28 خفضا معنويا لارتفاع النبات بلغ 3.9 سم وبفارق معنوي عن جميع العزلات، تلتها العزلات 88 و52 و98 التي بلغ فيها معدل ارتفاع النبات 8.22 و8.77 و8.90 سم على التوالي ومن دون فروق معنوية فيما بينها. اما باقي العزلات فقد بلغ فيها معدل ارتفاع النبات بين 10.37 و30.37 سم. أما صفة عدد الاوراق فقد وجد ان هناك تأثيراً سلبياً واضحاً لبعض عزلات الفطرين الممرضين في معدل عدد الاوراق بالنبات (جدول1)، إذ تفوقت العزلة 36 في خفض معدل عدد الاوراق إلى 2.44، ولم تختلف معنوياً عن العزلات 151 و52 و42 و41 و98 و61 و28 و157 و117 و75 و59 و30 و29 و106 و26 و88 التي بلغ فيها معدل عدد الاوراق 2.66 و2.70 و2.70 و2.70 و2.83 و3 و3 و3.17 و3.22 و3.22 و3.33 و3.33 و3.33 و3.33 و3.44 و3.44 و3.50 على التوالي. لم يظهر هناك اي اختلاف معنوي بين بقية العزلات ومعاملة القياس التي بلغ فيها معدل عدد الاوراق 4. بينما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود تفوق معنوي لبعض عزلات الفطرين في صفة عدد الاوراق على معاملة القياس، إذ بلغ معدل عدد الاوراق فيها 4.11 و5. تفوقت معظم عزلات الفطرين الممرضين في خفض الوزن الجاف لبادرات القمح في البيت الزجاجي (جدول1) وبشكل معنوي بالمقارنة

جدول1. تأثير عزلات مختلفة للفطر *F.graminearum* و *F.pseudograminearum* في بادرات القمح صنف اباء 99 تحت ظروف البيت الزجاجي.

العزلة	النوع	شدة المرض	دليل الشراسة	نسبة الاصابة %	كمية السم µg/g	ارتفاع النبات (سم)	عدد الاوراق	الوزن الجاف (غم)
قياس (بدون فطر ممرض)		0	0	0	0	31.53	4	0.055
1 - أ	*F. graminearum*	0	0	0	0.032	26.70	4.60	0.051
151- أ	*F. pseudograminearum*	0.362	4.94	100	0.807	13.66	2.66	0.014
23 - م	*F. graminearum*	0.156	2.71	33.34	0.295	20.06	4.30	0.041
139- م	*F. graminearum*	0	0	0	0.047	26.13	4	0.052
85- م	*F. graminearum*	0.002	0.05	33.33	0.015	22.99	4	0.042
36 - م	*F. graminearum*	0.069	1.53	66.67	0.256	11.51	2.44	0.016
39 - ك1	*F. graminearum*	0.001	0.02	11.12	0.178	28.83	4.11	0.059
90- ك1	*F. graminearum*	0.098	1.12	77.78	0.357	15.04	3.80	0.021
153- ص	*F. graminearum*	0.002	0.21	22.23	0.043	31.63	4.33	0.061
140- ص	*F. graminearum*	0	0	0	0.076	27.42	3.70	0.040
6 - ص	*F. graminearum*	0.001	0.02	66.67	0.029	28.05	4.11	0.049
2 - د	*F. graminearum*	0.001	0.03	11.11	0.182	25.20	4	0.049
16 - د	*F. graminearum*	0.001	0.04	44.45	0.298	25.92	4	0.037
B7- د	*F. graminearum*	0	0	0	0.269	28.69	4	0.045
149- د	*F. graminearum*	0.001	0.01	22.23	0.045	26.50	4	0.049
134- د	*F. graminearum*	0.002	0.07	22.23	0.143	26.33	4	0.047
100- د	*F. graminearum*	0.001	0.02	11.12	0.009	26.05	4	0.043
82- د	*F. graminearum*	0.022	0.42	66.67	0.233	23.53	3.90	0.042
42 - د	*F. graminearum*	0.286	3.10	88.89	0.320	12.11	2.70	0.009
34 - د	*F. graminearum*	0.074	0.92	66.67	0.211	21.52	4	0.025
30 - د	*F. graminearum*	0.246	0.78	66.67	0.350	18.99	3.33	0.025
LSD (0.05)		0.014	0.13	33.41	**	0.87	1.14	0.017

****حللت هذه الصفة باستخدام تحليل الارتباط**

أ= أربيل، م= الموصل، ك1= كركوك، ص= صلاح الدين، د= ديالى، ب= بغداد، أن= انبار، و= واسط، ك2= كربلاء، ن= النجف.

