Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Inhabiting the Growth of *Fusarium oxysporum in vitro*

Dr. Yaser Hammad*
Dr. Ramez Al Shami**

(Received 6 / 12 / 2023. Accepted 5 / 3 /2024)

□ ABSTRACT □

This experiment aimed to study the effect of six species of plant growth promoting rhizobacteria (BGPR) (*Frateuria aurantia, Pseudomonas fluorescens, Rhizobium leguminosarum, Bacillus circulans, Bacillus megaterium, Azotobacter chroococcum*) on the growth of the fungus *Fusarium oxysporum* F. sp. lycopersici *In vitro*.
Studied directly using the double cultivation method on a Potato Dextrose Agar (PDA) medium in the same dish for the fungus and bacteria, to study the effect of secreted substances in the environment, and indirectly to study the effect of volatile substances in inhibiting the growth of the fungus by cultivation in the closed dish using two dishes. The mushrooms were grown on a PDA medium, and the bacteria on a Yeast Mannitol Agar (YEMA) medium. After incubating the dishes for (5-7) days, the diameter of the fungal colony was measured and the percentage of fungal growth inhibition compared to the control was calculated.
The results showed that all bacterial species inhibited the growth of *Fusarium oxysporum* as a result of its secretions and the volatile substances it secreted, with *Bacillus circulans* significantly superior to the rest of the bacterial species, as the diameter of the pathogenic fungus colony in treatment (F+Bc) was 0.8 cm and 3.76 cm compared with the control (F) 8 cm and 4.8 cm. and the percentage inhibition was 90% and 31.25%, respectively. The results indicate the ability of PGPR bacteria used to inhibit the growth of *fungus Fusarium oxysporum* F. sp. lycopersici and the possibility of using them in biological control.

Keywords: (PGPR), *Fusarium oxysporum*, PDA, Antagonism, Volatile materials.

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

***Associated Professor, Department of soil and water sciences, Faculty of Agricultural engineering, Tishreen University,lattakia, syria yaser.hammad@tishreen.edu.sy.**
****Assistant Professor, second faculty of Agriculture in Suwayda, Damascus university. ramez2.alshami@damascusuniversity.edu.sy.**

تأثير بعض أنواع الرايزوبكتريا المحفزة لنمو النبات (PGPR) في نمو فطر *Fusarium oxysporum* مخبرياً

د. ياسر حماد*

د. رامز الشامي**

(تاريخ الإيداع 6 / 12 / 2023. قبل للنشر في 5 / 3 / 2024)

□ ملخّص □

تملك البكتيريا المحفزة لنمو النبات(PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria) أهمية كبيرة في تحسين خصائص التربة وزيادة الانتاج ومقاومة أمراض النبات، هدف البحث إلى دراسة تأثير ستة أنواع من الرايزوبكتيريا (*Frateuria aurantia*، *Bacillus circulans*، *Rhizobium leguminosarum*، *Pseudomonas fluorescens*، *Bacillus megaterium*، *Azotobacter chroococcum*) في نمو فطر الفيوزاريوم *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici مخبرياً،

دُرس التضاد بين العزلات البكتيرية المستخدمة وفطر الفيوزاريوم بشكل مباشر باستخدام طريقة الزراعة الثنائية على بيئة Potato Dextrose Agar (PDA) في نفس الطبق للفطر والبكتريا، لدراسة تأثير المواد المفرزة في البيئة، وبشكل غير مباشر لدراسة أثر المواد الطيارة في تثبيط نمو الفطر عن طريق الزراعة في الطبق المغلق باستخدام طبقين مختلفين ولصقهما، وزراعة الفطر على بيئة PDA، والبكتريا على بيئة آجار مانيتول مستخلص الخميرة (YEMA: Yeast Extract Mannitol Agar medium)، بعد تحضين الأطباق مدة (5–7) أيام، تم قياس قطر المستعمرة الفطرية وحسبت النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر مقارنة بالشاهد.

أظهرت النتائج فعالية الأنواع البكتيرية المستخدمه في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum* نتيجة لمفرزاتها في البيئة وللمواد الطيارة مع تفوق البكتريا *B. circulans*، بفروق معنوية على باقي الأنواع البكتيرية، إذ بلغ قطر مستعمرة الفطر الممرض في المعاملة (F+Bc) 0.8 سم و3.76 سم بالمقارنة مع الشاهد(F) 8 سم و4.8 سم، وبنسبة تثبيط 90% و31.25% على التتالي. تشير النتائج إلى قدرة أنواع البكتيريا PGPR المستخدمة على تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici وإمكانية استخدامها في المكافحة الحيوية.

