دراسة تأثير بعض أنواع البكتريا المحفزة لنمو النبات (PGPR) في تثبيط الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersica* مخبرياً

شادي عقيل(1)*

(1). كلية الزراعة الثانية بالسويداء، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

(*للمراسلة: د. شادي عقيل، البريد الإلكتروني: shadi78136@hotmail.com).

تاريخ الاستلام:2022/05/28 تاريخ القبول:2023/04/10

الملخص

هدف البحث إلى اختبار تأثير ثلاث عزلات من البكتيريا المحفزة للنمو *Frateuria aurantia* و*Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium leguminosarum* في تثبيط نمو عزلتين (F5 و F6) من الفطر الممرض *Fusarium oxysporum*, أعطت العزلة البكتيرية (Fra)*F.aurantia*أعلى نسبة تثبيط لنمو عزلتي الفطر بنسبة 60.33 %و48.23 %، تلتها العزلة *P.fluorescens* بنسبة تثبيط 41.25 % و28.86 % ، ثم العزلة *R.leguminosarum* بنسبة 31.76 % و 22.35 % ، على التوالي أظهرت النتائج أيضاً أن المنتجات المتطايرة للعزلات البكتيرية المدروسة كان لها تأثير في تثبيط نمو عزلتي الفطر *F.oxysporum*.حيث حققت العزلة Fraأعلى نسبة تثبيط للفطر (17.77 %) على عزلة F5، مع عدم وجود فروق معنوية مع المعاملة (Ps)*P.fluorescens*+(F5)*F.oxysporum*(17.18 %)،كما تفوقت العزلة البكتيرية *F.aurantia* معنوياً على المعاملات المدروسة كافة, إذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط نمو عزلة الفطر F6(28,02 %).

الكلمات المفتاحية: *Frateuria aurantia*, *Pseudomonas fluorescens*، *Rhizobium leguminosaru*، *Fusarium oxysporum*، تثبيط النمو.

المقدمة:

يشكل استخدام المبيدات العشوائي خطورة على البيئة وصحة الإنسان، بالإضافة إلى احتمال حدوث تطور للمقاومة لها عند بعض الآفات (Deliopoulos*et al*., 2010)، ويعد التوجه نحو المكافحة الحيوية من الإجراءات الهادفة لترشيد استخدام المبيدات، إذ أظهرت مجموعة متنوعة من الكائنات الحية الدقيقة فعالية جيدة في مكافحة ممرضات نباتية من ساكنات التربة، ومنها مرض ذبول الفيوزاريوم(Dubey*etal*., 2007).

يهاجم الفطر المسبب لمرض الذبول الفيوزاري F. oxysporum المجموع الجذري لنبات العائل حيث تدخل هيفات الفطر إلى نسيج العائل من خلال الجروح أو الخدوش وينمو الغزل الفطري في نسيج القشرة بين الخلايا ومنها إلى الأوعية الخشبية، حيث يتمركز داخل الأوعية الخشبية وينمو فيها بصورة جهازيه. تظهر أعراض الذبول في البداية على شكل اصفرار الأوراق السفلية ثم ذبول النبات بشكل كامل وموته (Lucas,1998).إن إتباع الإجراءات الزراعية الصحية للسيطرة على مسببات الأمراض المنقولة عن طريق التربة كحرق البقايا النباتية وتطهير أدوات الخدمة يقلل من الإصابة بالمرض (Ajilogba and Babalola ,2013).

تعد منطقة حول الجذور منطقة غنية جداً بالمواد العضوية، وهي مفعمة بالنشاط البكتيري نظراً لوجود الجذور النباتية التي بدورها