العزلة	النوع	شدة المرض	دليل الشراسة	نسبة الاصابة %	كمية السم µg/g	ارتفاع النبات (سم)	عدد الاوراق	الوزن الجاف (غم)
ب - 9	*F. graminearum*	0.083	1.41	11.11	0.255	18.21	3.60	0.031
ب -B2	*F. graminearum*	0	0	0	0.040	26.96	4.44	0.042
ب -106	*F. graminearum*	0.166	3.02	88.89	0.222	18.22	3.44	0.029
ب -115	*F. graminearum*	0.052	1.10	77.78	0.274	23.36	4.30	0.040
ب -117	*F. graminearum*	0.150	2.54	88.89	0.120	16.89	3.22	0.018
ب -130	*F. graminearum*	0.057	1.19	77.78	0.166	22.73	4.11	0.042
ب -98	*F. graminearum*	0.333	2.45	88.89	0.471	8.90	2.83	0.012
ب -13	*F. graminearum*	0.014	0.34	66.67	0.238	25.70	4.33	0.043
ب -14	*F. graminearum*	0.001	0.04	33.34	0.041	27.65	4	0.050
ب -88	*F. graminearum*	0.074	0.87	100	0.092	8.22	3.50	0.017
ب -18	*F. graminearum*	0.256	2.98	33.34	0.166	14.29	3.60	0.023
ب -20	*F. graminearum*	0.249	1.87	88.89	0.282	17.43	3.70	0.031
ب -21	*F. graminearum*	0.496	1.73	85.71	0.361	13.86	3.70	0.024
ب -22	*F. pseudograminearum*	0.008	0.21	33.34	0.391	24.84	4.44	0.064
ب -26	*F. graminearum*	0.191	2	11.12	0.249	12.84	3.44	0.018
ب -28	*F. graminearum*	0.856	5.27	100	0.356	3.90	3	0.008
ب -44	*F. graminearum*	0.039	0.79	88.89	0.298	21.42	4.33	0.038
ب -50	*F. graminearum*	0	0	0	0.055	25.47	4	0.044
ب -53	*F. graminearum*	0.009	0.25	100	0.290	27.13	3.90	0.036
ب -55	*F. graminearum*	0.205	3.24	100	0.278	17.25	3.60	0.022
ب -63	*F. graminearum*	0.001	0.09	11.12	0.255	25.56	4.33	0.048
ب -70	*F. graminearum*	0.073	1.30	100	0.258	19.98	4.11	0.034
ب -74	*F. graminearum*	0.031	0.56	88.89	0.240	21.93	3.70	0.035
ب -75	*F. graminearum*	0.130	1.03	88.89	0.056	12.24	3.22	0.019
ب -77	*F. graminearum*	0.024	0.95	44.45	0.233	26.32	4	0.044
LSD (0.05)		0.014	0.13	33.41	**	0.87	1.14	0.017

العزلة	النوع	شدة المرض	دليل الشراسة	نسبة الاصابة %	كمية السم µg/g	ارتفاع النبات (سم)	عدد الاوراق	الوزن الجاف (غم)
أن-76	*F. graminearum*	0.011	0.32	33.34	0.214	22.08	3.70	0.040
أن-71	*F. graminearum*	0.018	0.32	44.45	0.275	18.28	3.70	0.023
أن-65	*F. graminearum*	0.013	0.25	55.56	0.006	21.20	4.33	0.036
أن-52	*F. graminearum*	0.150	1.65	88.89	0.494	8.77	2.70	0.015
أن-41	*F. graminearum*	0.309	2.92	100	0.287	10.37	2.70	0.010
أن-86	*F. graminearum*	0.001	0.04	33.33	0.026	26.15	4	0.034
أن-96	*F. graminearum*	0	0	0	0.027	26.69	4.11	0.055
و-97	*F. graminearum*	0	0	0	0.007	19.49	4.11	0.031
و-B4	*F. pseudograminearum*	0	0	0	0.002	30.37	4.60	0.094
و-78	*F. pseudograminearum*	0.074	2.11	100	0.226	28.45	5	0.086
و - 58	*F. graminearum*	0.007	0.15	100	0.250	24.22	4	0.045
و - 59	*F. graminearum*	0.176	1.52	88.89	0.438	19.88	3.33	0.031
و - 40	*F. graminearum*	0.060	1.12	88.89	0.295	22.54	4.44	0.040
و - 29	*F. graminearum*	0.252	1.32	100	0.320	12.04	3.33	0.016
و - 5	*F. graminearum*	0.012	0.23	11.11	0.275	21.19	4.11	0.040
و - 11	*F. graminearum*	0.020	0.51	66.78	0.477	23.23	4	0.031
و - 27	*F. graminearum*	0.024	0.45	88.89	0.250	19.58	3.80	0.028
و - 25	*F. graminearum*	0.001	0.01	11.12	0.055	27.85	4	0.053
ك2-79	*F. graminearum*	0.004	0.10	44.45	0.024	26.17	4	0.045
ك2-81	*F. graminearum*	0.030	0.53	88.89	0.083	18.47	3.90	0.024
ك2-15	*F. graminearum*	0	0	0	0.012	27.01	4	0.045
ك2-159	*F. graminearum*	0	0	0	0.018	28.38	4	0.044
ن-19	*F. graminearum*	0.002	0.04	44.45	0.274	26.80	4	0.051
ن - 38	*F. graminearum*	0.001	0.01	11.12	0.075	28.28	4	0.054
ن - 60	*F. graminearum*	0.011	0.32	55.56	0.244	30.27	4.11	0.061
ن - 61	*F. graminearum*	0.143	2.34	88.89	0.226	17.03	3	0.011
ن-83	*F. graminearum*	0.022	0.44	44.45	0.219	21.26	3.90	0.039
ن-142	*F. graminearum*	0.001	0.07	22.23	0.050	25.32	4.33	0.044
ن-157	*F. graminearum*	0.265	5.67	100	0.255	15.55	3.17	0.020
LSD (0.05)		0.014	0.13	33.41	**	0.87	1.14	0.017