الكلمات المفتاحية: بكتريا محفزة لنمو النبات (PGPR)، *Fusarium oxysporum*، PDA، تضاد، مواد طيارة.

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

*أستاذ مساعد، قسم علوم التربة والمياه، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية – سورية. yaser.hammad@tishreen.edu.sy

**مدرس، كلية الزراعة الثانية بالسويداء، جامعة دمشق – سورية ramez2.alshami@damascusuniversity.edu.sy .

مقدمة:

تعد منطقة حول 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 وانتشار العديد من الأحياء المجهرية النافعة والممرضة، ويخلق هذا الوجود نوعاً من التنافس بين هذه الكائنات على المواد الغذائية، والتضاد من خلال إنتاج مواد استقلابية وإفراز أنزيمات قادرة على تثبيط نمو الأحياء الأخرى بآليات معينة حسب إمكانيات كل كائن مجهري (Govindasamy *et al*., 2011; Jha *et al*., 2011).

لوحظ أن الكائنات الحية الدقيقة التي تنمو في منطقة الرايزوسفير يمكن أن تكون عوامل مكافحة حيوية مثالية، وتقوم بحماية الجذور من مهاجمة الممرضات، وتحفز نمو النبات مثل أنواع بكتيرية مختلفة من الأجناس *Bacillus, Psuedomonas* وحديثاً مجموعة من أنواع الجنس *Rhizobium* حيث وجدت عزلات فعالة في مكافحة الفطريات الممرضة (Hmissi *et al*., 2011).

الدراسة المرجعية:

يتبع **الفطر *Fusarium oxysporum*** الجنس *Fusarium* والفصيلة Tuberculariaceae رتبة Moniliales من صف الفطريات الناقصة Deuteromycetes (Nelson *et al*., 1983)، وطوره الجنسي من صف الفطور الزقية (الأسكية) Ascomycetes، وحالياً شعبة (Ascomycota)، هو جنس عالمي الانتشار، إذ يصيب العديد من المحاصيل الزارعية الهامة، مسبباً لها عدة أمراض، كالذبول والتعفنات والتقرحات لكثير من الأشجار المثمرة والمحاصيل الحقلية ونباتات الزينة وأشجار الغابات (Ma *et al*., 2013).

تم تقسيم أشكال الفطر *F. oxysporum* الممرضة للنبات إلى أشكال تخصصية اعتماداً على العوائل النباتية التي تهاجمها، وقسمت الأشكال التخصصية إلى سلالات معتمدة غالباً على قدرتها الإمراضية للأصناف المزروعة (Groenewald, 2006)، تسبب السلالات الممرضة الكثير من الأمراض للعديد من المحاصيل الهامة اقتصادياً، وتكون السلالات متخصصة العوائل، ومعظم هذه السلالات لا يمكن تمييزها مورفولوجياً. يوجد أكثر من 122 من الأشكال التخصصية للفطر *F. oxysporum* (Booth, 1971).

ينتج الفطر *F. oxysporum* ثلاثة أنواع من الأبواغ، وهي الأبواغ الكونيدية الكبيرة، والكونيدية الصغيرة، والأبواغ الكلاميدية (Moretti, 2009)، ويعد شكل الأبواغ الكونيدية الكبيرة هو الأهم في التعرف على أنواع الفيوزاريوم، بالإضافة إلى ميزات أخرى كغياب أو وجود الأبواغ الكونيدية الصغيرة والأبواغ الكلاميدية وأشكالها (Leslie *et al*., 2007)، والاعتماد أيضاً على نوع الفياليد التي تتشكل عليه الأبواغ الكونيدية الصغيرة، إذ يمكن أن يكون أحادي أو ثنائي أو متعدد وليس للفطر مرحلة جنسية وإن غياب الطور الجنسي لا يمنع الفطر من الاستمرار في إصابة وتدمير العوائل الحساسة له (Gorden and Martyn, 1997).

عرفت البكتريا المحفزة لنمو النبات(PGPR) بأنها مجموعة متعددة من البكتيريا المتواجدة في منطقة رايزوسفير النبات وعلى سطح الجذور وترتبط معها بعلاقة تكافلية وشبه تكافلية، وتعمل على تحفيز نوعي وكمي لنمو النبات بشكل مباشر أو غير مباشر وبالتالي زيادة نمو النبات، وتبين في العقود الأخيرة وجود أنواع بكتيرية متعددة محفزة لنمو النبات مثل الأجناس: Pseudomonas, Azospirillum, Azotobacter, Klebsiella ,Enterobacter, Alcanes, Arthrobacter, Burkholderia, Bacillus, Thiobacillus, Frankia, Acinetobacter, Agrobacterium, Bradyrhizobium, Rhizobium , Serratia, (Vessey, 2003).

