مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
مجلد 42 العدد 2(2026): 173-184

Damascus University Journal for Agricultural Sciences
Vol 42-No.2 (2026): 173-184

التأثير التضادي لبكتريا الرايزوبيا على فطر الذبول الوعائي للحمّص *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris*

منال الدوس[1]*، محمود أبوغرة[2]، محمد فواز العظمة[3]

1- طالبة دكتوراه، قسم علوم وقاية النبات، كلية الزراعة، الهيئة العامة للتقانة الحيوية، جامعة دمشق.
manal.aldous@damascusuniversity.edu.sy.

2- أستاذ، قسم علوم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

3- أستاذ، قسم علوم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

الملخص:

نُفذ البحث في مخبر التنوع الحيوي والبيت الزجاجي التابعين للهيئة العامة للتقانة الحيوية ومخبر أمراض النبات البكتيرية في كلية الزراعة –جامعة دمشق خلال عامي 2022-2023 بهدف دراسة القدرة التضـــادية مخبرياً لعزلات محلية من بكتريا العقد الجذرية (رايزوبيا) تجاه فطر Fusarium oxysporum f sp. ciceris المســـبب للذبول الوعائي في الحمص والمعزول محلياً أيضـــاً. اســتخدمت 61 عزلة بكتيرية كانت قد عرفت 42 منها ســابقاً على أنها تنتمي لمجموعة الرايزوبيا (Mesorhizobium و Rhizobium و Bradyrhizobium و Ensifer)، بينما تم الحصـــول على عزلتين فطريتين من فطر ذبول فوزاريوم الحمص معرفة محلياً (F51 و F63) من جامعة البعث، قسم وقاية النبات. تم اختبار القدرة التضـادية للعزلات البكتيرية مخبرياً باستخدام طريقة القطاعات فأظهرت 31 عزلة قدرتها على تثبيط النمو الفطري لكلا العزلتين الفطريتين، منها 13 عزلة من مجموعة الريزوبيا و18 عزلة من البكتريا الجذرية (Rhizobacteria) غير المعرفة. تفوقت العزلات 134(Rhizobium) و133 على بقية العزلات في تثبيط الفطر F63 وبلغت نسبة التثبيط 68.89% و65.93% على التوالي، بينما تفوقت العزلة 61 (Mesorhizobium) تجاه الفطر F51 وبلغت نسبة التثبيط 53.70%، وعند اختبار العزلات الثلاث ضمن الأصص (134 و133 على نبات الفول-61 على نبات الحمص) وبالمقارنة بين المعاملتين فطر× بكتريا (F63×133 و F63× 134 و F51×133 و F51×134) والمعاملتين فطر فقط (شـاهد F63 وشـاهد F51) فقد أظهرت النتائج أن التلقيح بالعزلات البكتيرية زاد من تحمل النبات للمرض الفطري حيث أدى إلى فرق معنوي في شدة المرض ونسبة الإصـابة وزادت ظاهرياً مؤشرات النمو بالمقارنة مع الشاهد، ولم تظهر فروق معنوية بين تأثير العزلتين البكتيريتين على نسـبة الإصـابة وشـدة المرض. أما بالمقارنة بين المعاملتين (F63×61 و F51×61) والشـــاهدين (F63 و F51) فقد كان هناك فرق معنوي وزادت المعاملة البكتيرية من بعض مؤشـــرات النمو (الوزن الرطب المجموع الخضـــري والجذري والوزن الجاف للجذر) وخفضـت من نسـبة الإصـابة وشـدة المرض. بينت نتائج هذه الدراسـة أهمية تلقيح بذار البقوليات بعزلات مناسـبة من بكتريا العقد الجذرية، ليس فقط لتحسين مؤشرات النمو بل ولزيادة حماية المحصول من أضرار مرض ذبول فوزاريوم الوعائي.

الكلمات المفتاحية: رايزوبيا، فوزاريوم، الحمص، الفول، التضاد.

تاريخ الإيداع:2024/01/10
تاريخ القبول: 2024/03/12

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

Antagonistic effect of rhizobia on chickpea vascular wilt fungus Fusarium oxysporum f sp. ciceris

Manal Al-Dous [1*], Mahmoud abu Ghoura[2], Mohammad Fawaz Azmeh[3]

1- PhD student, Plant Protection department, Faculty of Agriculture, Syrian National Comission for Biotechnology, Damascus University. manal.aldous@damascusuniversity.edu.sy

2- Professor, Plant Protection department, Faculty of Agriculture, Damascus University.

3- Professor, Plant Protection department, Faculty of Agriculture, Damascus University.

Abstract:

