دراسة ظاهرة التضاد ما بين بكتيريا المحيط الجذري المنشطة لنمو النبات وفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* Vasud & Srin المسبب لمرض ذبول العدس الوعائي في ظروف المختبر

محبة غنام[1]، محمد عدنان النحلاوي[1] وصلاح الدين خباز[2]

(1) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، إدارة بحوث وقاية النبات، دوما، دمشق، سورية؛

(2) مركز البحوث العلمية الزراعية في حماه، سورية، البريد الإلكتروني: Salah_edk@yahoo.co.uk

الملخص

غنام، محبة، محمد عدنان النحلاوي وصلاح الدين خباز. 2014. دراسة ظاهرة التضاد ما بين بكتيريا المحيط الجذري المنشطة لنمو النبات وفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* Vasud & Srin المسبب لمرض ذبول العدس الوعائي في ظروف المختبر. مجلة وقاية النبات العربية، 32(3): 246-253.

جمعت 96 عينة ترابية من أغلب مناطق زراعة المحاصيل في محافظات درعا، حمص، حماة، ادلب، طرطوس، اللاذقية والقنيطرة في موسم 2010. عزلت منها 137 عزلة بكتيرية من المحيط الجذري لنباتات العدس والفول البلدي والفول السوداني والحمص والبازيلاء والشعير والقمح والملفوف والبطاطا والجزر والبقدونس، بالإضافة إلى أشجار الأجاص، والكرمة، واللوز، والتين، والأكي دنيا. تم عزل بكتريا المحيط الجذري المنشطة لنمو النبات على الأوساط المغذية بطاطا، دكستروز، آجار PDA، الآجار المغذي NA وكنج ب King 's B وتم اختيارها وفقاً لشكل المستعمرة. كما تم عزل 18 عزلة من فطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* المسبب لمرض الذبول الوعائي للعدس من نباتات مصابة جمعت من محافظات درعا وحماة وحلب والحسكة. تفوقت العزلة Fo8 في قدرتها الإمراضية على كافة العزلات الفطرية الاخرى، بمتوسط نسبة الإصابة لها 54%. أظهرت 42 عزلة بكتيرية قدرة تثبيطية في نمو عزلة فطر ذبول العدس الوعائي (Fo8) بنسبة تثبيط تراوحت بين 37.5 و77.5% مقارنة مع الشاهد غير المعامل بالبكتريا. بينت الاختبارات الأولية المظهرية والمجهرية والمزرعية وبعض الاختبارات البيوكيميائية للعزلات البكتريه المدروسة أن معظم هذه العزلات تنتمي إلى جنس *Bacillus* spp.

كلمات مفتاحية: *Fuarium oxysporum* f.sp. *lentis*، قدرة تثبيط، ذبول العدس، سورية.

المقدمة

يعتبر العدس (*Lens culinaris* Medik.) من المحاصيل الاستراتيجية المهمة وهو يحتل المرتبة الخامسة بين المحاصيل الحبية في العالم ويعد من الأغذية البقولية القديمة المعروفة بغناها بالبروتين، ويطلق عليه لحم الفقراء لغنى بذوره بالبروتين حيث تصل تقريباً إلى 28.5% (32)، وهو من المحاصيل الأساسية المزروعة في المناطق شبه الجافة وبشكل خاص في الهند وفي المناطق الجافة في دول الشرق الأوسط. وتعتبر كندا الدولة الأولى من بين 51 دولة في إنتاج العدس تليها الهند، تركيا، استراليا، نيبال، سورية، إيران وبنغلادش (4، 15). يعد العدس من المحاصيل الحبية في شمال أفريقيا والهند ومناطق كثيرة من أمريكا. بلغ إنتاج العدس في سورية 109,033 طن وبلغت المساحة المزروعة 149,142هكتار وغلة مقدارها 731 كغ/هكتار في موسم 2007 (1). تتركز زراعة هذا المحصول في المناطق الشمالية والشمالية الغربية من سورية وتعتبر محافظتي الحسكة وحلب من أهم المحافظات السورية في زراعة هذا المحصول وإنتاجه.

