AUCES

فعالية المكافحة الحيوية للبكتيريا *Bacillus subtilis* ضد الفطريات *Fusarium oxysporum* في المختبر والمشتل *f. sp. lycopersici, F.solani, Rizhoctonia solani*

محمد علي محمد السنيدي

قسم الاحياء – كلية التربية/ صبر – جامعة عدن

yahoo.com@alsunaidi_m

الملخص العربي :

نفذت الدراسة في مختبر وصوبة قسم علو الحياة في جامعة عدن – اليمن في الفترة من اكتوبر الى ديسمبر ٢٠١٧م. حيث تعتبر *الفطريات* ***Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, F.solani, Rizhoctonia solani*** من الكائنات المسببة لمرض الذبول الفيوزاريومي للطماطم **Lycopersicon esculentum Mill**. وقد تم اختبار بكتيريا ***Bacillus subtilis*** كعامل مكافحة حيوية لمعرفة فعاليتها ضد هذه الفطريات في المختبر من خلال منطقة التثبيط والقدرة على التثبيط كنسبة مئوية. وأظهرت نتيجة التحليل المختبري انها كانت فعالة ضد الفطر **F. solani** يليه الفطر ***Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*** ثم الفطر ***Rizhoctonia solani*** بنسبة تثبيط وصلت الى ٩٤.٩٥، ٩٢.٠٠، ٧٧.١٤% على التوالي ووجدت فروق معنوية عالية عند (p=0.05) مقارنة بالشاهد. وعند اختبار انبات بذور الطماطم المعالجة بهذه البكتيريا في الصوبة وجد أن النسبة المئوية الاعلى لإنبات البذور التي تعرضت للفطر **F. solani** قد وصلت إلى ٨٥% تليها البذور التي تعرضت للفطر **lycopersici** ***Fusarium oxysporum f. sp.*** حيث وصلت إلى ٧٥% ثم البذور التي تعرضت للفطر ***Rizhoctonia solani*** (٥٥%) بينما لم تتجاوز البذور المنبتة في الشاهد ٢٠%. اما مؤشرات النمو (طول الجزء الهوائي، وطول الجذور) فقد اظهرت المعالجات بالبكتيريا **B. subtilis** ضد فطريات الذبول فعالية عالية ووجدت فروق احصائية معنوية جدا عند ٠.٠٥% بين المعاملات المختلفة مع بعضها وبين المعاملات المختلفة من جهة والشاهد من الجهة الاخرى وكان التأثير الاعلى ضد الفطر **F. solani** حيث وصل طول الجزء الخضري وطول الجذور الى (١.٤٥±٣٨.٥٠ ملم) و(١.٥±٣٠.٤٥ ملم) على التوالي مقارنة بالشاهد الذي كان (١.٦٥±٢٢.٣٥ ملم) و(١.٤٥±١٨.٣٥ ملم) على التوالي. هذه النتيجة أوضحت أن البكتيريا ***B. subtilis*** هي عوامل فعالة ينبغي تسخيرها لمزيد من تطبيقات المكافحة الحيوية.

الكلمات المفتاحية: *Bacillus subtilis, Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Rizhoctonia solani,* المكافحة الحيوية، الطماطم.

المقدمة

يوجد عدد كبير من مسببات الأمراض التي تنقلها التربة وتصيب الكثير من المحاصيل وتسبب لها أضرارا كبيرة (**Babalola and Glick, 2012**). ومن أهمها الذبول الفيوزاريومي. الذي يعتبر مرضاً مدمرًا لنباتات الطماطم ويتسبب في الكثير من الخسائر للمزارعين في جميع أنحاء العالم. تبدأ الأعراض كاصفرار تدريجي والذبول للأوراق السفلية (**Khan and Khan, 2002**) وينجم ذلك عن نمو الكونيديات الصغيرة **Microconidia** في الخلايا الداخلية للخشب في الجذر والساق وبالتالي فشل الخشب المصاب في توصيل المتطلبات من الماء الى النبات وفي الآخر موت النبات يكون امر لا مفر منه (**Burgess *et al.*, 2008**). ويتم تحرر الأبواغ الكونيدية **Conidia** في الأنسجة المحيطة عندما يموت النبات. وهذه الابواغ تشكل في وقت لاحق الابواغ الكلاميدوية **Chlamydospores** التي تنتقل الى التربة (**Jones, 2000**). ويمكن أن

تبقى هذه الابواغ في التربة لمدة تصل إلى ٣٠ سنة حتى تتوفر ظروف مواتية وتنتشر مرة اخرى وتصيب نباتات جديدة (Thangavelu *et al.*,2004).

