

دراسة التداخل بين بكتريا *Bacillus subtilis* و *Bacillus thuringiensis* في مكافحة الفطر *Fusarium solani* المسبب لتعفن جذور الطماطة

ابراهيم خليل حسون	ابتسام محمد حسين	علي يوسف عبيد
الكلية التقنية / مسيب	المعهد التقني / بابل	مديرية زراعة بابل
جامعة الفرات الأوسط التقنية	جامعة الفرات الأوسط التقنية	وزارة الزراعة
جمهورية العراق	جمهورية العراق	جمهورية العراق

المستخلص :-

تبين في هذه الدراسة ان استعمال عوامل مكافحة الحيوية بصورة متداخلة لها تأثير كبير في السيطرة على الفطر *Fusarium solani* وعلى تحفيز نمو نبات الطماطة . فقد اظهرت نتائج اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *Bacillus subtilis* و *Bacillus thuringiensis* بصورة متداخلة تثبيط نمو الفطر *F. solani* على الوسط الزرع PDA بنسبة 100% ، اما استعمال بكتريا *B. thuringiensis* و *Bacillus subtilis* كلاً على افراد كانت نسبة التثبيط 58.32% ، 45.55% على التوالي قياساً ومعاملة المقارنة والتي كانت نسبة التثبيط فيها صفراً . وظهرت نتائج استعمال البكتريا *B. subtilis* و *B. thuringiensis* بصورة متداخلة بمقدار 10 مل و 5 مل من تركيز $10^5 \times 5$ و $10^7 \times 6.1$ وحدة تكوين مستعمرة . مل⁻¹ على التوالي انخفاضاً معنوياً في شدة الإصابة بالفطر *F. solani* والتي بلغت 5.55% و 8.33% على التوالي قياساً الى معاملة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت شدة الإصابة فيها 72.22% تحت ظروف البيت البلاستيكي ، كما ادت الى زيادة جميع مؤشرات نمو نبات الطماطة المتمثلة بالأوزان الطرية والجافة واطوال المجموعتين الخضري والجذري وعدد الأزهار في النورات الزهرية قياساً بمعاملة الفطر الممرض بمفرده . نستنتج من هذه الدراسة ان استعمال عملية التداخل بين عوامل المقاومة الحيوية المتوافقة مع بعضها البعض تعتبر استراتيجية مهمة في السيطرة على مرض تعفن جذور الطماطة المتسبب عن الفطر الممرض *F. solani*.

الكلمات المفتاحية : التداخل . *Bacillus thuringiensis* . *Bacillus subtilis* . *Fusarium solani* . تعفن جذور الطماطة.

المقدمة :-

التربة كالفطر *Fusarium solani* (5). وهناك اهتمام متزايد من قبل الباحثين في استعمال عوامل المقاومة الحيوية بصورة متداخلة وذلك لأستغلال عملية التأزر فيما بينها وبالتالي حدوث تأزر بين اليات عوامل المقاومة الحيوية ضد ممرضات النبات (40) . لذلك هدفت هذه الدراسة الى تقييم استعمال بكتريا *Bacillus thuringiensis* و *B. subtilis* بصورة متداخلة في مكافحة مرض تعفن جذور الطماطة المتسبب عن الفطر *F.solani* تحت ظروف البيت البلاستيكي.

المواد وطرائق العمل :-

1- العزل والتشخيص

جرى عزل للفطريات من عينات نباتات الطماطة المصابة والمجموعة من مناطق مختلفة (المحاول - البدعه - ابو الجاسم - المشروع الكبير - السدة) حيث وضعت في اكياس نايلون وسجلت عليها مناطق وتاريخ الجمع ، غسلت جذور النباتات المصابة بالماء الجاري لأزالة جميع العوالق والأتربة المتواجدة على سطحها ثم قطعت الجذور الى اجزاء صغيرة بطول 5-10ملم وعقمت سطحياً بغمرها بمحلول هاييوكلورات الصوديوم 1% لمدة 3دقائق بعد ذلك غسلت بماء مقطر معقم لمدة 2 دقيقة ثم ازيل الماء منها بوضعها على ورق ترشيح ، نقلت القطع بواسطة ملفظ معقم الى اطباق بتري بقطر 9سم تحتوي على الوسط الزراعي PDA (Potato Dextrose Agar) المعقم تحت درجة حرارة 121م° وضغط 1جو لمدة 15- 20 دقيقة بجهاز الموصدة Autoclave وبواقع 5 قطع . طبق¹ بعد اضافة المضاد الحيوي التتراسايكلين Tetracycline بتركيز 250 ملغم . لتر¹ حضنت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25 ± 2م° لمدة 5 ايام ، نقيت الفطريات المختلفة وفحصت تحت القوى الصغرى للمجهر المركب

تعود الطماطة *Solanum lycopersicum* L. الى العائلة الباذنجانية Solanaceae وهي من محاصيل الخضر الاقتصادية الأكثر انتشاراً ، تصاب الطماطة بامراض عديدة في جميع مراحل النمو وتحت مختلف الظروف ويعد مرض التعفن الفيزياري المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* من اكثر امراض الطماطة انتشاراً وضرراً اذ تظهر الاصابة على البادرات والنباتات الكاملة مسببه عفنها او موتها (10).

استعملت عدة استراتيجيات في مكافحة فطريات التربة وتعد المكافحة الكيميائية من أكثر الطرق استعمالاً وذلك لسهولة استعمالها وسرعة تأثيرها في المسببات ألا أن تكرار استعمال المبيدات الكيميائية أدى إلى ظهور مشاكل عديدة منها ظهور صفة المقاومة (35) ، لذا عرفت طريقة المكافحة الحيوية والتي تتضمن الطريقة التي يمكن بها انخفاض كثافة اللقاح الممرض او الطفيلي سواء كان في الحالة النشطة (الفعالة) ام في حالة الكمون عن طريق واحد او اكثر من الكائنات الحية الدقيقة بفعل الظروف الطبيعية في التربة عن طريق ادخال هذه الكائنات صناعياً الى البيئة الطبيعية للكائنات الممرضة (1) وبهذا الصدد تعد بكتريا *B.subtilis* من عناصر المقاومة الحيوية لما تمتلكه من اليات عديدة بواسطتها تثبط العديد من المسببات الممرضة للنبات فقد وجد ان البكتريا تنتج الكثير من المضادات منها Subtilin و Bacillomycin والأنزيمات منها انزيم Chitinase وان هذه المضادات والأنزيم تعمل على تحلل جدران الفطر *F.solani* (14) . وقد وجد ان بكتريا *B.subtilis* لها مقدرة تضادية عالية ضد الفطرين الممرضين *Rhizoctonia solani* و *F.solani* (8) . واطهرت البكتريا *Bacillus thuringiensis* كفاءة عالية ضد مختلف فطريات

حرارة 25±2 م لمدة 14 يوماً مع التحريك كل 3 ايام لضمان التهوية وضمان اصابة جميع البذور باللقاح الفطري.

3- الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F.solani* باستعمال بذور اللهانة :-

تم اختبار المقدرة الأمراضية لخمسة عزلات للفطر *F.solani* المرافقة لجذور الطماطة باستعمال بذور اللهانة المحلية وقد اتبعت طريقة Bolkan و Butler (17) فقد حضرت اطباق بتري قطرها 9سم تحتوي على 20مل من الوسط الزراعي المائي Water agar ، المحضر من اذابة 20غم من الأكار في لتر ماء مقطر والمعقم بجهاز الموصدة لمدة 15- 20 دقيقة والمضاف له المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 250ملغم . لتر¹ وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الأطباق في مركزها بقرص قطر 0.5سم اخذ من حواف مستعمرة الفطر *F.solani* بعمر 7 ايام ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±2 م ولمدة ثلاثة ايام ، بعدها زرعت بذور اللهانة المحلية (المعقمة سطحياً بمحلول هايوكلورات الصوديوم 1%) وبصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة. طبق¹ استعملت 4 اطباق لكل عزلة كمكررات بالإضافة الى معاملة المقارنة من دون فطر ممرض ، وضعت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25 ± 2 م ثم اخذت النتائج بعد 7 ايام وذلك بحساب النسبة المئوية للأنبات وحسب المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للأنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور المزروعة}} \times 100$$

4- اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* ضد عزلة الفطر الممرض *F.solani* على الوسط الزراعي PDA :-

وشخصت الأجناس من قبل الدكتور ابراهيم خليل حسون اعتماداً على المفتاح التصنيفي المعتمد (23) . ثم نميت الفطريات التابعة الى جنس *Fusarium* على وسط اكار القرنفل Carnation leaf Agar (يستخدم هذا الوسط لغرض انتاج اعداد كبيرة من الكونيديا اضافة الى تكوين Sporodochia) والذي حضر بواسطة جمع اوراق نبات القرنفل *Dianthus caryophyllus* من نباتات نشطة النمو ، ثم عقت هذه الأوراق سطحياً بغمرها بمحلول هايوكلورات الصوديوم بتركيز 1 % ولمدة 3 دقائق بعدها غسلت الأوراق بالماء المعقم ونقلت على ورق ترشيح لغرض إزالة الماء الزائد ثم نقلت بواسطة ملقط معقم الى أطباق بتري حاوية على الوسط الزراعي الاكار والماء Water Agar (20 غم اكار ، 1 لتر ماء مقطر) المعقم والمبرد ، تركت الاطباق لمدة 1-2 يوم عند درجة حرارة الغرفة بعدها تم تنمية الفطريات العائدة الى الجنس *Fusarium* على وسط اكار أوراق القرنفل وبعد مرور 7 – 14 يوماً تحت درجة حرارة 25±2 . تم تشخيص النوع اعتماداً على المفتاح التصنيفي الذي وضعه Leslie و Summerell (23).

2-تحضير اللقاح الفطري للفطر *F.solani* :-

حضر اللقاح الفطري للفطر *F.solani* حسب طريقة Dewan (19) فقد استعملت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لغرض تحضير اللقاح الفطري بعد ان غسلت البذور جيداً بالماء لأزالة الأتربة والشوائب عنها ونقعت لمدة 6 ساعات بالماء وتركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لأزالة الماء الزائد منها ووضع كل 100غم منها في دورق زجاجي سعة 500 مل وعقت الدوارق في جهاز الموصدة لمدة ساعة واحدة ، وبعد 24 ساعة اعيد التعقيم ثم تركت الدوارق لتبرد ، لقحت الدوارق بوضع 5 اقراص بقطر 0.5 سم من الوسط PDA الحاوي على نموات الفطر الممرض *F.solani* حضنت الدوارق تحت درجة

$R1 - R2$

$$\text{Inhibition\%} = \frac{\text{R1}}{\text{R2}} \times 100$$

 R1
 اذ ان R1 اقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الممرض فقط (معاملة السيطرة) (سم).
 اما R2 اقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الممرض في الأطباق الحاوية على اللقاح البكتيري (سم).
 ونفس الطريقة تتبع لتحضير التركيز الفعال لبكتريا *B.subtilis* المثبط لنمو الفطر *F. solani*.
 3-4 حساب الكثافة العددية لبكتريا *B.thurngiensis* و *B. subtilis* :-

حضرت اربعة اطباق بتري حاوية على الوسط الزراعي N.agar المعقم لكل نوع بكتيري ثم لقت الأطباق بأخذ 1 مل . طبق¹ من اقل تخفيف مثبط للفطر الممرض من العالق البكتيري لكل نوع من الأنواع البكتيرية والذي كان 10^{-4} لبكتريا *B.thurngiensis* و 10^{-6} لبكتريا *B.subtilis* ثم حضنت الأطباق بالحاضنة في درجة حرارة 25 ± 2 لمدة 48 ساعة بعد ذلك تم حساب عدد المستعمرات في كل طبق باستعمال جهاز Colony counter واستخرج المعدل ثم ضرب في مقلوب التخفيف الفعال المثبط للفطر (18).

وحدة تكوين مستعمرة . مل⁻¹ = معدل عدد المستعمرات النامية × مقلوب التخفيف

ومن المعادلة اعلاه حسبت الكثافة العددية والتي كانت لبكتريا *B.thurngiensis* 5×10^5 (وحدة تكوين مستعمرة . مل⁻¹) ولبكتريا *B.subtilis* 6.1×10^7 (وحدة تكوين مستعمرة . مل⁻¹) والتي اعتمدت في الدراسات اللاحقة.

1- اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* بصورة متداخلة ضد الفطر الممرض

1-4 تحضير لقاح بكتريا *B.thurngiensis* و *B.subtilis* :-

تم الحصول على عزلة البكتريا *B.thurngiensis* و *B.subtilis* من مختبر الدراسات العليا – الكلية التقنية/ المسيب وجرى تنميتها واكثارها على الوسط الزراعي السائل Nutrient broth للأستعمالات في التجارب اللاحقة.