ويعتبر مرض ذبول الفوزاريوم الذي يحدثه الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* Vasud & Srin من أهم العوامل الأحيائية المؤثرة في إنتاج المحصول (7، 22، 23). وهو من الأمراض المهمة جداً حيث سجل في كل القارات التي يزرع فيها نبات العدس ماعدا استراليا (35). قد يسبب المرض إخفاقاً كاملاً في غلة المحصول عند توافر الظروف الجيدة المناسبة لتطور المرض وهو من العوامل المحددة لزراعة المحصول (12). يعتبر مرض الذبول الوعائي الفيوزاريومي على العدس من الأمراض واسعة الإنتشار في سورية (2، 27)، حيث وصلت نسبة الإصابة به في شمال غرب سورية إلى حوالي 70% في عام 1984 (6). يعتبر هذا المرض المسؤول عن خسائر كبيرة في المحاصيل الحبية (16) وقد تصل الخسائر في الغلة إلى 100% في المناطق الموبوءة به (3). تظهر الأعراض على النبات في مرحلة

البادرة بشكل ضعف مفاجئ للنبات ثم تجف الأوراق وتموت البادرات. وفي مرحلة النبات الكامل، تظهر الأعراض بدءاً من طور الإزهار إلى طور الامتلاء الكامل للقرون على شكل ذبول الأوراق القمية. وعند إجراء شق في منطقة الساق يظهر تلون خفيف في منطقة الأوعية الخشبية. تعتبر درجات الحرارة المرتفعة نسبياً 20–25°س جيدة لنمو الفطر (4، 37). يظهر المرض في طور البادرة مسبباً ذبول البادرات أو في طور الإزهار وإنتاج القرون مسبباً ذبول النباتات البالغة (4). وتسهم الظروف المناخية بدورٍ حاسمٍ في استقرار غلة المحصول حيث أن وجود درجة حرارة بحدود 20–25°س والإضاءة الشديدة يشجع نمو وتكاثر الفطر. وبالنسبة للنبات يرفع من معدل النتح لديه وبالتالي تظهر أعراض الذبول المميزة للمرض (37). إن فطر الذبول من الأمراض المحمولة بالتربة وبالبذور، ويمكن للأبواغ الكلاميدية أن تبقى في التربة سواءً بشكلها الساكن أو بالشكل الرمي لعدة سنوات عند عدم توافر العائل المناسب. إن أفضل طريقة اقتصادية لمكافحة المرض هي استخدام الأصناف المقاومة (33). كما أن اختيار الأصناف ذات النضج المبكر وتغيير موعد الزراعة يمكن أن ينقص من تأثير المرض وذلك بالهروب من الفترة التي تكون فيها الظروف الجوية مناسبة لنمو العامل الممرض بالشكل الأمثل. كذلك يمكن للدورة الزراعية 4–5 سنوات بدون زراعة للعوائل أن تنقص من كثافة اللقاح في التربة وأيضاً يمكن معاملة البذور بمبيد البينوميل (0.3%) من تخفيض نسبة الإصابة، كما أن تحسين خواص التربة بإضافة المواد العضوية مثل قش نباتات القمح والشعير يمكن أن يحسن من الدور التنافسي بين كائنات التربة (8، 33).

يستطيع العدس تثبيت الآزوت الجوي لتعايش جذوره مع مجموعة البكتيريا المثبتة للنتروجين، والتي تترافق مع مجموعة أخرى من بكتيريا لم يعرف أنها تثبت النتروجين والتي شاع تسميتها جميعاً بمجموعة بكتيريا الجذور المنشطة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria وهي كما هو واضح من التسمية تنشط نمو النبات وتنمو في بيئة تنافسية (25). بدأ الاهتمام بهذه المجموعة من الكائنات الدقيقة عندما وجد أن نمو نبات البندورة يزداد بعد الإلقاح ببكتيريا *Azotobacter*، وكذلك نبات القمح الذي يزداد نموه بعد الإلقاح ببكتيريا *Bacillus polymyxa*، *Clostridium pasteurianum* و *Azobacter chroococcum* (10). كما تعمل البكتيريا *Azospirillum brasilense* على إنتاج بعض منظمات النمو النباتية مثل الأكسين والجبريلين والسيتوكاينين وأنها تزيد من عدد الجذور الجانبية والشعيرات الجذرية في نبات الدخن *Pennisetum glaucum* (34). إن آلية تنشيط نمو النباتات بهذه الكائنات مرتبط بما يعرف بطريقة عمل هذه المجموعة بناء على خصائصها ومميزاتها المعروفة والتي وضحها العالم Vessey (36) كما يلي: تثبيت النتروجين، وزيادة تيسير العناصر الضرورية في محلول التربة وبالتالي تحسين امتصاصها. والتأثير في نمو الجذور وشكلها، والقدرة على بناء أو تغيير تركيز منظمات النمو وتركيب بعض الفيتامينات. ولهذه البكتيريا قدرة على التضاد والتخفيف من تأثير الممرضات بتكوين المركبات الحديدية وبعض الأنزيمات مثل الكيتينيز والمركبات الأخرى مثل السيانيد والمضادات الحيوية. إضافة إلى قدرتها على حث المقاومة في أعضاء النبات (26).