تقوم بعمليات الامتصاص والتخزين، ويخلق هذا الوجود نوعاً من التنافس بين هذه الكائنات على المواد الغذائية، والتضاد من خلال إنتاج مواد و أنزيمات قادرة على تثبيط نمو الأحياء الأخرى بآليات معينة حسب إمكانيات كل (Ozkoc, 2012).عرف الباحثين البكتيريا (PGPRs) بأنها مجموعة متعددة من البكتيريا الموجودة في منطقة المحيط الجذريللنبات وعلى سطح الجذور وترتبط معها بعلاقة تكافلية, وتعمل على تحفيز نوعي وكمي لنمو النبات بشكل مباشر أو غير مباشر وبالتالي زيادة نمو النبات, وتبين في العقود الأخيرة وجود أجناس بكتيرية متعددة محفزة لنمو النبات مثل الأجناس: *Pseudomonas, Azospirillum, Azotobacter, Klebsiella ,Enterobacter, Alcanes, Arthrobacter, Burkholderia, Bacillus,* Glick,)*Thiobacillus,Frankia,Acinetobacter, Agrobacterium, Bradyrhizobium, Rhizobium ,Serratia,* 2014;Vessey, 2003).للبكتيريا المحفزة للنمو تأثير مباشر من خلال تزويد النبات بمواد محفزة لنموه أو عن طريق تسهيل امتصاص النبات للمواد الموجودة في التربة، وتأثير غير مباشر لبكتيريا الـ PGPR من خلال الحد من تأثير الممرضات النباتية إذ تقوم بإنتاج أو تغيير تركيز منظمات النمو مثل (الأوكسينات والجبرلينات والسايتوكينينات والاثيلين) التي تساعد في إنبات البذور، وزيادة حجم الخلايا وانقسامها وتمايز الأنسجة ونضج الثمار, كما تحفز نمو المجموع الجذري ما ينعكس على زيادة امتصاص المغذيات من التربة، وبالتالي زيادة نمو النبات وإنتاجه (Arshad and Frankenberger, 1998 ;Ortiz Castro *et al*., 2008 ; Nihorimbere, *et al*., 2011 ;Figueiredo*et al*., 2016 ; Khan *et al*., 2016 ;Selvakumar*et al*., 2016 ; Meena*et al*., 2018).بينت الدراسات أن التثبيت الحيوي للآزوت الجوي يتم عن طريق البكتيريا المثبتة للآزوت التي تتبع مجموعتين: الأولى تعيش تكافلياً ضمن جذور النباتات البقولية بتشكيل العقد الجذرية الآزوتية مثل الأنواع التابعة للجنس *Rhizobium*،والأنواع التابعة للجنس *Frankia* التي تشكل علاقة تكافلية مع النباتات غير البقولية، والمجموعة الثانية هي البكتيريا الحرة المثبتة للآزوت دون ارتباطها بالنبات بشكل مباشر, والتي تزيد من نمو وإنتاج النباتات مثل: *Azospirillum, Azotobacter, Burkholderia, Herbaspirillum, Bacillus, Paenibacillus*.(Obersone*t al*., 2013 ; Verma*et al*., 2013 ; Miao *et al*., 2014 ; Sivasakthi*et al*., 2014 ; Gupta *et al*., 2015), ولتحفيز مقاومة النبات للممرضات يجب أن تكون بكتيريا(PGPR) قادرة على النمو والتكاثر في منطقة المحيط الجذري للنبات بكفاءة عالية (Weller, 1988 ; Parke, 1990), وذلك عن طريقانتاج مضادات حيوية Antibiotics، وهي مركبات عضوية منخفضة الوزن الجزيئي تؤثر في نمو الكائنات الحية الدقيقة وعملياتها الاستقلابية, والتي تمنع نمو الكائنات الممرضة للنبات(Glick, *et al*., 2007)،إفراز غاز السيانيد (Keel, *et al*., 1989), الذي يلعب دوراً هاماً في المقاومة الحيوية للأمراض الفطرية (Flaishman, *et al*. 1996 ; Ramette*et al*. 2003) والأعشاب (Kremer and Souissi, 2001) ونيماتودا العقد الجذرية (Siddiqui*et al*., 2006).وإنتاج مركبات الـ siderophores وهي مركبات ذات وزن جزيئي منخفض تحتوي على مجموعات قادرة على ربط الحديد بطريقة قابلة للعكس، وبالتالي تسهيل امتصاص الحديد من قبل النبات وهذه المواد لها نشاط تضاد حيوي(Valencia-Cantero*et al*., 2007).تقوم بكتيريا (PGPR) بإفراز الأنزيمات مثل (الكيتينازوالجلوكوناز) اللذين يلعبان دوراً هاماً في المكافحة الحيوية للفطريات الممرضة للنبات عن طريق منع اصطناع الجدر الخلوية للفطريات الممرضة للنبات (Chet *et al*., 1990; Kobayashi *et al*., 2002.). كما تقوم بكتيريا (PGPR) بتحفيز المقاومة الجهازية ضد المسببات المرضية (إجهاد حيوي) والحماية من الظروف البيئية غير الملائمة (إجهاد لاحيوي) (Aeron *et al*., 2011 ; Glick, 2014 ; Jha*et al*., 2011).تمت دراسة تأثير البكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR) كعوامل تحفيز للمقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance(ISR) ضد العديد من الممرضات ومنها الفطر *F. oxysporum*بالإضافة إلى تأثيرها التضاديتين أن العزلة