يتم اليوم استخدام العديد من الكائنات الحية الدقيقة في السيطرة على آفات وامراض الطماطم (Babalola a,b,c.,2010). واشتملت حاليا عوامل المكافحة ضد مرض الطماطم *Trichoderma*، و*Pseudomonas*، وانواع من *Bacillus*. وهي عوامل مكافحة حيوية مهمة جدا في إدارة الآفات والأمراض النباتية (Jacobsen *et al.*, 2004). الأنواع مختلفة من Bacillus وPaenibacillus تساعد على تعزيز صحة المحاصيل والسيطرة على الأمراض بواسطة إنتاج الايضيات كمضادات حيوية لقمع مسببات الأمراض النباتية، والبعض الآخر يكون معادي لمسببات الأمراض النباتية من خلال التنافس على المواد الغذائية مثل الحديد والفوسفات، والبعض منها قد يشكل تأثير غير مباشر من خلال إصلاح النيتروجين والذي يجعله متاح للنباتات الامر الذي يساعد على امتصاصها ويحفزها ويجعلها مقاومة لمسببات الامراض (Gardener, 2004).

حاليا تستخدم المكافحة الحيوية على نطاق تجاري حيث توجد العديد من الشركات التي تنتج هذه الكائنات الدقيقة لكي تستعمل كمبيدات حيوية لمكافحة عدد لا باس به من الكائنات الدقيقة الممرضة للنبات وقد اثبتت فعالية رائعة. لذلك فان عنصر المكافحة البيولوجية يدخل ضمن التصميم الرئيسي عند وضع استراتيجيات مكافحة الأمراض النباتية التي تسببها الميكروبات. ومن ضمن هذه المنتجات الحالية التي تستعمل كعوامل في السيطرة pseudomonad *Bacillus sp.* التي يتم تسويقها عالميًا كبدائل للمبيدات الكيميائية أو كمكون من مكونات برامج الإدارة المتكاملة للآفات (Schisler et al., 2004). وقد وجد انها تحد بشكل فعال من مرض النبات في الذبول الفيوزاريومي في الطماطم (Manikandan *et al.*, 2010)، والذبول الفيوزاريومي في الموز (Selvaraj *et al.*, 2014)، وفي القطن (Ardakani *et al.*,2010; Samavat *et al.*, 2014)، ومرض الدراق القذر في الأرز(Prathuangwong *et al.*, 2013) . سلالتان من بكتيريا B. pumilus هما (6-203 و 7-203) وواحدة من B. mycoides (Strain Bac J) كانوا قادرين على الحد من انتشار الفطر Cercospora beticola Sacc الذي يسبب مرض تبقع الأوراق السركسبوري Cercospora Leaf Spot على بنجر السكر. (Bargabus *et al.*, 2002؛ Bargabus *et al.*, 2004; Kloepper *et al.*, 2004). وفي دراسة لوحظ إزدياد نمو نبتات الموز نتيجة استعمال B. pumilus ENF24 كعلاجات ضد الذبول الفيوزاريومي للموز الناجم عن الفطر *Fusarium* oxysporum f. sp. Cubense (Figueiredo *et al.*, 2010). وكانت البكتيريا B. cereus فعالة في قمع امراض البرسيم، وتعزيز ظهور الشتلات، كما ادت الى زيادة العقيدات في الفاصوليا الشائع *Phaseolus vulgaris* (Camacho et al., 2001; Figueiredo *et al.* 2010). ووجد ان البكتيريا B. Megaterium كان لها تأثير في زيادة مؤشرات النمو في الجذور والتي تشمل الطول ومحتوى المادة الجافة (Kaymak *et al.*, 2008).