ولوحظ في إحدى الدراسات انخفاض مستوى الاصابة بما يطلق عليه أمراض ساكنات التربة مثل فطر *Fusarium* وذلك بعد حقن التربة ببكتيريا *Pseudomonas cepacia* والمعروفة بتكوين مواد تثبط من نمو الفطور مثل ß–1,3-glucanase (18). وأثبتت القدرة التضادية لعزلتين تابعتين للجنس *Pseudomonas fluorescens* كفاءة عالية في تثبيط نمو فطر ذبول الحمص *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*، فقد انخفضت نسبة الذبول بمعدل 32% ضمن ظروف البيت الزجاجي وتحت الظروف الحقلية (28). وفي دراسة مشابهة حققت فيها العزلة *Bacillus subtilis* والفطر *Trichoderma hamatum* تثبيطاً واضحاً لمرض ذبول العدس عند استخدامها بشكل مستحضرات مختلفة لمعاملة البذور والتربة ضمن البيت الزجاجي، كما أدت إلى زيادة الوزن الجاف لنباتات العدس (13، 14). وبسبب أهمية محصول العدس في سورية والخسائر السنوية في الغلة لمحصول العدس لإصابته بالذبول الفطري وفشل وإخفاق المكافحة الكيميائية في الحد من انتشار المرض وكذلك إيجاد طريقة مكافحة بديلة آمنة بيئياً وفعالة، تم اقتراحنا لهذه الدراسة قصد البحث عن عزلات بكتيرية قادرة على تشجيع نمو النبات وتثبيط نمو الفطر المسبب للذبول الوعائي للعدس والتقليل من أضراره وبذلك إدخال هذه الطريقة الجديدة كوسيلة تطبيقية ضمن المكافحة المتكاملة لمرض ذبول العدس تحت الظروف الحقلية.

مواد البحث وطرائقه

عزل الفطر الممرض

جمعت عينات نباتية مصابه من الحقول المزروعة بالعدس والموبوءة بمرض الذبول في كل من مراكز بحوث جلين (3 عزلات)، وحماه (9 عزلات) والحسكة (3 عزلات) ويحمول (3 عزلات). أخذت أجزاء من منطقة الساق بطول 0.5 سم وطهرت خارجياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 0.5% لمدة 5 دقائق بعد غسلها بشكل جيد بماء الصنبور لإزالة الأتربة عنها ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقتين، ومن ثم جففت على ورق ترشيح معقم. زُرعت القطع في أطباق بتري بلاستيكية (9 سم) على سطح مستنبت بطاطا–دكستروز–آجار (PDA) مضاف إليها المضاد الحيوي (Ampicillin)

لتثبيط نمو البكتريا. تمت دراسة الخصائص الشكلية للمزارع الفطرية المعزولة من بوغ واحد بعد تحضينها على مستنبت PDA لمدة 12–14 يوماً عند 25 °س وفقاً للطرائق المعتمدة (11). كما دُرست الخصائص الشكلية للأبواغ الكونيدية الكبيرة (Macroconidia) والصغيرة (Microconidia)، وتطور الأبواغ الكلاميدية (Chlamydospores) وشكلها ومكان توضعها، وذلك بعد تحضينها 14 يوماً عند حرارة 25±1 °س وإضاءة متناوبة بالأشعة قرب فوق البنفسجية في الأسبوع الثاني (12 ساعة إضاءة/12 ساعة ظلام) على مستنبت PDA ومستنبت قطع أوراق القرنفل Carnation Leaf-Piece Agar (CLA) باستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة (9) لتحديد النوع *Fusarium oxysporum*. تم اختيار 9 عزلات تطابقت خصائصها مع التوصيف الشكلي والمجهري تبعاً لمراجع التوصيف. واستخدم في الإعداء الاصطناعي معلق بوغي بتركيز 3.5×10^5 لكل عزلة على حدة لاختبار القدرة الإمراضية على الصنف الحساس حوراني (21).

