مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
المجلد 41 العدد 3 (2025): 145 - 160

Damascus University Journal of Agricultural Sciences
Vo 41 No.3 (2025): 145 - 160

غربلة بعض العزلات بكتريا الرايزوبيوم (Mesorhizonium ciceri) المتحملة للمبيدات الفطرية وتقويم فاعليتها في التضاد لفطريات أعفان الذبول في المخبر

زاهر يونس حامدة *[1] زكريا عبدالكريم الناصر[2] عبدالنبي بشير[3]

[1*] طالب دكتوراه في قسم وقاية النبات، جامعة دمشق، كلية الزراعة
zaher.yones@damascusuniversity.edu.sy

[2] أستاذ دكتور في قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية

[3] أستاذ دكتور في قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية

الملخص:

أجرى البحث في مخابر قسم وقاية النبات– في كلية الزراعة، جامعة دمشق ، سورية للعامين 2021–2022 للحصول على عزلات معرفة وموصفة من بكتريا الرايزوبيوم (Mesorhizoniumciceri)المعزولة من العقد الجذرية من نباتات الحمص(.CicerarietinumL) من ثلاثة محافظات : ريف دمشق ودرعا والقنيطرة. وغربلتها تجاه المبيدات الفطرية المستخدمة في معاملة البذار (سبيرو و أنادول وفيتافلو). وتم تقويم الفاعلية التضادية لعزلات الرايزوبيوم المتوسطة الحساسية والمقاومة تجاه الفطريات أعفان الذبول :Fusarium solani و Fusarium oxysporum و Rhizoctonia solani في المخبر.

تم عزل 60 عزلة من بكتريا الرايزوبيوم (Mesorhizonium ciceri) من العقد الجذرية لنباتات الحمص . أظهرت النتائج أنّ 23 عزلة منها كانت حساسة جداً للمبيدات الفطرية الثلاثة المدروسة ، و13 و21 عزلة كانت متوسطة المقاومة ومقاومة للمبيدات المدروسة على الترتيب. وأظهرت العزلات البكترية متوسطة المقاومة والمقاومة للمبيدات تضاد متباين للفطريات الثلاثة وفقاً لعزلة الرايزوبيوم وباختلاف نوع الفطر. مهما يكن كان التأثير المثبط لعزلات الرايزوبيوم أعلى ما يمكن على الوسط المغذي للفطر F. solani وتلاه الفطر Rhizoctonia solani، ومتوسطة على فطر F. oxysporum. وأعطت العزلات البكترية Rf-GB,12 و DR-Lo,2 و Rf-Lo,4 و Q-MR,14 و DR-Lo,6 و DR –GB,20 أعطت تضاد عالي تجاه الفطريات الثلاثة دون فروق معنوية بينها.

الكلمات المفتاحية : فطريات، رايزوبيوم ، Mesorhizonium ciceri ،تضاد حيوي

تاريخ الايداع:28 /2023/3
تاريخ القبول:6 /2023/7

حقوق النشر: جامعة دمشق –سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص **CC BY-NC-SA 04**

Screening of some isolates of rhizobium bacteria (Mesorhizonium ciceri) that are tolerant to fungicides and evaluating their effectiveness in against wilt rot fungi in the laboratory.

Zaher Yones Hmda[1*] Zakaria Abdalkarimal- Naser [2] Abd Al-Nabi Bashir [3]

[1*]PHD. Student . Dept. of Plant Protraction, Faculty of Agriculture, Damascus University.
[2] Professor, Dept. of Plant Protraction, Faculty of Agriculture, Damascus University.
[3] Professor, Dept. of Plant Protraction, Faculty of Agriculture, Damascus University.

Received: 28/3/2023
Accepted:6/7/2023

Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

Abstract:

The research was conducted in the laboratories of the Plant Protection Department - Faculty of Agriculture, University of Damascus, for the years 2021-2022 to obtain defined and described isolates of the rhizobium bacterium (Mesorhizonium ciceri) isolated from the roots of chickpea plants (Cicer arietinum L.) from three governorates: Damascus and Daraa and Qunaytra, for screened against fungicides used in seed treatment (Spiro, Anadol and Vitaflo). The antagonistic activity of moderately sensitive and resistant Rhizobium isolates against wilt-rot fungi: Fusarium solani, Fusarium oxysporum, and Rhizoctonia solani was evaluated in the laboratory. Sixty isolates of the bacterium Rhizobium (Mesorhizonium ciceri) were isolated from the root nodules of chickpea plants. The results showed that 23 isolates were highly sensitive to the studied fungicides, 13 and 21 isolates were moderately resistant to the studied fungicides, respectively. The moderate and resistant bacterial isolates showed different antagonism to the three fungi according to the rhizobium isolate and the different type of fungus. However, the inhibitory effect of the rhizobium isolates was highest on F. solani, followed by Rhizoctonia solani, and moderate on F. oxysporum. The bacterial isolates Rf-GB,12, DR-Lo,2, Rf-Lo,4, Q-MR,14, DR-Lo,6 and DR -GB,20 gave high antagonism towards the three fungi without significant differences between them.

Key World : Rhizobium, Fungi, Mesorhizonium Ciceri, Antagonistic

المقدمة:

تُعد النباتات البقولية (Leguminaceae) من أقدم المحاصيل المعروفة لدى الإنسان حيث تحتل البقوليات المرتبة الأولى بين المحاصيل الأساسية في تغذية الإنسان والحيوان، فهي تعتبر مصدراً هاماً من مصادر البروتين والكالسيوم والكربوهيدرات (Abid وأخرون،2017). يعد الحمص Chickpea (Cicer arietinum L.) ثالث محصول بقولي بعد فول الصويا والفول من حيث المساحة المزروعة بالنباتات البقولية في جميع أنحاء العالم (czuchajowska, 1994). يزرع في 50 بلدا حول العالم بمساحة تقدر بـ 11.1 مليون هكتار وإنتاجية 9.8 مليون طن (FAO STAT, 2011). ذكر Singh وزملاؤه 2005 أن بذور الحمص (Cicer arietinum) تحتوي على 17.1% بروتين و5.3% دهون و61.2% كربوهيدرات و3.9% ألياف و2.7% معادن. يزرع الحمص في سورية بعلاً في مناطق الاستقرار الأولى، والثانية بالتناوب مع محصول القمح في الدورة الزراعية، ونادراً ما يزرع كمحصول مروي. إذ يثبت الأزوت في التربة، وبالتالي يزيد خصوبة التربة، خاصةً في المناطق الجافة والقليلة الأمطار (Varshney et al., 2009). حيث بلغت المساحة المزروعة به 71864 هكتار في عام 2020 بإنتاجية قدرها 63589 طن (المجموعة الإحصائية،2021). يتعرض هذا المحصول للعديد من المشاكل التي تحد من الإنتاجية وتؤثر بشكل كبير في نموه، إذ تهاجم بذور وجذور بادرات الحمص العديد من فطريات التربة التي تسبب أعفان البذور والجذور والسقوط المفاجئ من جنس Fusarium ومنها F. moniliforme و F. oxysporum f. sp. ciceris و F. solani (Dwivedi 1989 و Kotasthane et al. 1987; Kunwar et al. 1989)، وفطر Rhizoctonia solani (Chang et al., 2002 و Agrios,2005 و Youssef, et al., 2010). وتستخدم المبيدات الفطرية في معاملة بذار لحماية البذور والجذور من الممرضات التي تهاجمها (Zhou,2022).