البكتيرية المحفزة للنمو *Pseudomonas* sp. قد ثبطت من نمو فطر الذبول الفيوزاريومي. وجد Mena-Violante(2007) وOlalde-Portugal(2007)، زيادة في ارتفاع نبات البندورة ووزن الثمار لدى النباتات المعاملة ببكتيريا *Bacillussubtitis* BEB-I3bs بالمقارنة مع الشاهد. كما أدت معاملة نباتات البندورة ببكتيريا *Azotobacterchroococcum* و *Pseudomonas putida* إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف للجذور والوزن الجاف للنبات, وزيادة في محتوى الأوراق من البوتاسيوم مع تفوق واضح على الشاهد لبكتريا *Azotobacterchrococcum*. بيّن Yangوآخرون(2009) أن بكتيريا PGPR تزيد من تحمل النبات للملوحة والجفاف, وتزيد من نسبة العناصر الغذائية المأخوذة من التربة فهي تقوم بتسهيل امتصاص العناصر المعدنية من التربة وتمنع الفقد منها , وبالتالي يقلل من الحاجة للتسميد المعدني ويحمي من حدوث تراكم للنترات والفوسفات في الترب الزراعية, ويقلل من العبء الاقتصادي على المزارع.درست القدرة الإمراضية لسلالتين من البكتيريا *P.fluorescens* PF15 والسلالة *Pseudomonasputida* PP27 للحماية من الإصابة بفطر الفيوازريوم على البندورة في ظروف حقلية ببيوت زراعية حيث أظهرت السلالة PF15 تثبيط للفطر بنسبة 47% في حين أن السلالة PP27 أظهرت نسبة تثبيط 10% فانخفضت نسبة الإصابة بالمرض بنسبة 7− 37% .(Boukerma,*et.al*,2017). وفي دراسة على سلالتين من البكتيريا (*Pseudomonas migulae* Pf014و Bs006 *Bacillus amyloliquefaciens*) وعلى الفطر الممرض Th003*Trichodermakoningiopsis* لمكافحة مرض ذبول الفيوزاريم على أحد أنواع العنب أظهرت الدراسة بأن سلالة الفطر الممرضTh003 قد خفضت الإصابة بنسبة 5% وزادت سلالتي البكتيريا المحصول بنسبة 48% (Díaz,*et.al.*, 2013). تم تحديد الأنشطة المضادة *B. Thuringiensis* *AS17 japonensis* و*AS18kurstaki* ضد مسبب الأمراض الفطرية *Fusarium oxysporumf*.sp حيث أظهرت النتائج بخفض نسبة الإصابة بالعامل الممرض وزيادة في طول النبات والإنتاج (Jiaheling ,*et.al*, 2016) . تم اختبار 17 سلالة من ثمانية أنواع من البكتيريا (*Burkholderi acepacia*، *Pseudomonas putida*، *Bacillus amyloliquefaciens*، *Bacillus atflrophaeus*، *Bacillusacterans*) ضد فطرالفيوزاريوم*Fusariums ambucinum* و *Fusarium oxysporum* و *Fusarium culmorum* على البطاطا ضمن أطباق بتري ,كان لجميع سلالات PGPR تأثيرات مثبطة على تطور نوع واحد أو أكثر من الأنواع الفطرية لوحظ أقوى فاعلية في سلالة B.*cepacia* OSU-7 مع نسبة تثبيط تراوحت من 35.33 − 47.37 ملم على طبق البتري (Recep*et.al.*,2009)

أهداف ومبررات البحث:

نتيجة للأضرار الكبيرة التي يسببها الفطر *Fusariumoxysporum* f. sp. *Lycopersica* في المحاصيل وإنتاجيتها، ونظراً للجهود المتزايدة لاستبدال استخدام المبيدات الكيميائية بطرائق بديلة صديقة للبيئة لها تأثير في الحد من الأضرار الناتجة عن الممرضات النباتية ،فقد هدفت هذه الدراسة إلى استخدام العامل الحيوي وهو ثلاث عزلات من البكتريا كأحد الاستراتيجيات المهمة في الحد من أضرار أمراض الذبول المتسبب عن الفطر *F. oxysporum* f. sp*Lycopersica*.

المواد و الطرائق

مكان تنفيذ البحث:

تم تنشيط العزلات البكتيرية التجارية والعزلة الموصفة للفطر المسبب لذبول البندورة في مخبر أبحاث وعلوم التربة بجامعة تشرين ، بينما أجريت القدرة التضادية في مخبر وقاية النبات في مديرية زراعة السويداء.

, كما تم أخذ العينات من حقول خضروات متوزعة في محافظة السويداء.

1-عزلاتالفطر *Fusarium oxysporum*: استخدمت عزلتان (F5, F6)المعزولة من نبات الكوسا وهي من العزلات الفطرية المعرفة والموصوفة من قبل (رزق, 2018).

2- تنشيط السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة:

استخدمت ثلاث عزلات بكتيرية تعود لأنواع بكتيرية مختلفة موصفة ومعرفة:

2-1- عزلة من(*Frateuria aurantia*): عزلة بكتيرية ميسرة للبوتاس معزولة محلياً وأخذت مباشرة من المستحضر التجاري (BIO-NPK/BHARPUR)،تمت تنميتها على البيئة المتخصصة بالبكتيريا الميسرة للبوتاس – Glocuse- Yeast Extract $CaCO_3$, ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28 °س لمدة ثلاثة أيام.