The research was carried out in the biodiversity laboratory and greenhouse of the national commision for Biotechnology and the laboratory of plant bacterial diseases-Faculty of Agriculture- Damascus University during the years 2022-2023 with the aim of studying the laboratory antagonistic ability of locally isolated rhizobia bacteria against Fusarium oxysporum f. sp. ciceris fungus that cause of chickpea vascular wilt, which is also isolated locally. 61 bacterial isolates were used, 42 of them were identified as belonging to the rhizobia group (Rhizobium, Mesorhizobium, Bradyrhizobium, Ensifer), while two fungal isolates were obtained from Fusarium of chickpea, isolated and identified locally (F51 and F63) in albaath university, plant protection department. The antagonistic ability of the bacterial isolates was tested in the laboratory using the strip method, and 31 isolates showed their ability to inhibit fungal growth for both fusarium isolates, including 13 isolates from the rhizobia group and 18 isolates of unidentified rhizobacteria. Isolates 134 and 133 (Rhizobium) outperformed the rest of the isolates in inhibiting the fungus F63, isolate inhibition rates 68.89% and 65.93%, respectively, while isolate 61 (Mesorhizobium) excelled against the fungus isolate F51, and the inhibition rate reached 53.70%. When the three isolates were tested in the pots (134,133 on vicia faba and 61 on ciceri arietinum), In comparison between the two treatments: fungus*bacteria (F63*133, F63*134, F51*133, and F51*134) and the two treatments: fungus only (control F63 and control F51), the results showed that inoculation with bacterial isolates significantly increased the plant's tolerance to vascular wilt, as the severity of the disease and the infection rate decreased significantly. Growth indicators also increased, and no significant differences appeared between the effect of the two bacterial isolates on the disease incidence and severity. In comparison between the two treatments (F63*61 and F51*61) and the controls (F63 and F51), there was a significant difference, and the bacterial treatment increased some growth indicators (shoot and root fresh and dry weight) and reduced the infection rate and disease severity. Our results indicate the usefullness of inoculating legums seed with appropriate rhizobia isolates, not only to improve growth indicators, but also to strengthen crop protection against Fusarium vascular wilt.

Keywords: Rhizobia, Fusarium, Cicer Arietinum, Vicia Faba, Antibiosis.

Received: 10/01/2024
Accepted:12/03/2024

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

المقدمة Introduction:

تعد بكتريا الرايزوبيا أحد أهم المجموعات البكتيرية التي تدخل في علاقة تعايشية مع جذور المحاصيل البقولية فتشكل عقداً على جذورها وتثبت الآزوت تكافلياً معها حيث يزود النبات المضيف البكتريا بمصدر للأحماض العضوية والكربون بينما تثبت البكتريا الآزوت الجوي وتحوله إلى أمونيا فتجعله متاحاً للنبات(Jaiswal et al., 2021, Wang, 2019, 4). تعزز الرايزوبيا من نمو النبات وتزيد من قدرته على مقاومة الأمراض بشكل مباشر أو غير مباشر من خلال تثبيت الآزوت وإنتاج الهرمونات النباتية وحاملات الحديد وسيانيد الهيدروجين و1- aminocyclopropane-1-carboxyl acid وإذابة الفوسفات وتحريض المقاومة الجهازية المحرضة وإنتاج المضادات الحيوية والأنزيمات المضادة للأكسدة وأنزيمات تحلل الجدر الخلوية (Mir et al., 2021, 2; Nagpal et al., 2021, 2).

تُعد المحاصيل البقولية من أهم وأقدم المحاصيل التي زرعها الإنسان واعتمد عليها في غذائه نظراً لارتفاع قيمتها الغذائية حيث تعد مصدراً للبروتين النباتي ذو التكلفة الرخيصة وكبديل للبروتين الحيواني وهذا المحتوى الغني جعلها غذاء مناسب خاصة في الدول النامية، ومعظم فئات المجتمع ذات الدخول المحدودة، إلى جانب استخدام نواتج هذه المحاصيل في صناعة الأعلاف اللازمة لتنمية الثروة الحيوانية والداجنة والسمكية (صقر وآخرون، 2021، 1229، عطية، 2017، 916).

تعاني المحاصيل البقولية في كافة مراحل نموها من العديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية والنيماتودا، التي تصيب أجزاء النبات المختلفة مما يؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة ولعل أهم هذه الأمراض وأكثرها انتشاراً هي الفطرية(Nene et al., 2012, 1)، حيث يصاب نبات الحمص والفول بالذبول الفوزاريومي ويحدث هذا المرض في مرحلتين من نمو النبات، في مرحلة البادرات والنمو الخضري، فتظهر الأعراض على الشتول على هيئة اصفرار وذبول وجفاف أوراق وتساقطها، أما في النباتات البالغة يلاحظ تعفن الأوراق ثم النبات كاملاً ويظهر التلون البني على الأوعية في الساق والجذر(Meena and Nain, 2022, 2; Mahmoud, 2016, 1).

لاحظ Das وآخرون (2017) ازدياد نسبة إنبات بذور نبات الحمص ونموه بعد التلقيح ببكتريا Mesorhizobium ciceri نتيجة لزيادة إنتاج الأمونيا وهرمون حمض الإندول الخلي كما ازدادت نسبة الأنزيمات الدفاعية مثل البيروكسيداز وفينيل ألانين أمونيالياز وكذلك النشاط المضاد للفطر Fusarium oxysporum f sp. ciceris (48).

كما درس Pawar وآخرون (2014) تأثير بكتريا Rhizobium المعزولة من جذور فول الصويا في الهند على فطر Aspergillus niger و F. oxysporum فلم تسبب البكتريا أي تأثير على بكتريا المحيط الجذري ولكنها ثبطت نمو الفطريات الممرضة وهذا يدل على إنتاج الرايزوبيوم لمركبات مضادة للفطريات (84).

بينما عزل Kumari و Khanna (2014) 40 عزلة بكتيرية من جذور نبات الحمص في الهند واختبرت تجاه فطر F. oxysporum f. sp. ciceris فأظهرت 28 عزلة منها نشاطاً تضادياً تراوح بين 18.2–14.8 % بالمقارنة مع الشاهد كما لوحظ زيادة في انتاج المركبات المضادة للفطريات مثل كاتيكول وسيديروفور و HCN (1255).

كما أظهرت بكتريا Rhizobium (R. phaseoli و R. trifolii و R. ciceri) المعزولة في تركيا من عدة محاصيل بقولية كالعدس والفاصولياء والحمص واللوبياء والنفل قدرتها على تثبيط نمو عدة سلالات من فوزاريوم وكانت السلالة البكتيرية المعزولة من نبات الفاصولياء R. phaseoli 4.5 أكثرها فعالية (kucuk and Cevheri, 2015, 503).