عزل البكتيريا المضادة

تم عزل 137 عزلة بكتيرية من المحيط الجذري لنباتات العدس والفول البلدي والفول السوداني والحمص والبازلاء والشعير والقمح والملفوف والبطاطا والجزر والبقدونس، بالإضافة إلى أشجار الأجاص والكرمة واللوز والتين والأكي دنيا. جمعت 96 عينة ترابية من محافظات درعا، حمص، حماه، حلب، طرطوس، القنيطرة. تم وضع النباتات الكاملة مع التربة المحيطة بمجموعها الجذري في أكياس نايلون وحفظت في المختبر عند حرارة 4 °س. ولعزل البكتيريا من المحيط الجذري، قسمت كل عينة ترابية إلى قسمين: تم خلط 10 غ من القسم الأول مع 90 مل من الماء المقطر والمعقم، وحُضرت من المعلق الناتج محاليل مخففة التركيز (10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3} ، 10^{-4}، 10^{-5}، 10^{-6}). وأخذ من كل تركيز 1 مل ونميت في أطباق بتري تحتوي مستنبتات King's B (24) و NA و PDA (29). حُضنت الأطباق عند 28 °س لمدة 5–6 أيام، ثم حُفظت المستعمرات البكتيرية في أنابيب اختبار تحتوي مستنبت King's B عند 4 °س لحين استخدامها. أخذ 1 غ من تربة القسم الثاني ووضعت ضمن حمام مائي عند 80 °س لمدة 10 دقائق، ثم حُضرت منه محاليل مخففة بالتراكيز السابقة. أخذ 1 مل من التراكيز الثلاثة الأخيرة وزرعت على مستنبت PDA المضاف له أسيتات الصوديوم.

اختبارات التضاد

استخدمت العزلات البكتيرية المحفوظة، و زرعت على مستنبت King's B لاختبار التضاد (19)، حيث وضعت 4 عزلات مختلفة لكل طبق على شكل تخطيط طولي بطول 3 سم على أطراف القطرين المتصالبين للطبق وعلى بعد 1 سم من حافة الطبق. كما وُضع قرص من فطر الذبول بقطر 5 مم، أخذ من أطراف مستعمرة نشطة بعمر 7 أيام، في مركز الطبق. استخدمت 6 مكررات لكل عزلة مقارنة مع الطبق الشاهد (قرص الفطر بدون بكتريا)، وحضنت الأطباق عند 25–26°س. أخذت القراءة عند اكتمال نمو مستعمرة الفطر في الطبق الشاهد إلى حافة الطبق، بحيث تم قياس طول نصف قطر المزرعة الفطرية مقابل كل عزلة بكتيرية، وقياس مسافة التثبيط بين مزرعتي الفطر والبكتريا وحسبت نسبة التثبيط تبعاً للمعادلة التالية (17):

$$\%\ \text{منع نمو (تثبيط)} = \frac{R2 - R1}{R1} \times 100$$

حيث أن: R1 = نصف قطر النمو لمستعمرة الفطر في الطبق الشاهد، R2 = نصف قطر النمو لمستعمرة الفطر في الطبق المعامل

تحديد البكتيريا المضادة

الاختبارات البيوكيميائية – استخدمت الاختبارات البيوكيميائية التالية الخاصة بتعريف جنس البكتيريا *Bacillus* (5، 20):

- إنتاج الحمض من السكريات: D-glucose، lactose، sucrose، D-mannitol
- اختبارات IMViC: كاختبار Indole، اختبار Methyl red، اختبار Voges واختبار Citrate
- اختبار النمو على مستنبت Nutrient Broth المضاف له NaCl بالتركيزين 5% و 7%.
- النمو عند 42°س والنمو لاهوائياً.
- تحلل الجيلاتين، تحلل النشاء، إنتاج انزيم كاتالاز (Catalase) واختبار اختزال النترات (Nitrate reduction)

الفحص المجهري – نميت المستعمرات البكتيرية المختلفة في 5 مل من المستنبت المغذي T3 عند 30 °س مع الرج عند 200 دورة/د لمدة 72 ساعة. فُحصت الخلايا البكتيرية تحت المجهر الضوئي المتباين الطور Phase contrast microscopy لفحص الخلايا العصوية لبكتيريا *Bacillus*، وذلك بعد صبغ الغشاء البكتيري حسب طريقة Schaeffer و Fulton فظهرت الأبواغ باللون الأخضر، والبلورات باللون الأحمر الداكن (31).

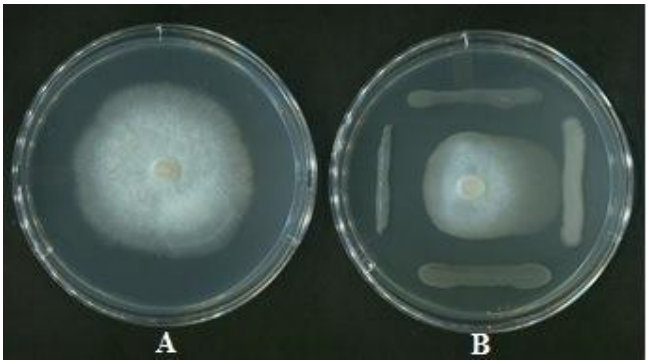
النتائج والمناقشة

عزل الفطر الممرض

تم اختيار العزلة Fo8، في اختبار التضاد مع العزلات البكتيرية، ذات القدرة الإمراضية العالية كعزلة أساسية من العزلات التسع السابقة. وعُزلت تلك العزلة من حقل عدس مصاب بمرض الذبول الوعائي للعدس من مركز بحوث حماة والتي تفوقت في قدرتها الإمراضية على كافة العزلات حيث بلغ متوسط نسبة الإصابة لها 54%. وتم تحديد هذه العزلة تبعاً للخصائص المورفولوجية للمزرعة الفطرية النامية على وسط PDA، كما بينت دراسة الخصائص الشكلية للأبواغ الكونيدية الكبيرة والصغيرة والكلاميدية على أنها تنتمي إلى النوع *Fusarium oxysporum*.