2-2- عزلة من بكتريا(*Pseudomonas fluorescens*):وهي عزلة بكتيرية ميسرة للفوسفور معزولة ومأخوذة مباشرة من المستحضر التجاري (BIO-NPK/BHARPUR)، تمت تنميتها على البيئة المتخصصة بالبكتيريا الميسرة للفوسفور Pikoviskaya,s Agar, ضمن أطباق بتري, ثم حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 33 °س لمدة ثلاثة أيام.

2-3- عزلة من بكتريا(*Rhizobium leguminosarum*) :وهي البكتريا المثبتة للآزوت الجوي معزولة ومعرفة (رزق, 2018) , تمت تنميتها على البيئة آجار مانيتول مستخلص الخميرة (YEMA), ضمن أطباق بتري, ثم حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 28 °سلمدة ثلاثة أيام.

3- تحضير اللقاح البكتيري:

حُضّر اللقاح البكتيري وفق بروتوكول مخبري باستخدام بيئة غذائية سائلة Tryptic Soy Broth (TSB)، وعبئ في زجاجات خاصة بتنمية البكتريا /BIOGEN سعة 2 ل تسمح بالتحريك وتأمين التهوية الملائمة للنمو, استخدمت وحدة تنمية لكل عزلة بكتيرية، لقحت البيئة السائلة بالعزلات بعد تنشيطها والحصول على مزارع حديثة، وضعت على هزاز بسرعة 100 دورة بالدقيقة وحضنت عند درجة حرارة 28°س درجة مئوية، لمدة 48 ساعة، تم استخدام شريحة العد Bürker لتقدير تركيز البكتيريا وضبطها في المعلق وفق التركيز المطلوب 10^8وحدة/مل.

4-المؤشرات المدروسة:

4-1- دراسة النشاط المضاد للبكتيريا ضد الفطر *Fusarium oxysporum*.

درس النشاط المضاد للعزلات البكتيرية الثلاثضد الفطر *Fusarium oxysporum*.وذلك حسب طريقة الزراعة الثنائية (Hoque*et al*., 2015)، إذ تم أخذ قرص بقطر 5 مم من مستعمرة فطرية بعمر ثمانية أيام، ووضعت في منتصف طبق بتري يحوي وسط PDA، و زرع 4 نقاط من اللقاح البكتيري على سطح البيئة بحيث تبعد عن قرص المستعمرة الفطرية 2 سم، أما في الشاهد فتم وضع القرص الفطري على مستنبت PDA بدون بكتيريا، وحضرت أربعة مكررات لكل معاملة،وتم التحضين عند 37°س لمدة سبعة أيام، وبعدها أخذ قطر نمو المستعمرة الفطرية، وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو بالمعادلة التالية (Islam*et al*., 2009):

نسبة تثبيط النمو(%) = (قطر المستعمرة في الشاهد – قطر المستعمرة في المعاملة/قطر المستعمرة في الشاهد)×100

4-2-دراسة تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* درس تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا المدروسة في نمو الفطر*Fusarium oxysporum*باستخدام طريقة الطبق المغلق. إذ تم أخذ 200 ميكروليتر من مستخلص

الخميرة (YEMA) يحوي على البكتيريا بتركيز 10^8(وحدة/مل)، ونشره على طبق بتري يحوي مستنبت YEMA، وتم تحضين البكتيريا عند 37°س لمدة 24 ساعة، وبعد ذلك وضع قرص من المستعمرة الفطرية قطره 5 مم في منتصف طبق بتري يحوي مستنبت PDA، ثم لصق الطبقان بالبارافيلم، أما الشاهد فلم يحتوي على البكتيريا، وحضرت أربعة مكررات لكل معاملة. تم التحضين لمدة خمسة أيام عند 25 س، ثم أخذ قطر نمو المستعمرة الفطرية (Hmissi*et al.*, 2011)، وتم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو بالمقارنة مع الشاهد حسب المعادلة المذكورة سابقاً.

5- تصميم البحث والتحليل الإحصائي:

استخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بإجراء 4 معاملات بواقع 4 مكررات لكل معاملة. حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstat-12, واختبار (One-way ANOVA) ومقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD1%واختبار Duncan's.