توجد في تربة ريزوسفير جذور البقوليات عدد كبير من الميكروبات منها البكتريا والأكتينومايستس والفطريات والأشنيات التي تؤثر على الصفات الفيزيائية والكيميائية والحيوية للتربة (Gothwal و آخرون، 2008). ومن أهم أنواع البكتريا بكتريا الرايزوبيوم القادرة على تشكيل العقد الجذرية مع جذور النباتات البقولية، وهي هوائية سالبة صبغة الغرام تنتمي لرتبة Rhizobiales . وبكتريا الرايزوبيوم لها عدة أجناس Rhizobium و Mesorhizobium و Bradyrhizobium و Ensifer و Allorhizobium و Azorhizobium, . تم تعريف نوعين متخصصين في تشكيل العقد الجذرية مع نباتات الحمص وهما Mesorhizobium cicero Mesorhizobium mediterraneum (Nour, et al.,1994) .وتعيش بكتريا الرايزوبيوم بشكل رمي بالتربة ، أو تشكل عقد مع جذور النباتات البقولية (Gothwal و آخرون، 2008). وتثبت بكتريا الرايزوبيوم الأزوت الجوي بكميات كبيرة من خلال تعايشها مع جذور النباتات البقولية في العالم . وأي من العوامل التي تؤثر سلباً على نمو الرايزوبيوم سيخفض إنتاج الأزوت الحيوي . وهنالك العديد من العوامل التي تؤثر على نشاط بكتريا الرايزوبيوم: درجة الحموضة والحرارة والرطوبة وتوفر العناصر الغذائية في التربة، وإضافة المبيدات الفطرية إلى التربة (Hosam 1997). تضاف المبيدات الفطرية إلى التربة أو لمعاملة البذور لحماية البادرات وجذور النباتات من الفطريات. ذكرت العديد من الدراسات أن أضرارها قليلة على الرايزوبيوم ، وبعض الدراسات أثبتت تأثيراتها السلبية على نمو وتطور الرايزوبيوم وقدرتها على تشكيل العقد الجذرية وتثبيت النتروجين الحيوي (Hosam 1997). وجد Ahmed وآخرون (2007) أنّ المبيدان الفطريان Captan و Thiram (من مجموعة الدايثيوكاربميت العضوية) ثبطا نمو العزلات للجنسين Rhizobium و Bradyrhizobium في الوسط المغذي عند التراكيز المرتفعة أعلى من 500 ميكروغرام/مل وزاد التأثير المثبط بزيادة التركيز في حين التراكيز أقل من 100 ميكروغرام / مل لم تثبط نمو عزلات البكتريا لكلا الجنسين. أشار Cenap

وآخرون (2014) أنّ تأثير المبيدات الفطرية في نمو بكتريا الرايزوبيوم يعتمد على العزلة البكترية ونوع وتركيز المبيد المستخدم ، فقد وجد أنّ مبيدي الكربندازيم والمانكوزيب خفضا نمو عزلات الرايزوبيوم عند التركيز الموصى به في الحقل . ذكر محمد والناصر (2018) أنّ المبيد الفطري mancozeb ثبط بشكلٍ كبير نمو سلالات الرايزوبيوم المعزولة من الفول والعدس عند التركيز الموصى به. وجد حامده وآخرون (2020) تباين تأثير مبيدات الفطريات في تثبيط نمو بكتريا الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لنباتات الحمص، وفقاً لنوع وتركيب المبيد وتركيزه وعزلة الرايزوبيوم. حيث كان المبيدان الفطريان الكربندازيم ومانكوزيب أكثر تثبيطاً لنمو عزلات الرايزوبيوم المختبرة. وقد وجد Hamuda (2020) أنّ مبيدي الثيرام والمانكوزيب أعطيا تأثيرات سلبية متباينة على نمو عزلات من بكتريا الرايزوبيوم المعزولة من جذور نباتات الفول من مناطق مختلفة. حيث أعطى مبيد thiram متوسط تثبيط لنمو العزلة HB-3841 بنسبة 54% والعزلة Lóbab Z بنسبة 70.5%. بينما أعطى مبيد المانكوزيب تثبيط 57.1% للعزلة HB-3841 و 68.9% للعزلة Lóbab Z على الترتيب.

تعد الفطريات التابعة للأجناس .Fusarium sp و Rhizoctonia solani و من أهم مسببات الأمراض التي تسبب أعفان البذور وجذور النباتات وتسبب أمراض السقوط المفاجئ قبل وبعد الانبات بشكل عام ومنها النباتات البقولية (Agrios، 2005). أهم الطرق في مكافحة أمرض النبات استخدام المبيدات الفطرية، إلا أنّ أكثر المبيدات الفطرية لها سمية على الإنسان ولها تأثيرات سلبية على الكائنات غير المستهدفة والبيئة المحيطة بنا (Maloy, 1993). دفع هذا الباحثون إلى إيجاد بدائل آمنة على البيئة وصحة الإنسان في مكافحة أمراض النبات. ومنها استخدام المكافحة الحيوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة مثل استخدام بكتريا الرايزوبيوم التي تنمو في العقد الجذرية لنباتات البقولية بشكل تكافلي فقد ذكر العديد من الباحثين فاعلية الرايزوبيوم في المكافحة الحيوية للممرضات النبات إذ وجد أنّها تثبط العديد من فطريات التربة (Ozkoc و Deliveli ،2001) . فقد ذكر Arfaoui وآخرون (2006) أنّ بكتريا الرايزوبيوم تكافح العديد من مسببات أمراض النبات الموجودة بالتربة مثل Fusarium oxysporum . قد أثبت Übrahim (2001) أنّ عزلات الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية على الفاصولياء Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli كان لها تأثير تضاد متباين على فطريات التربة Fusarium oxysporum, Pythium ultimum, Rhizoctonia solani) وفقاً لعزلة الرايزوبيوم والفطر في الوسط المغذي. حيث أعطت تضاد عال لنمو فطري Fusarium oxysporum (29.75%) و Pythium ultimum (30.35%) وتضاد منخفض لفطر Rhizoctonia solani (16.03%). أشار Jensen و أخرون (2002) أنّ بكتريا الرايزوبيوم لها تضاد تجاه الفطريات. ذكر Alkaif و Matloob (2015) أنّ عزلات بكتريا الرايزوبيوم(Rhizobium leguminosarum biovar.viciae) المعزولة من نبات الفول سببت تثبيط معنوي لنمو مشيجة الفطريات الممرضة للنباتات (Rhizoctonia solani و Macrophomina phaseolina و Fusarium solani). إذ سببت نسب تثبيط تراوحت من 50–100% في الوسط المغذي. وجد Tamiruو Muleta (2018) أنّ عزلات الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لنبات الفول أعطت تضاد فطري لنمو فطر Fusarium solani تباين وفقا لنوع العزلة البكترية فقد أعطت العزلة(1) JU26 تضاد عالي (70.5%) ووالعزلة (4) JU2 تضاد متوسط (50%) والعزلة Ho5EG(11.7%) أعطت تضاد منخفض والعزلة Ho-1-1NG(0.0%) لم تعطي تضاد نهائي.

الهدف من الدراسة:

غربلة بعض عزلات بكتريا الرايزوبيوم (Mesorhizonium ciceri) المعزولة من العقد الذرية لنباتات الحمص المتحملة للمبيدات الفطرية وتقويم فاعليتها في التضاد لفطريات Fusarium solani ,Fusarium oxysporum و Rhizoctonia solani في المخبر.

المواد وطرائق البحث:

أُجري البحث في مخبر المبيدات في قسم وقاية النبات – كلية الزراعة بجامعة دمشق خلال عامي 2021– 2022.

عزل وتعريف بكتريا الرايزوبيوم (Rhizobium) من نبات الحمص (.Cicer arietinum L)

تم الحصول على العقد الجذرية من نباتات الحمص المزروعة في 60 حقل وهي 20 عزلة من محافظة درعا من الصنف البلدي العزلات (DR-Lo,1-10) وصنف غاب3 العزلات (DR –GB11-20) و20 عزلة من محافظة القنيطرة الصنف البلدي العزلات (Q-Lo,1-10) وصنف مراكشي العزلات (Q-MR11-20) و20 عزلة من محافظة ريف دمشق الصنف البلدي العزلات (Rf-Lo,1-10 وصنف غاب3 العزلات (Rf-GB,11-20) (اعتبرت من كل حقل عزلة) في عام 2021. تم قلع النباتات بالكامل من التربة المحيطة بالجذور لضمان عدم فقدان أجزاء من الجذر في التربة ووضعت في أكياس بولي ايتلين معقمة ونقلت إلى المخبر. تم غسيل جذور نباتات المجموعة كلاً على حدى بشكل جيد بالماء الجاري لإزالة التربة العالقة به، ثم فصلت العقد الجذرية التي تمايزت بكبر حجمها ولونها الوردي مع جزء صغير من الجذر المتصل بها وتغمر بالكحول الايثانولي 70% لمدة ثلاثة دقائق، بعدها تُغسل بالماء المعقم لإزالة آثار الكحول. ثم تم غمرها في محلول هيبوكلوريد الصوديوم (NaOCL) بنسبة 1:2 (حجم:حجم) لمدة 4 دقائق، ثم تغسل بالماء المقطر المعقم ثلاثة مرات متتالية لإزالة آثار المادة المعقمة. وضعت العقد الجذرية المعقمة على أوراق ترشيح معقمة لإزالة الماء العالق بها. وزرعت على سطح وسط الخميرة الصلب Yeast extract Mannitol Agar – YEMA (Vincent, 1970). تؤخذ العقد لكل نبات على حدا وتهرس مع قليل من وسط YEM السائل لعمل معلق بكتيري، ينقل من المعلق 0.1 مل وينشر على وسط YEM الصلب بطريقة التخطيط (Streaking) للحصول على مستعمرات مفردة (واعتبرت عزلة) بعد تحضينها 24– 48 ساعة بدرجة حرارة 28 س (Vincent، 1981). ثم عرفت مظهرياً ومجهرياً.

