

دراسة تأثير بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* مخبرياً

صباح المغربي¹، ياسر حماد¹ وبشرى رزق²

(1) كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛

(2) مركز البحوث العلمية الزراعية، طرطوس، سورية، البريد الإلكتروني: bushrarzk@yahoo.com

الملخص

المغربي، صباح، ياسر حماد، بشرى رزق. 2016. دراسة تأثير بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* مخبرياً. مجلة وقاية النبات العربية، 34(2): 135-141.

هدف البحث إلى دراسة التأثير المضاد لبكتيريا *Rhizobium leguminosarum* إزاء الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) المسبب لمرض ذبول البندورة / الطماطم. عزلت البكتيريا *Rhizobium leguminosarum* من عقد جذرية لنبات الفول، وأجريت عدة تحاليل بيوكيميائية لتحديد العزلات وتوصيفها (تحلل جيلاتين، النمو في وسط جلوكوز بيبتون آجار، النمو في وسط لآجار السكريات الثلاثية)، وعزل الفطر *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) من نباتات بندورة أبدت أعراض الإصابة بمرض ذبول الفيوزاريوم، مزروعة في مواقع مختلفة في الساحل السوري. تم الحصول على عزلتين من البكتيريا المذكورة (R1، R2) وثمانية عزلات تابعة للفطر (FOL1، FOL2، FOL3، FOL4، FOL5، FOL6، FOL7، FOL8). أظهرت النتائج فعالية البكتيريا في الحد من نمو الفطر مخبرياً، وكانت العزلة R1 هي الأكثر فعالية حيث وصلت نسبة التضاد إلى 68.05% مع العزلة FOL7، كما بينت النتائج أيضاً أن هذه البكتيريا كانت قادرة على إنتاج مواد متطايرة استطاعت أن تثبط نمو الفطر وكانت أعلاها للعزلة R1 حيث وصل متوسط قدرتها لتثبيط العزلة الفطرية FOL7 إلى 37.78%.

كلمات مفتاحية: بندورة/طماطم، مواد متطايرة، *Rhizobium leguminosarum*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*.

المقدمة

كما لوحظ أن الكائنات الحية الدقيقة التي تنمو في منطقة محيط الجذور يمكن أن تكون عوامل مكافحة حيوية مثالية، وتقوم بحماية الجذور من مهاجمة الممرضات، وتحتفز نمو النبات مثل عزلات من أنواع بكتيرية مختلفة تابعة للأجناس *Bacillus* و *Pseudomonas* وحديثاً مجموعة *Rhizobium* حيث وجدت عزلات منها فعالة في مكافحة الفطور الممرضة (18).

تنتمي البكتيريا التابعة للجنس *Rhizobium* لرتبة Rhizobiales ضمن عائلة Rhizobiaceae (16). وقد استخدمت هذه البكتيريا بنجاح إزاء الممرضات الفطرية التي تنتمي إلى الأجناس *Fusarium*، *Rhizoctonia* و *Macrophomina*. تمتلك بكتيريا رايزوبيوم آليات عديدة للتأثير في بعض الممرضات، تشمل المنافسة على الحديد والغذاء وإنتاج مضادات حيوية، وزيادة في نمو النبات، وحث آليات الدفاع فيه (3)، وتنتج محرضات لنمو النبات، وتزيد من امتصاص الفوسفور وعناصر معدنية أخرى، بالإضافة إلى إنتاج هورمونات مثل الجبريلين والاكسين والسيبتوكينين (14).

تنتج بكتيريا الرايزوبيوم مركب أندول اسيتيك الذي يحسن من نمو النبات، بزيادة عدد الجذور الجانبية والشعيرات، وحث المقاومة

يشكل الاستخدام اللاعقلاني للمبيدات خطورة على البيئة وصحة الإنسان، بالإضافة إلى احتمال حدوث تطور للمقاومة لها عند بعض الآفات (9). ويعد التوجه نحو المكافحة الحيوية من الإجراءات البديلة عن استخدام المبيدات، إذ أظهرت مجموعة متنوعة من الكائنات الحية الدقيقة فعالية جيدة في مكافحة ممرضات نباتية توجد في التربة ومنها مرض ذبول الفيوزاريوم (13). تعد منطقة محيط الجذور (الرايزوسفير) منطقة غنية جداً بالمواد العضوية، وهي مفعمة بالنشاط البكتيري نظراً لوجود الجذور النباتية التي بدورها تقوم بعمليات الامتصاص والتخزين، حيث توفر بيئة ملائمة لنمو العديد من الأحياء المجهرية النافعة والممرضة وانتشارها، ويخلق هذا الوجود نوعاً من التنافس بين هذه الكائنات على المواد الغذائية، والتضاد من خلال إنتاج مواد أيضية وإفراز أنزيمات قادرة على تثبيط نمو الأحياء الأخرى بالآليات معينة حسب إمكانيات كل كائن مجهري (24).

