تأثير بعض عوامل المكافحة الأحيائية في مكافحة مرض ذبول فيوزاريوم على نبات الحمص *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (padwick) تحت ظروف المختبر والحقل

عمر حمودي وعلي صبيح

مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، بوقا، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: ohammoudi70@yahoo.com

الملخص

حمودي، عمر وعلي صبيح. 2015. تأثير بعض عوامل المكافحة الأحيائية في مكافحة مرض ذبول فيوزاريوم على نبات الحمص *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (padwick) تحت ظروف المختبر والحقل. مجلة وقاية النبات العربية، 33(2): 177-182.

هدف هذا البحث إلى دراسة إمكانية مكافحة ذبول فيوزاريوم على الحمص باستخدام الفطور والبكتريا كعوامل مكافحة حيوية في المختبر (*in vitro*) وفي الحقل (*in vivo*). أجري البحث خلال الأعوام 2010-2012 في مختبرات مركز بحوث اللاذقية وفي الحقل. أظهرت عوامل المكافحة الأحيائية قدرة عالية على كبح نمو الفطر *Fusarium oxysporum* كالبكتريا *Bacillus subtilis* وسلالات الفطر *Trichoderma* sp. والفطر *Gliocladium catenulatum* J1446. كما خفضت البكتيريا *B. subtillis* FZB27 والفطر *T. asperellum* T34 نسبة الإصابة وبلغت 30.5% و38%، على التوالي مقارنة بالشاهد (100%) بفروق معنوية، كما خفضت المعاملة بـ *B. subtillis* FZB27 والمعاملة بـ *T. asperellum* T34 شدة الإصابة على مقياس 0-5 إلى ما دون 0.5 و1.8، على التوالي بالمقارنة بالشاهد المعدى بالكائن الممرض (3.94) مع وجود فروق معنوية. أسهمت المعاملات *B. subtillis* FZB27، *Serratia plymuthica* و*T. asperellum* T34 في زيادة وزن النبات بفروق معنوية مقارنة مع الشاهد المعدى، كما أسهمت عوامل المكافحة الأحيائية المستخدمة في زيادة عدد العقد الازوتية على المجموع الجذري، حيث بلغت أعلى نسبة للعقد الازوتية الفاعلة عند المعاملة بـ*T. asperellum*.T34 و*B. subtillis* FZB27 91% و79%، على التوالي، مقارنة بـ 83% للشاهد غير المعدي و 54% للشاهد المعدي مع وجود فروق معنوية.

كلمات مفتاحية: ذبول فيوزاريوم، الأحياء المضادة، مكافحة أحيائية، الحمص.

المقدمة

يعدّ الحمص (*Cicer arientimum* L.) من المحاصيل البقولية المهمة غذائياً للإنسان والحيوان لارتفاع محتوى بذوره من البروتينات. تعد الممرضات الفطرية عوامل مهمة في إصابة المحاصيل الزراعية في العالم، كما يعدّ ذبول الحمص والمتسبب عن الفطر (padwick) *Fusarium oxysporium* f. sp *ciceris*، من الأمراض المهمة، حيث يحتل المرتبة الثانية على مستوى العالم من حيث الأهمية على نبات الحمص بعد لفحة الأسكوكيتا، يساعد الصيف الحار والجاف على تطور هذا المرض. كما يعتبر ذبول الحمص المسبب الرئيس للخسارة الاقتصادية في محصول الحمص (11، 19)، التي قد تصل إلى 100% عند توافر الظروف الملائمة لانتشار المرض (3، 16). لذا يمثل ذبول فيوزاريوم على الحمص مشكلة مهمة لاسيما في الأماكن التي يعتمد فيها الناس على الحمص كمصدر رئيس للبروتين الغذائي (2)، كما أن هذا المرض يعتبر من العوامل المهمة المحددة لزراعة الحمص في منطقة حوض المتوسط والهند (11).