النتائج والمناقشة

1- دراسة النشاط المضاد للبكتيريا إزاء الفطر *Fusarium oxysporum.*

بينت نتائج التحليل الإحصائي من الجدول (1) أن العزلات البكتيرية استطاعت أن تحد من نمو عزلتي الفطر *Fusarium oxysporum.* بنسب مختلفة، وأظهرت النتائج أن العزلة البكتيرية *Frateuria aurantia* (Fra) تفوقت معنوياً على العزلين البكتيريتين الأخريين من حيث تأثيرها في نمو الفطر *Fusarium*، فقدأعطت أعلى نسبة تثبيط لنمو الفطر، تلتها العزلة *Pseudomonas fluorescens*،ثم العزلة *Rhizobium leguminosarum* ، بلغ متوسط النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر للمعاملتين F5+Fra و F6+Fra60,33% و 48,23%. وهذه النتائج تتوافق مع عدد من الباحثين من خلال تفوق العزلة (Fra على العزلتين الآخرتين السابقتين(Arfaoui*et al.*, 2005; El-Batanony*et al.*, 2007; Devi and Chhetry, 2014; Kumari and Khanna, 2014; Hoque*et al.*, 2015)

الجدول(1): متوسط قطر المستعمرة الفطرية (سم) والنسبة المئوية لتثبيط نمو عزلتي الفطر *Fusariumoxysporum*..بالعزلات البكتيرية المدروسة

المعاملات المدروسة	قطر المستعمرة الفطرية (سم)	% تثبيط نمو الفطر
F5+Rh	5.8^{c}	31.76^{d}
F5+Fra	3.2^{e}	60.33^{a}
F5+Ps	4.7^{d}	41.25^{c}
شاهد العزلة F5	8^{a}	0
F6+Rh	6.6^{b}	22.35^{f}
F6+Fra	4.4^{d}	48.23^{b}
F6+Ps	5.7^{c}	28.86^{e}
شاهد العزلة F6	8.5^{a}	0
المتوسط	5.06	38.79
LSD1%	0.45	5.34

يشير اختلاف الأحرف في الجدول إلى الفروق المعنوية بين المعاملات وتطابق الأحرف يشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات.

عند مقارنة قيمة فرق المتوسطات مع قيمة LSD .وبمقارنة تأثير العزلة البكتيرية Ps في عزلتي الفطر *Fusarium* تبين وجود تأثير معنوي لهذه البكتيريا في خفض نمو العزلة F5 إذ بلغت نسبة التثبيط 41.25 % بينما لم تتجاوز 28.86 %بالنسبة للعزلة F6, بينما بالنسبة للعزلةRh كانت نسبة التثبيط أعلى في العزلة F5إذ بلغت 31.76% مقابل 22.35% للعزلة F6 .كذلك بمقارنة

تأثير العزلة Fra تبين وجود فروق معنوية في خفض نمو العزلة F5إذ بلغت نسبة التثبيط 60.33% بينما لم تتجاوز نسبة التثبيط 48.23 % في نمو العزلة F6 .

دراسة تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا في نمو الفطر *Fusarium oxysporum*

أظهرت نتائج الجدول(2) أن المنتجات المتطايرة للعزلات البكتيرية المدروسةكان لها تأثيراً في الحد من نمو عزلتي الفطر *Fusarium oxysporum*.إذ خفضت من قطر المستعمرة الفطرية، وزادت النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر في المعاملات كافة بالمقارنة مع شاهدي العزلتين الفطريتين. وأظهرت النتائجبعدم وجود فروق معنوية بين المعاملة F5+Fraوالمعاملة F5+Psإذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر 17,77%كما تفوقت معاملة العزلة البكتيرية *Frateuria aurantia*مع العزلة الفطرية F6 معنوياً على المعاملات المدروسة كافة, إذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر 28,02 %, كما تبين النتائج تفوق العزلة البكتيرية *Frateuria aurantia* معنوياً على العزلتين الأخريين *Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium leguminosarum*في تثبيط ومنع نمو العزلتين الفطريتين المدروستين. وهذه النتائج تتوافق مع عدد من الباحثين (Arfaouiet *al*., 2006; Hmssiet *al*., 2011; Kumari and Khanna, 2014).في حين لم يكن للعزلة F5+Rh أي تأثير معنوياً على تثبيط الفطر مقارنة مع الشاهد.

الجدول(2): متوسط قطر المستعمرة (سم) والنسبة المئوية لتثبيط نمو عزلتي الفطر بالمواد الطيارة للعزلات المدروسة *Fusarium oxysporum*

المعاملات المدروسة	قطر المستعمرة الفطرية (سم)	% تثبيط نمو الفطر
F5+Rh	4.5[a]	1.31[e]
F5+Fra	3.7[b]	17.77[b]
F5+Ps	3.76[b]	17.18[b]
شاهد العزلة F5	4.56[a]	0
F6+Rh	4.5[a]	6.25[c]
F6+Fra	3.46[c]	28.02[a]
F6+Ps	4.63[a]	3.41[d]
شاهد العزلة F6	4.8[a]	0
المتوسط	4.09	12.32
LSD1%	0.27	2.26

يشير اختلاف الأحرف في الجدول إلى الفروق المعنوية بين المعاملات وتطابق الأحرف يشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مقارنة قيمة فرق المتوسطات مع قيمة LSD.