ويسعى هذا البحث إلى توضيح قدرات المكافحة الحيوية من خلال استخدام البكتيريا العصوية ***Bacillus subtilis*** ضد ثلاثة انواع من الفطريات التي تصيب الطماطم ***F. oxysporum*** f. sp. ***lycopersici***, هي **F.solani, Rizhoctonia solani.**

مواد البحث وطرائقه

تحضير اللقاح

تم الحصول على ***B.subtilis*** من شركة International Panaacea Ltd الهندية، وتم تحضير المعلق من خلال اضافة ٥ مليجرام من اللقاح الى ٩٥ مل من الماء المقطر المعقم ووضعه على جهاز الدوار المغناطيسي على سرعة ٤٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٠ دقائق ثم التخفيف الى ١٠٧ و تكرار وضع المعلق على نفس الجهاز ينفس السرعة ٤٠٠ دورة في الدقيقة لنفس المدة. خذت ١ مل من المعلق ***B. subtilis*** ووجد ان التركيز كان يحتوي على ٦ × ١٠٧ مل/ وحدات تشكيل المستعمرات (8 × 107cfu / ml) وإستخدم كمقاومة للمسببات المرضية في المختبر.

تحضير الفطريات المسببة للأمراض

لقد جمعت شتلات الطماطم المصابة بأمراض الذبول من مناطق مختلفة (الفيوش، المناصرة، الهجل، الوهط) في مديرية تبن – محافظة لحج (اليمن). واخذت اولا الجذور المصابة بالذبول الفيوزاريومي وتم تقطيعها الى اجزاء صغير بطول ١-٢ سم وتم تطهيرها سطحيا باستخدام الايثانول ٧٠% لمدة دقيقة ثمت غسلها بالماء العادي ثم الماء المقطر ووضعها على بيئة أجار دكستروز البطاطس Potato Dextrose Agar (PDA) حضنت الاطباق على درجة الحرارة ٢٨± ٢°م لمدة سبعة ايام للحصول على مستعمرة من الفطر ***Fusarium oxysporum*** f. sp. ***lycopersici*** بعد ذلك تم عملية التنقية من خلال اعادة زراعة هيفا طرفية من المستعمرة. كررت نفس طريقة العزل مع الفطر **F.solani** والفطر المسبب لمرض ذبول البادرات **R.solani** (Adebayo and Ekpo., 2005).

اختبار تأثير البكتيريا العصوية *Bacillus subtilis* ضد نمو الفطريات *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, F.solani, R.solani* في المختبر

نفذت تجارب تقييم فعالية البكتيريا العصوية **Bacillus subtilis** في المختبر. فقد عقمت أطباق بتري الزجاجية ٩٠ x ٢٠ ملم. وصب البيئات الغذائية أجار دكستروز البطاطس Potato Dextrose Agar (PDA) بمعدل ١٥ مل بيئة / طبق. وبعد تصلبها وضع قرص من الكائن الممرض بقطر ٥ ملم من المستعمرة التي تم تنقيتها (تم اخذها من المستعمرة الفطرية المحضرة من قبل) وضعت في مركز الطبق. ثم أضيف خمسة مل من المعلق ***B.subtilis*** الذي كان يحتوي على ٦ × ١٠٧ مل/ وحدات تشكيل المستعمرات (8 × 107 (cfu / ml إلى البيئات الغذائية أجار دكستروز البطاطس Potato Dextrose Agar (PDA). اما الشاهد فقد اضيف اليه الماء المقطر بمعدل ٥ مل، كررت كل معاملة اربعة مرات لكل نوع من الفطريات (معاملة) واربعة مكررات للشاهد. رقمت الاطباق وكتب عليها تاريخ التحضين واسم الفطر ورقم المكرر وحضنت تحت درجة حرارة ٢٨±٢°م. لمدة ٥ ايام. (٥، ٨). قيست اقطار المستعمرات الفطرية، وحسبت النسبة المئوية للتثبيط.