كذلك لاحظ Shaban و El-Bramawy (2012) أن تلقيح نباتات الفول والحمص والترمس المزروعة في البيت الزجاجي ببكتريا Rhizobium spp. أدى لتثبيط نمو فطر Fusarium oxysporum والحد من أعراضه وزيادة نمو وغلة تلك المحاصيل البقولية في منطقة الاسماعيلية–مصر.

نظراً لأهمية الرايزوبيا في المجال الزراعي كعامل من عوامل المكافحة الحيوية للعديد من الممرضات النباتية وأهمية المحاصيل البقولية كغذاء أساسي للإنسان فقد هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير هذه المجموعة البكتيرية على أهم فطر يسبب خسائر في محصول الحمص وهو فطر ذبول الحمص الفوزاريومي، وتقييم قدرة الرايزوبيا على تحسين مؤشرات النمو في النبات والحد من أعراض المرض الفطري.

مواد البحث وطرائقه Materials and Methods:

نُفذ البحث في مخبر أمراض النبات البكتيرية في كلية الزراعة –جامعة دمشق، ومخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية دمشق خلال عامي 2022-2023.

العزلات الفطرية:

تم الحصول على عزلتين فطريتين (F51, F63) معزولتين ومعرفتين مخبرياً على أنها Fusarium oxysporum f.sp. ciceris من قبل د. ميساء علوش–جامعة البعث (علوش، 2018).

العزلات البكتيرية:

استخدمت 61 عزلة بكتيرية معزولة من العقد الجذرية لبعض النباتات البقولية (فول، حمص، بازلاء، حندقوق، فصة، نفل، فول الصويا، بيقية، عدس) المجموعة من عدة محافظات سورية (ريف دمشق، درعا، السويداء، حمص، حماة، اللاذقية، الرقة)، منها 42 عزلة معرفة على أنها تنتمي لمجموعة الرايزوبيا (Mesorhizobium و Rhizobium و Bradyrhizobium و Ensifer) في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية ومخبر الأمراض البكتيرية–كلية الزراعة –جامعة دمشق، و19 عزلة من البكتريا الجذرية غير معرفة (الدوس وآخرون، 2023، قيد النشر).

اختبار قدرة العزلات البكتيرية على تثبيط نمو الفطر الممرض مخبرياً باستخدام طريقة القطاعات:

نميت العزلات الفطرية (F51، F63) في وسط Potato Dextrose Agar (PDA) وحضنت عند درجة حرارة 25 °م لمدة سبعة أيام لغاية ملء الطبق بالنمو الفطري.

نشرت العزلات البكتيرية (61 عزلة) في أطباق من وسط Yeast Manitol Agar (YMA) على شكل مستعمرات مفردة وحضنت عند درجة حرارة 28 °م لمدة 48 ساعة.

حضر وسط مغذي يسمح بنمو الفطر والبكتريا المدروسين معاً مكون من YMA و PDA بنسبة 1:1 حجماً وعقم في الأوتوكلاف عند درجة حرارة 121 ° م لمدة 20 دقيقة ثم وزع ضمن أطباق بتري بقياس 9 سم. وضع في مركز كل طبق بتري قرص من المشيجة الفطرية بقطر 1 سم ووزعت على محيطه 4 عزلات بكتيرية مختلفة بشكل خط مستقيم على بعد 1 سم من حافة الطبق وبمعدل 3 مكررات لكل عزلة بكتيرية وتركت ثلاث أطباق كشاهد لكل عزلة فطرية بدون تلقيح بالبكتريا. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28 °م وبعد 96 ساعة من التحضين سجل قطر نمو الفطر الشاهد وقطر نمو فطر المعاملة، وحسبت نسبة التثبيط للنمو الفطري باستخدام المعادلة:

نسبة التثبيط Inhibition (%) = [(قطر مستعمرة الفطر الشاهد – قطر مستعمرة الفطر المعاملة) / قطر مستعمرة الفطر الشاهد] × 100

أُنتخبت أفضل العزلات البكتيرية، من حيث قدرتها على تثبيط نمو الفطر في الزجاج لاختبار قدرتها في تثبيط الفطر الممرض حقلياً.

اختبار قدرة العزلات البكتيرية على تثبيط نمو الفطر الممرض ضمن الأصص:

عقمت تربة زراعية لمدة ساعة في الاتوكلاف عند درجة حرارة 121 ° م وتركت 15 يوم لتستعيد خواصها الأساسية، ثم وزعت التربة على 75 أصيص (قطر 16سم).

انتخبت ثلاث عزلات بكتيرية من المجموع الكلي للعزلات المدروسة والتي أظهرت أعلى قدرة تضادية مخبرياً(عزلتان على نبات الفول وعزلة على نبات الحمص) وحضرت منها معلقات بكتيرية كل على حدة بتركيز 10^{10} CFU/ml، أعديت التربة في أصص المعاملات بالمشيجة الفطرية للعزلتين F63 و F51 كل على حدة وسقيت بعضها بمعلقات بكتيرية للعزلات 134 و133 و61 كل على حدة وأبقيت أصص بدون معاملة كشاهد وبعضها معاملة بالفطر فقط والبعض الآخر معاملة بالبكتريا فقط. ثم عقمت بذور الفول والحمص (صنف بلدي) ووزعت في الأصص بمعدل 4 بذور في الأصيص تبعا للتصميم العشوائي الكامل (CRD) Complete Randomized Design جدول (1،2).