نظراً للآثار السلبية التي خلّفها الاستخدام المفرط للمبيدات الكيميائية، ومنها ظهور خطر المقاومة للمبيدات نتيجة التغيرات الوراثية التي تحدث للكائنات الممرضة ضدها وبالتالي زيادة حدوث الأضرار والخسائر الاقتصادية (20)، فقد بُذلت جهود حثيثة لخفض استخدام المبيدات الكيميائية والدعوة لتبني نظم المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية، والتي تعد المكافحة الأحيائية أحد أهم عناصرها الأساسية. إذ شهد القرن الماضي ظهور مبيدات أحيائية مادتها الفعالة أحياء مجهرية من فطور وبكتريا لتحل، كلما كان ذلك ممكناً، محل المبيدات الكيميائية (البكتيريا والفطور المفيدة منذ سنوات عديدة ومنها العزلات البكتيرية *Pseudomonas* spp., (1، 8).

طُبقت المكافحة الأحيائية لذبول الحمص باستخدام *Bacillus* spp.، *Paenibacillus* spp. وعزلات غير ممرضة من الفطر *F. oxysporum* والتي عزلت من جذور نباتات الحمص وكانت فعالة في تثبيط وكبح مرض ذبول الحمص تحت الظروف المخبرية وفي الحقل (9، 10، 14). كذلك أفادت نتائج أبحاث أخرى أن استخدام عزلات بعض أنواع البكتيريا التابعة للأجناس *Rhizobium*

و *Bacillus* أعطى نتائج مشجعة في مكافحة المرض عند تطبيقها تحت الظروف الحقلية (4).

كما أن للأجناس الفطرية المفيدة دور كبير في تخفيض انتشار ذبول الحمص، فعند تطبيق نوعين من الفطر *Trichderma* إزاء مرض ذبول الحمص الفوزاريومي في الحقل (*in vivo*) وفي المختبر (*in vitro*) أعطت نتائج معنوية في تثبيط نمو وانتشار ميسيليوم الكائن الممرض (6)، وكذلك عند معاملة بذور الحمص بأبواغ الفطر *Trichderma* spp. قبل الزراعة في تربة معداة مباشرة بالمسبب الممرض التي أدت إلى تخفيض معنويً لشدة الإصابة (6).

هدف هذا البحث إلى دراسة إمكانية مكافحة ذبول فيوزاريومعلى الحمص باستخدام بعض عزلات من الفطريات والبكتريا كعوامل للمكافحة الأحيائية في المختبر والحقل، ودراسة تأثير هذه الكائنات الحيوية المضادة في تنشيط النمو النباتي.

مواد البحث وطرائقه

عزل الفطر الممرض *F. oxysporum*

عزل الفطر في مختبر الأمراض الفطرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية من منطقة الساق الواقعة فوق المنطقة التاجية مباشرة من نباتات حمص أبدت أعراض الذبول تم جمعها من حقل مصاب في محطة البحوث العلمية الزراعية في الصنوبر في محافظة اللاذقية عام 2010. وقد تم تطهير هذه المنطقة بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيز 0.525% (كلوركس تجاري 10%) لمدة 5 دقائق ثم غسلت بالماء المعقم لمدة خمس دقائق أيضاً، ثم وزعت القطع على سطح مستنبت غذائي (PDA) في أطباق بتري قطر 9 سم مجهزة بالوسط الغذائي (أجار- ديكستروز- مستخلص البطاطا/البطاطس) (PDA) بنسبة 16غ- 10غ-200 مل/ليتر ماء، ومن ثم أغلقت الأطباق بالبارافيلم. حضنت الأطباق عند 23±2 °س لمدة 3-5 أيام للحصول على نمو جيد للفطر. تم فحص المستعمرات الفطرية المتشكلة فظهر العديد من الأنواع الفطرية تم التعرف عليها بوساطة مواصفاتها الشكلية. تمت تنقية العوامل الممرضة بنقل جزء من حافة النمو الفطري الخارجي للمستعمرات إلى المستنبت نفسه وحضنت لمدة 3-5 أيام، وحضرت منها مستعمرة وحيدة البوغ بطريقة التخفيف في أطباق بتري. وللتأكد من دورها في إحداث المرض تم تطبيق فرضيات كوخ بإجراء العدوى الاصطناعية لنبات الحمص ومن ثم إعادة عزل الكائنات الممرضة من النباتات المعداة، ومن ثم حفظت عند 4 °س.