النسبة المئوية للتثبيط = ق ش – ق م / ق ش x ١٠٠ (Pandey *et al.*,1982)

ق. ش = قطر الشاهد

ق. م = قطر المعالجة

اختبار تأثير البكتيريا العصوية *Bacillus subtilis* **في حماية بذور ونمو بادرات الطماطم من الفطريات** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici, F.solani, R.solani* **في المشتل**

عقمت التربة في الفرن على درجة حرارة ١٨٠ درجة مئوية لمدة ٣ ساعات لمدة ثلاثة أيام متتالية ووزعت التربة المعقمة على الأصص بمعدل ٥٠٠ جم/ أصيص. أجريت العدوى الصناعية عن طريق إضافة المعلق للفطريات الممرضة ***Fusarium oxysporum*** **f. sp.** ***lycopersici,*** **F.solani, R.solani** إلى التربة المعقمة بمعدل ٢٠ مل/ أصيص عوملت بذور الطماطم بالمعلق البكتيري **Bacillus subtilis**، ماعدا بذور الشاهد. زرعت بذور الطماطم الصنف ***Lycopersicon esculentum*** بمعدل 20 بذرة/ أصيص. كررت كل معاملة اربع مرات. حسبت عدد البذور المنبتة، والنسبة المئوية للإنبات، طول الجزء الهوائي، وطول الجذر.

% النسبة المئوية للإصابة = ب م / ب. ك x ١٠٠ (Siddiqui et al.,2002)

ب. م = البذور المنبتة

ب. ك = البذور الكلية

التحليل الإحصائي

أجريت جميع التحليلات الاحصائية في هذه الدراسة باستخدام برنامج Genstat 5 وأجريت التجارب باستخدام التصميم العشوائي الكامل حيث ان لكل معاملة اربعة مكررات وعرضت البيانات المتحصل عليها لتحليل التباين (ANOVA) ولقد تم اختبار جميع الفروق بين جميع المتوسطات الداخلة في هذه الدراسة من البيانات المتحصل عليها باستخدام اقل الاختلافات المعنوية Least significant difference (LSD).

النتائج والمناقشة

فعالية البكتيريا *Bacillus subtilis* **في المختبر**

أظهرت التجارب التي أجريناها فعالية عالية للبكتيريا العصوية **Bacillus subtilis** المضادة للفطريات الممرضة بشكل ملحوظ وهذا حال دون نمو الفطريات الممرضة ***Fusarium oxysporum*** **f. sp.** ***lycopersici,*** **F.solani, R.solani** ولكن كل بشكل متفاوت. حيث عملت على تثبيط نمو ميسيليوم الفطريات الممرضة والنتائج التي تم الحصول عليها مبينة في الجدول (١). وهذا يتفق مع نتائج كل من (Adebayo and Ekpo, 2005; Ajilogba *et al.*, 2013). ويعود النشاط المثبط للبكتيريا **B.subtilis** الى ان هذه البكتيريا لديها مجموعة واسعة من مضادات الميكروبات (Grover *et al.*, 2009). كما اشار (Swain and Ray., 2009) الى ان البكتيريا ***B. subtilis*** استطاعت تثبيط ميسيليوم الفطر ***F. oxysporum*** بنسبة تراوحت بين (٢٥-٣٤%) في المختبر. كما منعت نمو ميسيليوم الفطر ***R. solanacearum*** (Almoneafy *et al.*, 2012). واستطاعت سلالتان من بكتيريا B. subtilis هما (FZB24 وFZB37) تثبيط نمو ميسليوم الفطريات ***F. oxysporum, R. solani, Sclerotinia Sclerotiosum*** في الدراسة التي اجراها Schmledeknecht *et al.*, 2001 وهذا مماثل تماما للنتيجة في هذا البحث. واوضح عدد من الباحثين الى ان البكتيريا ***B. subtilis*** مضادة لمسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة وكانت أكثر فعالية في المختبر(Chérif *et al.*, 2002).