2-4 تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري *B.thurngiensis* و *B.subtilis* المثبط لنمو الفطر الممرض *F.solani* على الوسط PDA :-

اختبرت القابلية التضادية لبكتريا *B.thurngiensis* بعمل سلسلة من التخفيف وصولاً الى التخفيف 10^{-10} وذلك بتحضير عشرة انابيب اختبار تحوي كل انبوبة 9مل ماء مقطر معقم وتم اخذ 1مل من عالق البكتريا *B. thurngiensis* النامي على وسط Nutrient broth بعمر 24 ساعة واضيف الى الأنبوبة الأولى بواسطة Micropipette ثم اخذ 1مل من الأنبوبة الأولى واضيف الى الأنبوبة الثانية ومزجت المكونات جيداً وكررت العملية على باقي انابيب الاختبار للحصول على سلسلة من التخفيف وصولاً الى التخفيف 10^{-10} بعدها جرى تلقیح اطباق حاوية على PDA بأخذ 1مل من كل تخفيف ووضع بشكل بقع دائرية تبعد عن حافة الطبق 2سم بعد وضع في مركزها قرص بقطر 0.5سم من حواف مستعمرة الفطر *F.solani* المنماة على وسط PDA بعمر 7 ايام وبواقع اربعة اطباق لكل تخفيف وتركنت اربعة اطباق للمقارنة للفطر من دون تلقیح بالبكتريا اضيف اليها 1مل ماء مقطر معقم (9).

حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ± 2 م° لحين وصول مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق ، بعد ذلك حددت النسبة المئوية للتثبيط حسب معادلة Abbot (12).

بلفاح الفطر الممرض ، حضنت الأطباق عند درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ سجلت النتائج بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين من كل مستعمرة بعد وصول نمو الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق وتم حساب النسبة المئوية للتثبيط حسب المعادلة:

$$\text{Inhibition\%} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

3- تقييم المكافحة الأحيائية ببكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* للفطر *F.solani* المسبب لمرض تعفن جذور نباتات الطماطة تحت ظروف البيت البلاستيكي :-

نفذت التجربة على وفق التصميم العشوائي التام Completely Randomized Design (CRD) بثلاثة مكررات باستعمال اصص بلاستيكية . اجريت هذه التجربة في البيت البلاستيكي التابع الى الكلية التقنية / مسيب بتاريخ 2014/2/1. عقمت تربة مزيجية ويتموس بنسبة 1:2 وزن . وزن¹ بجهاز المؤصدة تحت ضغط 1 جو ودرجة حرارة 121°C لمدة ساعة ، وزعت التربة في اصص بلاستيكية سعة 2كغم ثم وزعت فيها شتلات من الطماطة صنف (سوبر جنتا) بعمر اربعة اسابيع وتضمنت المعاملات الآتية : 1- بكتريا *B.thuringiensis* بتركيز 5 مل بمفردها. 2- بكتريا *B.thuringiensis* بتركيز 10 مل بمفردها. 3- بكتريا *B.subtilis* بتركيز 5 مل بمفردها . 4- بكتريا *B.subtilis* بتركيز 10 مل بمفردها . 5- بكتريا *B.thuringiensis* بتركيز 5 مل + الفطر *F.solani* . 6- بكتريا *B.thuringiensis* بتركيز 10 مل + الفطر *F.solani* . 7- بكتريا *B.subtilis* بتركيز 5 مل + الفطر *F.solani* . 8- بكتريا *B.subtilis* بتركيز 10 مل + الفطر *F.solani* . 9- المبيد Beltanol + الفطر *F.solani* . 10- بكتريا *B.thuringiensis* + *B.subtilis* بتركيز 5 مل . 11- بكتريا

F.solani على الوسط الزراعي PDA بطريقة البقع :- Spotting

أضيف 0.1 مل من اقل تخفيف مثبت للفطر الممرض من لقاح البكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* النامية بعمر 48 ساعة في أطباق بتري معقمة حاوية على وسط PDA بشكل بقع Spotting واضيف 0.1 مل لكل بقعة من النوعين البكتيريين وبواقع 4 بقع على أطراف قطرين متعامدين وعلى بعد 2 سم عن حافة الطبق وبمعدل اربعة مكررات مع ترك اربعة أطباق دون إضافة اللقاح البكتيري كمعاملة مقارنة (31) بعد ان تم تلقيح مركز كل طبق بقرص (0.5سم) من مستعمرة الفطر الممرض *F.solani* حضنت المعاملات في الحاضنة على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لحين وصول مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق ، بعد ذلك حددت النسبة المئوية للتثبيط حسب معادلة Abbot (12).

$$\text{Inhibition\%} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

2- تقييم كفاءة المبيد Chinosol في تثبيط نمو الفطر الممرض *F.solani* على الوسط الزراعي :-

حضر الوسط PDA وعقم بالمؤصدة تحت درجة حرارة 121°C وضغط 1 جو وبرد الى 45°C بعدها اضيف المبيد Chinosol (quinoline sulfate) من انتاج شركة Probelte الاسبانية (Hydroxy8-) تركيز المادة الفعالة فيه 50%) بتركيز 1 مل . لتر¹ قبل تصلب الوسط ، صب الوسط في اطباق بتري معقمة بقطر 9سم واستعملت 4 اطباق لكل معاملة كمكررات وبعد التصلب لقت الأطباق في مركزها بقرص بقطر 0.5 سم من الوسط الزراعي الحاوي على نموات الفطر الممرض *F.solani* اما اطباق المقارنة فقد احتوت على الوسط الزراعي PDA الخالي من المبيد ولقت

4 = تلون من (76-100%) من المجموع الجذري بلون بني.

وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة باعتماد معادلة (Mckinney، 1923).

النسبة المئوية للأصابة = مجموع (عدد النباتات المصابة × درجة اصابتها) / العدد الكلي للنباتات المفحوصة × أعلى درجة اصابة × 100

وتم قياس الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وطول المجموعين الخضري والجذري وعدد الأزهار في نباتات الطماطة.

النتائج والمناقشة :-

1- العزل والتشخيص :-

اظهرت نتائج العزل على الوسط PDA لجذور نباتات الطماطة التي ظهرت عليها اعراض المرض المتمثلة بتلون الجذور باللون البني وتعفن جزء او كل الجذر وجود جنسين من الفطريات وهي *Fusarium* و *Rhizoctonia* وتم تشخيص الأجناس الى مستوى النوع وكان اكثر الفطريات الممرضة تكراراً في العينات هو الفطر *F.solani* الذي عزل من جميع عينات المناطق التي شملها المسح وحقق أعلى نسبة تواجد على الوسط PDA فقد بلغت 65.00% تلاه الفطر *Rhizoctonia solani* الذي عزل من (المحاويل – البدعة – ابو الجاسم – المشروع الكبير – السدة) وبلغت أعلى نسبة تواجد له على الوسط الزراعي PDA هي 32.14% . وعلى الرغم من قلة الدراسات حول مرض ذبول نباتات الطماطة في العراق فقد كانت هذه النتيجة مطابقة مع ما توصل اليه (10) و (4) ان الفطر *F.solani* يسبب موت بادرات وتعفن جذور الطماطة في العراق . هذه النتائج جاءت قريبة من دراسات اجريت في انحاء العالم فقد وجد Moses (30) ان الفطرين *F.solani* و *R.solani* من المسببات المرضية الرئيسية التي تسبب

(*B.subtilis* + *B.thuringiensis*) بتركيز 10 مل .
12- بكتريا (*B.subtilis* + *B.thuringiensis*) بتركيز 5 مل + الفطر *F.solani* . 13- بكتريا (*B.subtilis* + *B.thuringiensis*) بتركيز 10 مل + الفطر *F.solani* . 14- الفطر *F.solani* بمفرده .
15- مقارنة غير ملوثة بالفطر *F.solani*.