بمقارنة تأثير العزلة Rh في نمو عزلتي الفطر تبين وجود فروق معنوية إذ كانت نسبة التثبيط أعلى على العزلة F6 حيث بلغت 6.25 % بينما لم تتجاوز 1.31 % .كذلك كانت الفروق معنوية في تأثير العزلة البكتيرية Fra حيث أعطت أعلى نسبة تثبيط على عزلة الفطر F6 بنسبة 28.02 % مقابل نسبة 17.77 % على عزلة الفطر F5 كذلك تبين وجود فروق معنوية في تأثير عزلة البكتيريا Ps حيث أعطت أعلى نسبة تثبيط في نمو عزلة الفطر F5 وبلغت 17.18 % بينما كانت نسبة التثبيط 3.41 % على عزلة الفطر F6. حيث أشارت دراسات سابقة أن البكتيريا المحفزة لنمو الجذور *Frateuria aurantia* و *Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium leguminosarum* قادرة على تثبيط نمو العديد من الفطور بإفرازها مواد طيارة من ضمنها غاز السيانيد HCN (Arfaouiet *al*., 2006; Hmssiet *al*., 2011). حيث يعد غاز السيانيد من المنتجات الثانوية لعديد من الكائنات الحية الدقيقة, وقد وجد له تأثير في الممرضات الحيوية (Deshwalet *al*., 2013).

5 – الاستنتاجات والتوصيات :

1- ثبطت العزلات البكتيرية المدروسة نمو الفطر *Fusarium oxysporum* بنسب مختلفة, وحدت من نموه على أطباق البتري نتيجة لمفرزاتها.

2- تفوقت العزلة البكتيرية *Frateuria aurantia* معنوياً على العزلتين البكتيريتين الأخريين *Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium leguminosarum* في تثبيط نمو المستعمرات الفطرية للفطر *Fusarium oxysporum* على البيئة الغذائية PDA.

3- ينصح بدراسة أوسع وأشمل لتأثير البكتريا المحفزة للنمو على النبات بعد إمراضه بالفطر *Fusarium oxysporum* spp.

المراجع:

رزق, بشرى.(2018).أثر العوامل الإحيائية وفطر الميكورايزا على نمو فطر الفيوزاريوم *Fusariumoxysporum* على البندورة في الزراعة المحمية , رسالة ماجستير, جامعة تشرين ,91 صفحة.

Aeron, A.; Kumar, S.;Pandey, P.;andMaheshwari, D. K (2011).Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiology. In D. K. Maheshwari (Ed.), Bacteria in agrobiology: Crop ecosystems (pp. 1–36). *Springer Berlin Heidelberg.* doi:10.1007/978-3-642-18357-7_1.

Ajilogba, C.F.; and O.O. Babalola (2013). Integrated management strategies for tomato Fusarium Wilt. Biocontrol Science. 18(3): 117－127.

Arfaoui, A.;Sifi, B.; El Hassan, M.;Boudabbous, A.;andCherif, M., (2005). Biochemical analysis of protection against Fusarium wilt afforded by two Rhizobium isolates. Plant Pathology Journal, Vol. 4, No. 1, 35-42

Arfaoui, A.;Sifi, B.;Boudabous, A.;Elhadrami, I.; and M.Cherif (2006). Identification of *Rhizobium* isolates possessing antagonistic activity against *Fusarium oxysporumf*.sp. ciceris, the causal agent of Fusarium wilt of chick. Journal of Plant Pathology. 88 (1): 67-75.

Arshad, M.;andFrankenberger, W. T (1998). Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: *Microbial production and functions. Advances in Agronomy*, 62, 46–152.

Boukerma L.;Benchabane M.;Charif A.;andKhélifi L (2017): Activity of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) in the biocontrol of tomato Fusarium wilt. Plant Protect. Sci., 53: 78–84.

Deliopoulos,T.; P.S.Kettlewell.;andM.C. Hare(2010).Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. Crop Protection , 29:1059-1075.

Deshwal, V.;Pandy, P.; Kang, S.; And Masheshwari, D (20013). Rhizobia as a biological control agent against soil borne plant pathogenic fungi. *Indian journal of experimental biology*, Vol. 41, 1160-1164.

Devi, T.; And Chhetry, G (2014). Evaluation Of Rhizobium And Biopesticides against *Fusarium* Wilt of Pigeonpea. International Journal of Innovative Research and Development, Vol. 3, No. 7, 245-249

Díaz, A.; Smith, A.; Mesa, P.; Zapata, J.; Caviedes, D. and Cotes, A.M. (2013). Control of Fusarium wilt in cape gooseberry by *Trichoderma koningiopsis* and PGPR. Biological Control Laboratory, Biotechnology and Bioindustry Center - Corpoica, km 14 vía Bogotá.