في النبات بمراكم مركبات الفينول وتنشيط أنزيمات الكيوتيناز والجلوكاناز والبيروكسيداز وبولي فينول أوكسيداز (8).

هدف هذا البحث إلى: (أ) عزل وتوصيف البكتيريا *Rhizobium leguminosarum* من العقد الجذرية لنبات الفول، والفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* من نباتات بندورة مصابة؛ (ب) دراسة تأثير النشاط المضاد للبكتيريا *Rhizobium leguminosarum* F.o. f.sp. في نمو الفطر *F.o. f.sp. lycopersici*؛ (ج) دراسة تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا *Rhizobium leguminosarum* F.o. f.sp. في نمو الفطر *F.o. f.sp. lycopersici*.

مواد البحث وطرقه

عزل الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

جمعت نباتات بندورة/طماطم تبدي أعراض الإصابة بمرض ذبول لفيوزاريوم من بيوت بلاستيكية موجودة في مواقع مختلفة من منطقتي جبلة وبانياس في سورية خلال الموسم 2014/2015، ووضعت في أكياس من البولي إيثيلين وسجل عليها المعلومات اللازمة. ولعزل الفطر *F.o. f.sp. lycopersici* من العينات النباتية، قطعت الساق على ارتفاع 5 سم من المجموع الجذري، وغسلت الجذور والجزء السفلي من قاعدة الساق بماء الصنبور بحذر للتخلص من التربة، ثم جففت هوائياً بوضعها على ورق جرائد. قطعت الجذور والساق المصابة إلى قطع صغيرة حوالي 6 مم، طهرت سطحياً بهيبوكلوريت الصوديوم 5% لمدة ثلاث دقائق، ثم غسلت مرتين بماء مقطر معقم للتخلص من بقايا المادة المطهرة، وبعدها نقلت إلى أوراق ترشيح معقمة للتخلص من الماء الزائد، ثم وزعت في أطباق بتري بمعدل 3-4 قطع على مستنبت آجار البطاطا والدكستروز (PDA) المضاف إليه المضاد الحيوي ceftriaxone بمعدل 100 مغ/ل لمنع نمو البكتيريا إن وجدت. حضنت الأطباق عند $24 \pm 2^\circ\text{C}$ وأخذت النتائج بعد 7-14 يوماً. تمت تنقية الفطور المعزولة من الجذر والساق على المستنبت PDA وذلك للحصول على مزارع نقية من الفطر، ثم حضنت لمدة ثمانية إلى عشرة أيام عند $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ، وكررت العملية حتى تم الحصول على مستعمرات نقية تماماً.

تم تشخيص الفطور المعزولة حسب الصفات المورفولوجية للمزارع الفطرية من شكل ولون، وكذلك حسب صفات الحوامل والأبواغ الكونيدية (5، 22).

عزل البكتيريا *Rhizobium leguminosarum*

عزلت بكتيريا *Rhizobium* من عقد جذرية وردية اللون موجودة على جذور نبات الفول في محافظة طرطوس في سورية. غسلت

العقد المحددة بالماء جيداً لإزالة التربة العالقة بها، ثم عقرت بكوريد الزنق 0.1% لمدة 30 ثانية، وبعدها بالكحول، ثم غسلت عدة مرات بالماء المقطر المعقم. هرست العقدة بواسطة قضيب معقم للحصول على مستخلص حليبي، وبوساطة إبرة التلقيح ذاتها أخذ جزء من المستخلص الحليبي إلى مستنبت آجار مانيتول مستخلص الخميرة (YEMA) (25، 29)، ثم حضنت عند $29-30^\circ\text{C}$. وبعد يومين إلى ثلاثة أيام، تم الحصول على مستعمرات بكتيرية، أعيدت زراعتها عدة مرات للحصول على مستعمرات نقية، ثم درست مواصفاتها للتأكد من أنها تنتمي لبكتيريا *Rhizobium* (10).