تم تحميل الفطر الممرض *F.solani* على بذور الدخن المحلية *Panicum miliaceum* و اضيف الفطر *F.solani* بنسبة 1% وزن. وزن¹ لكل المعاملات ما عدا معاملة المقارنة ومعاملة البكتريا بدون الفطر . اما معاملات اضافة لقاح البكتريا الأحيائية *B.thuringiensis* و *B.subtilis* فقد تمت بأضافة مقدار 7.5 مل . اصيص¹ من عالق البكتريا النامي على وسط N.broth بعمر 72 ساعة ومن تركيز 5×10^5) وحدة تكوين مستعمرة . مل¹) و 6.1×10^7 (وحدة تكوين مستعمرة . مل¹) على التوالي قبل اضافة الفطر الممرض *F.solani* بمدة 7 ايام و اضيف المبيد الكيميائي Chinosol بتركيز 1 مل . لتر¹ مع ماء السقي بعد يوم واحد من اضافة الفطر الممرض (9) و (2).

وبعد مرور ستة اسابيع من احداث الإصابة قدرت شدة الإصابة باستعمال الدليل المرضي الآتي:

0 = مجموع جذري وخضري سليم وذات نمو طبيعي اخضر اللون.

1 = تلون من (1-25%) من المجموع الجذري بلون بني غامق.

2 = تلون من (26-50%) من المجموع الجذري بلون بني.

3 = تلون من (51-75%) من المجموع الجذري بلون بني.

فقد اشارت العديد من الدراسات الى ان الفطر *F.solani* له القابلية على افراز العديد من السموم فقد ذكر Manici وآخرون (26) ان الفطر يفرز عدداً من السموم منها Fusarubin و Javanicin و Polypeptide التي تؤدي دوراً مهماً في امراضية الفطر . كذلك ينتج الفطر *F.solani* حامض Fusaric – acid ومواد أخرى تؤدي إلى الذبول الدائم وعند غزو الفطر لأنسجة الأوعية الناقلة للنبات يؤدي إلى فقدان ما يقرب من (75-100) % من طبقة الكامبيوم ، وكذلك يقلل من عدد الحزم الوعائية الخشبية بنسبة (20) % (13) . كذلك يعود سبب ذلك الى تباين العزلات في مقدرتها على افراز الأنزيمات المحللة للكتلين في جدار خلية العائل مثل Laccase و Lignin Peroxidase وما الى ذلك من اهمية في احداث الاصابة وانتشار سموم الفطر وانزيماته في تلك الخلايا (25) . ومن نتائج هذا الاختبار تم اختيار العزلة الأكثر انخفاضاً لأنبات بذور اللهانة وهي Fs4 لأجراء اختبار المقدرة المرضية على نباتات الطماطة.

امراضاً على بادرات الطماطة . وهذه النتائج جاءت متفقة مع توصل اليه Wang وآخرون (37) ان الفطر *F.solani* كان اكثر انواع الجنس *Fusarium* مسبباً لمرض تعفن جذور البطاطا الحلوة.

2- الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F.solani* باستعمال بذور اللهانة :

تشير نتائج الجدول (1) الى ان جميع عزلات الفطر *F.solani* المختبرة احدثت انخفاضاً معنوياً في انبات بذور اللهانة قياساً الى معاملة المقارنة التي بلغت نسبة الأنبات فيها 97.00% وتباينت العزلات فيما بينها في انخفاض نسبة الأنبات فقد احتلت عزلة Fs4 المرتبة الأولى في انخفاض النسبة المئوية للأنبات اذ بلغت 4% في حين تراوحت النسب المئوية للأنبات في باقي العزلات ما بين 10-30% وهذه النتائج جاءت مطابقة لنتائج دراسات عديدة على عوائل نباتية مختلفة (6) و (2) وقد يعود سبب اختلاف العزلات في مقدرتها المرضية وتأثيرها في النسبة المئوية لأنبات بذور اللهانة الى تباين العزلات في مقدرتها على انتاج السموم

جدول (1) الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F.solani* باستعمال بذور اللهانة على الوسط الزراعي

Water agar

العزلة	النسبة المئوية للأنبات
Fs1	18
Fs2	19
Fs3	10
Fs4	4
Fs5	30
Control	97.00
L.S.D. عند مستوى 5%	4.90

*كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات.

F.solani الى ما تنتجه البكتريا من انزيمات تؤثر على الجدار الخلوي للفطريات الممرضة للنبات فقد وجد ان انزيم الكايتيناز من الأنزيمات المهمة التي تفرزها بكتريا *B.thuringiensis* والذي يسبب تحلل خلايا جدران الفطر الممرض وربما يؤدي انزيم البروتيناز نفس الدور الذي يؤديه انزيم الكايتيناز واتفقت هذه النتيجة مع ما وجده Reyes – Ramirez وآخرون (32) في تثبيط نمو الفطر *Fusarium*. وهذه النتيجة تتطابق مع ما توصل اليه الكعبي (5) ان استعمال بكتريا *B.thuringiensis* ادى الى تثبيط نمو مايسليوم الفطر *F.solani* على الوسط الزراعي PDA.

3- اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.thuringiensis* ضد الفطر الممرض (*Fs4*) *F.solani* على الوسط الزراعي PDA:-

اشارت النتائج في جدول (2) الى ان استعمال بكتريا *B.thuringiensis* بأقل تخفيف مثبط 10^{-4} وبتركيز 5×10^5 وحدة تكوين مستعمرة . مل⁻¹ ادى الى تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض (*Fs4*) *F.solani* على الوسط الزراعي PDA فقد اظهرت العزلة البكتيرية كفاءة عالية في تثبيط النمو الفطري اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 58.32% وكان معدل النمو الفطري لعزلة الفطر الممرض (*Fs4*) *F.solani* 3.75 سم قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت 9 سم (صورة 1). ويعود سبب تثبيط بكتريا *B.thuringiensis* لنمو الفطر الممرض



Fs4 + B.th (Control) *Fs4*

صورة (1) تبين التضاد بين بكتريا *B.thuringiensis* والفطر *F.solani*

جدول (2) تقييم كفاءة عزلة البكتريا *B.thuringiensis* في تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض (*Fs4*) *F.solani* على الوسط الزراعي PDA