الجدول1. التضاد بين العزلتين البكتيرية (133،134) والعزلتين الفطريتين (F51، F63) ضمن الأصص*.

معدى بالفطر	ملقح بالبكتريا	بكتريا× فطر	شاهد
معدى بالفطر F63 معدى بالفطر F51	ملقح بالعزلة134 ملقح بالعزلة 133	F51×134 F63×134 F51×133 F63×133	غير معدى بالفطر وغير ملقح بالبكتيريا

*. 3 مكررات لكل معاملة.

الجدول2. التضاد بين العزلة البكتيرية (61) والعزلتين الفطريتين (F63، F51) ضمن الأصص *.

معدى بالفطر	ملقح بالبكتريا	بكتريا× فطر	شاهد
معدى بالفطر F63 معدى بالفطر F51	ملقح بالعزلة 61	F63×61 F51×61	غير معدى بالفطر وغير ملقح بالبكتيريا

*. 3 مكررات لكل معاملة.

بعد 9 أسابيع من الزراعة حُسبت شدة المرض وفق السلم المعتمد ونسبة الإصابة ثم قلعت النباتات وأخذت أطوال المجموع الجذري والمجموع الخضري وأوزانها. تم تقييم المرض على مقياس شدة 0–4 اعتماداً النسبة المئوية للنسيج الورقي المصاب بالاصفرار أو الذبول (Abdel-Monaim et al., 2018; Liu et al. 1995):

0 – 0%

1 – 1–33%

2 – 34–66%

3 – 67–100%

4– موت النبات.

حُسبت النسبة المئوية لشدة المرض بالمعادلة: $\Sigma d/(d\ max \times n) \times 100$ = شدة المرض Disease Severity Index(%).

حيث d هو درجة الإصابة لكل نبات، و d max هو أعلى درجة على سلم الإصابة، و n هو عدد النباتات في كل معاملة.

كما حسبت النسبة المئوية للإصابة على النباتات وفقاً للمعادلة (علوش وآخرون، 2015).

نسبة الإصابة Infection Rate (%) = عدد النباتات المصابة/عدد النباتات في التجربة ×100.

التحليل الاحصائي: حللت النتائج الدراسة إحصائياً بطريقة تحليل التباين ANOVA، وباستخدام برنامج Genstat الإصدار 12. ثم قورنت المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD (Least Significant Difference) عند مستوى معنوية 5% للتجارب ضمن الأصص و1% للتجارب المخبرية، واختبار دنكن متعدد الحدود DMRT (Duncan's Multiple Range Test).

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

أظهرت نتائج التضاد المخبري أن 31 عزلة من العزلات البكتيرية المدروسة (61) قد أثرت في نمو العزلتين الفطريتين F63 و F51، وكانت الفروق معنوية بين معظم العزلات. تنتمي 13 عزلة منها إلى مجموعة الرايزوبيا، و18 عزلة إلى البكتيريا الجذرية Rhizobacteria المعزولة محليا وغير المعرفة. أشار عدة باحثين إلى قدرة مجموعتي Rhizobia و Rhizobacteria على تثبيط الممرضات الفطرية النباتية، حيث درس Kumari و Khanna (2019) خمسة عزلات من البكتيريا الجذرية وتأثيرها على F.oxysporum بشكل منفرد وبشكل مترافق مع Mesorhizobium المعزولة جميعها من جذور الحمص فكان لها تأثير في الشكلين المنفرد والمزدوج في زيادة نمو النبات والحد من أعراض المرض، لأن هذه المجموعة البكتيرية Rhizobacteria تنتج العديد من المركبات المعززة لنمو النبات والتي تؤثر على الفطر الممرض مثل السيلولاز، وسيانيد الهيدروجين، وحمض الإندول الخلي، والأمونيا، وحاملات الحديد Siderofore، والليباز، والبروتياز، والفوسفات المذاب (Khalifa et al., 2022). وكذلك بكتريا Rhizobia فهي تؤثر إيجابياً على نمو النباتات وسلبياً على العوامل الممرضة من خلال إنتاجها للسيديروفور والمضادات الحيوية والهرمونات النباتية وتحفيز آليات الدفاع عند النبات كالأنزيمات (Tamiru and Muleta, 2018, 132; Arfaoui et al., 2006, 68).

أبدت 21 عزلة بكتيرية قدرتها على تثبيط كلا العزلتين الفطريتين بينما لوحظ قدرة 4 عزلات (77، 56، 118، 103) على تثبيط العزلة الفطرية F63 دون العزلة F51، وثبطت 6 عزلات (61، 108، 81، 96، 99، 119) العزلة الفطرية F51 دون العزلة F63 (جدول 3).

تتوافق نتائج التضاد في الزجاج مع Kucuk و Cevheri (2015) اللذان اختبرا تأثير 20 عزلة Rhizobium معزولة من عدة محاصيل بقولية في تركيا (العدس والحمص والفاصولياء والنفل) تجاه أربع أنواع من الفطور الممرضة للنبات (F. solani, F. oxysporum, F. moniliforme, F. culnorum) فأبدت هذه العزلات البكتيرية قدرة على تثبيط النمو الفطري وترافقت هذه القدرة مع إنتاج البكتريا لحمض الإندول الخلي والسيديروفور كما كانت قادرة على إذابة الفوسفور، وكانت أفضل عزلة هي R. phaseoli أما العزلات الثلاث المتفوقة في هذه الدراسة فقد عزلت من نباتي الفول (134، 133) والحمص (61)، حيث أعطت العزلة 134 أعلى نسبة تثبيط تجاه الفطر F63 وبلغت 68.89% وتلتها العزلة 133 بنسبة تثبيط 65.93%، بينما أعطت العزلة 61 أعلى نسبة تثبيط تجاه الفطر F51 وكانت 53.70% ، ولوحظ أن نسب التثبيط هذه أفضل مما هي في الدراسة التي أجريت في تونس على 21 عزلة Rhizobium لاختبار قدرتها على تثبيط نمو فطر F.oxysporum f. sp. ciceris حيث أثرت 14 عزلة منها على نمو مشيجة الفطر بنسبة 30%، بينما أدت أكثر العزلات فعالية Rh8 و Rh11 و Rh16 و PchSOM إلى تثبيط بنسبة 50% (Arfaoui et al., 2006, 1).