جدول (١)

فعالية البكتيريا العصوية *Bacillus subtilis* ضد نمو الفطريات الممرضة *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici, F.solani, R.solani* في المختبر

ر. م	الفطر الممرض	قطر المستعمرة (ملم)	% للتثبيط
١.	*F.solani*	٤.٨٠^{a}	٩٤.٩٥
٢.	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*	٧.١٠^{b}	٩٢.٠٠
٣.	*R.solani*	٢٠.٣٠^{c}	٧٧.١٤
٤.	الشاهد	٨٨.٨٠^{d}	١٠٠.٠٠
	L.S.D	٠.١٦٨٦	

الأرقام الموجودة في نفس العمود التي تحمل حروف مختلفة تدل على وجود فروق إحصائية معنوية عند مستوى ٥% L.S.D.

جدول (٢)

اختبار تأثير البكتيريا *Bacillus subtilis* في حماية بذور ونمو نباتات الطماطم من الفطريات *F.oxysporum* f. sp. *lycopersici, F.solani, R.solani* في المشتل

الفطر الممرض	انبات البذور		نمو البادرات	
	عدد البذور المنبتة	% للإنبات	طول الجزء الهوائي (ملم)	طول الجذر (ملم)
F.solani	١٧^{a}	٨٥	٣٨.٥٠± ١.٤٥^{a}	٣٠.٤٥± ١.٥٥ ^{a}
Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici*	١٥^{b}	٧٥	٣٧.٢٠± ١.٠٥ ^{b}	٢٨.٣٥± ١.٩٥^{b}
R.solani	١١^{c}	٥٥	٢٦.٢٥± ١.٤٠ ^{c}	٢٠.٤٥± ١.٢٥^{c}
الشاهد	٤^{d}	٢٠	٢٢.٣٥± ١.٦٥ ^{d}	١٨.٣٥± ١.٤٥^{d}
L.S.D	١.٢٥٠		٠.٣٤٣٥	٠.٤٥٤٩

الأرقام الموجودة في نفس العمود التي تحمل حروف مختلفة تدل على وجود فروق إحصائية معنوية عند مستوى 5% L.S.D.

اوضحت النتائج ان بكتيريا *B. subtilis* كان لها تأثير على فطريات الذبول المختلفة مقارنة مع الشاهد فقد تبين ان الفعالية كانت عالية على الفطرين F.solani و *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* وبدرجة اقل على الفطر *R.solani* من خلال مؤشرات الانبات فقد كانت الاصابة للبذور المعالجة ١٥% بفطر *F.solani* وكانت الاصابة للبذور بفطر *R.solani* ٤٥% بينما وصلت الى ٨٠% في الشاهد. اما بالنسبة للنمو فقد لوحظ ان نمو البادرات التي عولجت بذورها بالبكتيريا *B. subtilis* وتعرضت للفطر الممرضة *F.solani Fusarium, oxysporum* f. sp. *lycopersici,* R.solani كان طول الجزء الهوائي اعلى ب ٧٢.٣، ٦٦.٤، ١٧.٥% على التوالي مقارنة بالشاهد، واما طول الجذر فقد كان اعلى ب ٦٨.٧، ٥٤.٥، ١١.٤%على التوالي مقارنة بالشاهد كما يلاحظ ذلك من خلال الجدول (٢). واظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين المعاملات.

وفقا ل (Singh *et al.*, 2008)، فان البذور المعالجة ب *B. subtilis* BN1 كان أنباتها في وقت مبكر. كما وجد ان *Bacillus spp* معروفة بانها تحد من مؤشر الذبول *F. oxysporum* وزيادة نمو النبات والنمو السريع لأنسجة نباتات الطماطم من خلال تحفيز المقاومة النظامية ضد الفطر *F. oxysporum* (Kloepper *et al.*, 2004). وفي بحث اخر خفضت العلاجات المختلفة بالبكتيريا *Bacillus spp* حدوث المرض وعززت معايير النمو مقارنة بالشاهد في الصوبة. كانت جميعها فعالة في زيادة نمو نباتات الطماطم مما أدى إلى زيادة في الوزن الجاف لكل من الجزء الهوائي و الجذور للبادرات مقارنة مع الشاهد (Gardener, 2004). وفي دراسة اخرى اظهرت المكافحة الحيوية باستخدام البكتيريا *Bacillus spp* ضد الفطر *Colletotrichu acutatum* على الفلفل تحسن في نمو الجزء الهوائي وطول الجذور وكذلك زيادة في الكتلة الحيوية الطازجة والمادة الجافة الكلية. كما