للبكتيريا PGPR تأثير مباشر في نمو البنبات يأتي عن طريق تزويد النبات بمواد محفزة لنموه منتجة من قبل هذه البكتريا أو عن طريق تسهيل امتصاص النبات للمواد الموجودة في التربة وذلك بـ: إنتاج أو تغيير تركيز منظمات النمو مثل (الأوكسينات والجبرلينات والسايتوكينينات والاثيلين) التي تساعد في إنبات البذور وزيادة حجم الخلايا وانقسامها وتمايز الأنسجة ونضج الثمار، كما تحفز نمو المجموع الجذري ما ينعكس على زيادة امتصاص المغذيات من التربة وبالتالي زيادة نمو النبات وإنتاجها (Khan *et al*., 2016 Meena *et al.,* 2018)، كما لبعض أنواع البكتيريا PGPR دور هام في التثبيت البيولوجي للآزوت الجوي إذ تصنف البكتيريا المثبتة للآزوت إلى مجموعتين: الأولى تعيش تكافلياً ضمن جذور النباتات بتشكيل عقد جذرية على جذور النباتات البقولية مثل الأنواع التابعة للجنس Rhizobium وعلى جذور النباتات غير البقولية مثل الأنواع التابعة للجنس Frankia. والثانية: هي البكتيريا الحرة المثبتة للآزوت دون ارتباطها بالنبات بشكل مباشر، والتي تزيد من نمو وإنتاج النباتات مثل:*Azospirillum, Azotobacter, Burkholderia, Herbaspirillum, Bacillus, Paenibacillus*) (Miao *et al*., 2015). وتتراوح كمية الآزوت المثبتة من قبل البكتريا الحرة المثبتة للآزوت ما بين (20–30) كغ/ هكتار/سنة (Stacey *et al*., 1992). كما تعمل على إذابة الفوسفات المعدني والبوتاسيوم والعناصر المغذية الأخرى غير المتاحة وتحويلها إلى أشكال قابلة للامتصاص من قبل النبات عن طريق إفراز البكتريا للأحماض العضوية الناتجة عن تغذيتها على سكريات الرشاحة الجذرية (Pastor *et al*., 2014 ; Goswami *et al*., 2014 ; Bahena *et al*., 2015).

يظهر التأثير غير المباشر لبكتيريا الـ PGPR من خلال الحد من تأثير الممرضات النباتية، ولتحفيز المقاومة يجب أن تكون هذه البكتيريا قادرة على النمو والتكاثر في منطقة رايزوسفير النبات بكفاءة عالية (Parke, 1991)، وذلك عن طريق: انتاج مضادات حيوية Antibiotics وهي مركبات عضوية منخفضة الوزن الجزيئي تؤثر في نمو الكائنات الحية الدقيقة وعملياتها الاستقلابية، ما يمنع نمو الكائنات الممرضة للنبات(Glick *et al*., 2007)، وإفراز غاز السيانيد HCN (Keel *et al.,* 1989)، الذي يلعب دوراً هاماً في المقاومة الحيوية للأمراض الفطرية (Ramette *et al*. 2003) والأعشاب (Kremer and Souissi, 2001) ونيماتودا العقد الجذرية (Siddiqui *et al*., 2006). كما تعمل على إنتاج مركبات الـ siderophores وهي مركبات ذات وزن جزيئي منخفض تحتوي على مجموعات قادرة على ربط الحديد بطريقة قابلة للعكس وبالتالي تسهيل امتصاص الحديد من قبل النبات وهذه المواد لها نشاط تضاد حيوي(Kloepper *et al*., 1980; Glick, 1995 ; McKellar and Nelson, 2003). وتفرز بكتريا PGPR الأنزيمات مثل (الكيتيناز والجلوكوناز) اللذان يلعبان دوراً هاماً في المكافحة الحيوية ضد الفطريات عن طريق منع اصطناع الجدر الخلوية للفطريات الممرضة للنبات (Kobayashi *et al*., 2002)، وتحفز المقاومة الجهازية ضد المسببات المرضية (إجهاد حيوي) والحماية من الظروف البيئية غير الملائمة (إجهاد لاحيوي) (Glick, 2014 ; Jha *et al*., 2011).