الاختبارات التشخيصية : بهدف تعريف عزلات الرايزوبيوم (Rhizobium) أجريت الاختبارات المهمة التالية وفقاً (Vincent, 1970,1981و Beck et al, 1993)، صبغة غرام ، اختبار النمو على وسط الخميرة (YEMA) واختبار النمو على وسط الكونغو الأحمر ووسط البراماثيمول الأزرق (Bromothymol Blue) واختبار الكتاليز وتميع الجيلاتين واختبار اليوريا. وبالتالي تم الحصول على عزلات من بكتريا الرايزوبيوم .

-الفطور المستخدمة بالدراسة:

تم الحصول على عزلات نقية ومعرفة لفطر Fusarium oxysporum المسبب لمرض الذبول الوعائي و Fusarium solani المسبب لعفن الجذور من جذور النباتات الحمص المصابة بالذبول من مخابر هيئة التقانة الحيوية وتم تأكيد تعريف الفطور في مخبر أمراض النبات في قسم وقاية النبات وفقا لصفات المزرعة والأبواغ الفطرية (Booth,1971,1984). وتم الحصول على عزلة نقية من فطر Rhizoctonia solani من مخابر هيئة التقانة الحيوية. تم إكثار الفطور بأخذ أقراص بقطر 5 مم من أطراف

المستعمرات الفطرية بعمر 3 أيام ووضعت في مركز أطباق بتري تحتوي على بيئة بطاطا دكستروز أجار(PDA) وتم تحضينها على درجة حرارة 2 ± 24 س°.

طريقة العمل:

– اختبار مقاومة عزلات بكتريا الرايزوبيوم للمبيدات الفطرية المستخدمة بمعاملة البذار:

المبيدات الفطرية المستخدمة، مانكوزيب(Mancozeb) مبيد كربماتي يعمل بالملامسة، الاسم التجاري ونسبة المادة الفعالة Anadoul WP 60%، معدل الاستخدام2 غ/1كغ بذور.

ديفيكونازول (Difenoconazole) مبيد من مجموعة التريازول جهازي، الاسم التجاري ونسبة المادة الفعالة 30% Spiro FS. معدل الاستخدام 1 مل/1 كغ بذور.

وفيتافلو (carboxin,15.59%+thiram%13.25) خليط من مركب كربماتي ملامسة (الثيرام) ومبيد جهازي من مجموعة كاربوكسين جهازي(كربوكسين) ، الاسم التجاري VitaFlo280 Red FS. معدل الاستخدام 2مل/ 1 كغ بذور.

لاختبار حساسية العزلات البكتريا الرايزوبيوم للمبيدات تم استخدام طريقة القياسية الانتشار بأقراص ورق الترشيح (Disc diffusion assay) ، والموصوفة من قبل (2003) Bauer et al, 1966 and NCCLS وتسمى أيضاً Bauer - Kirby method. وفقاً للخطوات التالية:

تحضير الوسط المغذي: استخدم الوسط المغذي الأكثر شيوعاً في مثل هذه التجارب مستخلص الخميرة مانيتول أجار (YEMA) الرايزوبيوم (Fred, et al., 1932). حيث عُقم الوسط المغذي وصُب بأطباق بتري بقطر 90 مم معقمة وبمعدل 20 مل لكل طبق بتري. يُترك الوسط المغذي حتى يتصلب على درجة حرارة المخبر. للتأكد من عدم تلوثها، حُضنت الأطباق لمدة 24 ساعة على درجة 37 س°.

طريقة العمل: استخدمت مبيدات الآفات بالتراكيز الموصى بها، حيث حُضرت المبيدات بالتراكيز الموصى به باستخدام الماء المعقم، وتم إضافة نقاط توين 20 للحصول على مستحلبات متجانسة. حُضرت مستعمرات الرايزوبيوم النقية من مزارع بعمر 48 ساعة على وسط مستخلص الخميرة مانيتول آجار. حُضرت معلقات البكتريا باستخدام الوسط المغذي المعقم (YEM) السائل من مستعمرات الرايزوبيوم السابقة في أنابيب زجاجية معقمة، حيث كان التركيز 10^8 خلية بكتريا/مل. ثم نشر 100 ميكرو ليتر لكل طبق من الوسط المغذي الصلب (YEMA) باستخدام ناشر زجاجي معقم على شكل حرف-L . بعد جفاف الأطباق استخدمت أوراق ترشيح معقمة بقطر 5 مم للاختبار. حيث غُمرت بشكل منفصل بالتراكيز الموصى بها من المبيدات. ووضعت الأقراص على سطح الأطباق (بمعدل قرصين على الطبق). وبمعدل 3 أطباق (مكرر) لكل معاملة. وفي معاملة الشاهد استخدمت أوراق ترشيح معاملة بالماء المعقم وتوين عشرين (شاهد). بعد ذلك تم إغلاق الأطباق باستخدام الورق الشمعي وحضنت عند درجة حرارة 28س° لمدة 48 ساعة. تم قياس السمية بقياس قطر هالة التثبيط للعزلة المختبرة. وتم حساب النسبة المئوية لتثبيط نمو البكتريا. واعتبرت العزلات التي كانت نسبة التثبيط فيها أكثر من 75% حساسة جداً للمبيد. والعزلات التي كانت نسبة التثبيط تتراوح بين 50–74% حساسة للمبيد. والعزلات التي كانت نسبة التثبيط تتراوح بين 26–49% متوسطة المقاومة للمبيد والعزلات التي كانت نسبة التثبيط تتراوح بين 0–25% مقاومة للمبيد.

– اختبار القدرة التضادية لعزلات الرايزوبيوم (Rhizobium) ضد الفطريات المختبرة :

تم تحضير الوسط YEM بشكل سائل في أنابيب اختبار (بعدد العزلات) وتم تعقيمها بالأوتوكلاف . تم تلقيح الأنابيب بالعزلات البكترية وحضنت على درجة حرارة 28 س^{o} لمدة 4 أيام حتى ظهور العُكارة. تم تحضير وسط مغذي خليط من بيئة البطاطا دكستروز أجار ومستخلص الخميرة بمعدل (1:1) وعُقمت بالأوتكلاف. تم صب الوسط المغذي في أطباق بتري معقمة بقطر 90 مم . بعد تصلب الوسط المغذي تم تلقيح الأطباق بالعزلات البكترية المحضرة مسبقاً بمعدل 0.1 مل نشرت على كامل سطح الطبق باستخدام ماصة باستور الزجاجية المعقمة تركت لمدة 1 ساعة حتى يستقر اللقاح. بعد ذلك تم عدوى الأطباق بأقراص من المزارع الفطرية المدروسة، حيث أخذ من حافة كل مستعمرة فطرية أقراص بقطر 5 مم باستخدام ثاقب الفلين، ومن ثم وضعت الأقراص في مركز الطبق الملقح سابقاً بالبكتريا وبمعدل ثلاثة مكررات لكل فطر وكل عزلة. وتم عدوى أطباق بتري تحوي الوسط المغذي بالفطريات دون تلقيحه بالعزلات البكتريا كمعاملة شاهد أيضاً بمعدل ثلاثة مكررات لكل فطر. ومن ثُم حضنت الأطباق على درجة حرارة 25 س^{o} لمدة 7 أيام ، حيث وصل نمو مشيجة الفطريات بأطباق الشاهد لحافة الطبق، بعدها تم قياس قطر نمو الفطريات في أطباق المعاملة وحُسبت نسبة التثبيط وفقاً للمعادلة: (Vincent،1947)

تثبيط نمو المشيجة (%) = قطر المستعمرة في الشاهد – قطر المستعمرة بوجود الرايزوبيوم × 100

قطر المستعمرة في الشاهد

- **التحليل الإحصائي:**

تم تحليل نتائج الاختبارات وفق برنامج التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SSPS20 ،حيث استخدم التصميم العشوائي التام Completely Randomized Design كما تم حساب قيمة أقل فرق معنوي (LSD) بمستوى معنوية 0.01.