عوامل المكافحة الأحيائية المختبرة

استخدمت في هذه الدراسة عزلات مختلفة من البكتريا والفطور كما في الجدول 1

اختبار القدرة التضادية إزاء فطر الذبول في المختبر (Biotest 1) –

تم تخطيط النموات بشكل متصالب للعزلات البكتيرية المختبرة على سطح مستنبت Waksmann-agar حسب طريقة Berg (5) كونه ملائم لنمو الفطور والبكتريا. ووضعت أقراص مغطاة بنموات الفطر المسبب للذبول قطرها 0.5 سم، أخذت من أطراف مستعمرة نشطة بعمر 7 أيام، وذلك في مركز القطع الأربعة التي حددتها النموات البكتيرية وفقا لطريقة Michael و Nelson (15).

أما بالنسبة للعزلات الفطرية المفيدة فقد وضعت بشكل متقابل مع عزلة الفيوزاريوم على طرفي الطبق. حضنت الأطباق عند 25 °س لمدة 7 أيام، وأخذت قياسات متوسط نصف قطر مستعمرة فطر فيوزاريوم، وتم حساب نسبة تثبيط نمو مستعمرة الفطر المتشكلة وفق المعادلة المقترحة من قبل Fokkema (7).

جدول 1. عوامل المكافحة الأحيائية الفطرية والبكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة ومصادرها.
Table 1. Fungal and bacterial biocontrol agents used in this study and its sources
.

Source المصدر	Biocontrol agents عوامل المكافحة الأحيائية
Prof. Gabriele Berg, University of Graz, Austria	*Serratia plymuthica* HOR- C48
Institute of microbiology, University of Rostock Germany	*Bacillus subtilis* B2g
	Pseudomonas fluorescens E9, 1Re2-6
	Paenibacillus polymyxa 1P1-2
Dr. M. Hökeberg, Bioagri, Upsalla, Sweden	*Pseudomonas chlororaphis* MA342
Dr. Kemira Agro Oy,Verdera Oy, Finland	*Gliocladium catenulatum* J1446
University of Ghent, Belgium	*Trichoderma harzianum* (T2, T3, T5)
	T. hamatum T382
	T. asperellum T34
Research Center, Berlin, Germany	*Bacillus subtilis* FZB27

التجارب الحقلية

نُميت عوامل المكافحة الأحيائية التي أظهرت قدرة تضادية في مكافحة ذبول الحمص مخبرياً، لدراسة تأثيرها في كبح نمو وتطور المسبب الممرض في تجارب الأصص تحت الظروف الحقلية كما يلي:

نميت البكتريا في دورق مخروطي (Erlenmeyer) سعة 250 مل يحتوي على 50 مل مستنبت سائل من TSB (30 g l^{-1}tryptic soy broth) من شركة bioMérieux, GmbH, Nürtingen، ألمانيا، ووضعت الدوارق على هزاز 180 دورة/ دقيقة عند 25±2 °س لمدة 24 ساعة لتنشيط نموها بعد فترة التخزين الطويلة. تم أخذ 2 مل من المستنبت السابق ولقح بها 200 مل مستنبت سائل من TSB ووضعت بالشروط السابقة نفسها.

أما بالنسبة لعوامل المكافحة الأحيائية الفطرية *Gliocladium catenulatum* و*Trichoderma* spp. فتم تنميتها على مستنبت (PDA) صلب عند 25±2 °س. جمعت الأبواغ بإضافة ماء معقم على سطح مستعمرة الكائن الحي المضاد بعمر 14 يوماً ثمُ صفيت بوساطة طبقات من الشاش cheesecloth المعقم لإزالة قطع الميسيليوم، وضبط تركيز المعلقات باستخدام شريحة ميلليمترية Thoma –Kammer (Marienfeld,Germany) إلى التراكيز المطلوبة من أجل المعاملة.

تم تحميل هذه الكائنات على بذور الحمص نوع بلدي، حيث نقعت هذه البذور المعقمة في المعلقات البكتيرية بتركيز 10^{11} cfu/ml والفطرية بتركيز 10^{8} cfu/ml للعزلات المختبرة بعد إضافة الصمغ العربي للمعلق بتركيز 3%، ووضعت على هزاز ميكانيكي (180 دورة/دقيقة) لمدة ساعة، أما بالنسبة للشاهد، فنقعت البذور في الماء المقطر المضاف اليه الصمغ العربي بتركيز 3%، ثم جففت هوائياً ضمن حيز معقم، ثم حسب التركيز لكل بذرة لكل من العزلات البكتيرية وتراوحت بين 10^{6} و 10^{7} cfu/ml والفطرية 10^{6}cfu/ml .