عزل البكتريا واختبارات التضاد

أبدت 42 عزلة من 137 (جدول 1) وجود قدرة على تثبيط النمو المسيليومي للفطر المسبب لذبول العدس على المستنبت King's B بعد 7 أيام من التحضين عند 25–26 °س. لدى اختبار القدرة التضادية للمستعمرات البكتيرية المختلفة شكلياً والمعزولة من معلقات التربة عند التخفيف 1×10^{-5} بالنسبة للتربة غير المعاملة حرارياً والتخفيف 1×10^{-3} بالنسبة للتربة المعاملة حرارياً مع الفطر الممرض، أبدت العزلات M1، M9، M11، M12، M23، M27، M35 وM37 نسبة تثبيط عالية في نمو مستعمرة الفطر الممرض بلغت 75، 72.5، 75، 72.5، 77.5، 72.5، 77.5 و75%، على التوالي (شكل 1). وكانت العزلتان M23 المعزولة من محافظة حمص وجو جذور أشجار اللوز وM35 المعزولة من محافظة حماه وجو جذور الشعير، هما الأكثر كفاءة في منع نمو مستعمرة الفطر الممرض (77.5%). أما العزلة M32 المعزولة من جو جذور نباتات العدس من محافظة حماه كانت أقل كفاءة، إذ بلغت نسبة التثبيط 37.5%. كما أظهرت العزلات الاضافية المتحصل عليها من محافظة حمص قدرة تثبيطية كبيرة تراوحت نسبتها ما بين 70 و 80%، وهذا يتوافق مع نتائج الكثير من الأبحاث السابقة (13، 14).



شكل 1. تجربة التضاد لعزلة الفطر الأكثر شراسة Fo8 (A) والعزلات البكتيرية (B) تحت الظروف المخبرية.

Figure 1. Effect of antagonistic bacterial isolates against fungal growth of *F. oxysporum* f.sp. *lentis* Fo8 (A), and the most important bacterial isolates (B) under in *vitro* conditions.

اختبارات لتحديد البكتيريا المضادة

مكنت الاختبارات الأولية (المظهرية والمجهرية والمزرعية وبعض الاختبارات البيوكيميائية)، المنفذة على العزلات البكتيرية المدروسة من تشخيصها، ومعرفة الخصائص المحددة لكل جنس (جدول 2). من خلال الفحص المجهري للعزلات كانت غالبيتها تنتمي إلى الجنس *Bacillus* والتي تتميز بشكلها العصوي، وتوضعها بشكل سلاسل قصيرة وطويلة نسبياً، متبوغة، موجبة لصبغة غرام، بينما البعض الأخر ينتمي إلى الجنس *Pseudomonas* اعتماداً على الصفات الشكلية للمزرعة البكتيرية وإفراز صيغة مومضة على وسط King's B وصبغة غرام.

وبناء على نتائج الاختبارات السابقة تم التوصل إلى ان العزلة البكتيرية M35 و M23 تنتميان إلى بكتيريا *Bacillus subtilis*، والعزلة M10 تنتمي إلى بكتريا *Pseudomonas* spp. وهذا يتوافق مع النتائج المتحصل عليها سابقاً (5، 30).

إن اجراء التوصيف الجزيئي المستقبلي للعزلات البكتيرية الفعالة والتي أبدت كفاءة تثبيطية عالية إزاء الفطر الممرض يعتبر خطوة متقدمة في التعرف على هذه العزلات البكترية على المستوى الجزيئي، كما أن استخدام هذه العزلات ودراسة كفاءتها التثبيطية للحد من أضرار مرض ذبول العدس تحت الظروف الحقلية، كما هي مرحلة ضرورية لتصنيفها كاحدى عوامل المكافحة الحيوية ضد ممرضات التربة على العديد من المحاصيل وبالتالي يمكن استخدامها كبديل عن المبيدات الفطرية ذات التأثير السلبي على الإنسان والبيئة.

جدول 1. قدرة العزلات البكتيرية على تثبيط نمو عزلة الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Fo8).

Table 1. In *vitro* screening of bacterial isolates against the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* isolate Fo8.