المعاملة	معدل النمو الفطري للفطر (سم) <i>F.solani</i>	نسبة تثبيط الفطر %
فطر <i>Fs4</i> + بكتريا <i>B.thuringiensis</i>	3.75	58.32
فطر <i>Fs4</i> بمفرده (مقارنة)	9.00	0.00
L.S.D. عند مستوى 0.05	0.06	0.62

• كل رقم بالجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

وانتشارها على الوسط الزراعي الصلب ومن ثم تثبيط نمو الفطر الممرض فضلاً عن انتاجها العديد من المضادات الحياتية للفطر الممرض *F. solani* مثل Subtilin و Bactriacin و Bacillin و Bacillomycin وافرازها عدداً من الانزيمات المحللة مثل انزيم Chitinase و B-1,3 glucanase مما يؤدي الى تحلل جدران خلايا الفطر الممرض (28) . وتتطابق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Moreira وآخرون (29) ان بكتريا *B.subtilis* لها القدرة على تثبيط نمو الفطر الممرض *Colletotrichum acutatum* على الوسط الزراعي من خلال تأثيرها على تكوين الكونديا ونمو الخيوط الفطرية للفطر الممرض.

3- اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.subtilis* ضد الفطر الممرض (*Fs4*) *F.solani* على الوسط الزراعي PDA :-

اظهرت نتائج هذه التجربة قدرة بكتريا *B.subtilis* على تثبيط الفطر الممرض *F.solani* (صورة 2) بأقل تخفيف مثبط 10^6 وبتركيز 6.1×10^7 (وحدة تكوين مستعمرة . مل⁻¹) على الوسط الزراعي PDA وقد بلغ معدل النمو القطري لمستعمرة الفطر الممرض *F.solani* 4.9 سم قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 9.00 سم وبلغ معدل النسبة المئوية لتثبيط الفطر الممرض 45.55% (جدول 3) . وتعزى الخاصية التضادية لبكتريا *B. subtilis* الى نموها السريع



Fs4 + B.sub

(Control) Fs4

صورة (2) تبين التضاد بين بكتريا *B.subtilis* والفطر *F.solani*

جدول (3) اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.subtilis* ضد عزلة الفطر الممرض (*Fs4*) *F.solani* على وسط PDA

نسبة تثبيط الفطر (%)	معدل النمو القطري للفطر الممرض (سم)	نوع المعاملة
45.55	4.9	فطر <i>B.subtilis</i> + Fs4
0.00	9.00	فطر <i>Fs4</i> بمفرده المقارنة
0.88	0.07	L.S.D. عند مستوى 5%

*كل رقم بالجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

(جدول 4) صورة (3) . ويعود سبب ذلك الى ان استعمال نوعين من عوامل المقاومة الحيوية ادى الى حدوث تعاون مشترك بكافة الآليات التي تمتلكها بكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* في كبح نمو الفطر *F.solani* . كما أن استعمال طريقة البقع Spotting تعطي نتائج أفضل في تثبيط النمو القطري للفطر الممرض *F.solani* وذلك لأن انتشار المواد المفزة من قبل البكتريا يكون افضل بطريقة البقع وهذه النتيجة تتفق مع العديد من الدراسات التي استخدمت انواع مختلفة من البكتريا بطريقة البقع في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *F.solani* و *Rhizoctonia solani* (9) و (8).

4- اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* بصورة متداخلة ضد الفطر الممرض *F.solani* على الوسط الزراعي PDA بطريقة البقع Spotting

تبين من خلال هذه التجربة ان استعمال بكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* بصورة متداخلة على الوسط الزراعي ادى الى تثبيط كامل للفطر *F.solani* فقد بلغ معدل قطر مستعمرة الفطر 0.00 وكانت النسبة المئوية لتثبيط الفطر 100% قياساً بمعاملة المقارنة والتي كان معدل النمو القطري لمستعمرة الفطر الممرض 9 سم والنسبة المئوية لتثبيط الفطر 0 %



F.s4 + B.sub + B.th

(Control) *Fs4*

صورة (3) تبين تأثير التداخل بين بكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* في نمو الفطر *F.solani*

جدول (4) اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.thuringiensis* و *B.subtilis* بصورة متداخلة ضد عزلة الفطر الممرض *F.solani* على الوسط الزراعي PDA

المعاملة	معدل النمو القطري للفطر <i>F.solani</i> (سم)	نسبة تثبيط الفطر %
فطر <i>Fs4</i> + بكتريا <i>B.thuringiensis</i> + <i>B.subtilis</i>	0.00	100.00
فطر <i>Fs4</i> بمفرده (مقارنة)	9.00	0.00
L.S.D. عند مستوى 0.05	0.00	0.00

*كل رقم بالجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

الحديثة ذات المدى الواسع ضد فطريات التربة المختلفة والبكتريا ايضاً وسبب فاعلية ضد فطريات التربة الممرضة يعود الى ارتباط المادة الفعالة Chinosol مع العناصر الثقيلة ومن ثم تكوين معقدات يصعب امتصاصها من قبل المسبب المرضي ، ولم تظهر بعد اي سلالة مقاومة له (3). وهذه النتيجة جاءت مؤكدة للعديد من الدراسات التي اثبتت ان استعمال مبيد Chinosol على الوسط الزراعي PDA ادى الى تثبيط نمو الفطر *F.solani* بشكل كامل (11) و (7).

تقييم كفاءة المبيد Chinosol في تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض (Fs4) *F.solani* على الوسط الزراعي PDA

اظهرت نتائج هذا الاختبار (جدول 5) ان استعمال مبيد Chinosol بتركيز 1مل . لتر-1 ادى الى تثبيط نمو الفطر الممرض *F.solani* بنسبة 100% كما بلغ معدل النمو الفطري لمستعمرة الفطر الممرض صفراً قياساً الى معاملة المقارنة التي بلغ المعدل فيها 9.00 سم ويعود سبب ذلك ان مبيد chinosol يعد من المبيدات الفطرية

جدول (5) تقييم كفاءة مبيد Chinosol في تثبيط نمو الفطر الممرض (Fs4) *F.solani* على الوسط الزراعي PDA

المعاملة	معدل النمو الفطري (سم) للفطر <i>F.solani</i>	نسبة تثبيط الفطر %
فطر + مبيد Chinosol	0.00	100.00
فطر Fs4 بمفرده (مقارنة)	9.00	0.00