الجدول 3. تأثير العزلات البكتيرية على العزلتين الفطريتين F63 و F51 *.

رمز العزلة البكتيرية	العائل البقولي	% للتثبيط تجاه الفطر F63	رمز العزلة البكتيرية	العائل البقولي	% للتثبيط تجاه الفطر F51
134	فول	68.89^{a}	61	حمص	53.70^{A}
133	فول	65.93^{b}	134	فول	52.22^{A}
117	حمص	61.85^{c}	108	فول	50.37^{B}
92	حمص	61.85^{c}	133	فول	49.26^{B}
94	فصة	59.26^{d}	90	حمص	47.41^{C}
95	فصة	58.89^{de}	134B	فول	46.67^{C}
77	حمص	58.52^{de}	91	حمص	42.22^{D}
91	حمص	57.41^{ef}	95	فصة	39.63^{E}

109	فول	56.67^{f}	136	بازلاء	38.15^{EF}
126	حلبة	52.96^{g}	109	فول	37.41^{F}
134B	فول	48.89^{h}	54	حندقوق	36.67^{FG}
93	فصة	47.78^{hi}	126	حلبة	35.19^{GH}
136	بازلاء	47.41^{hi}	86	فول	34.07^{H}
56	حندقوق	47.04^{i}	92	حمص	33.70^{H}
131	بيقية	43.70^{j}	94	فصة	31.48^{I}
86	فول	43.33^{jk}	81	حمص	30.37^{I}
98	فصة	41.85^{kl}	96	فصة	30.37^{I}
200	فول الصويا	40.74^{l}	117	حمص	25.56^{I}
132	بيقية	35.19^{m}	98	فصة	24.44^{JK}
54	حندقوق	33.70^{m}	131	بيقية	24.07^{JK}
90	حمص	27.04^{n}	99	فصة	23.33^{K}
103	حمص	24.81^{o}	119	حلبة	22.96^{K}
116	عدس	19.63^{p}	200	فول الصويا	18.15^{L}
300	فول الصويا	19.26^{p}	93	فصة	18.15^{L}
118	حندقوق	17.04^{q}	116	عدس	13.70^{M}
			132	بيقية	11.85^{N}
			300	فول الصويا	10.74^{N}

*. باستخدام طريقة القطاعات، و3 مكررات لكل معاملة، وحيث أن: الاحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تثبيط العزلة F63 والاحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين العزلات البكتيرية في تثبيط العزلة F51.

بالاستناد إلى نتائج التضاد في المختبر وجد أن أفضل ثلاث عزلات هي 133 و134 (Rhizobium) و61 (Mesorhizobium) ولذلك استخدمت هذه العزلات في تجربة ضمن الأصص.

الجدول 4. تأثير المعاملة بالعزلتين البكتيريتين 133 و134 في تثبيط الفطر F. oxysporum f sp. ciceris وفي مؤشرات نمو نبات الفول.

المعاملة	طول المجموع الخضري (سم)	الوزن الرطب للمجموع الخضري (غ)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	طول المجموع الجذري(سم)	الوزن الرطب للمجموع الجذري (غ)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ)	شدة المرض (%)	نسبة الإصابة (%)
شاهد سليم	40^{b}	11.43^{cd}	7.60^{ab}	23.67^{ab}	9.97^{abc}	5.28^{abcd}	0.00^{c}	0.00^{c}
شاهد 133	33.67^{bc}	13.26^{bc}	5.51^{bc}	26.00^{a}	11.87^{ab}	6.92^{abc}	0.00^{c}	0.00^{c}
شاهد 134	37.67^{b}	14.84^{ab}	9.59^{a}	26.00^{a}	12.58^{a}	7.95^{a}	0.00^{c}	0.00^{c}
شاهدF63	25.67^{d}	9.56^{d}	5.17^{bc}	20.33^{c}	7.18^{cd}	3.94^{cd}	54.17^{a}	30.56^{a}
شاهدF51	28.67^{cd}	9.04^{d}	4.18^{c}	16.67^{d}	4.78^{d}	2.56^{d}	52.08^{a}	30.56^{a}
133×F63	38.33^{b}	16.59^{a}	9.50^{a}	19.33^{cd}	10.53^{abc}	5.43^{abcd}	20.83^{b}	22.22^{b}
134×F63	36.67^{b}	11.5^{cd}	7.40^{ab}	22.00^{bc}	12.05^{ab}	8.39^{a}	27.08^{b}	22.22^{b}
133×F51	34.00^{bc}	10.68^{cd}	5.49^{bc}	20.00^{c}	8.41^{bcd}	4.36^{bcd}	16.67^{b}	25.00^{ab}
134×F51	51.33^{a}	14.66^{ab}	9.44^{a}	22.33^{bc}	13.00^{a}	7.53^{ab}	16.67^{b}	22.22^{b}
$LSD_{0.05}$	6.46	2.86	2.59	3.29	3.92	3.20	13.91	7.91

أظهرت نتائج التضـاد ضـمن الأصـص وبالمقارنة بين المعاملات F63×133 و F63×134 والشـاهد F63 فروق معنوية في زيادة طول المجموع الخضري، وخفض شدة المرض ونسبة الإصابة، وزادت المعاملة F63×133 وزن المجموع الخضري الرطب والجاف بينما زادت المعاملة F63×134 الوزن الرطب والجاف للجذر.