تم دراسة تأثير البكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR) كعوامل تحفيز للمقاومة الجهازية المستحثة (Induced Systemic Resistance: ISR) ضد العديد من المسببات المرضية ومنها دراسات حول تأثيرها في الفطر فيوزاريوم *F. oxysporum*. أشار Kumari و Khanna (2014) إلى أن التلقيح بالعزلة البكتيرية المحفزة للنمو *Pseudomonas* sp. قد ثبطت نمو فطر الذبول الفيوزاريومي، رغم عدوى سوق النباتات بالفطر الممرض بعد إضافة بكتريا (PGPR) المحفزة للنمو إلى الجذور.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من خطورة الأمراض الفطرية التي تصيب المحاصيل الزراعية، ولاسيما أمراض الذبول التي تسبب أضرار اقتصادية كبيرة، ولدور البكتيريا المحفزة لنمو النبات في تحسين خصائص التربة، وزيادة الانتاج، فضلاً عن قدرتها على مقاومة أمراض النبات، مثل أمراض الذبول الفيوزاريومي والحد من تأثيرها وإمكانية استخدامها في المكافحة الحيوية للممرضات النباتية وبالتالي خفض استخدام المواد الكيميائية.

هدف البحث إلى دراسة تأثير النشاط المضاد للأنواع البكتيرية في تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici مخبرياً من خلال مركباتها المتطايرة ومفرزاتها في وسط الزرع.

طرائق البحث و مواده:

- **موقع ومكان تنفيذ البحث:**

تم إجراء البحث في مخبر أبحاث وعلوم التربة والمياه– كلية الهندسة الزراعية– جامعة تشرين عام 2022م.

- **الأنواع الميكروبية المستخدمة:**

1- عزلة من الفطر (*Fusarium* spp.): استخدمت العزلة الفطرية (*Fusarium oxysporum*. f.sp. lycopersici) معرفة وموصوفة ومحفوظة في مخبر أبحاث علوم التربة والمياه (المغربي وآخرون، 2016).

2- الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة:

استخدمت عزلات بكتيرية تعود لستة أنواع مختلفة موصفة ومعرفة وهي:

2-1- البكتيريا *Azotobacter chroococcum*: عزلة بكتيرية محلية مثبتة للآزوت الجوي معزولة من تربة مزروعة بنبات البندورة (كاف الحمام، طرطوس) ومعرفة (حماد والشامي، 2017)، زرعت على بيئة انتخابية (Ashby,s Mannitol Agar medium)، ضمن أطباق بتري.

2-2- البكتيريا *Bacillus megaterium*: عزلة بكتيرية ميسرة للفوسفور معزولة من المستحضر التجاري BIOPHOS/GET– (PHOS) ومعرفة (حماد والشامي، 2017)، زرعت على بيئة انتخابية (Pikoviskaya,s Agar medium)، للبكتيريا الميسرة للفوسفور ضمن أطباق بتري.

2-3- البكتيريا *Bacillus cerculans*: عزلة بكتيرية ميسرة للبوتاس معزولة من المستحضر التجاري (Ptassiumage) ومعرفة (Hammad, 2020)، زرعت على بيئة انتخابية (Glocuse– Yeast extract – $CaCo_3$ Agar medium) متخصصة بالبكتريا الميسرة للبوتاس، ضمن أطباق بتري.

2-4- البكتيريا *Frateuria aurantia*: عزلة بكتيرية ميسرة للبوتاس معزولة من المستحضر التجاري (BIO–NPK/BHARPUR) ومعرفة (حماد والشامي، 2017)، تم تنميتها على بيئة متخصصة بالبكتيريا الميسرة للبوتاس$CaCO_3$ – Glocuse– Yeast Extract.

2-5- البكتيريا *Pseudomonas fluorescens*: وهي عزلة بكتيرية ميسرة للفوسفور معزولة ومعرفة (Hammad, 2020)، زرعت على بيئة متخصصة بالبكتيريا الميسرة للفوسفور Pikoviskaya,s Agar ضمن أطباق بتري.

2-6- عزلة من بكتريا *Rhizobium leguminosarum*: وهي بكتريا مثبتة للآزوت الجوي معزولة ومعرفة (المغربي وآخرون، 2016)، تم تنميتها على بيئة آجار مانيتول مستخلص الخميرة (YEMA) ضمن أطباق بتري.

وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 28 مْ لمدة ثلاثة أيام، واستخدمت بعدها العزلات في تحضير المعلقات البكتيرية.

- **المؤشرات المدروسة:**

1- النشاط المضاد للبكتيريا ضد الفطر *Fusarium. oxysporum* f.sp. lycopersici.