زرعت 5 بذور من الحمص البلدي المغلفة بالعزلات البكتيرية أو الفطرية في أصص بلاستيكية حجم 3 ليتر مملوءة بتربة مضاف لها معلق أبواغ الممرض المسبب للذبول بواقع 3% من الحجم الكلي للتربة ليصبح التركيز النهائي للكائن الممرض في التربة هو 10^{6} وحدة مكونة للمستعمرة/غرام تربة، حيث حضر لقاح المسبب الممرض بوضع حبوب الذرة المنقوعة خلال الليل بمحلول 5% سكروز في دوارق سعة واحد ليتر وعقمت في الاتوكلاف مرتين. تم إعداء الدوارق بقطع مستنبت غذائي يحمل ميسيليوم وأبواغ الكائن الممرض وحضنت عند 24 °س لمدة 10–15 يوماً في الظلام, ثم طحنت الحبوب، وحسبت عدد الوحدات المكونة للمستعمرات cfu (colony forming units) في كل غرام من المستحضر، حيث تراوحت بين 10^{7} و10^{8}.

تضمنت معاملة الشاهد بذور حمص غير معاملة بعوامل المكافحة الأحيائية. رويت الأصص بالماء حسب الحاجة، وجرت متابعتها لحساب نسبة الإنبات، نسبة الإصابة، وزن النبات، عدد العقد الجذرية الفاعلة وغير الفاعلة، شدة الإصابة، حيث حسبت شدة الإصابة% وفق المعادلة:

$$\text{شدة الإصابة\%} = \frac{\text{عدد الفروع الذابلة بالنبات}}{\text{العدد الكلي للأفرع للنبات}} \times 100$$

ثم قومت شدة الإصابة حسب سلم سداسي (0= نبات سليم، 1= 1–20%، 2= 21–40%، 3= 41–60%، 4= 61–80%، 5= 81–100%) بالإعتماد على Khan وآخرون (12).

التحليل الاحصائي

كررت كل معاملة 3 مرات بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة ووزعت الأصص ضمن منطقة محددة في الحقل في مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية تحت الظروف الحقلية الطبيعية، وجرى اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار Tukey HSD- Testعند احتمال 5%.

النتائج والمناقشة

تم عزل الكائن الممرض من الحقل الموبوء في محطة البحوث العلمية الزراعية في الصنوبر في محافظة اللاذقية. تم الحصول على 20 عزلة من جذور نبات الحمص مخبرياً تنتمي إلى جنس فيوزاريوم وجنس رايزوكتونيا، حيث تمت تنقيتها والتعرف عليها مورفولوجياً. ولتأكيد دورها في إحداث المرض تمت العدوى الاصطناعية مخبرياً وذلك بتطبيق فرضية كوخ في تأكيد المسببات الممرضة، تم تأكيد وجود خمسة عزلات من الفيوزاريوم أحدثت إصابة للنباتات، تراوحت القدرة الامراضية لهذه العزلات من 70–100% فتم اختيار العزلة الأكثر شراسة لإجراء الاختبارات (جدول 2).

تأثير الكائنات الأحيائية المضادة في نمو ميسيليوم الفطر *F. oxysporum*

تم اختبار تأثير عوامل المكافحة الأحيائية (بكتيرية+فطرية) في تثبيط نمو ميسيليوم الكائن الممرض *F. oxysporum* على مستنبت Waksmann-agar عند 25°س. تبين من الاختبار القدرة العالية لبكيريا *B. subtilis* في كبح نمو *F. oxysporum* (80%) وسلالات فطر *Trichoderma* وفطر *G. catenulatum*، وكانت البكتريا

S. plymuthica ضعيفة الفعالية. ولم تظهر البكتريا *Paenibacillus polymyxa* وعزلات *Pseudomonas* أية فاعلية اتجاه نمو ميسيليوم فيوزاريوم (شكل 1). وتوافقت تلك النتائج مع ما نشر في دراسة سابقة (6)، عند استخدام نوعين من الفطر *Trichderma* ضد مرض ذبول فيوزاريوم الحمص في المختبر وأعطت نتائج معنوية في منع نمو وانتشار ميسيليوم المسبب الممرض.