النتائج والمناقشة:

أولاً – تعريف عزلات الرايزوبيوم:

بوبت نتائج الفحوصات المخبرية والتي شملت الاختبارات الحيوية والمظهرية للمستعمرات البكترية، المعزولة من جذور نباتات الحمص (صنف بلدي ومراكشي وغاب 3)، والمجموعة من محافظات درعا والقنيطرة وريف دمشق إنّ العزلات المستخدمة تعود لبكتريا الرايزوبيوم في جدول1. أظهرت جميع العزلات أنها تنتمي للنوع Mesorhizonium ciceri(Nour et al., 1994; Jarvis et al., 1997) وقد تم تأكيدها بمقارنتها بعزلات قياسية معرفة وموثقة مسبقاً (حامده وآخرون (2020)). يعد نبات الحمص ضيق المدى التكافلي ولا يتكافل نبات الحمص إلا مع هذا النوع من الرايزوبيوم أو مع أنواع أخرى تمتلك الطراز التكافلي نفسه الذي يمتلكه هذا النوع (Nour et al.,1994, 1995). إذ يلاحظ أنّ العزلات عصوية الشكل، والمستعمرات الجرثومية النامية على وسط خميرة المانيتول ذات شكل دائري محدب مخاطي بيضاء اللون، وسالبة لصبغة غرام. أظهر اختبار أحمر الكونغو أنّ المستعمرات الجرثومية لم تمتص صبغة الكونغو الحمراء وظهرت بلون أبيض. وقد تمكنت العزلات من تحويل لون الوسط المضاف له صبغة البروموثايمول من اللون الأخضر إلى اللون الأصفر وهذه الصفات تتطابق مع جنس الرايزوبيوم وتتوافق النتائج مع العديد من الباحثين (Vincent,1970 و1993, Beck et al و Nashwa, 2012 و Mansour و Deshwal, 2014 و Chaubey ومحمد والناصر (2018) وحامده(2020)) . وتم التاكيد على قدرتها بتشكيل عقد جذرية باستخدام الزراعة بالرمل المعقم ، وقد شكلت العزلات عقد جذرية نموذجية على النباتات الحمص في اختبار العدوى بالرمل المعقم.

جدول 1 : نتائج بعض الاختبارات الكيميائية الحيوية لعزلات الرايزوبيوم من الحمص

العزلة	النمو على وسط		تلون غرام	اختبارات تحلل				الكتالاز	أحمر الكونغو
	YEMA	BTB		السترات	النشأ	الجيلاتين	اليوريا		
عزلات درعا	ابيض مخاطية القوام	صفراء	سالب	سالب	سالب	سالب	موجب	موجب	سالب
عزلات القنيطرة	ابيض مخاطية القوام	صفراء	سالب	سالب	سالب	سالب	موجب	موجب	سالب
عزلات ريف دمشق	ابيض مخاطية القوام	صفراء	سالب	سالب	سالب	سالب	موجب	موجب	سالب

ثانياً– تأثير مبيدات الآفات في نمو عزلات الرايزوبيوم في الوسط المغذي (YEMA):

درست حساسة60 عزلة من بكتريا الرايزوبيوم (Mesorhizonium ciceri) المعزولة من العقد الجذرية من جذور نباتات الحمص المزروعة في محافظة درعا صنف بلدي العزلات (DR-Lo,1-10) وصنف غاب3 العزلات (DR –GB11-20) ومحافظة القنيطرة صنف بلدي العزلات (Q-Lo,1-10) وصنف مراكشي (Q-MR11-20) ومحافظة ريف دمشق صنف بلدي العزلات (Rf-Lo,1-10) وصنف غاب3 العزلات (Rf-GB,11-20) لثلاثة مبيدات فطرية Anadoul و Spiro و VitaFlo على الوسط المغذي بطريقة الانتشار بأقراص ورق الترشيح. أظهرت النتائج تباين حساسية عزلات الرايزوبيوم المختبرة للمبيدات الفطرية الثلاثة المدروسة وفقاً للعزلة البكترية والتركيب الكيميائي للمبيد. حيث كانت العزلات المجموعة من محافظة درعا لصنف بلدي العزلات (DR-Lo,1,4,5,9,10) وصنف غاب3 العزلات (DR –GB13,16) ومن محافظة القنيطرة لصنف بلدي العزلات (Q-Lo,2,8,9) وصنف مراكشي (Q-MR,11,16,18,19,20) ومن محافظة ريف دمشق لصنف بلدي العزلات (Rf-Lo,2,5,7,9,10) وصنف غاب3 العزلات (Rf-GB ,13,14,16) حساسة جداً للمبيدات الفطرية الثلاثة المدروسة. حيث تراوحت نسب تثبيط نمو بكتريا الرايزوبيوم بين 80 و 95% في الوسط المغذي . وكانت أكثر العزلات البكترية حساسية للمبيدات المعزولة من العقد الجذرية لنباتات الحمص صنفي البلدي والمراكشي. يمكن تفسير هذه النتائج كون الصنف غاب 3 من أصناف الحمص الأكثر شيوعاً وتداولاً في مناطق زراعة الحمص لصفاته الإنتاجية ومقاومته لمرض الأسكوكيتا وأغلب البذور تؤخذ من مؤسسة اكثار البذار التي تقوم بمعاملة بذار البقوليات بمبيدات الفطرية مثل سبيرو واندول والفيتافلو لمقاومة أمراض المجموع الخضري والجذري (اتصالات مع مؤسسة إكثار البذار)، وبالتالي نتيجة تكرار استعمال المبيدات ظهرت صفة المقاومة للمبيدات. في حين صنف الحمص البلدي نادراً تستخدم المبيدات الفطرية في معاملة بذوره حيث يتداول بين المزارعين وفقاً لصفات الجودة للبذور (تواصل مع الإرشاديات الزراعية). في حين صنف الحمص المراكشي يستخدم كصنف علفي أو لتسميد التربة ونادراً يستخدم صنف حبي، وبالتالي لا تعامل بذوره نهائياً بالمبيدات (تواصل مع المزارعين). وبالتالي أي استخدام للمبيدات في معاملة البذور يمكن أنّ يسبب تثبيط لهذه البكتريا. أعطى مبيد المانكوزيب أعلى تأثير سلبي في تثبيط نمو عزلات بكتريا الرايزوبيوم مقارنة مع التأثيرات السلبية لمبيدي سبيرو وفيتافلو. وبلغت أعلى نسبة تثبيط للعزلة Rf-Lo,6 (49.63%)، وأقل نسبة تثبيط للعزلة Q-Lo,2 (29.26%). تلاه في التأثيرات السلبية على عزلات الرايزوبيوم مبيد السبيرو وبفروق معنوية للعزلات Rf-Lo,1 و Rf-GB,11 و Rf-GB,17 و ظاهرية لباقي العزلات. وبلغت أعلى نسبة ثبيط للعزلة Rf-GB,17 (49.26%)، وأقل نسبة تثبيط للعزلة DR-Lo,2 (28.50%). في حين أعطى مبيد فيتافلو أقل تأثير سلبي في تثبيط نمو عزلات بكتريا الرايزوبيوم بفروق معنوية مع التأثيرات السلبية لمبيدي المانكوزيب وسبيرو لجميع العزلات المدروسة. وبلغت أعلى نسبة ثبيط للعزلة Q-Lo,3 (37.21%) و أقل نسبة تثبيط للعزلة Rf-