بالمقارنة بين المعاملات F51×133 و F51×134 والشاهد F51 كان هناك فروق معنوية بين المعاملة F51×134 والشاهد في زيادة طول المجموع الخضري ووزنه الرطب والجاف وطول المجموع الجذري ووزنه الرطب والجاف ونسبة الاصابة المئوية وشدة المرض، بينما أظهرت المعاملة F51×133 فرق معنوي بطول المجموع الجذري وشدة المرض فقط، من الممكن أن يعود سبب الاختلاف في التـأثير بين العزلتين إلى اختلاف المواد التي تنتجها كل منها (مثل السـيديروفور وحمض الإندول الخلي) ومسـتوياتها (Gopalakrishnan et al., 2015, 361).

بالمقارنة بين المعاملتين F51×133 و F51×134 لوحظت فروق معنوية بين العزلتين بالنسـبة لطول المجموع الخضـري ووزنه الرطب والجاف والوزن الرطب للجذر (جدول. 4).

عند المقارنة بين المعاملتين فطر×بكتريا (F63×133 و F63× 134 و F51×133 و F51×134) والمعاملتين فطر فقط (شـاهد F63 وشاهد F51) أظهرت النتائج أن التلقيح بالعزلات البكتيرية أدى لفرق معنوي في شدة المرض ونسبة الإصـابة بينما زادت مؤشرات النمو، ولم يكن هناك اختلاف بين تأثير العزلتين البكتيريتين على النسبة المئوية للإصابة وشدة المرض.

تتوافق نتيجة العزلة 133 مع دراسـة أجريت على 3 عزلات من البكتريا الجذرية (Vb6–Vb3–Vb1) تجاه ذبول الفوزاريوم على الفول فأثبتت قدرتها التضـادية تجاه الفطر الممرض مخبرياً وحققت حقلياً حماية لنبات الفول بنسـبة 70–60–65 % على التوالي (El-Sersawy et al., 2021).

بينما اتفقت نتيجة العزلة 134 مع نتيجة دراسـة أجريت على 6 عزلات Mesorhizobium sp. و5 عزلات من البكتريا المتعايشـة داخلياً(endophitic) وحققت جميع العزلات تثبيطاً مخبرياً لنمو F. oxysporum f. sp. ciceris بنسـبة تراوحت بين 50–93.7%، أما الجمع بين النوعين البكتيريين حقلياً أدى لتحسين إنتاجية النبات والتقليل من أعراض المرض (Nagpal et al., 2020).

كما أكدت العديد من الدراسـات قدرة الرايزوبيا (Rhizobium sp. و R. leguminosarum و B. Japonicum) على تثبيط نمو العديد من الفطريات التي تصـيب نبات الفول ومنها Fusarium sp. و Rizctonia solani و Macrophomina phaseolina (Ehteshamul- Haque and Ghaffar, 1993; Baraka et al., 2009; Tamiru, 2022).

الجدول 5. تأثير المعاملة بالعزلة البكتيرية 61 في تثبيط الفطر F. oxysporum f sp. ciceris وفي مؤشرات نمو نبات الحمص.

المعاملة	طول المجموع الخضري (سم)	الوزن الرطب للمجموع الخضري (غ)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	طول المجموع الجذري (سم)	الوزن الرطب للمجموع الجذري (غ)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ)	شدة المرض (%)	نسبة الإصابة (%)
شاهد سليم	26.00^{ab}	3.29^{ab}	1.12^{a}	25.67^{b}	2.26^{a}	0.80^{ab}	0.00^{d}	0.00^{c}
شاهد61	30.33^{a}	4.83^{a}	0.83^{a}	31.00^{a}	3.06^{a}	0.59^{bc}	0.00^{d}	0.00^{c}
شاهد F63	18.33^{c}	1.29^{c}	0.30^{b}	18.33^{c}	1.09^{c}	0.22^{c}	56.25^{a}	27.78^{a}
شاهد F51	17.33^{c}	1.77^{bc}	1.00^{a}	12.33^{d}	1.22^{bc}	0.22^{c}	37.50^{b}	22.22^{a}
61×F63	23.00^{bc}	4.14^{a}	1.06^{a}	20.00^{c}	2.55^{a}	1.0^{a}	16.67^{c}	13.89^{b}
61×F51	24.00^{abc}	4.19^{a}	1.12^{a}	21.67^{bc}	2.15^{ab}	0.89^{ab}	10.42^{cd}	11.11^{b}
$LSD_{0.05}$	6.78	1.99	0.44	5.28	1.0	0.39	13.72	6.19

أظهرت نتائج تلقيح العزلة البكتيرية 61 على نبات الحمص وجود فروق معنوية بالمقارنة مع الشاهد السليم من حيث طول المجموع الجذري، وبالمقارنة بين المعاملة F63×61 و F63 لوحظ فروق معنوية بينهما بكل القراءات باستثناء طول المجموع الخضري والجذري، أما بالمقارنة بين المعاملتين F51×61 و F51 فكان هناك فرق معنوي بينهما بالقراءات باستثناء طول المجموع الخضري ووزنه الجاف ووزن المجموع الجذري الرطب. وبالنتيجة فقد كان هناك فرق معنوي بين المعاملتين (F63×61 و F51×61) والشاهدين (F63 و F51) وزادت المعاملة البكتيرية من بعض مؤشرات النمو (الوزن الرطب المجموع الخضري والجذري والوزن الجاف للجذر) وخفضت من نسبة الإصابة وشدة المرض.