جدول 2. القدرة الإمراضية لعزلات *Fusarium oxysporum* **المعزولة من نبات الحمص المصاب في الحقل.**

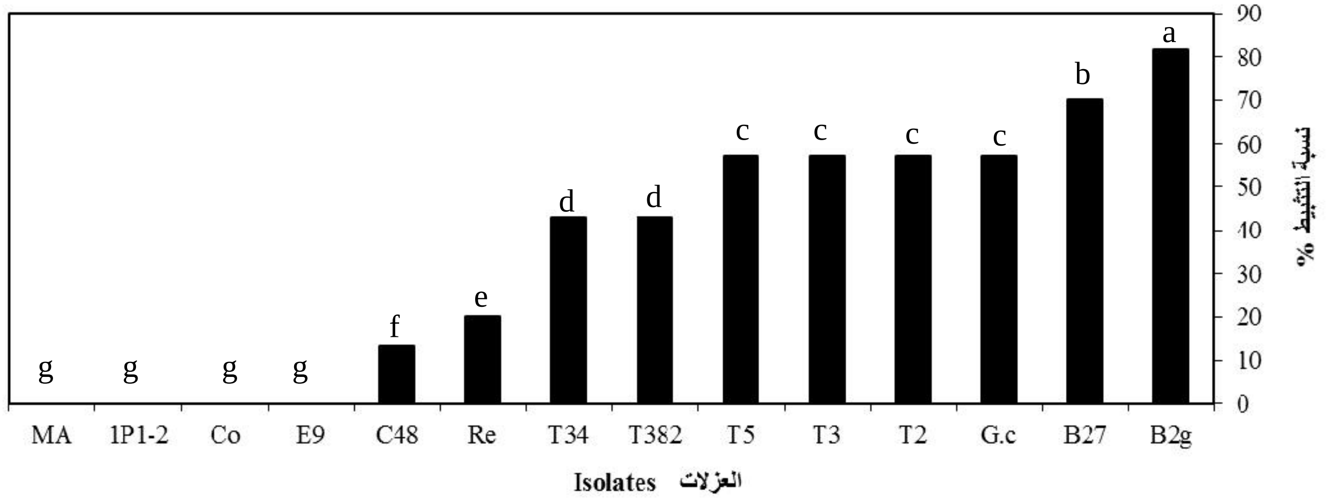
Table 2. Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolates from infected Chickpea plants in the field.

شدة الإصابة (حسب سلم 0-5) Wilt severity (0-5 scale)	شدة الإصابة % Wilt severity %	رقم العزلة Isolate no.
4	70	1
4	80	2
5	100	3
4	79	4
4	77	5

تأثير عوامل المكافحة الأحيائية في تجارب الأصص النباتية

أظهرت النباتات المزروعة والمعداة بالكائن الممرض أعراض إصابة بذبول فيوزاريوم على شكل اصفرار للوريقات وبشكل نصفي بعد 35 يوماً من الإنبات، وامتد الذبول مع تقدم الإصابة إلى الأفرع عند مرحلة الإزهار وبداية تشكل القرون وتلونت باللون البني. خفضت *B. subtillis* FZB27 و*T. asperellum* T34 نسبة الإصابة إلى 30.5% و38% وبفروق معنوية عند احتمال 0.05، على التوالي، مقارنة بالشاهد (100%) (جدول 3).