مع معاملة القياس (من دون اية اضافة) التي بلغ فيها معدل الوزن الجاف 0.055 غم، وبلغ معدل الوزن الجاف 0.008 غم في معاملة العزلة 28، ومن دون اختلاف معنوي عن العزلات 42 و41 و61 و98 و151 و52 و36 و29 و88 و117 و26 و75 و157 و90 و55 و71 و18 و81 و21 التي بلغ فيها معدل الوزن الجاف 0.009 و0.010 و0.011 و0.012 و0.014 و0.015 و0.016 و0.016 و0.017 و0.018 و0.018 و0.019 و0.020 و0.021 و0.022 و0.023 و0.023 و0.024 و0.024 غم على التوالي، وبفارق معنوي واضح عن معاملة القياس، ولم تظهر فروق احصائية في صفة الوزن الجاف لبادرات القمح إذ بلغت 0.025 و0.038 غم في معاملات العزلات 34 و44 بالتتابع، وقد اشارت النتائج إلى عدم وجود اي فروق معنوية بين معاملة القياس وباقي المعاملات باستثناء العزلات 78 و B4 التي بلغ فيها معدل الوزن الجاف 0.086 و0.094 غم على التوالي وبفرق معنوي عن معاملة القياس.

المصادر

1. Ahmed, A. 2010. The Biological Role of *Fusarium graminearum* Mycotoxin. Ph.D. Thesis. University of Göttingen, Germany. p. 120.

2. Akinsanmi, O. A., V. Mitter, S. Simpfendorfer, D. Backhouse and S. Chakraborty. 2004. Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. Isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. Australian Journal of Agricultural Research. 55: 97-107.

3. Aleandri, M. P., P. Magro and G. Chilosi. 2007. Modulation of host pH during the wheat *Fusarium culmorum* interaction and its influence on the production and activity of pectolytic enzymes. Plant Pathology. 56: 517-525.

4. Al-Moussawi, M. N. 2009. First strategic Report of wheat crop in the world. Library and Archives- Baghdad. College of Agriculture – University of Kufa. Page III.

5. Al-Shawa, F. 2001. Arab Center experience in the field of supplementary irrigation in the Arab world. Journal of Agriculture and Watering Dry Areas of the Arab world .League of Arab States. 21: 45-62.

6. Balali, G. R. and M. Iranpoor. 2006. Identification and genetic variation of Fusarium species in Isfahan, Iran, using Pectic Zymogram Technique. Iranian J. of Science and Technology. 30 (1): 91-102.

7. Bovill, W. D. 2007. Identification, Validation, and Pyramiding of Quantitative Trait Loci for Tesistance to Crown Rot In Wheat. A thesis. The University of Southern Queensland.

8. Burlakoti, R. R., R. J. Estrada, V. V. Rivera, A. Boddeda, G. A. Secor and T. B. Adhikari. 2007. Real-time PCR quantification and mycotoxin produc- tion of *Fusarium graminearum*in wheat inoculated with isolates collected from potato, sugar beet, and wheat. Phytopathology. 97: 835- 841.

9. Cardoza, R. E., M. G. Malmierca, M. R. Hermosa, N. J.Alexander, S. P. McCormick, R. H. Proctor, A. M. Tijerino, A. Rumbero, E. Monte and S. Gutie´rrez1. 2011. Identification of Loci and Functional Characterization of Trichothecene Biosynthesis Genes in Filamentous Fungi of the Genus *Trichoderma*. Applied and environme- ntal microbiology. P. 4867-4877.