توصيف البكتيريا

دراسة الصفات المزراعية للمستعمرات والخصائص المجهرية للخلايا:

درست مستعمرات البكتيريا النامية على مستنبت YEMA عند $29-30^\circ\text{C}$ لمدة 2-3 أيام من حيث لون المستعمرة ومظهرها وشكلها وقوامها وقطرها، وفحصت الخلايا تحت المجهر الضوئي للتعرف على شكلها وإجراء اختبار صبغة غرام لها (6).

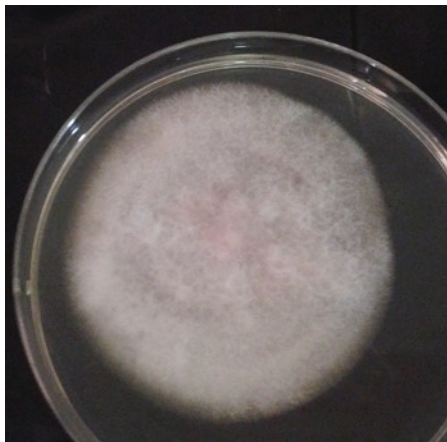
دراسة الخصائص البيوكيميائية للبكتيريا:

تحلل الجيلاتين - أجري هذا الاختبار لتحديد مقدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم جيلاتيناز، وذلك باستخدام الجيلاتين، إذ أن تحلل الجيلاتين يشير إلى إنتاج هذا الأنزيم. لقحت البكتيريا على مستنبت جيلاتين (5 غ/ل بيبتون، 3 غ/ل مستخلص اللحم، 12 غ/ل جيلاتين)، حضنت لمدة 48 ساعة وبعدها عرضت المزارع النامية لحرارة 4°C لمدة 30-60 دقيقة. المزارع التي أنتجت أنزيم الجيلاتيناز بقيت سائلة وتجمدت تلك التي لم تنتج (10).

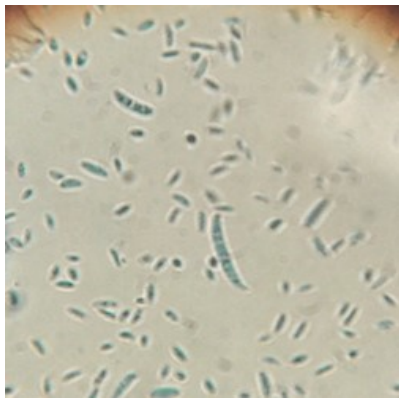
النمو في وسط جلوكوز بيبتون آجار (GPA) - حضر مستنبت جلوكوز بيبتون آجار بإذابة 10 غ بيبتون و5 غ جلوكوز و15 غ آجار و10 مل من صبغة بروموسيرازول في 1000 مل من الماء المقطر المعقم. زرعت البكتيريا بشكل مخطط على سطح مستنبت آجار جلوكوز بيبتون الصلب، وتم التحضين عند $28 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة خمسة أيام، ولوحظ النمو والتغير في اللون البنفسجي إلى الأصفر إن كانت البكتيريا تنتمي إلى جنس *Rhizobium* (15).

النمو في وسط آجار السكريات - تم هذا الاختبار لتحديد مقدرة البكتيريا على استخدام سكريات مثل السكروز والدكستروز واللاكتوز كوسط من أجل النمو. يتكون وسط السكريات من 3 غ/ل مستخلص لحم، 3 غ/ل مستخلص الخميرة، 15 غ/ل بيبتون، 5 غ/ل كلوريد الصوديوم، 10 غ/ل لاكتوز، 10 غ/ل سكروز، 1 غ/ل دكستروز، 0.2 غ/ل كبريتات الحديد، 0.3 غ/ل ثيوسلفات الصوديوم،