كذلك خفضت عوامل المكافحة الأحيائية المختبرة شدة الإصابة على مقياس 0–5 إلى ما دون 0.5 عند المعاملة بـ *B. subtillis* FZB27، و1.8 عند المعاملة بـ *T. asperellum* T34 بالمقارنة بالشاهد المعدى بالكائن الممرض (3.94) مع وجود فروق معنوية عند مستوى 5% (جدول 3). أكدت أبحاث سابقة عند تطبيق جنس *Trichderma* في التجارب الحقلية إزاء مرض ذبول الحمص وجود فروق معنوية بالمقارنة مع الشاهد بتخفيض شدة المرض17% خلال 30–60 يوماً من المعاملة (18)، كما أن لخلط عوامل المكافحة الأحيائية فعالية معنوية في خفض مرض الذبول وانتشاره، حيث أدت معاملة البذور بالبكتيريا *P. fluorescens* والفطر *T. harzianum* تحت الظروف الحقلية إلى خفض شدة المرض بنسبة 66% بالمقارنة مع الشاهد المعامل بالمبيد Carbendazim، وبنسبة 51% بالمقارنة مع الشاهد غير المعامل (12).



Re= *Pseudomonas fluorescens* 1Re2-6, **1P1-2**=*Paenibacillus polymyxa* 1P1-2, **B2g=** *Bacillus subtilis* B2g, ***MA***= *Pseudomonas chlororaphis MA342*, **C48=** *Serratia plymuthica* HOR- C48, **FZB27=** *Bacillus subtilis* FZB27, **E9**= *Pseudomonas fluorescens* E9, **G C=** *Gliocladium catenulatum* J1446, **T382 =** *T. hamatum***, T34**=*Trichoderma asperellum,* **(T2, T3, T5)** *Trichoderma harzianum, **Co**= Control*

شكل 1. النشاط التضادي لبعض عوامل المكافحه الاحيائيه ضد الفطر *F. Oxsysporum* باستخدام تقنيه الزرع المزدوج. حيث تشير الرموز المختلفة فوق الأعمدة إلى الفروق المعنوية بين المعاملات بالاعتماد على اختبار Tukey HSD **عند احتمل** 0.05.

Figure 1. Antagonistic activity of some biocontrol agent against *F. oxsysporum* using dual culture technique. Mean values followed by different letters are significantly different according to Tukey HSD test at P=0.05.

جدول 3. تأثير معاملة البذور بعوامل المكافحة الأحيائية **في نسبة الإصابة** وشدة الاصابة باستخدام مقياس شدة الإصابة (0-5) بذبول فيوزاريوم ووزن **النبات و** تشكيل العقد الازوتية الفاعلة وغير الفاعلة **على نبات الحمص في الحقل المزروعة في أصص حجم** 3 ليتر.

Table 3. Effect of seed treatment with biocontrol agents on dry matter, nodulation, wilt incidence and severity (0-5 scale) of chickpea plants inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* or uninoculated, and grown in 3 liters pots under field conditions**.**

شدة الإصابة (سلم 0-5) Wilt severity (0-5 scale)	**(%) نسبة الإصابة Wilt incidence (%)**	**نسبة العقد الجذرية غير الفاعلة (%) Nonfunctional nodules (%)**	**نسبة العقد الجذرية الفاعلة (%) Functional nodules (%)**	**وزن النبات الرطب/غ Plant wet weight(g)**	**المعاملات (عوامل المكافحة الأحيائية) Treatments (Biocontrol agents)**
0.0 d	0.00 c	16.45 de	83.55 ab	5.8 a	Uninoculated control شاهد غير معدى
1.61 bcd	52.78 a	40.23 a	59.77 e	5.2 abc	*Serratia plymuthica* HOR- C48
2.17 b	72.22 ab	37.27 ab	62.73 de	4.19 d	*Pseudomonas chlororaphis MA342*
1.22 bcd	55.56 ab	33.23 abc	66.77 cde	3.88 d	*Gliocladium catenulatum* J1446
1.33 bcd	44.44 bc	26.95 bcd	73.05 bcd	4.61 bcd	*Bacillus subtilis* B2g
1.33 bcd	50.00 b	23.17 cd	76.83 bc	4.5 cd	*Trichoderma hamatum* T382
0.53 cd	30.55 bc	20.86 cde	79.13 abc	5.36 ab	*Bacillus subtilis* FZB27
1.08 bcd	38.89 bc	8.77 e	91.23 a	5.04 bc	*Trichoderma asperellum* T34
3.94 a	100.00 a	45.59 a	54.41 e	2.28 e	Inoculated control شاهد معدي
1.496	49.98	12.89	12.89	0.76	LSD **أقل فرق معنوي**

القيم المتبوعة بحروف مختلفة في العمود ذاته تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات بالاعتماد على اختبار Tukey HSD **عند احتمال** 5%.