10. Central Bureau of Statistics. 2011.Republic of Iraq

11. Cook, R. J. 2010. Fusarium root, crown, and foot rots and associated seedling diseases. In: Bockus, W. W., R. L. Bowden, R. M. Hunger, W. L. Morrill, T. D. Murray, R. W. Smiley (Eds), Compendium of wheat diseases and pests. 3rd edition. The Pennsy- lvania State University Press, University Park, MN, USA, p. 37-39.

12. Demcey Johnson, D., G. K. Flaskerud, R. D. Taylor and V. Satyanarayana. 2003. Quantifying Economic Impacts of Fusarium Head Blight in Wheat. Pp. 461- 483. In: Fusarium Head Blight of Wheat and Barley. Leonard, K. J. and W.R. Bushnell (eds.). Am. Phytopath. Society . St. Paul, MN.

13. Desmond, O. J., J. M. Manners, A. E. Stephens, D. J. Maclean, P. M. Schenk, D. M. Gardiner, A. L. Munn, K. Kazan. 2008. The Fusarium mycotoxin deoxynivalenol elicits hydrogen peroxide production, programmed cell death and defense responses in wheat. Molecular Plant Pathology. 9: 435-445.

14. Dubin, H. J. and E. Duveiller. 2000. Helminthosporium leaf blights of wheat:

integrated control and prospects for future proceeding of the Internation conference on Integrated plant Disease Management for sustainable Agricul- ture, New Delhi, India. 1: 575-579.

15. Lev-Yadun, S., A. Gopher and S. Abbo. 2000. The cradle of agriculture. Science. 288: 1602-1603.

16. Manning, B., R., Southwell, P. Hayman and K. Moore. 2000. Fusarium head blight In northern. NSW. Agriculture Research Update. New South. Wales.

17. Mitter, V., M. C. Zhang, C. J. Liu, R. Ghosh, M. Ghosh and S. Chakraborty. 2006. A high-throughput glasshouse bioassay to detect crown rot resistance in wheat germplasm. Plant Pathology. 55: 433-441.

18. Moya, E. A. 2010. Distribution and Interaction of Fusarium Crown Rot and Common Root Rot Pathogens of Wheat in Montana and Development of an Integrated Management Program For Fusarium Crown Rot. A thesis. Montana State University.

19. Mudge, A. M., R. Dill-Macky, Y. Dong, D. M. Gardiner, R. G. White and J. M. Manners. 2007. A role for the mycotoxin deoxynivalenol in stem colonization during crown rot disease of wheat caused by *Fusarium graminearum* and *Fusarium pseudora- minearum*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 69 (1): 73-85.

20. Muthomi, J. W., E. C. Oerke, H. W. Dehne and E. W. Mutitu. 2002. Susceptibility of Kenyan wheat varieties to Head Blight, fungal invasion and deoxynivalenol accumula- tion inoculated with *Fusarium graminearum*. Journal of Phytopat- hology. 150: 30-36.

21. Naeb, R., O.Yahyaoui and Ahmed al-Ahmad al-active and Melody. 2002. Field survey for the commonroot rotdiseaseon wheat and barley in the provinces of Aleppo and Idlib (northern Syria). Journal of Plant Protection Arabic .20: 131-136.

22. Paulitz, T. C., R. W. Smiley and R. J. Cook. 2002. Insight into the prevalence and management of soil borne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, U.S.A. Canadian Journal of Plant Pathology. 24: 416-428.

23. Rocha, O., K. Ansari, and M. Doohan. 2005. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review, Food Addit. Contam. 22 (4): 369-78.

24. Shaner, G. E. 2003. Epidemiology of Fusarium head blight of small grain cereals in North America. Pages 84-119 in: Fusarium Head Blight of Wheat and Barley. Leonard, K. J. and W.R. Bushnell. Eds. APS Press.

25. Smiley, R. W., J. A. Gourlie, S. A. Easley, L. M. Patterson and R.G. Whittaker. 2005. Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. Plant Disease. 89: 595-604.

26. Strausbaugh, C. A., K. Overturf, and A. C. Koehn. 2005. Pathogenicity and real-time PCR detection of *Fusarium* spp. In wheat and barley roots. Canadian Journal of Plant Pathology. 27: 430-438.

27. Wang, H., S. F. Hwang, F., Eudes, K. F. Chang, R. J. Howard and G. D. Turnbull. 2006. Trichothecenes and aggressiveness of *Fusarium gramine- arum* causing seedling blight and root rot in cereals. Plant Pathology. 55: 224-230.