Lo,8 (25.16%).من جهة أخرى وجدت فروق معنوية بين العزلات في حساسيتها تجاه المبيدات الثلاثة المختبرة . حيث أظهرت العزلات Rf-Lo,6 و Rf-GB,17 و Q-Lo,3 و Q-Lo,6 أعلى نسب تثبيط في النمو دون فروق معنوية في حساسيتها تجاه المبيدات الثلاثة المختبرة. وأعطت العزلات Rf-Lo,8 و Q-MR,13 و DR-Lo,2 و DR –GB12 أقل نسب تثبيط دون فروق معنوية في حساسيتها تجاه المبيدات الثلاثة المختبرة. كما أظهرت النتائج أنّ العزلات الرايزوبيوم الحمص Rf-Lo,4 و Rf-GB,15 و Rf-GB,18 و Rf-GB,19 و Rf-GB,20 و DR-Lo,3 و DR-Lo,8 و DR –GB,11 و DR –GB,14 و DR –GB,19 و DR – GB,20هي الأعلى مقاومة تجاه المبيدات الثلاثة المختبرة دون فروق معنوية بينها . حيث كانت تتراوح نسب التثبيط النمو بين 0.25 % (Rf-Lo,4) و 6.87 % (Rf-GB,15).في حين أعطت العزلة Q-Lo,7 الأقل مقاومة تجاه المبيدات نسب تثبيط 21.25 و22.36 و20.78% لكل من مبيد المانكوزيب والسبيرو والفيتافلو على الترتيب (جدول 3). و تشير البيانات أنّ مبيد المانكوزيب أعطى أعلى نسب تثبيط للعزلات البكترية للرايزوبيوم وبفروق معنوية مع مبيدي سبيرو وفيتافلو لكل من العزلات :Rf-Lo,3 و Rf-Lo,4 و Rf-GB,15 و Rf-GB,19 و Q-Lo,4 و Q-Lo,5 و DR –GB,14 و DR –GB,15 و Q-MR,14 و DR-Lo,6 و DR – GB,20. في حين لم يكن هنالك فروق معنوية بين باقي العزلات تجاه المبيدات الثلاثة المدروسة . وكان مبيد فيتافلو أقل المبيدات له تأثيرات سلبية في تثبيط نمو العزلات الريزوبيوم المقاومة للمبيدات حيث أعطى أقل نسب تثبيط للعزلات البكترية المختبرة. حيث بلغت نسبة التثبيط 0.25 %للعزلة Rf-Lo,4، وأعلى نسبة تثبيط للعزلة Q-Lo,7%20.78 .

يعد مبيد المانكوزيب من المبيدات التي يوجد بتركيبها العنصرين المنغنيز والزنك وهي من العناصر الثقيلة التي تسبب تسمم للكائنات الحية الدقيقة عن طريق التداخل بوظائف الجدر الخلوية. كما أنّ مبيد الثيرام الذي يشكل 13% من مبيد فيتافلو من المركبات الكربماتية التي يحوي عنصر الكبريت الذي يؤثر على طيف واسع من الكائنات الحية الدقيقة. و المبيد Difenoconazole من مركبات التريازول الحديثة التي تؤثر على كثير من الكائنات الحية الدقيقة (Mann, 2004, Maloy, 1993). تتوافق النتائج مع ما ذكره العديد من الباحثين أن مبيدات الآفات لها تأثيرات مختلفة على الرايزوبيوم في الوسط المغذي وفقا لجنس الرايزوبيوم والعزلة البكترية ضمن الجنس والتركيب الكيميائي للمبيد وتركيز المبيد المستخدم (Pranita et al 2015 و Khan وآخرون، 2009). ذكر Sudbakar، وآخرون (2000) أنّ لمبيدات الآفات تأثيرات متباينة في نمو بكتريا الرايزوبيوم المثبتة للأزوت المعزولة من عقد جذور فول الصويا والبازلاء. وجد Mishra وآخرون (2013) أن مبيدي Thiram و Carboxin خفض تعداد بكتريا الرايزوبيوم Bradirhizobium japonicum في الوسط المغذي بشكل معنوي مقارنة مع الشاهد ، و تتوافق النتائج مع Aynalem and Assefa (2017) وجدا أن كل نمو العزلات المعزولة من العقد الجذرية للفول في الوسط المغذي السائل انخفض عند التركيز المنخفض لمبيد mancozeb 100 مغ/ ليتر . و تتوافق النتائج مع مع Birhan and Assefa (2017) و محمد والناصر (2018).

ذكر سوسان (2019) تباين تأثير المبيدات في تثبيط نمو العزلات البكتريا للرايزوبيوم المعزولة من الفول والحمص والبازلاء، كان مبيد المانكوزيب أكثر المبيدات المختبرة تثبيطاً لبكتريا الرايزوبيوم وتلاه المبيد الفطري ثيوفانات–ميثيلوكان المبيد الطبيعي نيمبيسيدين أقل المبيدات المختبرة تأثيرا في نمو العزلات البكترية . ووجد أنّ عزلتي الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية للحمص (سعسع) والبازلاء أكثر العزلات حساسية للمبيدات المختبرة. كما أثبت Cardillo (2019) أنّ مبيد Difenoconazole خفض قدرة نمو بكتريا الرايزوبيوم Rhizobium tropici بشكل كبير، في حين لم تخفيض نمو Carboxin + thiram مقارنة بالشاهد

جدول 2: النسب المئوية لتثبيط نمو عزلات الرايزوبيوم المتوسطة المقاومة للمبيدات المدروسة على الوسط المغذي YEMA الصلب بالمخبر

مكان جمع العينات	العزلة	النسبة المئوية لتثبيط النمو (%)			L.S.D 0.01
		مانكوزيب	ديفاكونازول	فيتافلو	
ريف دمشق	Rf-Lo,1	42.13	39.28	27.25	2.56
	Rf-Lo,6	49.63	47.84	36.58	5.26
	Rf-Lo,8	28.26	29.12	25.16	2.64
	Rf-GB,11	33.25	38.25	29.12	3.12
	Rf-GB,12	34.25	35.26	31.85	2.13
	Rf-GB,17	45.26	49.26	35.28	3.96
القنيطرة	Q-Lo,3	46.29	48.25	37.21	4.17
	Q-Lo,6	45.21	46.68	34.25	4.28
	Q-MR,13	31.25	32.56	28.17	2.87
	Q-MR,15	39.26	37.28	31.28	4.15
درعا	DR-Lo,2	29.26	28.50	26.35	2.11
	DR –GB12	31.28	30.25	27.28	2.68
	DR –GB17	37.26	32.58	28.14	4.12
L.S.D 0.01		4.52	3.74	4.18	

لم تظهر أوراق الترشيح المغمورة بالماء المقطر المعقم (شاهد) أي هالة تثبيط

جدول 3: النسب المئوية لتثبيط نمو عزلات الريزوبيوم المقاومة للمبيدات المدروسة على الوسط المغذي YEMA الصلب بالمخبر

	العزلة	النسبة المئوية لتثبيط النمو (%)			L.S.D 0.01
		مانكوزيب	ديفاكونازول	فيتافلو	
ريف دمشق	Rf-Lo,3	16.89	7.29	5.23	4.23
	Rf-Lo,4	2.63	0.56	0.25	1.45
	Rf-GB,15	6.87	3.26	2.95	2.16
	Rf-GB,18	0.97	0.89	0.56	0.45
	Rf-GB,19	3.98	1.33	0.96	2.17
	Rf-GB,20	2.36	0.97	1.89	1.54
القنيطرة	Q-Lo,4	15.86	9.36	11.28	4.25
	Q-Lo,5	13.25	7.28	4.15	5.14
	Q-Lo,7	21.25	22.36	20.78	3.25
	Q-MR,12	20.87	19.25	18.21	3.87
	Q-MR,14	13.58	11.25	7.75	4.58
درعا	DR-Lo,3	2.65	1.23	0.89	1.88
	DR-Lo,6	20.85	15.25	13.36	3.58
	DR-Lo,7	15.35	13.54	14.28	2.97
	DR-Lo,8	3.89	2.36	1.24	2.76
	DR –GB,11	0.65	1.32	0.89	0.78
	DR –GB,14	6.25	3.25	1.33	3.21
	DR –GB,15	19.63	13.35	11.28	3.18
	DR –GB,18	7.26	5.36	3.97	3.25
	DR –GB,19	5.26	4.25	3.87	2.54
	DR –GB,20	1.37	0.65	0.29	0.86
L.S.D 0.01		6.25	3.71	3.65	

حسبت النسبة المئوية للتثبيط =

(قطر المستعمرة البكترية بالشاهد – قطر التثبيط X 100) −100

قطر المستعمرة البكترية بالشاهد

لم تظهر أوراق الترشيح المغمورة بالماء المقطر المعقم (شاهد) أي هالة تثبيط

ثالثاً– التضاد الحيوي بين عزلات الرايزوبيوم والفطريات F. solani و F. oxysporum و Rhizoctonia solani :

تم دراسة التضاد الحيوي ل34 عزلة من عزلات بكتريا الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لنباتات الحمص والمتوسطة الحساسية والمقاومة للمبيدات المدروسة في تثبيط نمو الفطريات F. solani و F. oxysporum و Rhizoctonia solani على وسط مغذي صلب مكون من بيئة بطاطا دكستروز أجار ووسط مستخلص الخميرة (1:1).