في سورية ظهرت عليها أعراض الإصابة *i*. كان نمو الغزل الفطري لمستعمرات هذه العزلات على مستنبت PDA قطنياً، وتراوحت ألوانها على السطح العلوي بين الأبيض المشوب باللون الوردي والكريمي، وعلى السطح السفلي بين اللون الكريمي والكريمي المشوب باللون الأصفر والوردي والبنّي المشوب باللون الأصفر (شكل 1). وتتوافق هذه النتائج مع ما حصل عليه عدد من الباحثين (4، 23، 27). فحصت أبواغ هذه العزلات تحت المجهر الضوئي وصنفت (5، 22، 26)، وتبين من الفحص وجود ثلاثة أنواع من الأبواغ وهي: أبواغ كونيديّة صغيرة (microconidia) كلوية الشكل وحيدة الخلية غالباً تتشكل على فياليدات بسيطة أحادية قصيرة (شكل 2 و 4)، وأبواغ كونيديّة كبيرة (Macroconidia) هلالية الشكل مقسمة من 2-5 خلايا، الخلية القاعدية قديمة الشكل (شكل 2)، وكلاميديّة (Chlamydospores) كروية الشكل ذات جدار سميك وهي أحادية وثنائية (شكل 3)، وهذه الأبواغ تعود للفطر *F. oxysporum*.



شكل 1. مستعمرة للفطر *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*
Figure 1. *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* colony.



شكل 2. الأبواغ الكونيديّة الكبيرة والصغيرة للفطر *F. oxysporum* (60x)
Figure 2. Small and large condiospores of *F. oxysporum* (60x)

0.24 غ/ل أحمر الفينول، 15 غ/ل آجار. لقحت البكتيريا على هذا الوسط وحضنت لمدة 72 ساعة، وتمت مراقبة التغير في اللون، إذ يصبح لون أسفل الأنبوب أصفر وأعلى الأنبوب لونه أحمر إذا كانت البكتيريا تنتمي إلى جنس الـ *Rhizobium* (10).

دراسة النشاط المضاد للبكتيريا إزاء الفطر *F.o. f.sp. lycopersici*
درس النشاط المضاد للبكتيريا *R. leguminosarum* إزاء الفطر *F.o. f.sp. lycopersici* وذلك حسب طريقة الزراعة الثنائية (17، 28). في هذه الطريقة أخذ قرص قطر 5 مم من مستعمرة فطرية بعمر ثمانية أيام، ووضعت في منتصف طبق بتري يحوي وسط PDA، وزرع خطان من البكتيريا على جانبي القرص الفطري يبعد كل منهما عنه بحوالي 2 سم، أما في الشاهد فتم وضع القرص الفطري على مستنبت PDA بدون بكتيريا، وحضرت أربعة مكررات لكل معاملة، وتم التحضين عند 28°س لمدة سبعة أيام، وبعدها أخذ قطر نمو المستعمرة الفطرية وحسبت النسبة المئوية لتنشيط النمو بالمعادلة التالية (19):

$$\text{نسبة تنشيط النمو (\%)} = \frac{\text{قطر نمو الشاهد} - \text{قطر نمو المعاملة}}{\text{قطر نمو الشاهد}} \times 100$$

دراسة تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا في نمو الفطر *F.o. f.sp. lycopersici*
درس تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا *R. leguminosarum* في نمو الفطر *F.o. f.sp. lycopersici* باستخدام طريقة الطبق المغلق. في هذه الطريقة أخذ 200 ميكروليتر من مرق المانتول مستخلص الخميرة (YEM) يحوي على البكتيريا بتركيز 10^8 وحدة/مل، ونشر على طبق بتري يحوي مستنبت YEMA، وتم تحضين البكتيريا عند 28°س لمدة 24 ساعة، وبعد ذلك وضع قرص فطري قطره 5 مم في منتصف طبق بتري يحوي مستنبت PDA، ثم لصق الطبقتان بالبارافيلم، أما الشاهد فلم يحتو على البكتيريا، وحضرت أربعة مكررات لكل معاملة. تم التحضين لمدة خمسة أيام عند 25°س، ثم أخذ قطر نمو المستعمرة الفطرية (18)، وتم حساب النسبة المئوية لتنشيط النمو بالمقارنة مع الشاهد حسب المعادلة المذكورة سابقاً. تم التحليل الإحصائي بوساطة برنامج GenState-12 بمقارنة قيمة أقل فرق معنوي عند المستوى 1%، واستخدم اختبار دانكان لتحديد الفروق المعنوية بين المعاملات.