عملت البكتيريا *B. subtilis* على تثبيط نمو الفطر *C. acutatum* بنسبة ٦٠% وادت الى زيادة في وزن ثمار الفلفل في البيوت الزجاجية (Lamsal *et al.*, 2012). وتوصل Schmledeknecht *et al.*, 2001 الى انه تم خفض الإصابة بمرض الذبول الفيوزاريومي الذي يسببه الفطر *F. oxysporum* بشكل ملحوظ بنسبة وصلت إلى ٥٠ ٪ حيث ادى الى ارتفاع النبات (زيادة طول الجذر والجزء الهوائي) وزيادة الوزن الطازج بشكل ملحوظ مقارنة مع الشاهد في المشتل. ولكن ليس بالضرورة دائما ان تكون النتيجة في المختبر لها نفس التأثير في الصوبة او الحقل بمعنى أن الأنشطة المضادة للفطريات في المختبر لا ترتبط دائما مع الحد من الأمراض في المختبر. كما بينت مجموعة من الاوراق العلمية ان البكتيريا *Bacillus spp* الموجودة في منطقة محيط الجذور Rhizosphere للنبات كانت فعالة ضد مجموعة متنوعة من مسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة. وكانت قادرة على إستخدام آليات متنوعة مضادة لهذه المسببات (Choudhary and Johri., 2009; Kloepper *et al.*, 2009).

الاستنتاج

يبين هذا البحث أن البكتيريا *B. subtilis* مهمة جدا وفعالة كعامل مكافحة حيوية. كما لوحظت فعاليتها في قدرتها على تشجيع النمو في النباتات. وهي من الطرق الامنة بيئيا وصحيا. لذلك يجب ان تستمر الابحاث للوصول إلى عوامل المكافحة الميكروبية الفعالة والصديقة للإنسان والكائنات الحية النافعة للبيئة.

المراجع

1. Adebayo O. S., Ekpo E. J. A., (2005) Efficiency of fungal and bacterial biocontrol organisms for the control of *fusarium* wilt of tomato - *NJHS,* 9: 63-68.
2. Ajilogba C. F., Babalola O. O., Ahmad. F.,(2013)- Antagonistic Effects of *Bacillus* Species in Biocontrol of Tomato *Fusarium* Wilt- Ethno Med, 7(3): 205-216.
3. Almoneafy. A. A., Xie. G. L., Tian. W. X., Xu. L. H., Zhang. G.Q., Ibrahim. M., (2012) Characterization and evaluation of Bacillus isolates for their potential plant growth and biocontrol activities against tomato bacterial wilt. *Afr J Biotechnol,* 11: 7193-7201.
4. Ardakani S. S., Heydari A., Khorasani. N., and Arjmandi. R., (2010) Development of new bioformulations of *Pseudomonas fluorescens* and evaluation of these products against damping-off of cotton seedlings. *J. Plant Pathol.* 92:83-88.
5. Babalola O. O., (2010a) Improved mycoherbicidal activity of *Fusarium arthrosporioides*. *African Journal of Microbiology Research,* 4(15): 1659-1662.
6. Babalola O. O., (2010b) Exogenous cellulase contributes to mycoherbicidal activity of *Fusarium arthrosporioides* on *Orobanche aegyptiaca. International Journal of Agronomy* Article ID 963259, 4 pages doi:10.1155/ 2010/963259.
7. Babalola O. O., (2010c) Pectinolytic and cellulolytic enzymes enhance *Fusarium compactum* virulence on tubercles infection of Egyptian broomrape. *International Journal of Microbiology.* Article ID 273264, 7 pages doi:10.1155/2010/273264.
8. Babalola O. O., Glick B. R., (2012) Indigenous African agriculture and plant associated microbes: current practice and future transgenic prospects. *Sci Res Essays,* 7: 2431- 2439.
9. Bargabus R. L., Zidack N. K., Sherwood J. W., Jacobsen B. J., (2002) Characterization of systemic resistance in sugar beet elicited by a non-pathogenic, phyllosphere-colonizing Bacillus mycoides, biological control agent. *Physiol Mol Plant Pathol,* 61: 289-298.
10. Bargabus R. L., Zidack N. K., Sherwood J. W., Jacobsen B. J., (2004) Screening

for the identification of potential biological control agents that induce systemic acquired resistance in sugar beet- *Biol Control,* 30: 342-350.