أظهرت عزلات الرايزوبيوم المعزولة من جذور نباتات الحمص أصناف (مراكشي وبلدي وغاب 3) المجموعة من حقول مختلفة من محافظات درعا والقنيطرة وريف دمشق تضاد متباين تجاه الفطريات F. solani و F. oxysporum و R. solani في الوسط المغذي وفقاً للعزلة والمنطقة المجموعة والفطر المختبر. حيث أعطت العزلات البكترية Rf-Lo,1 و Rf-Lo,8 و Rf-GB,17 و Q-Lo,6 و GB12– DR و Rf-Lo,3 و Rf-GB,15 و Rf-GB,19 و Q-Lo,4 و Q-MR,12 و DR-Lo,3 و GB,14– DR تضاد فطري من ضعيف إلى معدوم تجاه الفطريات المختبرة، وقد كانت نسب التضاد أقل من 10% (نتائج غير مجدولة). بينما أعطت العزلات Rf-Lo,6 و Rf-GB,12 و Q-MR,15 و DR-Lo,2 و Rf-Lo,4 و Q-Lo,5 و Q-Lo,7 و Q-MR,14 و DR-Lo,6 و DR-Lo,8 و GB,11– DR و GB,15– DR تضاد فطري تراوح بين 52.64% حتى 96.23% تجاه الفطريات المختبرة. في حين أعطت باقي العزلات نسب تضاد فطري أقل من 50% للفطريات الثلاثة المختبرة (جدول 4). من جهة أخرى أظهرت العزلات Rf-Lo,6 و Q-MR,14 و GB,15– DR أعلى تأثير تضاد تجاه الفطر F. solani دون فروق معنوية بينها. حيث بلغت نسب تثبيط الفطر 89.23 و 88.57 و 96.23% للعزلات الثلاث على الترتيب. تلاها في ذلك العزلات Rf-GB,12 و Rf-Lo,4 و DR-Lo,8 و GB,20– DR دون فروق معنوية بينها. في حين أعطت العزلات Rf-Lo,6 و Rf-Lo,4 و Q-MR,14 و DR-Lo,8 و– DR GB,15 و GB,20– DR أعلى تأثير تضاد تجاه الفطر F. oxysporum دون فروق معنوية بينها. حيث بلغت نسب تثبيط الفطر 75.12 و 76.95 و 81.25 و 79.25 و 72.58 و 77.12% للعزلات السابقة على الترتيب. تلاها في ذلك العزلات Rf-GB,12 و Q-MR,15 و DR-Lo,2 و DR-Lo,6 دون فروق معنوية بينها. بالمقابل نجد أن العزلات Rf-Lo,6 و Rf-GB,12 و Q-MR,15 و Rf-Lo,4 و Q-MR,14 و GB,15– DR و GB,20– DR أعطت أعلى تأثير تضادي تجاه فطر R. solani دون فروق معنوية بينها. حيث بلغت نسب تثبيط الفطر 81.26 و 77.21 و 77.09 و 81.02 و 85.97 و 82.78 و 80.12% للعزلات السابقة على الترتيب. تلاها في ذلك العزلات Rf-GB,12 و Q-MR,15 و DR-Lo,2 و Q-Lo,7 و DR-Lo,6 و DR-Lo,8 دون فروق معنوية بينها. من جهة أخرى تبيان تأثير التضاد لعزلات الرايزوبيوم المختبرة تجاه الفطريات الثلاثة بشكل كبير وبفروق معنوية . حيث كان تأثير التضاد الأعلى تجاه الفطر F. solani، تلاه التضاد تجاه R. solani الفطر. بينما كان تضاد العزلات الأقل تجاه الفطر F. oxysporum. باستثناء العزلات البكترية Rf-GB,12 و DR-Lo,2 و Rf-Lo,4 و Q-MR,14 و DR-Lo,6 و– DR GB,20 أعطت تضاد عالي تجاه الفطريات الثلاثة دون فروق معنوية بينها. إذ بلغت أقل نسبة تضاد لفطر F. oxysporum (65.25%) للعزلة DR-Lo,6 وأعلى نسبة تضاد لفطر F. solani (88.57%) للعزلة Q-MR,14. تفسر آلية فعل الرايزوبيوم في قدرتها في مكافحة ممرضات النبات في قدرتها على إنتاج مضادات حيوية والتي لها قدرة في تحليل مشيجة الفطريات وكذلك تنتج

أنزيمات المحللة للجدران الخلوية للفطر (Chakayabotry و Purkayastha ، 1984). و أشار Deshwal وآخرون(2003) أنّ تأثير الرايزوبيوم في الفطريات الممرضة للنباتات إلى قدرتها في إنتاج مركبات تعيق نمو الفطر ونموه. فقد بيّن أنّ وجود بكتريا الرايزوبيوم في الوسط المغذي للفطريات Sclerotinia sclerotiorum و Macrophomina phaseolina و Rhizoctonia solani و Fusarium oxysporum أظهر تشوه أنبوبة الالتصاق وتشوه خيوط المشيجة وتحلل السيتوبلازم. ذكر Chao (1990) أنّ بكتريا الرايزوبيوم (Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli) لها تضاد عالٍ في تثبيط نمو الفطرين Fusariumو Rhizoctonia . أوضح Omar و Abd-Alla (1998) أنّ الرايزوبيوم لها تضاد قوي تجاه الفطرين Fusarium solani و Rhizoctonia solani . تتوافق هذه النتائج مع وجد Alkaif و Matloob (2015) ومع Essalmani و Lahlou (2002) أنّ بكتريا الرايزوبيوم (R. leguminosarum) لها فاعلية في تثبيط إنبات كونيد فطر Fusarium oxysporum. وجد Arfaoui وزملاؤه (2006) أن 19 عزلة من الرايزوبيوم من أصل 21 عزلة معزولة من العقد الجذرية لجذور الحمص ثبطت نمو فطر Fusarium oxysporum في الوسط المغذي. حيث ثبطت أربعة عشرة عزلة نمو الفطر بنسبة أعلى من 30% وخمسة عزلات ثبطت نمو الفطر بنسبة أعلى من 50%. بيّن محمد والناصر (2018) أنّ عزلات الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية للفول والعدس والبازلاء أعطت تضاد عالٍ تجاه الفطر Fusarium solani . وذكر Sharif وزملاؤه ، 2003 أن بكتريا الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لجذور الحمص ثبطت نمو الفطر Fusarium sp على الوسط المغذي، بنسبة 36 على الترتيب. أشار Jahan وآخرون (2020)إلى أنّ بكتريا الرايزوبيوم M. ciceri المعزولة من العقد الجذرية للحمص لها تضاد لفطري Phytophthora medicaginis, and Fusarium solani و F. oxysporum المعزولة من جذور الحمص.