النتائج والمناقشة

دراسة عزلات الفطر *F.o. f.sp. lycopersici*
جمعت ثمانية عزلات من الفطر *F.o. f.sp. lycopersici* من نباتات بندورة/طماطم مزروعة في بيوت محمية موجودة في جيلة وبانياس

الأنابيب المزروعة بهاتين العزلتين، فأصبح لون أسفل الأنبوب أصفر وأعلى الأنبوب لونه أحمر وهذا يتوافق مع ما نشر سابقاً (6، 29).

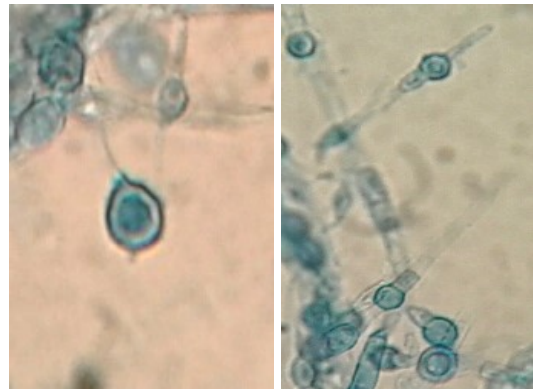
جدول 1. الصفات البيوكيميائية لعزلي بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* (R1 و R2).

Table 1. Biochemichal characterization of *Rhizobium leguminosarum* isolates R1 and R2

العزلات		الخصائص البيوكيميائية Biochemichal Characterization
<i>Rhizobium leguminosarum</i> isolates		
R1	R2	
—	—	تحلل الجيلاتين Gelatin hydrolysis
+	+	النمو في وسط GPA Growth on GPA
+	+	اختبار لأجار السكريات Triple sugar agar test

أظهرت نتائج الفحص المجهرى والاختبارات البيوكيميائية أن البكتيريا المعزولة من عقد جذرية لنبات الفول تنتمي لجنس *Rhizobium*، وحسب التقسيم المقترح للريزوبيوم اعتماداً على مجاميع التلقيح التبادلية، فإن النوع الذي يتوافق مع الفول يتبع مجموعة البسلة التي تضم البكتيريا *R. leguminosarum* (7)، ولتأكيد ذلك لقحت بذور فول بالعزلتين المدروستين، وزرعت في أصص تحوي تربة معقمة، وبيئت النتائج تشكل عقد جذرية وردية اللون على جذور نبات الفول بواسطة العزلات المستخدمة.

دراسة النشاط المضاد للبكتيريا إزاء الفطر *F.o. f.sp. lycopersici*
يلاحظ من النتائج التي تم الحصول عليها (جدول 2) أن عزلي *Rhizobium* (R1، R2) استطاعتا تثبيط نمو جميع عزلات الفطر *F.o. f.sp. lycopersici* بنسب مختلفة، وتوقفت العزلة R1 على العزلة R2 من حيث تأثيرها في نمو الفطر *Fusarium*، حيث كان متوسط النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر 55.88%، بينما عند العزلة R2 كان 31.69%. كما لوحظ (جدول 2) أنه بالنسبة إلى العزلة R1 كانت أعلى نسبة تثبيط لنمو الفطر عند العزلة FOL7، وتوقفت معنوياً على جميع المعاملات، حيث وصل متوسط النسبة المئوية للتثبيط إلى 68.05%، تلتها العزلتان FOL4 و FOL8 حيث وصل متوسط النسبة المئوية للتثبيط إلى 60.83% و 60.33%، على التوالي، وكانت أقل تأثيراً في العزلتين FOL5 و FOL6 حيث كان متوسط النسبة المئوية لتثبيط النمو 45.42% و 48.31%، على التوالي.



شكل 3. الأبواغ الكلاميدية للفطر *F. oxysporum* (60x)
Figure 3. Clamedospores of *F. oxysporum* (60x)



شكل 4. فياليدات أحادية وأبواغ كونيدية صغيرة متشكلة عليها *F. oxysporum* (60x)
Figure 4. Monophialides and small condiospores (60x)

دراسة عزلات البكتيريا *R. leguminosarum*

تم الحصول على عزلتين من البكتيريا *R. leguminosarum* (R1، R2) من موقعين مختلفين من محافظة طرطوس في سورية، حيث كانت مستعمراتها كريمية اللون ودقيقة المظهر ومخاطية القوام ودائرية الشكل، وتراوحت أقطارها من 1 إلى 4 مم، وأظهر الفحص بالمجهر الضوئي بأنها عصوية الشكل وسالبة الغرام، وتتوافق هذه النتائج مع ما نشره عدد من الباحثين (10، 12، 15، 25).