*كل رقم بالجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

التداخل بين بكتريا *B.subtilis* و *B.thuringiensis* بمقدار 5مل انخفاضاً معنوياً في شدة الإصابة بوجود الفطر الممرض فقد بلغت 8.33 % ، والسبب يعود الى ان البكتريا وفرت للنبات زيادة في المقاومة للفطر الممرض وهذه الحماية من قبل البكتريا تكون مرتبطة بتكوين تراكيب جديدة كالتخانات الحاصلة في الجدار الخلوي والتجمع للبكتريا في الأماكن التي يحاول الفطر الدخول منها الى النبات ولا سيما الشعيرات الجذرية او الى افراز انزيم الكايتيناز والبروتينز من قبل هذه البكتريا مما يؤدي الى تحليل خلايا جدران الفطر الممرض واتفقت هذه النتيجة مع ما وجدته Usharani و Gowda (36) في تثبيط نمو الفطر *Fusarium* بواسطة بكتريا *B.thuringiensis* . كما ان الجمع بين اليات عوامل المقاومة الحيوية يكون اكثر تأثيراً في الحد من تطور المرض (39) . كذلك يعود السبب الى الفعل التعاوني

تقييم كفاءة بعض العوامل الأحيائية والمبيد Chinosol في معايير النمو لشتلات الطماطة ضد الإصابة بالفطر الممرض (Fs4) *F.solani* تحت ظروف البيت الزجاجي

يبين جدول (6) نتائج تجربة البيت البلاستيكي فقد تبين ان الفطر الممرض *F.solani* له قدرة عالية في اصابة نبات الطماطة مسبباً مرض تعفن الجذور اذ بلغت النسبة المئوية لشدة الإصابة 72.22 % في معاملة الفطر الممرض بمفرده في حين انخفضت هذه النسبة وبفروقات معنوية عالية مع باقي المعاملات فقد حققت معاملة التداخل بين بكتريا *B.subtilis* و *B.thuringiensis* بمقدار 10مل بوجود الفطر الممرض اعلى نسبة انخفاض في شدة الإصابة بالفطر الممرض والتي بلغت 5.55% كذلك حققت معاملة

الاستراتيجية لزيادة فاعليتها من جهة والتغلب على مشكلة الأداء غير الثابت لعواملها الأحيائية وذلك بمزج عوامل التضاد المتوافقة والتي تعمل بآليات مختلفة لكبح المسبب أو المسببات المرضية المختلفة (21). وهذه النتيجة جاءت مطابقة مع ما توصل اليه Domenech وآخرون (20) عندما استخدم ثلاثة أنواع من البكتريا المشجعة لنمو النبات بصورة متداخلة أدت الى زيادة مؤشرات النمو منها الوزن الطري والجاف لنبات الطماطة. كذلك تتوافق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Sundaramoorthy وآخرون (34) والذي استخدم سلالتين من بكتريا *B. subtilis* وبكتريا *Pseudomonas fluorescens* بصورة متداخلة أدى الى تثبيط نمو الفطر *F. solani* وتحفيز نمو نبات الفلفل في ظروف البيت الزجاجي وفي الحقل. وتتوافق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Ikram و Dawar (22) ان استعمال عوامل المقاومة الحيوية بصورة متداخلة أدى الى زيادة مؤشرات نمو النباتات البقولية والمتمثلة بطول ووزن المجموعين الخضري والجذري وزيادة المساحة الورقية للنبات إضافة الى انها تكون أكثر تأثيراً على الفطريات المسببة لتعفن جذور النباتات البقولية. كما نجد ان استعمال نوعين من البكتريا عائدة الى نفس الجنس تعطينا نتائج افضل وهذه النتيجة تماثل ما توصل اليه Lin وآخرون (24) والذي وجد ان استعمال عدة سلالات من جنس *Bacillus* أدى الى مكافحة الممرضات الفطرية وتشجيع نمو نبات الخيار.

ويلاحظ من الجدول (6) ايضاً ان معاملة البكتريا بمفردها اظهرت فروقاً معنوية عالية على الصفات الحيوية المدروسة للنبات ويعود ذلك لعدم تواجد الفطر الممرض في التربة كذلك اوضحت النتائج ان للبكتريا مقدرة عالية في حماية شتلات الطماطة من الإصابة بالفطر الممرض فقد بينت العديد من الدراسات ان الميكانيكيات التي تمتلكها البكتريا المشجعة لنمو للنبات PGPR تؤدي الى فوائد عديدة للنبات منها تشجيع نمو

مابين عوامل المقاومة الحيوية عند استعمالها بصورة متداخلة فهي تعطي نتائج افضل مقارنة فيما لو استخدم مقاوم احيائي بصورة منفردة (38). واتفقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه Siddiqui وآخرون (33) عند استعماله عملية التداخل بين نوعين من عوامل المقاومة الحيوية لمكافحة ممرضات جذور الطماطة أدت الى حدوث انخفاض معنوي للأصابة بمسببات امراض الجذور مثل *F. solani* و *F. oxysporum* و *M. Phaseolina*. وهذه النتيجة جاءت مطابقة مع ما توصل اليه Antonelli وآخرون (15) عندما استخدم بكتريا *B. subtilis* و *Pseudomonas. putida* بصورة متداخلة في السيطرة على الفطر *Monosporascus cannonballus* المسبب لمرض تعفن جذور البطيخ.

وبين الجدول وجود اختلافات معنوية عالية في تأثير التراكيز للبكتريا المضافة بطريقة السقي على معايير نمو نباتات الطماطة المدروسة حيث اظهرت معاملة استعمال الأنواع البكتيرية بصورة متداخلة بتركيز 10مل بوجود الفطر الممرض فاعلية عالية لكل الصفات المدروسة اذ بلغت 67.61 غم ، 15.73 غم ، 17.03 غم ، 2.58 ، 58.83 سم ، 30.46 سم ، 16 لكل من الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وطول المجموعين الخضري والجذري وعدد النورات الزهرية على التوالي اما في معاملة المقارنة فقد بلغت 38.34 غم ، 7.90 غم ، 10.10 غم ، 1.09 غم ، 41.13 سم ، 18.26 سم ، 9.66 على التوالي اما في معاملة الفطر الممرض *F. solani* مضاف لوحده الى النبات أدى الى انخفاض معنوي للصفات الحيوية المدروسة للنبات فقد بلغت 28.84 غم ، 3.91 غم ، 5.39 غم ، 0.76 غم ، 20.23 سم ، 8.86 سم ، 1.66 على التوالي ، هذه النتائج توضح ان مكافحة مدى واسع من المسببات المرضية باستعمال عوامل مكافحة أحيائية متباينة من حيث تحملها للظروف البيئية ومتوافقة أحيائياً يعد أحد الأهداف

ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد . جمهورية العراق.

7- جبر ، كامل سلمان ، ومحمد عبد الحسن ، و ابراهيم خليل حسون . 2012. تقويم ضراوة بعض العزلات الممرضة لثلاثة انواع من الجنس *Fusarium* في النخيل ومقاومتها . مجلة العلوم الزراعية ، 34 (2) : 17-7.

8- جعفر ، علا هادي . 2011 . المقاومة الاحيائية والكيميائية لمرض ذبول اللوبياء المتسبب عن الفطرين *Rhizoctonia solani kuhn* و *Fusarium solani* (Mart) Sacc . رسالة ماجستير . الكلية التقنية / المسيب . جامعة الفرات الأوسط التقنية . جمهورية العراق.