درس نشاط التضاد لست عزلات بكتيرية ضد الفطر *F. oxysporum.* ، حسب طريقة الزراعة الثنائية (Hoque *et al.*, 2015)، حيث أخذ قرص بقطر 5 مم من مستعمرة فطرية بعمر ثمانية أيام، ووضع في منتصف طبق بتري يحوي وسط PDA، وزرعت 4 نقاط من المعلق البكتيري (10^8خلية/مل) على سطح البيئة بحيث تبعد عن قرص المستعمرة الفطرية 2 سم، أما في الشاهد فتم وضع القرص الفطري على مستنبت PDA بدون بكتيريا، وحضرت أربعة مكررات لكل معاملة، وتم التحضين عند 28 مْ لمدة سبعة أيام، وبعدها تم قياس قطر نمو المستعمرة الفطرية وحسبت النسبة المئوية لمنع النمو بالمعادلة الآتية:

نسبة منع النمو(%) = (قطر نمو الشاهد – قطر نمو المعاملة/قطر نمو الشاهد)× 100 (Islam *et al.*, 2009)

2- تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا في نمو الفطر *F. oxysporum*

درس تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا المدروسة في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* spp. باستخدام طريقة الطبق المغلق، في هذه الطريقة أخذ 200 ميكروليتر من مرق المانتول مستخلص الخميرة (YEM) حاوي على البكتيريا بكثافة 10^8(خلية/مل)، ونشر على طبق بتري حاوي على مستنبت YEMA، وحضنت عند حرارة 28 مْ لمدة 24 ساعة، وبعد ذلك وضع قرص فطري قطره 5 مم في منتصف طبق بتري حاوي مستنبت PDA، ثم لُصق الطبقان بالبارافيلم، أما الشاهد فلم يحتوي على البكتيريا. وحضنت الأطباق عند حرارة 25 مْ لمدة خمسة أيام ، ثم أُخذ قياس قطر نمو المستعمرة الفطرية (Hmissi *et al.*, 2011)، حُسبت النسبة المئوية لمنع النمو بالمقارنة مع الشاهد وفق المعادلة المذكورة سابقاً.

- **تصميم البحث والتحليل الإحصائي:**

تم إجراء 4 معاملات بواقع 3 مكررات لكل معاملة و3 أطباق بتري لكل مكرر. حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstat-12، واختبار One-way ANOVA (no Bloking)، ومقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي $LSD_{0.01}$ واختبار Duncan's.

النتائج والمناقشة:

1-دراسة النشاط المضاد للعزلات البكتيرية المستخدمة ضد الفطر *Fusarium oxysporum*.

أشارت النتائج إلى قدرة العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة على تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* مخبرياً على أطباق بتري، بينت النتائج كما هو موضح في الجدول(1) أن العزلات البكتيرية استطاعت أن تحد من نمو عزلة الفطر *F. oxysporum*. بنسب مختلفة، وأظهرت النتائج أن العزلة البكتيرية المحلة للبوتاس *B. cerculans* تفوقت معنوياً على جميع العزلات البكتيرية الأخرى من حيث تأثيرها في نمو الفطر *Fusarium* وأعطت أعلى نسبة تثبيط نمو الفطر، تلتها معاملات العزلة *A. chroococcum* (F+Azo)، ثم معاملات العزلة *F. aurantia* (F+Fra)، حيث كان قطر المستعمرة الفطرية 0.8 سم بوجود البكتيريا المحلة للبوتاس (F+B.cer)، بالمقارنة مع قطر المستعمرة الفطرية للشاهد(F) الذي بلغ (8 سم)، أي انخفض بمقدار عشرة أضعاف، في حين بلغ قطر المستعمرة لدى المعاملة F+Azo 2.1 سم ولدى المعاملة F+Fra 3.2 سم.

جدول 1: متوسط قطر المستعمرة الفطرية (سم) والنسبة المئوية لتثبيط نمو عزلة الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici بالعزلات البكتيرية المدروسة.

المعاملات المدروسة	قطر المستعمرة الفطرية (سم)	% لتثبيط نمو الفطر
F+B.m	4.3^{d}	46.25^{d}
F+Azo	2.1^{f}	73.75^{f}
F+B.cer	0.8^{g}	90^{g}
F+Rh	5.8^{b}	31.76^{b}
F+Fra	3.2^{e}	60.33^{e}
F+Ps	4.7^{c}	41.25^{c}
شاهد العزلة F	8^{a}	0^{a}
المتوسط	4.13	49.05
$LSD_{0.01}$	0.4	5

F: *F. oxysporum* f.sp. lycopersici, Rh: *R. leguminosarum*, B.cer:*B. cerculans*, Fra: *F. aurantia*, Ps: *P. fluorescens*, Azo: *A. chroococcum*, B.m: *B. megaterium*.