رمز العزلة Isolate code	المحافظة	Province	المحصول/تربة	Crop/Soil	متوسط نصف قطر نمو مستعمرة الفطر (سم) Mean radius of fungus growth (cm)	% تثبيط % Inhibition
M1	درعا	Darra	عدس	Lentil	1.0	75.0
M2	درعا	Darra	عدس	Lentil	2.1	47.5
M3	درعا	Darra	جزر	Carrot	2.0	50.0
M4	درعا	Darra	عدس	Lentil	2.0	50.0
M5	درعا	Darra	قمح	Wheat	1.2	70.0
M6	درعا	Darra	عدس	Lentil	2.0	50.0
M7	درعا	Darra	عدس	Lentil	1.5	62.5
M8	درعا	Darra	جزر	Carrot	1.4	65.0
M9	درعا	Darra	قمح	Wheat	1.1	72.5
M10	درعا	Darra	عدس	Lentil	1.5	62.5
M11	درعا	Darra	عدس	Lentil	1.0	75.0
M12	درعا	Darra	عدس	Lentil	1.1	72.5
M13	درعا	Darra	عدس	Lentil	1.2	70.0
M14	قنيطرة	Qunaitera	أجاص	Pear	1.6	60.0
M15	قنيطرة	Qunaitera	كرمة	Grape	1.6	60.0
M16	قنيطرة	Qunaitera	حمص	Chickpea	1.7	57.5
M17	قنيطرة	Qunaitera	أجاص	Pear	1.7	57.5
M18	قنيطرة	Qunaitera	كرمة	Grape	1.7	57.5
M19	قنيطرة	Qunaitera	كرمة	Grape	1.6	60.0
M20	قنيطرة	Qunaitera	تفاح	Apple	1.3	67.5
M21	قنيطرة	Qunaitera	عدس	Lentil	1.9	52.9
M22	حمص	Homs	بقدونس	Parsley	1.5	62.5
M23	حمص	Homs	لوز	Almonds	0.9	77.5
M24	حمص	Homs	شعير	Barley	1.3	67.5
M25	حمص	Homs	لوز	Almonds	1.6	60.0
M26	حمص	Homs	فجيلة	Cabbage	2.0	50.0
M27	حمص	Homs	فجيلة	Cabbage	1.1	72.5
M28	حمص	Homs	قمح	Wheat	1.3	67.5
M29	حماه	Hama	عدس	Lentil	2.3	42.5
M30	حماه	Hama	فول	Faba bean	2.0	50.0
M31	حماه	Hama	بازلاء	Pea	1.7	57.5
M32	حماه	Hama	عدس	Lentil	2.5	37.5
M33	حماه	Hama	فول سودانى	Groundnut	1.3	67.5
M34	حماه	Hama	فول سودانى	Groundnut	1.5	62.5
M35	حماه	Hama	شعير	Barley	0.9	77.5
M36	حماه	Hama	بازلاء	Pea	1.6	60.0
M37	حماه	Hama	تين	Fig	1.0	75.0
M38	طرطوس	Tartous	حمص	Chickpea	2.0	50.0
M39	طرطوس	Tartous	حمص	Chickpea	1.3	67.5
M40	طرطوس	Tartous	فليفلة	Pepper	1.6	60.0
M41	إدلب	Idleb	شعير	Barley	1.5	62.5
M42	اللاذقية	Lattakia	أكي دنيا	Loquat	1.5	62.5
M43	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	0.8	80.0
M44	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	1.1	72.5
M45	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	1.1	72.5
M46	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	1.1	72.5
M47	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	0.8	80.0
M48	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	0.9	77.5
M49	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	1.2	70.0
M50	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	1.1	72.5
M51	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	0.9	77.5
M52	حمص	Homs	تربة فقيرة	Poor Soil	1.2	72.5

جدول 2. الصفات المظهرية والمزرعية والبيوكيميائية لعزلات الجذور البكتيرية.

Table 2. Morphological, cultural and biochemical characteristics of rhizobacterial isolates