11. Burgess L. W., Knight T. E., Tesoriero L., Phan H.T., (2008)- *Diagnostic Manual for Plant Diseases in Vietnam*. ACIAR.

12. Camacho M., Santamaria C., Temprano F., Daza A., (2001)- Coinoculation with *Bacillus sp*. CECT 450 improves nodulation in Phaseolus vulgaris *L. Can J Microbiol,* 47: 1058-1062.

13. Chérif M., Sadû N., Benhamou N., oudabbous A., Boubaker A., Hajlaoui M. R., Tirilly Y., (2002)- Ultrastructure and cytochemistry of *in vitro* interactions of the antagonistic bacteria *Bacillus cereus* X16 and *Bacillus thuringiensis* 55T with *Fusarium roseum* var. *sambucinum*- *J Plant Pathol,* 84: 83–93.

14. Choudhary D. K., Johri. B.N., (2009)- Interactions of *Bacillus* sp. and plants–With special reference to induced systemic resistance (ISR)- *Microbiol Res,* 164: 493-513

15. Figueiredo M. V. B., Seldin L., de Araujo F. F., Mariano R. d. L. R., (2010) *Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications.* In: DK Maheshwari (Ed.): *Plant Growth and Health Promoting Bacteria- Microbiology Monographs.* Berlin Heidelberg: ANTAGONISTIC EFFECTS OF *BACILLUS* SPECIES IN BIOCONTROL OF TOMATO *FUSARIUM* WILT 215 Springer-Verlag, 18, DOI 10.1007/978-3-642-13612- 2_2. control 18 and its antibiotic defective mutants. *World J Microbiol Biotechnol,* 25: 1329- 1335.

16. Gardener B. B. M., (2004)- Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* sp in agricultural systems. *Phytopathol,* 94: 1252-1258.

17. Grover M., Nain L., Saxena A. K., (2009)- Comparison between *Bacillus subtilis* RP24 agents in integrated pest management systems: Plant diseases. In: Symposium- The nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* sp. *Phytopathol,* 94: 1272-1275.

18. Jacobsen B. J., Zidack N. K., Larson B. J., (2004)- The role of *Bacillus*-based biological control agents in integrated pest management systems: Plant diseases. In: Symposium- The nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* sp. *Phytopathol,* 94: 1272-1275.

19. Jones D. R., (2000)- History of banana breeding. In: D Jones (Ed.): *Diseases of Banana, Abaca And Enset.* Wallingford, UK: CAB International, pp. 425-449.

20. Kaymak H. C., Yarali F., Guvenc I., Donmez M. F., (2008)- The effect of inoculation with plant growth Rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Mentha piperita* L) Cuttings. *Afr J Biotechnol,* 7: 4479-4483.

21. Khan M. R., Khan S. M., (2002)- Effects of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato *Bioresource Technol,* 85: 213-215.

22. Kloepper J. W., Ryu C. M., Zhang S., (2009)- Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. *Phytopathol,* 94: 1259-1266.

23. Lamsal K., Kim S. W., Kim Y. S., Lee Y. S., (2012)- Application of rhizobacteria for plant growth promotion effect and biocontrol of Anthracnose caused by Colletotrichum acutatum on pepper. *Mycobiol,* 40: 244–251.

24. Manikandan R., Saravanakumar D., Rajendran L., Raguchander T., Samiyappan R., (2010)- Standardization of liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* Pf1 for its efficacy against *Fusarium* wilt of tomato. *Biol. Control,* 54:83-89.

25. Pandey D. K., Tripathi N. N., Tripathi R. O., Dixit S. N., (1982) - Fungitoxic and Phytotoxic properties of essential oil of Phylis sauvolensis- Pfkrankh. Pfschutz. 89: 344-346.