Mean values followed by the same letters are not significantly different according to Tukey HSD test at *P*= 0.05.

أسهمت عوامل المكافحة الأحيائية المستخدمة في تنشيط نمو نبات الحمص، فزادت من وزنه ولا سيما في المعاملات *S. Plymuthica*، *B. subtillis* FZB27 و *T. asperellum* T34 وكانت الفروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 مقارنة مع الشاهد المعدي (جدول 3). كانت أعلى زيادة عند المعاملة بـ *B. subtillis* FZB27 بنسبة 135% مقارنة مع الشاهد المعدي، في حين خفضت الإصابة بفطر فيوزاريوم الوزن الحي للنبات في معاملة الشاهد المعدي بنسبة 155% بالمقارنة مع الشاهد السليم غير المعامل وغير المعدي وبفروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05. كذلك خفضت الإصابة بفطر فيوزاريوم عند معاملة *B. subtillis* FZB27 الوزن الطري للنبات بنسبة 20% بالمقارنة مع الشاهد السليم غير المعامل وغير المعدي وبدون فروق معنوية (جدول 3)، وهذا يؤكد مدى قدرة هذا الكائن الحي على كبح نمو المرض.

خفضت الإصابة بذبول فيوزاريوم تعداد العقد الجذرية وكتلة الجذور لنبات الحمص (جدول 3)، حيث تعود كتلة الجذور المنخفضة إلى الإصابة بالفطر الممرض. أظهرت النتائج مساهمة عوامل المكافحة الأحيائية المستخدمة في زيادة تعداد العقد الجذرية الفاعلة بشكل معنوي عند مستوى احتمال 0.05. وقد أشارت دراسات سابقة أن الفطر *Trichoderma* spp. والبكتريا *Pseudomonas* spp. تعملان بشكل متعاون مع البكتريا المشكلة للعقد الجذرية *Bradyrhizobium* spp. (13، 17). أسهمت البكتريا *B. subtillis* FZB27 والفطر *T. asperellum* T34 في زيادة عدد العقد الجذرية الفاعلة، حيث بلغت 79% و91%، على التوالي و83% للشاهد غير المعامل وغير المعدي و54% للشاهد المعدي مع وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 (جدول 2). بلغت العقد الازوتية غير الفاعلة أدناها عند المعاملة بـ T34 (8.7%) بالمقارنة مع الشاهد المعدى (45%).

Abstract

Hammoudi, O. and A. Sbieh. 2015. Effect of biocontrol agents on *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (padwick) on chickpea under laboratory and field conditions. Arab Journal of Plant Protection, 33(2): 177-182.

This research aimed to assess the feasibility of controlling chickpea Fusarium wilt by using fungi and bacteria as biological control agents *in vitro* and *in vivo*. The research was conducted during 2010-2012 at Lattakia Agricultural Research Centre. The effect of biocontrol agents on mycelial growth of *F. oxysporum* tested, showed high ability of *Bacillus subtilis,* strains of *Trichoderma* sp. and *Gliocladium catenulatum* J1446 to inhibit *F. oxysporum* growth. The results showed that *B. subtillis* FZB27 and *T. asperellum* T34 reduced infection significantly, which reached 30.5% and 38%, respectively, compared to the inoculated control (100%). Biological control agents also reduced infection severity significantly on a 0-5 scale to below 0.5 for *B. subtillis* FZB27 and 1.8 for *T. asperellum* T34 compared to the inoculated control (3.94). The weight of plants treated with *Serratia plymuthica, B. subtillis* FZB27, *T. asperellum* T34 was significantly higher than that of inoculated control. In addition, these biocontrol agents increased the number of functional plant root nodules. The level of active root nodules was significantly higher for *T. asperellum* T34 and *B. Subtillis* FZB27 compared to other treatments and reached 91% and 79%, respectively, versus 83% for the un-inoculated control and 54% in the inoculated control.

Keywords: Antagonist; biological control; chickpea, *Fusarium* wilt.