Isolates العزلات					
Pseudomonas		**Bacillus**		**Characteristics**	**الصفات**
Light yellow	أصفر	Pale white	أبيض	Colony color	لون المستعمرة
Fluorescent green	فلوريسنت	White	أبيض	Pigment color	لون الصباغ
Rod	عصوي	Rod	عصوي	Shape	الشكل
-		+		Spore Formation	تشكيل البوغة
-		+			صبغة غرام
-		+		Growth at 42 ˚C	النمو عند 42س
+		-		Anaerobic growth	النمو لاهوائياً
+		+		Nutrient Broth + NaCl (5%)	النمو على مستنبت + NaCl (5%)
-		+		Nutrient Broth + NaCl (5%)	النمو على مستنبت + NaCl (5%)
				Carbohydrate metabolism	استقلاب الكربوهيدرات
+		+		Glucose	غلوكوز
-		-		Lactose	لاكتوز
-		+		Sucrose	سكروز
+		+		Mannitol	مانيتول
+		+		Nitrate reduction	اختزال النترات
-		+		Catalase production	انزيم الكاتالاز
-		+		Starch hydrolysis	تحلل النشاء
+		-		Gelatin liquefaction	تحلل الجيلاتين
+		-		Indole test	اختبار الاندول
-		+		Methyl red test	اختبار الميثيل الاحمر
-		-		Voges proskauer test	اختبار فوكس بروسكاور
+		+		Citrate utilization	استهلاك السترات

Abstract

Ghanam, M., M.A. Nahlawi and S.E. Khabbaz. 2014. Antagonism between plant growth promoting rhizobacteria and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* Vasud. & Srin., the causal agent of vascular lentil wilt under laboratory conditions. Arab Journal of Plant Protection, 32(3): 246-253.

Ninety six soil samples were collected from fields in Daraa, Homs, Hama, Idleb, Tartous, Latakia and Qunaitera provinces of Syria, during 2010. A total of 137 bacterial isolates were isolated from rhizosphere soil samples of lentil, faba bean, groundnut, chickpea, pea, wheat, barley, cabbage, potato, carrot and parsley, in addition to grapes, almonds, fig, and loquat trees. Bacterial isolates were cultured on PDA, NA and King's B media and selected according to colony characteristics. These were screened in *vitro* for inhibition of *Fuarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Fo8) growth. 42 bacterial isolates proved their ability to inhibit the pathogen growth in the range of 37.5–77.5%, compared with control. Most of the bacterial isolates were identified to belong to Bacillus genus, based on morphological characteristics and biochemical tests.

Keywords: Plant growth promoting rhizobacteria, *Fuarium oxysporum* f.sp. *lentis*, inhibition, lentil wilt, Syria.

Corresponding author: Salah Eddin Khabbaz, Agricultural Research Center, Hama, Syria, Email: Salah_edk@yahoo.co.uk

References

المراجع

1. **المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية.** 2007. وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، مديرية الإحصاء الزراعي، الجمهورية العربية السورية.
2. **بلار، مصطفى.** 1984. حصر لأمراض العدس المنتشرة في وسط شمال سورية (1979- 1980). مجلة وقاية النبات العربية، 10: 10-15.
3. **بياعة، بسام، ويلي إرسكين وعباس عباس.** 1994. مقارنة طرائق تقويم مختلفة لإختبار أصناف عدس مقاومة لمرض الذبول الوعائي الذي يحدثه الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. مجلة وقاية النبات العربية، 12: 83-91.