Dubey,S.C,M. Suresh, and B. Singh(2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum*f. sp. *ciceris*for integrated management of chickpea wilt.Science Direct, Biological Control, 40:118–127.

El-Batanony, N. H.;Massoud, O. N.;Mazen, M. M. and Abd El –MOMUM, M. M (2007). The inhibitory effects of cultural filtrates of some wild *Rhizobium* spp. on some faba bean root rot pathogen and their antimicrobial synergetic effect when combined with Arbusclar mycorrhiza (Am).World Journal of Agricultral Sciences, Vol 3, No. 6, 721-730

Figueiredo MVB.;BonifacioA.;Rodrigues AC.;Araujo FF (2016). Plant growth-promoting rhizobacteria: key mechanisms of action. In: Choudhary DK, Varma A (eds) Microbial-mediated induced systemic resistance in plants. *Springer Science + Business Media, Singapore*,pp 23–37.

Flaishman MA.;Eyal Z, Zilberstein A.;Voisard C.; Haas D (1996). Suppression of septoriatritici blotch and leaf rust of wheat by recombinant cyanide-producing strains of Pseudomonas putida, Molecular Plant-Microbe Interactions. 9(7):642-645.

Glick BR.; Cheng Z.;Czarny J.;Duan J (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Europian Journal Plant Pathology*. 119:329-39.

Glick, B. R (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to *feed the world. Microbiological Research*, 169, 30–39. doi:/10.1016/j.micres.2013.09.009.*gloeosporioides*. Mol Plant-Microbe Interact 8: 398-406.

Gupta G.;Parihar SS.;Ahirwar NK.;Snehi SK.; Singh V (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J MicrobBiochemTechnol* 7:096–102

Hmissi,I.;S.Gargouri.;and B.Sifi (2011). .*Attempt of wheat protection against Fusarium culmorum using Rhizobium isolates*. Tunisian Journal of Plant Protection 6,2011, 75-86

Hoque, S.; Sultana, N.;Faruq, A. N.;Bhuiyan, M. Z. R.;and Islam, N (2015). In-vitro evaluation of selected bio-control agentsagainst foot and root rot pathogens of lentil. Scholarly Journal of Agricultural Science ,Vol, 5, No. 1, 8-15.

Jha, C. K., Aeron, A., Patel, B. V., Maheshwari, D. K., and Saraf, M .(2011).Enterobacter: Role in plant growth promotion Bacteria in agrobiology: Plant growth responses (pp. 159–182). Berlin: Springer Berlin Heidelberg.

Jiaheling Qi.;DaigoAiuchi.; Masayuki Tani.; Shin-ichiro Asano.; Masanori Koike (2016).Potential of Entomopathogenic Bacillus thuringiensis as Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Biological Control Agents for Tomato FusariumWilt.International Journal of Environmental and Agriculture Research (IJOEAR) ISSN:[2454-1850] [Vol-2, Issue-6,].

Keel C.;Voisard C.;Berling C.;KahrG.;andDéfago G (1989). Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA 0 under gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 79, 584–589. 10.1094/Phyto-79-584.

Khan AL.; Halo BA.;Elyassi A, Ali S.; Al-Hosni K.;Hussain J.; Al-Harrasi A.; and Lee IJ (2016). Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanumlycopersicum*. *Electron J Biotechnol* 21:58–64.

Kobayashi, D. Y.; Reedy, R. M.; Bick, J.;andOudemans, P. V (2002). Characterization of a chitinase gene from *Stenotrophomona smaltophilia* strain 34S1 and its involvement in biological control. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1047–1054.

Kremer RJ.;andSouissi T (2001). Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth, Current Microbiology. 43(3):182-186.

Kumari, S.;andKhanna, V (2014). Effect Of Antagonistic Rhizobacteria coinoculated with Mesorhizobiumciceris on control of fusarium wilt in chickpea (Cicerarietinum L.). African Journal of Microbiology Research,Vol. 8, No. 12, 1255-1265.

Lucas, J.A. 1998. Plant Pathology and Plant Pathogens. Blackwell Science Led. 3th ed. U.K. pp 274.

Meena, K. N.;Nayan Tara.; and Baljeet Singh Saharan (2018). Review on PGPR: An Alternative for Chemical Fertilizers to Promote Growth in *Aloe vera*Plants. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Volume 7 Number 03. P6.

Mena-Violante HG.;andOlalde-Portugal V (2007). Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis*BEB-13bs. Sci. Hortic. 113:103-106. prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst.* 94:391-398.