جدول 4: التضاد الحيوي لعزلات الريزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لجذور الحمص على نمو الفطريات F. solani و F. oxysporum و Rhizoctonia solani **في الوسط المغذى** (PDA-YAM) **بعد التحضين لمدة 7 أيام**

مكان جمع العينات	العزلة	النسبة المئوية لتثبيط النمو (%)			L.S.D 0.01
		F. solani	F. oxysporum	R. solani	
ريف دمشق	Rf-Lo,6	89.23	75.12	81.26	4.12
	Rf-GB,12	75.26	69.23	77.21	7.93
	Rf-Lo,4	82.26	76.95	81.02	7.26
	Rf-GB,18	55.63	32.15	46.28	8.46
	Rf-GB,20	41.02	29.35	25.96	5.69
القنيطرة	Q-Lo,3	45.37	33.29	25.63	8.65
	Q-MR,13	37.25	22.23	34.17	5.89
	Q-MR,15	73.25	64.21	77.09	7.58
	Q-Lo,5	56.25	38.56	51.29	7.25
	Q-Lo,7	62.31	59.32	70.89	6.78
	Q-MR,14	88.57	81.25	85.97	7.57
درعا	DR-Lo,2	71.45	65.21	69.58	6.52
	DR –GB17	33.25	31.25	25.16	4.23
	DR-Lo,6	70.12	65.31	73.12	6.13
	DR-Lo,7	37.25	38.50	30.50	3.65
	DR-Lo,8	86.25	79.25	74.25	7.24
	DR –GB,11	67.21	52.64	56.89	4.18
	DR –GB,15	96.23	72.58	82.78	7.96
	DR –GB,19	36.12	28.26	22.75	5.78
	DR –GB,20	83.50	77.12	80.12	6.96
L.S.D 0.01		7.59	6.67	5.72	–

–قطر المستعمرة بالشاهد للفطرين 90 مم بعد 7 أيام من التحضين
الأرقام متوسط لثلاثة مكررات

الاستنتاجات والتوصيات:

–أعطت عزلات الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لنباتات الحمص حساسية متباينة تجاه المبيدات الفطرية (انادول وسبيرو وفيتافلو) المستخدمة بمعاملة البذار.

–كانت عزلات الرايزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لنباتات الحمص من الصنفين البلدي والمراكشي أكثر حساسية من عزلات الرايزوبيوم المعزولة من صنف غاب 3 تجاه المبيدات الفطرية المدروسة.

– كان للعزلات البكترية المختبرة تضاد حيوي متباين تجاه الفطريات F. solani و F. oxysporum و Rhizoctonia solani .

–أعطت عزلات الرايزوبيوم تضاد حيوي عالٍ للفطرين F. solani و Rhizoctonia solani ومتوسط تجاه الفطر F. oxysporum .

–نوصي بإجراء تجارب التضاد لعزلات الرايزوبيوم المقاومة للمبيدات الفطرية تحت الظروف الحقلية لتأكيد قدرتها في استخدام التسميد الحيوي للحمص.

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم الممول (501100020595)

References:

1. حامده ،زاهر يونس (2020). تأثير المبيدات الفطرية ومستخلصات بعض النباتات في القدرة التكافلية لبكتيريا الرايزوبيوم مع نبات الحمص وفي قدرته الإنتاجية. رسالة ماجستير. جامعة دمشق. 115 ص.
2. سوسان ، عماد والناصر، زكريا والأطرش، فائزة ، 2019. تأثير مبيدات الآفات والمستخلصات الميتانولية لبعض النباتات في الريزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لنباتات الفول والحمص. مقبولة للنشر في المجلة العربية للبيئات الجافة (أكساد).
3. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية . 2021 . الجمهورية العربية السورية وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي مديرية الإحصاء والتخطيط، قسم الإحصاء. سورية2021.
4. محمد ، ربا و زكريا الناصر. 2018. تأثير مبيدات الآفات والزيوت العطرية على الريزوبيوم المعزولة من العقد الجذرية لبعض النباتات البقولية. مقبولة للنشر في المجلة العربية للبيئات الجافة (أكساد).
5. Abid, G., K. Hessini , M. Aouida ,I. Aroua ,J. P. Baudoin , Y. Muhovski , G. Mergeai , K. Sassi , M. Machraoui , F. Souissi , M. Jebara, 2017. Agro-physiological and biochemical responses of faba bean (Viciafaba L. var. 'minor') genotypes to water deficit stress, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 21(2), 146-159.
6. Agrios, G.N., 2005. Plant Pathology.fifth Edition. Printed in the United States of America (New York).P. 948
7. Ahmed, T. H. E. A.E. Elsheikh and A.A. Mahdi. 2007. The in vitro Compatibility of some Rhizobium and Bradyrhizobium Strains with Fungicides. African Crop Science Conference Proceedings Vol. 8. pp. 1171-1178.
8. Arfaoui, A, B. Sifi B, A. Boudabous A, M. El-HadramiI and, A. Cherif M. 2006. Identification of Rhizobium isolates possessing antagonistic activity against Fusarium oxysporum f.sp. ciceris, The causal agent of Fusarium wilt of Chickpea. J Plant Patho.;88:P. 67-75.
9. Arfaoui, A, B. Sifi B, A. Boudabous A, M. El-HadramiI and, A. Cherif M. 2006. Identification of Rhizobium isolates possessing antagonistic activity against Fusarium oxysporum f.sp. ciceris, The causal agent of Fusarium wilt of Chickpea. J Plant Patho.;88:P. 67-75.
10. Aynalem,B. and F. Assefa. 2017. Effect of Glyphosate and Mancozeb on the Rhizobia Isolated from Nodules of Vicia faba L. and on Their N2-Fixation, North Showa, Amhara Regional State, Ethiopia. Advances in Biology. Vol,1, P.1- 7
11. Bauer A W, Kirby W M M, Sherris J C & Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Amer. I. C/in. Pathol. 45:493-6, 1966.
12. Beck , D.P . ; L.A. Materon and F. Afandi . 1993. Practical Rhizobium– legume Technology Manual . Technical Manual No. 19. ICARDA Aleppo , Syria.
13. Birhan, A. and F. Assefa .2017. Effect of Glyphosate and Mancozeb on the Rhizobia Isolated from Nodules of Vicia faba L. and on Their N2-Fixation, North Showa, Amhara Regional State, Ethiopia. Advances in Biology Volume 2017, Article ID 5864598, 7 p.
14. Booth, C. 1971 . The genus Fusarium . Commonwealth Mycological Institute , Kew, Surrey, England 237. pp.
15. Booth, C. 1984 . The Fusarium problem : Historical , economic , and taxonomic aspects pages 1 – 13 in : The Applied Mycology of Fusarium. M.O. Moss and J.E. Smith, eds. Cambridge University Press, Cambridge.

16. Cardillo, B. E. da S. , D. P. Oliveira, B. L. Soares, F. A. Dias , M. Rufini, J. S. da Silva, and F. M. de Souza Moreira. 2019. Nodulation and Yields of Common Bean are Not Affected Either by Fungicides or by the Method of Inoculation. Agronmy Vo. 1, 2 .p.1-8.
17. Cenap, C, K. Çiğdem and C. Esat . 2011. Fungicide, antibiotic, heavy metal resistance and salt tolerance of root nodule isolates from Vicia palaestina. African J Biotechnology, 10 13: 2423-2429.
18. Chakayabotry, U. and R. P Purkayastha, R.P. (1984). Role of Rhizobitoxine in protecting Soyabean roots for Macrophomina Phaseolina infection . Gam. J. microbial., P.289-295 30.
19. Chang, S., F. Hwang, B.D. Gossen, G.D.Turnbull, R.J. Howard and S.F. Blade. 2002. Effect of soil temperature, seeding date, and seeding depth on chickpea sown in soil infested with Rhizoctonia solani. Proceeding of The Canadian Phytopathological Society Annual Meeting, Waterton Lakes National Park, Alberta, Canada.
20. Chao, W.L. 1990. Antagonistic activity of Rhizobium spp. against beneficial and plant pathogenic fungi, Letters in Applied Microbiology 10, 213-215, 1990.
21. Czuchajowska, Z. 1994. Process for fractionating legumes to obtain pure starch and a protein concentrate. Washington State University Research Fundation. U.S. Patent, 5: 364, 471.
22. Deshwal, V. K. and A. Chaubey. , A. 2014. Isolation and Characterization of Rhizobium leguminosarum from Root nodule of Pisum sativum L. . Journal of Academia and Industrial Research (JAIR) 2(8):p. 464-468.
23. Dwivedi S.N. 1989: Effect of invasion on sugars of gram (Cicer arietinum L.) seed during storage. Indian J. Mycol. Plant Pathol., 19: 10–13.
24. Essalmani, H, and H. Lahlou. 2002. In vitro antagonistic activity of some microorganisms towards Fusarium oxysporum f.sp.lentis. Cryptogamie-Mycol;23:p.221-234.
25. FAO, 2011. FAO-STAT, Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy (http://apps.fao.org).
26. Fred, E. B., Baldwin, I. L. and McCoy, E.1932. Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants, Madison : university of Wisconsin.
27. Gothwal RK, Nigam VK, Mohan MK, Sasmal D, Ghosh P. Screening of nitrogen fixers from rhizospheric bacterial isolates associated with important desert plants. Appl Ecol Environ Res., 2008; 6 2: 101-109.
28. Hamuda , H. 2020. Effect of Fungicides on the Growth and Survival of Different Symbiotic N2-Fixing Rhizobium Strains. Appli Microbiol Open Access, Vol.6 Iss.2 No:174.p1-9. Appli Microbiol Open Access. 6:174.
29. Hosam, B.H.1994. Factors influencing the optimalization of Rhizobium leguminosarum and Vicia faba symbiosis. Candidate of Biological Sciences Dissertation submitted to the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary. pp.12
30. İbrahim, O. and D.M. Hanifi. 2001. "In Vitro Inhibition of the Mycelial Growth of Some Root Rot Fungi by Rhizobium leguminosarum Biovar phaseoli Isolates," Turkish Journal of Biology: Vol. 25: No. 4, Article 9.435-445.
31. Jahan, M.S., U. Shazad , S. A. Naqvi, I. Tahir , T. Abbas , M. Iqbal. 2020. Effects of Mesorhizobium ciceri and Biochar on the Growth, Nodulation and Antifungal Activity Against Root Pathogenic Fungi in Chickpea (Cicer arietinum L.). J Plant Pathol Microbiol 11:520.
32. Jarvis, B. D. W., van Berkum, P., Chen, W. X., Nour, S. M., Fernandez, M. P., Cleyet-Marel, J. C. & Gillis, M. (1997). Transfer of Rhizobium loti, Rhizobium huakuii, Rhizobium ciceri, Rhizobium mediterraneum, and Rhizobium tianshanense to Mesorhizobium gen. nov. Int J Syst Bacteriol 47, 895–898.