توافقت نتيجة العزلة 61 مع دراسة أجريت في الهند لتتحقق من قدرة ثلاث عزلات (Rh1,Rh2,Rh3) من الرايزوبيا على تثبيط مرض الذبول الفوزاريومي على الحمص، فكانت العزلة Rh2 أكثر العزلات فعالية مخبرياً بنسبة تثبيط للنمو الفطري 46.66%، أما حقلياً فكانت نسبة الذبول 25.23% ونسبة تثبيط المرض 63.64% (Bobade et al,. 2022).

كما دعم Romdhane وآخرون (2022) هذه النتيجة بتسجيل ثلاث عزلات (M. ciceri و S. maliloti و M. mediterranum) معزولة من العقد الجذرية لنبات الحمص في تونس كانت مثبطة لنمو F. oxysporum، وعندما أجرى Siddiqui و Singh (2004) تجربة في البيت الزجاجي في الهند لدراسة تأثير بعض ملقحات التربة مثل (Rhizobium sp.) على نمو نبات الحمص وتثبيط فطر F. oxysporum f sp. ciceris لاحظ زيادة في نمو النبات وانخفاض في مؤشر الذبول.

بناءً على النتائج السابقة فمن الممكن أن تستخدم بكتريا الريزوبيا مستقبلاً كأسمدة ومبيدات حيوية، مما يقلل من تكاليف الإنتاج والتلوث البيئي، ويساعد في دعم الزراعة المستدامة.

5-الاستنتاجات Conclusions:

-أظهرت معظم العزلات البكتيرية قدرة تضادية مع فطر الذبول الفوزاريومي، بعضها كان عزلات رايزوبيا وبعضها عزلات بكتيرية معزولة من العقد الجذرية وغير معرفة. كما تباينت العزلات من حيث القدرة على تثبيط نمو الفطر مخبرياً والحد من أعراضه على نباتات الفول والحمص في الأصص.

-يوصى باستكمال اختبارات وتعريف العزلات التي لا تنتمي للرايزوبيا والتي أظهرت قدرة تضادية تجاه الفطر الممرض، وتعريف عزلات الرايزوبيا على مستوى النوع، ومتابعة دراسة القدرة التضادية لهذه العزلات من خلال إجراء تجارب نصف حقلية وحقلية.

التمويل:

هذا البحث ممول من قبل جامعة دمشق وفق رقم التمويل: 501100020595.

شكر وتقدير: للسيدة الدكتورة ميساء علوش لتزويدنا بعزلتين معرفتين من فطر ذبول فوزاريوم الحمص.

المراجع Reference:

1. الدوس، منال، أبوغرة، محمود والعظمة، محمد فواز. (2023). عزل بكتريا الرايزوبيا من جذور بعض البقوليات وتعريفها باستخدام الطرائق الكيميائية الحيوية والجزيئية والعدوى الاصطناعية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. قيد النشر.
2. صقر، أحمد محمد، البطران، إيمان سالم، وصالح، عادل محمد عبد الوهاب. (2021). دراسة اقتصادية لأهم العوامل المؤثرة على إنتاج المحاصيل الحقلية البقولية في مصر. المجلة المصرية للاقتصاد الزراعي. 31(4). 1229-1242.
3. عطية، شهيرة محمد رضا إبراهيم. (2017). محددات استجابة عرض المساحة المزروعة من المحاصيل البقولية في مصر. Journal of Agricultural Economics and Social Sciences. 8(12). 921–915.
4. علوش، ميساء، القاعي، باسل، وكمال، سعيد أحمد. (2015). مسح حقلي لمرض ذبول الحُمّص Fusarium oxysporum f.sp. ciceris في شمال سورية ودراسة القدرة الامراضية لبعض عزلاته. مجلة جامعة البعث للعلوم الهندسية. 37(1).235-252.
5. علوش، ميساء. (2018). انتشار وبائية مرض الذبول الفوزاريومي Fusarium oxysporum f. sp. ciceris على الحمص في سورية. أطروحة دكتوراة، قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة البعث.170 ص.
6. Abdel-Monaim, M. F., Morsy, K. M. and Zyan, A. H. M. (2018). Efficacy of some organic com pounds in controlling Fusarium wilt disease, growth and yield parameters in chickpea plants. Egyptian Journal of Agricultural Research. 96(2).
7. Arfaoui, A., Sifi, B., Boudabous, A., El Hadrami, I. and Cherif, M. (2006). Identification of Rhizobium isolates possessing antagonistic activity against Fusarium f. sp. Ciceris, the causal agent of Fusarium wilt of chickpea. Journal of plant pathology. 88(1). 67-75.
8. Baraka, MA, Shaban, WI and Abd EL-Moneim, H, 2009. Influence of Rizobium sp. combined with Trichoderma sp. on damping off diseases and growth parameter of some legume crops. Agriculture Researche Journal. Suez Canal University, 9(3): 87-96.
9. Bobade, SS, Chavan, RA., Babhare, SV. and Gambhire, VS. (2022). Compatibility of Rhizobium spp. with agrochemicals used to control chickpea wilt incited by Fusarium oxysporum f. sp. ciceri (Padwick) Snyder and Hansen. The Pharma Innovation Journal. 11(12). 1951-1957.
10. Das, K., Prasanna, R. and Saxena, A.K. (2017). Rhizobia: A potential biocontrol agent for soilborne fungal pathogens. Folia Microbiology. 62. 425–435.
11. Ehteshamul-Haque, S. and Ghaffar, A, 1993. Use of Rhizobia in the control of root rot disease of sunflower, Okar, Soya bean and Mung bean. J Phytopathol. 138: 157-63.
12. El-Sersawy, M. M., Hassan, S. E. D. , El-Ghamry A. A., Amr Mahmoud Abd El-Gwad and Amr Fouda. (2021). Implication of plant growth-promoting rhizobacteria of Bacillus spp. as biocontrol agents against wilt disease caused by Fusarium oxysporum Schlecht. in Vicia faba L. Biomolecular Concepts. 12 (1).
13. Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, R. K., Laxmipathi Gowda C. L. and Krishnamurthy L. (2015). Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. 3 Biotech. 5. 355–377.
14. Jaiswal, S. K., Mohammed, M., Ibny, F. Y. I., Dakora, F. D. 2021. Rhizobia as a Source of Plant Growth-Promoting Molecules: Potential Applications and Possible Operational Mechanisms. Frontiers Sustainable Food System. doi: 10.3389/fsufs.2020.619676. 4. p.14.
15. Khalifa, M. W., Rouag, N. and Bouhadida, M. (2022). Evaluation of the Antagonistic Effect of Pseudomonas Rhizobacteria on Fusarium Wilt of Chickpea. Agriculture. 12(3). 429.
16. Kucuk, C. and Cevheri, C. (2015). In vitro Antagonism of Rhizobium Strains Isolated from Various Legumes. journal of pure and applied microbiology. 9(1). 503-511.
17. Kumari, S. and Khanna, V. (2014). Effect of antagonistic rhizobacteria coinoculated with Mesorhizobium ciceris on control of Fusarium wilt in chickpea (Cicer arietinum L.). African Journal of Microbiology Research. 8(12). 1255- 1265.
18. Kumari, S. and Khanna, V. (2019). Induction of Systemic Resistance in Chickpea (Cicer arietinum L.) Against Fusarium oxysporum f. sp. ciceris by Antagonistic Rhizobacteria in Assistance with Native Mesorhizobium. Current microbiology. 77. 85–98.