Miao G.;Jian-jiao Z.; En-tao W.;Qian C.; Jing X.;andJian-guang S (2014). Multiphasic characterization of a plant growth promoting bacterial strain, *Burkholderia*sp. 7016 and its effect on tomato growth in the field. *J IntegrAgric* 14:1855–1863

Nihorimbere V.;Ongena M.;Smargiassi M.; and Thonart P (2011). Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. Biotechnology, *Agronomy and Society and Environment*. 15(2):327-337

Oberson, A.;Frossard, E., Bühlmann, C., Mayer, J., Mäder, P ,.andLüscher, A. (2013). Nitrogen fixation and transfer in grassclover leys under organic and conventional cropping systems. Plant and Soil, 371, 237–255.

Ortiz Castro R, Valencia-Cantero E, Lopez-Bucio J. (2008). Plant growth promotion by *Bacillus megaterium* involvescytokinin signaling. *Plant Signal Behav* 3:263–265.

Ozkoc,I.,M.H. Deliveli(.2012). In vitro inhibition of the mycelial growth of Some root rot fungi by Rhizobium leguminosarum biovarphaseoli isolates. Turk J Biol,25:435-445.

Parke JL. (1990). Root colonization by indigenous and introduced microorganisms. N: the Rhizosphere and Plant Growth. DL Keister, and PB Gregan (Eds.) pp. 33-42, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Ramette A, Frapolli M, Defago G, Moenne-Loccoz Y. (2003). Phylogeny of HCN synthase-encoding hcnBC genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability, Molecular Plant- Microbe Interactions. 16(6):525-535.

Recep Kotan,Fikrettin SahinErkol, Demirc Cafera Eken.(2009). Biological control of the potato dry rot caused by Fusarium species using PGPR strains. Volume 50, Issue 2, August 2009, Pages 194-198

Selvakumar G, Bindu GH, Bhatt RM, Upreti KK, Paul AM, Asha A, Shweta K, Sharma M. (2016). Osmoto lerantcytokinin producing microbes enhance tomato growth in deficit irrigation conditions. *ProcNatlAcadSci, India*, Sect B Biol Sci. doi:10.1007/s40011-016-0766-3.

Siddiqui IA, Shaukat SS, Sheikh IH, Khan A.(2006). Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens*CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogynejavanica*I tomato, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 22(6):641-650.

Sivasakthi., S.; G. Usharani and P. Saranraj. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) *Pseudomnas fluorescens* and *Bacillus sbtils: A review. African*

Journal of Agriculture research. 9(16).8 pp. 1265-127742.Siddikee, M. A., Chauhan, P. S., Anandham, R., Han, G. H., and Sa,T. (2010). Isolation, characterization, and use for plantgrowth promotion under salt stress, of ACC deaminaseproducinghalotolerant bacteria derived from coastal soil. Journal of Microbiology and Biotechnology, 20,1577–1584.

Valencia-Cantero E, Hernández-Calderón E, Velázquez-Becerra C, Joel E, López-Meza A-CR, López-Bucio J. (2007). Role of dissimilatory fermentative iron-reducing bacteria in Fe uptake by common bean (Phaseolus vulgaris L.) plants grown in alkaline soil. Plant Soil 291:263–273.

Verma JP, Yadav J, Tiwari KN, Kumar A. (2013). Effect of indigenous *Mesorhizobium* spp. And plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (*Cicerarietinum* L.) under sustainable agriculture. *EcolEng*51:282–228

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571–586. doi:10.1023/A:1026037216893.

Weller D. (1988). Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*. 261:379-407.

Yang., Jungwook, Joseph W. Kloepper and Choong-Min Ryu. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Plant Science Conferences. *Plant Abiotic Stress Tolerance ,Vienna, Austria* p4.

Study the effect of some species of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in inhibition *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersica* invitro

Shadi hani akil [(1)*]

(1). Second Faculty of Agriculture, Damascus University, Seiwda, Syria.
(*Corresponding author: Dr. Shadi Akil. E-Mail: shadi78136@hotmail.com).

Received: 28/05/2022 Accepted:10/04/2023

Abstract

This research aimed to estimate the effect of three species of (PGPR)*Frateuria aurantia* (Fra), *Pseudomonas fluorescens* (Ps), and *Rhizobium leguminosarum* (Rh) in growth inhibition of two isolates of *Fusarium oxysporum*(F5and F6) . *Frateuria aurantia* showed the highest fungal growth inhibition with 60,33% and 48.23%, secondly *Pseudomonas fluorescens* isolatewith inhibition effect (41.25% and 28.86%), finally *Rhizobium leguminosarum* which reached (31.76% and 22.35%). results showed also that volatile products of studied bacterial spices had an inhibitory growth effect of both *F.oxysporum* isolates. Fra specie achieved the highest inhibition growth on F5 with ratio (17.77%), with no significant differences comparing by F5+Ps (17.18%), whereas *F. aurantia* significantly excelled at all experiment pilot, as inhibition growth of F6 isolate which reached to (28.02%) .

Keywords: Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)،growth inhibiting,*Fusarium oxysporum*.