4. **Ali, M. and S. Kumar.** 2005. Current status and prospect of pulses production. Pages 14-17. In: pulses. G. Singh, H.S. Sekhon and J.S. Kolar (eds.). Agrotech Publishing Academy, Udaipur, India, 592 pp.
5. **Aslim, B., N. Saulam and Y. Beyatli.** 2002. Determination of some properties of Bacillus isolated from soil. Turkish Journal of Biology, 26: 41-48.
6. **Bayaa, B., W. Erskine and L. Khoury.** 1986. Survey of wilt damage on lentils in northwest Syria. Arab Journal of Plant Protection, 4: 118-119.
7. **Bayaa, B. and W. Erskine.** 1998. Diseases of lentils. Pages 423-471. In: The Pathology of Food and Pasture Legumes. Di Allen and J.M. Lenné (eds.). CAB International and ICRISAT, Wallingford, UK.
8. **Bayaa, B., W. Erskine and M. Singh.** 1997. Screening lentil for resistance to *Fusarium* wilt: methodology and sources of resistance. Euphytica, 98: 69-74.
9. **Booth, C.** 1977. *Fusarium*. Laboratory Guide to Identification of the Major species. Commonwealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England. 57 pp.
10. **Brown, M., S. Burlingham and R. Jackson.** 1964. Studies on *Azotobacter* species in soil. II. Population of *Azotobacter* in the rhizosphere and effects of artificial inoculation. Plant and Soil, 17: 320-332.
11. **Burgess, L.W., B.A. Summerell, S. Bullock, K.P. Gott and D. Backhouse.** 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* Research. *Fusarium* Research Laboratory, Department of crop Sciences, University of Sydney and Royal Botanic Gardens. 132 pp.
12. **Chaudhary, R.G. and A. Kaur.** 2002. Wilt disease as a cause of shift from lentil cultivation in Sangod Tehsil of Kota (Rajasthan). Indian Journal of Pulses Research, 15: 193-194.
13. **El-Hassan, S.** 1998. Biological Control of Lentil Vascular Wilt in Syria, MSc thesis, Faculty of Agriculture, University of Aleppo, Syria, 109 pp.
14. **El-Hassan, S.A. and S.R. Gowen.** 2006. Formulation and delivery of the bacterial antagonist *Bacillus subtilis* for management of lentil vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. Journal of Phytopathology, 154: 148-155.
15. **FAOSTAT.** 2006. Statistic Database. http://apps.fao.org/
16. **Fleischmann, R.** 1937. Observations on Lentil wilt. Pflanzenbau, 14: 49-56.
17. **Fokkema, N.J.** 1976. Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. Pages 487-505. In: Microbiology of Aerial Plant Surfaces. C.H. Dickinson and T.F. Preece (eds.). Academic Press, London.
18. **Fridlender, M., J. Inbar and I. Chet.** 1993. Biological control of soil-borne plant pathogens by a β-1, 3 glucanase-producing *Pseudomonas cepaciae*. Soil Biology and Biochemistry, 25: 1211-1221.
19. **Gould, W.D., C. Hagedorn, T.R. Bardinelli and R.M. Zablotowicz.** 1985. New selective media for enumeration and recovery of fluorescent pseudomonads from various habitats. Applied and Environmental Microbiology, 49: 28-32.
20. **Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (eds.).** 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Ninth ed. Williams and Wilkins, Balti- more, Maryland.
21. **Ismail, M.F., M.H. Al-Zainab and A. EI-Ahmed.** 2008. A Field survey for the lentil nematodes and vascular Fusarium wilt at Aleppo and Idleb Provinces, Syria. Arab Journal of Plant Protection, 26: 110-117.
22. **Khare, M.N.** 1980. Wilt of lentil. Jawaharlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya, Jabalpur, MY India, 155 pp.
23. **Khare, M.N.** 1981. Diseases of lentils. Pages 163-172. In: Lentils. C. Webb and G. Hawtin (eds.). Farnham Royal. U.K.
24. **King, E.O., M.K. Ward and D.E. Raney.** 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 44: 301-307.
25. **Kloepper, J.** 2003. A review of mechanisms for plant growth promotion by PGPR. Pages 81-92. 6th International PGPR workshop 5- 10 October, Calicut, India.
26. **Lifshitz, R., J.W. Kloepper, M. Kozlowski, C. Simonson, J. Carlson, E.M. Tipping and I. Zaleska.** 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. Canadian Journal of Microbiology, 33: 390-395.
27. **Mamluk, O.F., O. Tahan, R.H. Miller, B. Bayaa, K.M. Makkouk and S.B. Hanonik.** 1992. A checklist of cereal, food legume and pasture and forage crop diseases and insect in Syria. Arab Journal of Plant Protection, 10: 166-225.
28. **Muhammed, I., S. El-Hassan, S. Gowen and N. Javed.** 2009. Effect of two Rhizobacterial isolates and neem cake application on control of chickpea wilt caused by *Fusarium o*.f. sp. *ciceris*. Arab Journal of Plant Protection, 27: 103-110.
29. **Ryu, C.M., M.A. Farag, C.H. Hu, M.S. Reddy, H.X. Wei, P.W. Pare and J.W. Kloepper.** 2003. Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of Sciences (LISA), 100: 4927-4932.
30. **Saini, P.** 2012. Preliminary screening for plant disease suppression by plant growth promoting rhizobacteria. Science Research Reporter, 2: 246-250.
31. **Schaeffer, A. and M.D. Fulton.** 1933. A simplified method of staining endospores. Science, 77: 194.
32. **Stoilova, T. and G. Pereira.** 1999. Morphological characterization of 120 lentil (*Lens culinaris* Medic.) accessions. Lens Newsletter, 1 & 2: 7-9.
33. **Stoilova, T. and P. Chavdarov.** 2006. Evaluation of lentil germplasm for disease resistance to Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*). Journal of Central European Agriculture, 7: 121-126.
34. **Tien, T.M., M.H. Gaskins and D.H. Hubbell.** 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). Applied and Environmental Microbiology, 37: 1016-1024.

35. **Tosi, L. and C. Cappelli.** 2001. First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* of lentil in Italy. Plant Disease, 85: 562-562.
36. **Vessey, J.K.** 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571- 586.
37. **Waldia, S.R., P.V. Singh and K.P.S. Kharb**. 1988. Stability of seed yield of some lentil genotypes in relation to seed size. Lens Newsletter, 15: 17-22.

تاريخ الاستلام: 2013/1/24؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2013/9/10

Received: January 24, 2013; Accepted: September 10, 2013