19. Liu, L., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. (1995). Introduction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology. 85. 695-698.
20. Mahmoud, A. F. 2016. Evaluation of certain antagonistic fungal species for biological control of faba bean wilt disease incited by Fusarium oxysporum. Journal of Phytopathology and Pest Management. 3(2): 1-14.
21. Meena, P. K. and Nain, Y. (2022). Diseases of Chick Pea (Cicer arietinum L.) and their Management. Justagricultur. 3(2). 5.
22. Mir, M. I., Kumar, B. K., Gopalakrishnan, S., Vadlamudi S. and Hameeda, B. (2021). Characterization of rhizobia isolated from leguminous plants and their impact on the growth of ICCV 2 variety of chickpea (Cicer arietinum L.). Heliyon 7. p13.
23. Nagpal, S., Sharma, P., Sirari, A. and Gupta, R.K. (2020). Coordination of Mesorhizobium sp. and endophytic bacteria as elicitor of biocontrol against Fusarium wilt in chickpea. European Journal of Plant Pathology. 158. p 143–161.
24. Nagpal, S., Sharma, P., Sirari, A., Kumawat, K.C., Wati, L., Gupta, S.C. and Mandahal, K. S. (2021). Chickpea (Cicer arietinum L.) as model legume for decoding the co-existence of Pseudomonas fluorescens and Mesorhizobium sp. as bio-fertilizer under diverse agro-climatic zones. Microbiological Research. 247.
25. Nene, Y. L., Reddy, M. V., Haware, M. P., Ghanekar, A. M, Amin, K. S., Pande, S. and Sharma, M. (2012). Field Diagnosis of Chickpea Diseases and their Control. Information Bulletin No. 28 (revised). Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. p 60.
26. Pawar, V. A., Pawar, P. R., Bhosale, A. M. and Chavan, S. V. (2014) Effect of Rhizobium on Seed Germination and Growth of Plants. Journal of Academia and Industrial Research (JAIR). 3. p 84.
27. Romdhane, S. B., De Lajudie, Ph., Fuhrmann, J. J., Mrabet, M. 2022. Potential role of rhizobia to enhance chickpea-growth and yield in low fertility-soils of Tunisia. Antonie van Leeuwenhoek. 115(7):921-932. doi: 10.1007/s10482-022-01745-5.
28. Shaban, W. I. and El-Bramawy, M. A. 2012. Impact of dual inoculation with Rhizobium and Trichoderma on damping off, root rot diseases and plant growth parameters of some legumes field crop under greenhouse conditions. International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science. 1(3) . 098-108.
29. Siddiqui, Z. A. and Singh, L. P. 2004. Effects of soil inoculants on the growth, transpiration and wilt disease of chickpea. Journal of Plant Diseases and Protection. 111: 151–157.
30. Tamiru, G. and Muleta, D. (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. 12. 131-147.
31. Tamiru, G. 2022. Effect of host plant resistance and rhizobial inoculants on chocolate spot (Botrytis fabae) severity and yield of faba bean (Vicia faba L.) in South region, Ethiopia. Net Journal of Agricultural Science. 10(3), pp. 54-58, July 2022. DOI: 10.30918/NJAS.103.22.013.
32. Wang, E.T. (2019). Symbiosis Between Rhizobia and Legumes. Ecology and Evolution of Rhizobia. p 3-19.