Corresponding author: O. Hammoudi, Agricultural Research Center, Bouka, Lattakia, Syria, email: ohammoudi70@yahoo.com

References

المراجع

1. الزميتي، محمد السعيد صالح. 1997. المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية. الطبعة الاولى. دار الفجر للنشر والتوزيع، الجيزة، مصر. الصفحات 9-11.
2. تحسين الأصول الوراثية للبقوليات الغذائية لزيادة إنتاجية النظم. التقرير السنوي إيكاردا عام 2000
3. **Anjaiah, V., P. Cornelis and N. Koedam.** 2003. Effect of genotype and root colonization in biological control of Fusarium wilts in pigeonpea and chickpea by *Pseudomonas aureoginosa* PNA1. Canadian Journal of Microbiology, 49: 85- 91.
4. **Arfaoui, A., B. Sifi, A. Boudabous., I. El Hadrami, and M. Chérif.** 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.
5. **Berg, G.** 2000. Diversity of antifungal and plant-associated *Serratia plymuthica* strains. Journal of Applied Microbiology, 88: 952-960.
6. **Boureghda, H. and Z. Bouznad.** 2009. Biological control of Fusarium wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*, Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica, 1: 25-38
7. **Fokkema, N.J.** 1976. Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. Pages 487-506. In: Microbiology of aerial plant surfaces. C.H. Dickinson and T.F. Preece (eds.). Academic press, London.
8. **Harman, G.E.** 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Plant Disease, 4: 377-393.
9. **Hervás, A., B. Landa, L.E. Dattnoff and R.M. Jiménez-Díaz.** 1998. Effects of commercial and indigenous microorganisms on Fusarium wilt development in chickpea. Biological Control, 13: 166-176.
10. **Hervás, A., B. Landa and R.M. Jiménez-Díaz.** 1997. Influence of chickpea genotype and *Bacillus* sp. on protection from Fusarium wilt by seed treatment with nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. European Journal of Plant Pathology, 103: 631-642.
11. **Jalali B.L and H. Chand.** 1992. Chickpea wilt. Pages 429-444. In: Plant Diseases of International Importance. U.S. Singh, A.N. Mukhopadhyay, J. Kumar and H.S. Chaube (eds.). Vol. I. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA.
12. **Khan M.R., M. Shahnan and F.A. Mohiddin.** 2004. Biological control of Fusarium wilt of chickpea through seed treatment with the commercial formulation of *Trichoderma harzianum* and/or *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathologia Mediterranea, 43: 20-25.
13. **Khan M.S., M. Amil and A. Zaidi.** 1998. Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) response to inoculation with Nfixing and phosphate solubilizing bacteria. Pages 40-48. In: Biofertilizers and Biopesticides. A.N. Deshmukh (ed.). Technoscience Publications Jaipur, India.
14. **Landa, B.B., J.A. Navas-Cortés, A. Hervás and R.M. Jiménez-Díaz.** 2001. Influence of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on suppression of Fusarium wilt of chickpea by rhizosphere bacteria. Phytopathology, 91: 807-816.
15. **Michael, A.H. and P.E. Nelson.** 1972. Antagonistic effect of soil bacteria on *Fusarium roseum culmorum* from carnation. Phytopathology, 62: 1052-1056.
16. **Navas-Cortés, J.A., B. Hau and R.M. Jiménez-Díaz.** 2000. Yield loss in chickpeas in relation to development of Fusarium wilt epidemics. Phytopathology, 90: 1269-1278
17. **Prabakaran J.** 1998. Response of pigeonpea to *Rhizobium* and *Trichoderma viride* in acid soils. Pages 208-211. In: *Biofertilizers and Biopesticides*. A.M. Deshmukh (ed.). Technoscience Publications Jaipur, India.
18. **Rangeshwaran, R.D., R. Anuroop and H.J. Rashmi.** 2002. Biological control of wilt and root rot of chickpea under field conditions. Annals of Plant Protection Sciences, India, 10: 1.
19. **Trapero-Casas, A. and R.M. Jiménez-Díaz.** 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. Phytopathology, 75: 1146- 1151.
20. **Williamson, B.** 2007. *Botrytis cinerea:* the cause of grey mould disease. Molecular Plant Pathology, 8**:** 561-580.

Received: April 20, 2014; Accepted: December 8, 2014

تاريخ الاستلام: 2014/4/20؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2014/12/8