كما تفوقت المعاملة (F+B.cer) معنوياً على باقي معاملات التجربة في النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري، حيث حققت أعلى قيمة لمتوسط النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري بلغت 90%، في حين انخفض متوسط نسبة التثبيط المئوية لنمو الفطر إلى 73.75% لدى المعاملة F+Azo وكان متوسط نسبة التثبيط المئوية لدى المعاملة F+Fra. 60.33%. وتوافقت هذه النتائج مع نتئج دراسات عديدة (Arfaoui *et al.*, 2005; El Batanony *et al.*, 2007; Devi and Chhetry, 2014; Kumari and Khanna, 2014; Hoque *et al.*, 2015).

قد تعود قدرة البكتيريا المحفزة للنمو المدروسة على تثبيط الفطر *F. oxysporum* إلى إفراز البكتيريا مواد استقلابية في الوسط الغذائي تتضمن مضادات حيوية وأنزيمات حالة للجدار الخلوي (الطائي والمولى، 2010)، كما قد تفرز البكتيريا المحفزة للنمو مضادات حيوية محللة لهيفات الفطر وتنافس الفطر على المكان والغذاء (Malajezuk *et al.*, 1983; Arfaoui., 2005,).

2- دراسة تأثير المنتجات المتطايرة للبكتيريا في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici

بينت النتائج كما هو موضح في الجدول(2) أن المنتجات المتطايرة للعزلات البكتيرية المدروسة كان لها تأثير في الحد من نمو عزلة الفطر *F. oxysporum*، إذ خفضت من قطر المستعمرة الفطرية، وزادت النسبة المئوية لمنع نمو الفطر في كافة المعاملات بالمقارنة مع الشاهد.

جدول 2: متوسط قطر المستعمرة (سم) والنسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici بالمواد الطيارة من العزلات المدروسة

المعاملات المدروسة	قطر المستعمرة الفطرية (سم)	% تثبيط نمو الفطر
F+B.m	4.2^{c}	12.5^{c}
F+Azo	3.7^{f}	22.9^{f}
F+B.cer	3.3^{g}	31.25^{g}
F+Rh	4.4^{b}	8.33^{b}
F+Fra	3.76^{e}	21.66^{e}
F+Ps	4.1^{d}	14.58^{d}
شاهد العزلةF	4.8^{a}	0^{a}
المتوسط	4.04	15.88
LSD1%	0.06	1.24

F: *F. oxysporum* f.sp. lycopersici, Rh: *R. leguminosarum*, B.cer:*B. cerculans*, Fra: *F. aurantia*, Ps: *P. fluorescens*, Azo: *A. chroococcum*, B.m: *B.s megaterium*.

كما تفوقت المعاملة F+Cer على كافة المعاملات المدروسة وبفروق معنوية. إذ بلغ قطر المستعمرة الفطرية لها 3.3 سم بالمقارنة مع الشاهد 4.8 سم، وبلغت النسبة المئوية لمنع النمو العزلة الفطرية F لدى المعاملة F+Cer هي 31.25%، كما تبين من النتائج تفوق العزلة البكتيرية *Bacillus cerculans* معنوياً على العزلات البكتيرية جميعها في تثبيط ومنع نمو عزلة الفطر الممرض *Fusarium oxysporum*. وتوافقت هذه النتائج مع نتائج دراسات عديدة (Arfaoui *et al*., 2005; Hmissi *et al*., 2011; Kumari and Khanna, 2014).

أشارت دراسات سابقة أن البكتيريا المحفزة لنمو النبات قادرة على تثبيط نمو العديد من الفطور بإفرازها مواد طيارة من ضمنها غاز السيانيد HCN (Arfaoui *et al*., 2005; Hmissi *et al*., 2011). حيث يعد غاز السيانيد من المنتجات الثانوية لعديد من الكائنات الحية الدقيقة، وله تأثير في الممرضات الحيوية (Deshwal *et al*., 2003).

الاستنتاجات والتوصيات:

– أثرت العزلات البكتيرية (*Bacillus cerculans, Rhizobium leguminosarum, Frateuria aurantia,* **Pseudomonas fluorescens, Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium**) في نمو الفطر *Fusarium oxysporum*، وثبطت نموه على مستنبت الـ PDA في أطباق بتري بنسب تثبيط مختلفة، بشكل مباشر نتيجة لمفرزاتها في وسط الزرع، وبشكل غير مباشر عن طريق المواد المتطايرة.

– تفوقت البكتيريا *Bacillus cerculans* بفروق معنوية على جميع العزلات البكتيرية الأخرى المدروسة في تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* على البيئة الغذائية PDA، وحققت أعلى نسبة تثبيط بلغت 90% بشكل مباشر، و 31.25% وغير مباشر.

– نقترح دراسة تأثير العزلات البكترية المحفزة لنمو النبات (PGPR) في مقاومة ومكافحة الفطر *Fusarium oxysporum* بوجود وغياب العدوى الاصطناعية للنبات حقلياً.