أظهرت النتائج (جدول 1)، أن عزلي بكتيريا *Rhizobium* (R1، R2) لم تنتجا أنزيم الجيلاتيناز إذ بقي الجيلاتين صلباً عند وضعه في حرارة 4°س لمدة 30-60 دقيقة، وهذه تعتبر صفة من صفات بكتيريا *Rhizobium* (6، 10). كما بيئت النتائج أيضاً أن عزلي *Rhizobium* (R1، R2) استطاعتا النمو في وسط جلوكوز بيبتون آجار، إذ كانت قادرة على استخدام الجلوكوز كمصدر للكربون، لذلك تحول لون الوسط من البنفسجي إلى الأصفر. كما تبين أن هاتين العزلتين كانتا قادرتين على استخدام سكريات الجلوكوز واللاكتوز والسكروروز من أجل النمو، حيث تم ملاحظة تغير لون

دراسة تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا في نمو الفطر *F.o. f.sp. lycopersici*
 أظهرت النتائج (جدول 3) أن المنتجات المتطايرة لعزلة *Rhizobium* R1 كان لها تأثير في تثبيط نمو جميع عزلات الفطر *F.o. f.sp. lycopersici* وكانت أعلاها عند العزلة FOL7 حيث وصل متوسط النسبة المئوية للتثبيط إلى 37.78%، تلتها العزلة FOL8 (36.01%)، وأقلها عند العزلة FOL2 (3.00%). أما بالنسبة للعزلة R2 فأظهرت النتائج أن المنتجات المتطايرة لهذه العزلة أثرت في جميع عزلات الفطر *F.o. f.sp. lycopersici* باستثناء العزلة FOL5، وكانت النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر هي الأعلى عند العزلة FOL3 حيث وصلت إلى 23.39%، ثم تلتها العزلات FOL8 و FOL7 (18.15% و 17.05%، على التوالي) وكانت أقلها عند العزلة FOL4 (5.62%)، وهذه النتائج تتوافق مع ما نشر سابقاً (2، 18، 20). كما أشارت دراسات سابقة أن بكتيريا *Rhizobium* قادرة على تثبيط نمو العديد من الفطريات بإفرازها مواد طيارة من ضمنها غاز السيانيد HCN (2، 18).

جدول 3. تأثير المنتجات المتطايرة لبكتيريا *Rhizobium leguminosarum* f.sp. *lycopersici* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*
Table 3. Effect of volatile substances of *Rhizobium leguminosarum* on growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

نسبة تثبيط نمو الفطر (%)		<i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. lycopersici</i>
Fungal growth inhibition rate (%)		
عزلات		
<i>Rhizobium leguminosarum</i> isolates		
R1	R2	
7.41 f	7.40 d	FOL1
3.00 g	6.00 d	FOL2
16.03 e	23.39 a	FOL3
4.28 g	5.62 d	FOL4
17.77 d	0.00 e	FOL5
19.28 c	9.82 c	FOL6
37.78 a	17.05 b	FOL7
36.01 b	18.15 b	FOL8
17.69	10.92	Mean المتوسط

القيم المتبوعة بالحروف نفسها لا يوجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكان عند احتمال 0.01

Means followed by the same letters in the same column are not significantly different based on Duncan's test at P=0.01

أما بالنسبة لعزلة R2 فقد كان متوسط النسبة المئوية لتثبيط النمو أكبر عند العزلة FOL2 وتوقفت معنوياً على جميع المعاملات حيث وصل متوسط النسبة المئوية للتثبيط إلى 47.14%، ثم تلتها العزلة FOL4 حيث وصل متوسط النسبة المئوية للتثبيط إلى 41.68% بينما كان متوسط النسبة المئوية للتثبيط أقل عند العزلة FOL6 حيث كان 14.11%، وتتوافق هذه النتائج مع ما نشر سابقاً (3، 11، 14، 17، 20).