9- حسون، ابراهيم خليل . 2005. مكافحة البايولوجية والكيميائية لمسبب تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani kuhn* . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد . جمهورية العراق.

10- ديوان ، مجيد متعب . 1994 . الكثافة العددية للفطريات المرضية المرافقة لجذور الطماطة وعلاقتها بمرض الذبول . مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، 7 (2) : 91-100.

11- راضي ، كفاح هادي . 2011 . المقاومة الإحيائية والكيميائية لبعض الفطريات المسببة لموت فسائل النخيل في محافظة بابل . رسالة ماجستير . الكلية التقنية / المسيب . جامعة الفرات الأوسط التقنية . جمهورية العراق.

12- شعبان ، عواد و نزار مصطفى الملاح . 1993. المبيدات . مطبعة جامعة الموصل . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .العراق.

النبات وذلك من خلال إفرازها للمواد المنشطة للنمو (16) . يتبين من الجدول ايضاً ان لمعاملة المبيد تأثير معنوي على الصفات المدروسة مقارنة بمعاملة المقارنة.

المصادر

1- ابو عرقوب ، محمود مرسي . 2002 . المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة – مستحثة – حيوية) ودورها في امراض النبات الطبعة الأولى . المكتبة المركزية / القاهرة . مصر.

2- البياتي، اسراء موفق عبيد . 2010 . مكافحة الأحيائية والكيميائية للفطر *Fusarium solani* المرافق لجذور الكمثرى في محافظة بابل.رسالة ماجستير.كلية العلوم.الجامعة المستنصرية . العراق.

3- الجبوري ، حرية حسين شهاب. 2002 . تأثير استعمال معيق النمو الكلتار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على اصابة نبات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.

4- العميري ، نوفل سليمان محمد . 2001 . طرق مختلفة لمقاومة مرض موت بادرات الطماطة في المشتل . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة والغابات . جامعة الموصل . العراق.

5- الكعبي ، حوراء نعمة حسين . 2013 . فعالية العوامل الأحيائية والكيميائية ضد الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الشليك . رسالة ماجستير . الكلية التقنية /المسيب . جامعة الفرات الأوسط التقنية . جمهورية العراق.

6- الوندائي، درين صفوت جميل . 2006. الكشف عن مسببات أمراض جذور التفاح الفطرية ومكافحتها. رسالة

جدول (6) تقييم كفاءة بعض العوامل الأحيائية والمبيد Chinosol في شدة الإصابة ومعايير النمو لشتلات الطماطة بعمر اربع اسابيع من الإصابة بالفطر الممرض (*F.solani* (*Fs4*) تحت ظروف البيت البلاستيكي

المعاملة	شدة الإصابة للجنر	الوزن الطري للمجموع الخضري (غم)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم)	الوزن الطري للمجموع الجاف للجنري (غم)	الوزن الجاف للمجموع الجاف للجنري (غم)	طول المجموع الخضري (سم)	طول المجموع الجاف للجنري (سم)	عدد الأزهار في النورات الزهرية
<i>F.solani</i>	72.22	28.84	3.91	5.39	0.76	20.23	8.86	1.66
5ml <i>B.th</i>	0.00	46.68	13.59	13.66	1.63	50.86	23.53	13
10ml <i>B.th</i>	0.00	59.92	15.41	15.51	2.36	55.33	26.40	15.66
5ml <i>B.s</i>	0.00	42.19	12.58	12.97	1.85	50.06	21.36	12.33
10ml <i>B.s</i>	0.00	55.54	13.89	14.98	2.18	53.53	24.26	15.33
<i>F.s</i> + 5ml <i>B.th</i>	13.88	40.59	9.47	11.84	1.48	44.63	20.06	11.33
<i>F.s</i> + 10ml <i>B.th</i>	11.10	54.35	11.57	13.91	1.96	47.46	22.63	12.66
<i>F.s</i> + 5ml <i>B.s</i>	16.66	37.93	8.69	10.34	1.34	45.73	21.33	11
<i>F.s</i> + 10ml <i>B.s</i>	13.88	47.12	11.19	13.04	1.10	47.86	23.73	13
<i>F.s</i> + Beltanol	0.00	40.49	11.50	12.83	1.80	45.33	21.63	12.66
5ml <i>B.s</i> + 5ml <i>B.th</i>	0.00	61.94	16.61	17.19	2.96	59.33	34.83	16.33
10ml <i>B.s</i> + 10ml <i>B.th</i>	0.00	75.75	24.93	19.01	3.97	63.33	39.90	19.33
<i>F.s</i> + 5ml <i>B.s</i> + 5ml <i>B.th</i>	8.33	52.71	12.12	14.34	2.04	56.66	24.63	15.66
<i>F.s</i> + 10ml <i>B.s</i> + 10ml <i>B.th</i>	5.55	67.61	15.73	17.03	2.58	58.83	30.46	16
مقارنة بدون فطر	0.00	38.34	7.90	10.10	1.09	41.13	18.26	9.66
L.S.D.	9.53	1.25	0.68	1.03	0.04	0.50	0.47	0.68

* كل رقم بالجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات .

Bacillus thuringiensis = *B.th*.

Bacillus subtilis = *B.sub*

Fusarium solani = *F.s*

- Science and Plant Nutrition. Univ. Western- Australia. 210 pp.
- 20- Domenech, J.; M.S. Reddy; J.W. Klopfer; B. Ramos; and Gutierrez-Manero J. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne disease in Pepper and Tomato. *BioControl*. 51:245-258.
- 21- Guetsky, R.; D. Shtienberg; Y. Elad and Dinnor, A. 2001. Combining biocontrol agents to reduce the variability of biological control. *Phyto.*, 91:621-627.
- 22-Ikram, N. and S. Dawar. 2014. Impact of biocontrol agents in combination with *Prosopis juliflora* (Swartz) DC. in controlling the root-infecting fungi of leguminous crops . *Archives of Phyto. And Plant Protec.*, 47 (8): 930-937.
- 23-Leslie, J. F., and B.A. Summerell. 2006. The *Fusarium* Laboratory manual. USA. pp. 388.
- 24- Lin, Y.; D. Du; C. Si; Q. Zhao; Z. Li and P. Li. 2014. Potential biocontrol *Bacillus* sp. strains isolated by an improved method from vinegar waste compost exhibit antibiosis against fungal pathogens and promote growth of Cucumbers . *Biological Control*. 71: 7-15.
- 13-Agrois, G.N. 2005. *Plant Pathology* 5th edition. Elsevier Academic Press. New York. USA.
- 14-Alippi, A.; and C. Monaco. 1994. Antagonismo in vitro de especies de *Bacillus* contra *Scierotium rolfsii* y *Fusarium solani*. *Revista de La facultad de Agronomia, La Plata*, 70: 91 – 95.
- 15-Antonelli, M.; R. Reda; M. P. Aleandri; L. Varvaro and Chilosi G. 2013. Plant Growth-Promoting Bacteria from Solarized Soil with the Ability to Protect Melon against Root Rot and Vine Decline Caused by *Monosporascus cannonballus*. *Phyto.* , 161 (7-8): 485- 496.
- 16-Bashan, Y.; G. Holguin and Lifshitz, R. 1993. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria. CRC Press, USA. pp. 331.
- 17-Bolkan, H. H. and E. E. Butler .1974. Studies on Heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani*. *Phyto*, 64: 513 – 522.
- 18-Clark, F.E. 1965. Agar - Plate method for total microbial count. Publisher Madison, Wisconsin, USA.
- 19-Dewan, M.M. 1989. Identify and frequency of occurrence of fungi in root of Wheat and ryegrass and their effect on take – all and host growth. Ph.D. Thesis. Faculty of Agricultural Department of Soil