33. Jensen, E.C., J. A. Percich, P. H. Graham. 2002. The effect of Bacillus subtilis and Rhizobium inoculation of dry bean seed on root rot severity and yield in Minnesota. Annu Rep Bean Improv Coop ; 45: 98-9.
34. Khan, H.; Zeb, A.; Ali, Z.; Shah, S.M.2009. Impact of five insecticides on chickpea (Cicer arietinum L.) nodulation, yield and nitrogen fixing rhizospheric bacteria. Soil Environ. 28 (1), 56–59.
35. Kotasthane, S.R., M. N. Khare, O. Gupta . 1987. Surveying Fusarium of chickpea in Madhya Prades, India. Int. Chickpea Newslet., 17: 21–23.
36. Kunwar I.K., K. Satyaprasad, I. Ramarao . 1989. Histopathology of chickpea plants infected with Fusarium oxysporum f.sp. ciceri. Int. Chickpea Newslet., 20: 17–18.
37. Maloy, O. 1993. Plant disease control, principles and practice, fungicide characteristics. John Wiley, New York.
38. Mann, P.J . 2004. The Pesticide Manual . 3th ed. Database Right © 2004 BCPC (British Crop Protection Council.
39. Matloob, A. H. and M. A I K Alkaif. 2015. Molecular identification of some Fungi caused Broad bean root and crown disease controlled by using Rhizobium leguminosarum biovar viciae bacteria and Bioagents Trichoderma viride in the province of Babylon. Journal Al furat for the Agricultural Sciences.7 (4) : p.386-370.
40. Matloob, A. H. and M. A I K Alkaif. 2015. Molecular identification of some Fungi caused Broad bean root and crown disease controlled by using Rhizobium leguminosarum biovar viciae bacteria and Bioagents Trichoderma viride in the province of Babylon. Journal Al furat for the Agricultural Sciences.7 (4) : p.386-370.
41. Mishra, G., K. Narendra , G. Krishna and P. Shailesh. 2013. In vitro interaction between fungicides and beneficial plant growth promoting Rhizobacteria. African Journal of Agricultural Research. Vol. 8(45), pp. 5630-5633.
42. Nashwa, A. H and A. A. Mansour. 2012. Molecular, Biochemical and Physiological characterization of symbiotic bacteria isolated from saline soil in Saudi Arabia. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 6 (3): 229-239.
43. NCCLS, (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 2003. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests of bacteria that grow aerobically. In Approved Standard M100-S12 Wayne. PA, NCCLS; 2003.
44. Nour SM, Cleyet-Marel J-C, Normand P, Fernandez MP. 1995. Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpeas (Cicer arietinum L.) and description of Rhizobium mediterraneum sp. nov. Int J Syst Bacteriol 45:640-648.
45. Nour, S., Fernandez, M., Normand, P., and J. C. Cleyet-Marel. 1994. Rhizobium ciceri sp. nov.,consisting of strains that nodulate chickpeas (Cicer arietinum L.). International journal of systematic bacteriology 44. 3: 511-522.
46. Nour, S.M., J.C. Cleyet-Marel, D. Beck. A. Effosse, M. P. ernandez. 1994. Genotypic and phenotypic diversity of Rhizobium isolated from chickpea (Cicer arietinum L.). Can. J. Microbiol. 40:345–354.
47. Omar, S.A. and Abd-Alla, M.H. Biocontrol of fungal root rot diseases of crop plants by the use of rhizobia and bradyrhizobia. Folia Microbiologica 43: (4) 431-437, 1998.
48. Ozkoc, I, M. and H. Deliveli. 2001. In vitro inhibition of the mycelial growth of some root rot fungi by Rhizobium leguminosarum biovar. phaseoli isolates. Turk. J. Biol.;25:p. 435-445.
49. Pranita, A., A. Gulhane, V. Gomashe and K. M. Sundarkar. 2015. Influence of pesticides on nitrogen fixing bacteria. International Journal of Technical Research and Applications., P. 157-160.
50. Sharif, T, S. Khalil and S., Ahmad. 2003. Effect of Rhizobium sp. on growth of pathogenic fungi under in vitro conditions. Pak . J. Biol. Sci.;6:p. 1597–1599.

51. Singh, V., Pande, P.C. and Jain, D.K. 2005. A text book of Botany Angiosperm. Rastogi Publication, Meerut, India.
52. Sudbakar P, G.N. Chattopadhyay, S.K. Gangwar, J.K. Ghosh, B.Saratchandra, B .2000. Effect of common pesticides on nitrogen fixing bacteria of mullberry (Monusalbal). Indian J. Agric. Res. 34(4): 211-216.
53. Tamiru,G. and D. Muleta. 2018. The Effect of Rhizobia Isolates Against Black Root Rot Disease of Faba Bean (Vicia faba L) Caused by Fusarium solani. The Open Agriculture Journal, Vo. 12.p.131-137.
54. Varshney, R.K., Hiremath, P.J., Lekha, P., Kashiwagi, J., Balaji, J., Deokar, A.A., Vadez, V., Xiao, Y., Srinivasan, R., Gaur, P.M., 2009. A comprehensive resource of drought- and salinity- responsive ESTs for gene discovery and marker development in chickpea (CicerarietinumL.). BMC Genomics, V. 10, pp. 523-541.
55. Vincent, J. 1981 The genus Rhizobium in : starr , M.P.; Stolp,H.;Truper H.G.; Balows, A. And Schilegel, H.G.(eds).(1981)."The Prokaryotes Vol.1, Springer-Verlang,U.S.a Pp. 818-837.
56. Vincent, J. M. 1947. Distortion of fungal hyphae in presence of certain inhibitors. Nature,850-853.
57. Vincent, J.M. 1970.A manual for the practical study of the root-nodule bacteria .I.B.P. Handbook No.15.Blackwell Scientific Publication Ltd., Oxford.
58. Youssef, S., K. Ali Rhouma and M. Kharrat.2010. First report of Rhizoctonia solani AG 2-3 on chickpea in Tunisia. Phytopathol. Mediterr. 49, 253–257
59. Zhou, Y., L. Framkie, S. Franck, K. Mcphee, C. Chen. 2022. The combination of seed treatment and cultivar selection is effective for control of soil borne diseases in chickpea. Crop Protection. Vo. 161.