قد يعود تثبيط بكتيريا *R. leguminosarum* للفطر *F.o. f.sp. lycopersici* إلى إفراز البكتيريا مواد أيضية في الوسط الغذائي والتي قد تتضمن مضادات حيوية وأنزيمات محللة للجدار الخلوي (1)، كما قد تفرز بكتيريا *R. leguminosarum* مضادات حيوية محللة لهيئات الفطر وتتنافس الفطر على المكان والغذاء (3، 21).

جدول 2. تأثير عزلتين من بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* في نمو عزلات الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*
Table 2. Effect of two isolates of *Rhizobium leguminosarum* on the growth of different isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

نسبة تثبيط نمو الفطر (%)		<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>
Fungal growth inhibition rate (%)		
عزلات <i>Rhizobium leguminosarum</i> isolates		
R1	R2	
55.21 c	34.35 bc	FOL1
51.28 d	47.14 a	FOL2
57.66 bc	33.33 bc	FOL3
60.33 b	41.68 ab	FOL4
45.42 e	31.76 c	FOL5
48.31 de	14.11 e	FOL6
68.05 a	22.35 de	FOL7
60.83 b	28.86 cd	FOL8
55.88	31.69	Mean المتوسط

القيم المتبوعة بالحروف نفسها في العمود نفس لا يوجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكان عند احتمال 0.01

Means followed by the same letters in the same column are not significantly different based on Duncan's test at P=0.01

Abstract

Al-Maghribi, S., Y. Hammad and B. Rezk. 2016. Effect of *Rhizobium leguminosarum* on growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in vitro. Arab Journal of Plant Protection, 34(2): 135-141.

This study was carried out to evaluate the antagonistic effect of *Rhizobium leguminosarum* isolates against *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, the causal organism of tomato wilt. *R. leguminosarum* was isolated from the root nodules of faba bean and characterized by biochemical analysis (gelatin hydrolysis, glucose peptone agar, triple sugar ion agar test). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* was isolated from tomato plants showing characteristic symptoms of Fusarium wilt disease. These plants were planted in different locations along the Syrian coast. Two isolates of *R. leguminosarum* (R1 and R2) and eight *F. o. f. sp. lycopersici* isolates (FOL1, FOL2, FOL3, FOL4, FOL5, FOL6, FOL7, FOL8) were obtained. The results demonstrated the effectiveness of the *Rhizobium* isolates in inhibiting *F. o. f. sp. lycopersici* in vitro. Isolate R1 was the most effective and caused 68.05% growth inhibition of isolate FOL7. The results also showed that these bacteria were able to produce volatile substances that led to the inhibition of *F. o. f. sp. Lycopersici* growth. Isolate R1 was the most effective and caused 37.78% growth inhibition of isolate FOL7.

Keywords: *Rhizobium leguminosarum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, tomato, volatile substances.

Corresponding author: Sabah Al-Maghribi, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