- diseases of cowpea. M.SC. thesis. Natural and Agricultural Sciences College. University of Pretoria. South Africa. pp. 67.
- 31-Paulitz, T. C.; T. Zhou and Rankin, L. 1992. Selection of Rhizosphere bacteria for biological control of *Pythium aphanidermatum* on hydroponically crown cucumber. Biological Control, 1(2): 226 – 237.
- 32-Reyes – Ramirez, A.; B.I.E. Abarca; G.A. Uscanga; P.M.H. Jones and J.E.B. Corona. (2004). Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds. Journal of Food Science. Vol.69. Web: www.ift.Org
- 33-Siddiqui, I. A., S.A. Qureshi, V. Sultana, S. Ehteshamul Haque and Ghaffar A. 2000. Biological control of root rot–root knot disease complex of tomato. Plant and Soil, 227(1-2): 163-169.
- 34-Sundaramoorthy, S.; T. Ragu-chander; N. Ragupathi and Samiyappan R. 2012. Combinatorial effect of endophytic and plant growth promoting Rhizobacteria against wilt disease of *Capsicum annum* L. caused by *Fusarium solani*. Biological Control, 60 (1): 59- 67.
- 25- Lozovaya, V.V.; A.V. Lygin; O.V. Zernova; S. Li; J.M. Windholm and Hartman G.L. 2006. Lignin degradation by *Fusarium solani*. Plant Disease, 9: 77 – 82.
- 26- Manici, L.M.; M. Kelderer; G. Erschbaume; F. Capato; V. Babini and Casera, C .2000. Replant problems in south Tyrol: role of fungi pathogens and microbial populations in conventional and organic apple orchards. Research Institute for Industrial Crops, Vida Corticella, 133: 218 – 223.
- 27-Mckinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of Wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. J. Agric. Research, 26: 195 – 217.
- 28-Montealegre, J. R.; R.Rodrigo; P.M. Luz.; H. Rodrigo; S.polyana; and Ximena B. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in Tomato.J. Biotec. 6: 115 – 127.
- 29- Moreira, R.R.; C.N. Nesi and De Mio L.L.M.2014.*Bacillus* spp.and *Pseudomonas putida* as inhibitors of the *Colletotrichum acutatum* group and potential to control Glomerella leaf spot. Biological Control, 72: 30-37.
- 30-Moses, R. T. 2006. Biological and chemical control of fungal seedling

- 40-Xu, X. M.; P. Jeffries; M. Pautasso and Jeger M. J. 2011. Combined Use of Biocontrol Agents to Manage Plant Diseases in Theory and Practice. *Phyto*, 101 (9): 1024-1031.
- 35- Taylor, R.J.; B. Salas; G.A. Secor; V. Rivera, and Gudmestad, N.C. 2002. Sensitivity of north American Isolates of *Phytophthora erythroseptica* and *Pythium ultimum* to mefonoxam (metalaxyl). *Plant Disease*, 86: 797-802.
- 36- Usharani, T.R. and T.K. Gowda. 2011. Cloning of chitinase gene from *Bacillus thuringiensis*. *Ind. J. Biotech.*, 10: 264-269.
- 37- Wang, R.Y.; B. Gao; X. H. Li; J. Ma and Chen S.L. 2014. First Report of *Fusarium solani* Causing Fusarium Root Rot and Stem Canker on Storage Roots of Sweet Potato in China. *Plant Disease*, 98 (1): 160.
- 38-Xu, X. M. and M. J. Jeger. 2013. Combined Use of Two Biocontrol Agents with Different Biocontrol Mechanisms Most Likely Results in Less Than Expected Efficacy in Controlling Foliar Pathogens Under Fluctuating Conditions: A Modeling Study. *Phyto*, 103 (2): 108-116.
- 39-Xu, X. M.; N. Salama; P. Jeffries and Jeger, M. J. 2010. Numerical studies of biocontrol efficacies of foliar plant pathogens in relation to the characteristics of a biocontrol Agent. *Phyto*, 100: 814-821.

Study the combination between the bacterium *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* in the controlling fungus *Fusarium solani* that caused root rot of Tomato

*Ibrahim Khalil Hassoun

**Ibtisam Mohammad Hussein

***Ali Yusuf Obaid

*Technical College/Al-Musaib – Technical University of Al- Furat Al – Wast- Republic of Iraq

** Technical Institute / Babylon - Technical University of Al- Furat Al –Wast- Republic of Iraq

*** Agricultural Directorate of Babylon - Ministry Of Agriculture- Republic of Iraq

Abstract

In This study showed that using biocontrol agents as a combination was more effective in controlling the *Fusarium solani* and stimulating the growth of tomato plant. Also, the results of antagonistic ability test for *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* as a combination showed that the inhibited the growth of the *F.solani* on the PDA medium (100%). However, using *B.thuringiensis* and *B.subtilis* inhibited the growth of the *F.solani* on the PDA culture medium (58.32%, 45.55%) respectively compared with the control (0%) inhibition rate. In addition, results showed that uses of the *B.thuringiensis* and *B.subtilis* as a combination by 10ml and 5ml of concentration 5×10^5 ufc .ml⁻¹ and 6.1×10^7 ufc.ml⁻¹ respectively have significant decreased on the infection intensity of *F.solani* (5.55% and 8.33%) respectively compared with the treatment of fungus pathogen alone (72.22%) Under the conditions of the green house which led to increase all growth criteria of the tomato plant as presents of fresh and dry weight, length of the vegetative, root groups and number of the flowers in Inflorescences compared with the treatment of fungus pathogen alone . We can conclude that uses of combination between synergistic biocontrol agents with each others can be considered important strategic to control of tomato rot root disease which caused by *F. solani*.

Keywords: combination. *Bacillus thuringiensis*. *Bacillus subtilis*. *Fusarium solani*. root rot of tomato.