References:

1–الطائي، محمد ابراهيم، و زكريا سامي المولى، دراسة تأثير بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* على نمو مجموعة من الفطريات. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 2005، مجلد 15، عدد (1).

1-Al-Taie, Muhammad Ibrahim, and Zakaria Sami Al-Mawla, study of the effect of the bacteria Rhizobium leguminosarum bv.Viciae on the growth of a group of fungi.

2–حماد، ياسر و الشامي، رامز. (2017). توصيف بعض أنواع بكتريا الرايزوسفير المحفزة لنمو النبات من بعض الأسمدة الحيوية والتربة. *مجلة جامعة البعث*. سورية. المجلد 39. ص25.

2- Hammad, Yasser and Al-Shami, Ramez. (2017). Characterization of some types of rhizosphere bacteria that stimulate plant growth from some biofertilizers and soil. Al-Baath University Magazine. Syrian. Volume 39. p. 25.

3– المغربي، صباح؛ رزق، بشرى؛ حماد، ياسر. دراسة تأثير بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* مخبرياً. مجلة وقاية النبات العربية، 2016، عدد2. المجلد34، 135 – 14.

3- Moroccan, Sabah; Rizk, Bushra; Hammad, Yasser. Studying the effect of the bacteria Rhizobium leguminosarum on the growth of the fungus Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici in the laboratory. Arab Plant Protection Journal, 2016, No. 2. Volume 34, 135

1- ARFAOUI, A., B. Sifi, M. El Hassan, A. Boudabbous, and. M. Cherif. Biochemical analysis of protection against *Fusarium* wilt afforded by two *Rhizobium* isolates. *Plant Pathology Journal*, 2005, 4(1):35-42.
2- BAHENA MHR, Salazar S, Velazquez E, Laguerre G, Peix A. Characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria associated with pea (*Pisum sativum* L.) isolated from two agricultural soils. 2015. *Symbiosis* 67:33–41
3- BOOTH, C. The genus Fusarium. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1971. 237pp.
4- DESHWAL, V., PANDY, P., KANG, S., and MASHESHWARI, D. Rhizobia as a biological control agent against soil borne plant pathogenic fungi. *Indian journal of experimental biology*, 2003.Vol. 41, 1160-1164.
5- DEVI, T., and CHHETRY, G. Evaluation of Rhizobium and Biopesticidesagainst Fusarium Wilt of Pigeonpea. *International Journal of Innovative Research & Development*, 2014. Vol. 3, No. 7, 245-249.
6- EL-BATANONY, N. H., MASSOUD, O. N., Mazen, M. M. And Abd El –Momum, M. M. 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 Agricultral Sciences*, 2007. Vol 3, No. 6, 721-730.
7- GLICK BR, Cheng Z, Czarny J, Duan J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal Plant Pathology*, 2007. 119:329-39.
8- GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 1995. 41،109–117.
9- GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to *feed the world. Microbiological Research*, 169(1), 30–39.
10- GORDEN, T. and Martyn, R. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. Annu. Rev. *Phytopathol*., 1997. 35, 111-128.
11- GOSWAMI, D., Pithwa, S., Dhandhukia, P., & Thakker, J. N Delineating Kocuria turfanensis 2M4 as a credible PGPR: A novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert. *Journal of Plant Interactions*, 2014. 9, 566–576.
12- GOVINDASAMY, V., Senthilkumar, M., Magheshwaran, V., Kumar، U., Bose, P., Sharma, V., and Annapurna, K. Bacillus and Paenibacillus spp.: Potential PGPR for sustainable agriculture. In D. K. Maheshwari (Ed.), Plant growth and health promoting bacteria, 2011. pp. 333–364.
13- GROENEWALD, S. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*. University of Pretoria ed, 2006. 176 pp.
14- HAMMAD, Y. isolation and identification of some species of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from some bio-fertilizers, *the arab journal foe arid environment*, 2020. Vol. 13(1), p:23 - 31
15- HMISSI, I., Gargouri, S. And Sifi, B. Attempt of wheat protection against *Fusarium culmorum* using Rhizobium isolates. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 2011. Vol. 6, 75-86.
16- HOQUE, S., Sultana, N., Faruq, A. N., Bhuiyan, M. Z. R., And Islam, N. In-vitro evaluation of selected bio-control agentsagainst foot and root rot pathogens of lentil. *Scholarly Journal of Agricultural Science*, 2015. Vol, 5, No. 1, 8-15.
17- ISLAM, R., Jeong, Y. T., Ryu, Y. J., Song, C. H., And Lee, Y. S. Isolation, Identification and Optimal Culture Conditions of Streptomycesalbidoflavus C247 Producing Antifungal Agents against *Rhizoctonia solani* AG2-2. *Mycobiology*, 2009. Vol. 37, No. 2, 114-120.