References

المراجع

1. الطائي، محمد ابراهيم وزكريا سامي المولى. 2010. دراسة تأثير بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* نمو مجموعة من الفطريات. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 15: 20-25.
2. Arfaoui, A., B. Sifi, A. Boudabous, I. El-Hadrami and M. Cherif. 2006. Identification of *Rhizobium* isolates possessing antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, the causal agent of Fusarium wilt of chickpea. Journal of Plant Pathology, 88: 67-75.
3. Arfaoui, A., B. Sifi, M. El-Hassan, A. Boudabbous and M. Cherif. 2005. Biochemical analysis of protection against *Fusarium* wilt afforded by two *Rhizobium* isolates. Plant Pathology Journal, 4: 35-42.
4. Barhate, B.G., G.N. Dake, B.C. Game and D.N. Padule. 2006. Variability for virulence in *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* causing wilt of chickpea. Legume Research, 29: 308-310.
5. Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 237 pp.
6. Bhattacharya, C., B. Deshpande and B. Pandey. 2013. Isolation and Characterization of *Rhizobium* sp. from root of legume plant (*Pisum sativum*) and its antibacterial activity against different bacterial strains. International Journal of Agricultural and Food Science, 3: 138-141.
7. Berrada, H. and K. Fikri. 2014. Taxonomy of the Rhizobia: Current Perspectives. British Microbiology Research Journal, 4: 616-639.
8. Chérif, M., A. Arfaoui and A. Rhaïem. 2007. Phenolic compounds and their role in bio-control and resistance of chickpea to fungal pathogenic attacks. Tunisian Journal of Plant Protection, 2: 7-21.
9. Deliopoulos, T., P.S. Kettlewell and M.C. Hare. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. Crop Protection, 29: 1059-1075.
10. Deora, G.S. and K. Singhal. 2010. Isolation, biochemical characterization and preparation of biofertilizers using *Rhizobium* strains for commercial use. Bioscience and Biotechnology Research Communications, 3: 132-136.
11. Devi, T. and G.K.N. Chhetry. 2014. Evaluation of *Rhizobium* and biopesticides against Fusarium wilt of pigeonpea. International Journal of Innovative Research and Development, 3: 245-249.
12. Dhabhai, K. and A. Batra. 2012. Physiological and phylogenetic analysis of rhizobia isolated from *Acacia nilotica* L. African Journal of Biotechnology, 11: 1386-1390.
13. 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. Biological Control, 40: 118-127.
14. El-Batanony, N.H., O.N. Massoud, M.M. Mazen and M.M. Abd El-Monium. 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 Arbuscular mycorrhiza (Am). World Journal of Agricultural Sciences, 3: 721-730.
15. Fentahun, M., M.S. Akhtar, D. Muleta and F. Lemessa. 2013. Isolation and characterization of nitrogen deficit *Rhizobium* isolates and their effect on growth of haricot bean. African Journal of Agricultural Research, 8: 5942-5952.
16. Frank, B. 1889. Über die Pilzsymbiose der Leguminosen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 7: 332-346.
17. Hoque, S., N. Sultana, A.N. Faruq, M.Z.R. Bhuiyan and N. Islam. 2015. In-vitro evaluation of selected bio-control agents against foot and root rot pathogens of lentil. Scholarly Journal of Agricultural Science, 5: 8-15.
18. Hmissi, I., S. Gargouri and B. Sifi. 2011. Attempt of wheat protection against *Fusarium culmorum* using *Rhizobium* isolates. Tunisian Journal of Plant Protection 6: 75-86.
19. Islam, R., Y.T. Jeong, Y.J. Ryu, C.H. Song and Y.S. Lee. 2009. Isolation, identification and optimal culture conditions of *Streptomyces albidoflavus* C247 producing antifungal agents against *Rhizoctonia solani* AG2-2. Mycobiology, 37: 114-120.

25. **Rajpoot, P. and K.S. Panwar.** 2013. Isolation and Characterization of Rhizobia and their Effect on *Vigna radiata* Plant. Octa Journal of Biosciences, 1: 69-76.
26. **Seifert, K.** 1996. Fusarium interactive key. Agriculture and Agri-Food Canada. 65 pp.
27. **Sharam, G. and R.R. Pandey.** 2010. Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. Journal of Yeast and Fungal Research, 1: 157-164.
28. **Sicuia, O., S. Dinu, M. Dinu, C. Fatu, D. Valimareanu, C. Mincea and F. Constantinescu.** 2014. Pests and diseases management using compatible biocontrol bacteria against tomato pathogenic fungi. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, XVIII: 66-72.
29. **Singh, B., R. Kaur and K. Singh.** 2008. Characterization of *Rhizobium* strain isolated from the roots of *Trigonella foenumgraecum* (fenugreek). African Journal of Biotechnology, 7: 3671-3676.
20. **Kumari, S. and V. Khanna.** 2014. Effect of antagonistic *Rhizobacteria* coinoculated with *Mesorhizobium ciceris* on the control of Fusarium wilt in chickpea (*Cicer arietinum* L.). African Journal of Microbiology Research, 8: 1255-1265.
21. **Malajezuk, N.** 1983. Microbial antagonism to *Phytophthora*. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
22. **Nelson, P. E., T. A. Toussoun and W. F. Marasas.** 1983. *Fusarium* species. Octa Journal of Biosciences, 1: 69-76.
23. **Nirmaladevi, D. and C. Srinivas.** 2012. Cultural, morphological, and pathogenicity variation in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing wilt of tomato. Batman University Journal of Life Science, 2: 1-16.
24. **Ozkoc, I. and M.H. Deliveli.** 2001. *In vitro* inhibition of the mycelial growth of some root rot fungi by *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* isolates. Turkish Journal of Biology, 25: 435-445.

Received: December 15, 2015; Accepted: April 18, 2016

تاريخ الاستلام: 2015/12/15؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2016/4/18