26. Prathuangwong. S., Athinuwat D., Chuaboon W., Chatnaparat T., Buensanteai N., (2013)- Bioformulation *Pseudomonas fluorescens* SP007s against dirty panicle disease of rice. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7:5274-5283.

27. Samavat. S., Heydari A., Zamanizadeh H. R., Rezaee S., Aliabadi A. A., (2014)- Application of new bioformulations of *Pseudomonas aureofaciens* for biocontrol of cotton seedling damping-off- *J. Plant Prot. Res.* 54:334-339.

28. Schisler. D. A., Slininger P. J., Behle R. W., Jackson M. A., (2004)- Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of

plant diseases- *Phytopathology* 94:1267-1271.

29. Schmledeknecht. G., Issoufou. I., H. junge., Bochow H., (2001)- Use of Bacillus subtilis as biocontrol agent V biological control of diseases on maize and Sunflowers- *J Plant Dis Protect,* 108: 500-512.

30. Selvaraj. S., Ganeshamoorthi P., Anand T., Raguchander T., Seenivasan N., Samiyappan R., (2014)- Evaluation of a liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* against *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* and *Helicotylenchus multicinctus* in banana plantation- *BioControl* 59:345-355.

31. Siddiqui, Z. A., and Mahmood I., (2002)- Biological control of Meloidogyne incognita race 3 and *Macrophomina phaseolina* by *Paecilomyces lilacinus* and *Bacillus subtilis* alone and in combination in chickpea. Fund. Appl. Nematol., 16: 215– 218

32. Singh. N., Pandey P., Dubey R.C., Maheshwar D. K., (2008)- Biological control of root rot fungus Macrophomina phaseolina and growth enhancement of Pinus roxburghii (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1- *World J Microbiol Biotechnol,* 24: 1669-1679.

33. Swain M. R., Ray R. C., (2009)- Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus subtilis* isolated from cowdung microflora. *Microbiol Res,* 164: 121-130.

34. Thangavelu. R., Palaniswani A., Velazhahan R., (2004)- Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing *Fusarium* wilt of banana. *Agric Ecosyst Environ,* 103: 259-263.

EFFECTIVENESS OF BIOLOGICAL CONTROL BY *BACILLUS SUBTILIS* AGAINST THE PLANT PATHOGENIC FUNGI *FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. LYCOPERSICI, F.SOLANI, RIZHOCTONIA SOLANI IN VITRO* AND NURSERY

Mohammed Ali Mohammed Al-Sunaidi

Department of Biology-Faculty of Education/Saber-University of Aden

m_alsunaidi@yahoo.com

ABSTRACT:

The study was carried out in the Laboratory and Nursery of Biology Department at the University of Aden - Yemen during October - December 2017. *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, F. solani, Rizhoctonia solani.* The organisms that cause fusarium disease for tomatoes *Lycopersicon esculentum* Mill. *Bacillus subtilis* has been tested as a vital control agent for its effectiveness against these fungi in vitro through inhibition of mycelial growth. Result of laboratory experiments showed that it was effective against the fungus *F. solani* followed by *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* followed by *Rizhoctonia solani* with an inhibition ratio of 94.95%, 92.00% and 77.14%, respectively, and significant differences were found at (p = 0.05) compared to the control. When tested for germination of tomato seeds treated with these bacteria in the greenhouse, it was found that the highest percentage of germination of seeds that fell prey to *F. solani* had reached 85% followed by the seeds that were exposed to the fungus *Fusarium oxysporum f. sp.* lycopersici (75%), *Rizhoctonia solani* (55%), and untreated seeds (20%). The growth parameters (length of the air segment and length of the roots) showed the treatment of *B. subtilis* bacteria against high fungus fungi and found significant statistical differences at 0.05% between the different transactions with each other and the different treatments on one hand and the other side and the highest impact against *F. solani*, where the length of the green portion and length of the roots reached 1.45 ± 38.50 mm and 51.5 ± 30.45 mm respectively compared to 1.65 ± 22.35 mm and 1.45 ± 18.35 mm respectively. This result showed that B. subtilis bacteria are vital agents that should be harnessed for more biological control applications.

Keywords: ***Bacillus subtilis, Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Rizhoctonia solani, Biological control, Tomato***