18- JHA, C. K., Aeron, A., Patel, B. V., Maheshwari, D. K., and Saraf, M . Enterobacter: Role in plant growth promotion Bacteria in agrobiology: Plant growth responses. 2011. (pp. 159–182). Berlin: Springer Berlin Heidelberg.
19- Keel C., Voisard C., Berling C., Kahr G., Défago G. (1989). Iron sufficiency, a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA 0 under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 1989. 79, 584–589.
20- Khan AL, Halo Ba, Elyassi A, Ali S, Al-Hosni K, Hussain J, Al-Harrasi A, Lee Ij. Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. *Electron J Biotechnol*, 2016. 21:58–64.
21- KLOEPPER, J. W., J. Leong, M. Teintze, and M. N. Schroth, "Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria," *Nature*, 1980. vol. 286, no. 5776, pp. 885–886.
22- KOBAYASHI, D. Y., Reedy, R. M., Bick, J., & Oudemans, P. V . Characterization of a chitinase gene from *Stenotrophomonas maltophilia* strain 34S1 and its involvement in biological control. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002. 68, 1047–1054.
23- Kremer, R. J., and Souissi, T. Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. *Curr. Microbiol*, 2001. 43, 182–186.
24- KUMARI, S., and V. Khanna. Effect of antagonistic Rhizobacteria coinoculated with *Mesorhizobium ciceris* on control of fusarium wilt in chickpea (Cicer arietinum L.). *African Journal of Microbiology Research*, 2014. 8, 1255-1265.
25- LESLIE, J., ANDERSON, L., BOWDEN, R., and LEE, Y. Inter- and intra-specific genetic variation in Fusarium. *Science Direct, International Journal of Food Microbiology*, 2007. 119, 25-32.
26- MA, L., Geiser, D., Proctor, R., Rooney, A., Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D., Manners, J., and KAZAN, K. Fusarium Pathogenomics. *Annu. Rev. Microbiol*, 2013. Vol. 67, 399–416.
27- MALAJEZUK, N. Microbial antagonism to phytopathora Amer. *Phytopha*. *Soc. St*. Paul, Minnesota, U.S.A. sited in. *Journal takreet*, 1983. Vol.15. (1), 20-25.
28- McKellar ME, Nelson EB. Compost-induced suppression of *Pythium* damping-off is mediated by fatty-acidmetabolizing seed-colonizing microbial communities, *Applied and Environmental Microbiology*. 2003. 69(1):452-460.
29- MEENA, K. N., Nayan Tara and Baljeet Singh Saharan. Review on PGPR: An Alternative for Chemical Fertilizers to Promote Growth in *Aloe vera* Plants. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2018. Vol 7 (3). P6.
30- MIAO, G. A. O., ZHOU, J. J., WANG, E. T., Qian, C. H. E. N., Jing, X. U., and SUN, J. G. Multiphasic characterization of a plant growth promoting bacterial strain, Burkholderia sp. 7016 and its effect on tomato growth in the field. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015. 14(9), 1855-1863.
31- MORETTI, A. Taxonomy of *Fusarium* genuz, acontinuous fight between lumpers and splitters. *Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad*, 2009. 117, 7-13.
32- NELSON, P. E., T. A. Toussoun, and W.F Marasas, .*Fusarium* sp ecies.The Pennsylvania State University Press. University Park.139 pp. *Octa Journal of Biosciences*, 1983. 1(1), 69-76.
33- PARKE, J. L. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms. In The Rhizosphere and Plant Growth: Papers presented at a Symposium held May 8–11, 1989, at *the Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland*. 1991. p. 33-42.

34- PASTOR N, Rosas S, Luna V, and Rovera M. Inoculation with Pseudomonas putida PCI2, a phosphate solubilizing rhizobacterium, stimulates the growth of tomato plants *Symbiosis*, 2014. 62:157–167.
35- RAMETTE A, Frapolli M, Defago G, Moenne-Loccoz Y. Phylogeny of HCN synthase-encoding hcnBC genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability, *Molecular Plant- Microbe Interactions*, 2003. 16(6):525-535.
36- SIDDIQUI IA, Shaukat SS, Sheikh IH, Khan A. Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* I tomato, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2006. 22(6):641-650.
37- Stacey G, Gresshoff PM, Keen NT. Friends and foes: new insights into plant-microbe interactions. Plant Cell. 1992 .4: 1173-1179.
38- Vessey, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 2003. 255, 571–586.