فعالية المكافحة الحيوية للسيطرة على مسببات أمراض البصل في المختبر والمشتل

محمد علي محمد السنيدي* ومحمود أحمد سالم الميسري**

*قسم الأحياء، كلية التربية - عدن، جامعة عدن

**قسم الأحياء، كلية التربية - زنجبار، جامعة أبين

m_alsunaidi@yahoo.com

DOI: https://doi.org/10.47372/uajnas.2020.n1.a01

الملخص

نفذت الدراسة في المختبر في المدة من يوليو - اغسطس وفي المشتل في المدة من سبتمبر إلى ديسمبر 2018 م في قسم الاحياء كلية التربية/ صبر في جامعة عدن - اليمن. وقُيِمت فعالية العوامل الحيوية البكتيريا العصوية *Bacillus subtilis* وفطر التريكوديرما *Trichoderma viride* على الفطريات الممرضة التي تصيب البصل في مناطق السهل الساحلي الجنوبي في اليمن وهي *peronospora destructor*، *Leveillula taurica*، *Sclortium cepivorum*، *Botrytis allii*، *Alternaria porri* في المختبر. وأثبتت العوامل الحيوية قدرتها على تثبيط مسببات الأمراض تحت ظروف المختبر. وأعطت العوامل الحيوية فعالية عالية مقارنة بالشاهد وكانت أعلى فعالية للبكتيريا العصوية *B. subtilis* ضد الفطر الممرض *peronospora destructor*، حيث وصلت نسبة التثبيط إلى 87.5%. بينما أدنى فعالية كانت للفطر المضاد *T. viride* ضد الفطر الممرض *Botrytis allii* حيث لم يتجاوز 64.08%. أما حماية بذور البصل من إصابتها بهذه الفطريات الممرضة تحت ظروف المشتل فقد أعطت البكتيريا *B. subtilis* والفطر *T. viride* أعلى تأثير ضد الفطر الممرض *P. destructor* حيث وصلت نسبة الانبات للبذور لكل منهما الى 95% وكذلك البكتيريا *B. subtilis* ضد الفطر الممرض *S. cepivorum*، فقد وصلت نسبة الإنبات ايضًا الى 95%. وعند نمو البادرات أظهرت الفطريات المضاد فعالية عالية فقد استطاعت هذه الكائنات حماية المجموع الخضري الجذري من الفطريات الممرضة مقارنة بالشاهد. وكانت الفعالية العالية للبكتيريا العصوية *B. subtilis* لحماية المجموع الخضري الجذري ضد الفطر الممرض *P. destructor*، بينما كان الكائن المضاد *B. subtilis* اقل فعالية ضد الفطر المرض *S. cepivorum*.

الكلمات المفتاحية: المكافحة الحيوية، *Bacillus subtilis*، *Trichoderma viride*، أمراض البصل.

المقدمة

يعد البصل *Allium cepa* L من محاصيل الخضروات المهمة جدًا من الناحية الاقتصادية و التصديرية في اليمن، وتتعرض نباتات البصل لمسببات مرضية عديدة تؤدي إلى خسارة كبيرة في المحصول كمًا ونوعاً. وتُعَد أمراض البياض الزغبى والبياض الدقيقي والعفن الأبيض وعفن الرقبة واللطعة الأرجوانية التي تسببها فطريات *p. destructor*، *L. taurica*، *S. cepivorum*، *B. allii*، *A. porri* على التوالي، من أهم الأمراض التي تصيب البصل في مناطق السهل الجنوبي من اليمن، ويتم مكافحة هذه الأمراض بشكل أساسي عن طريق المبيدات الفطريات الكيميائية مثل المانكوزيب، والكبريت القابل للبلل، والبراسيكول والدايثين م- 45 وعدد اخر من المبيدات الفطرية[4]. إلا أنه بسبب المخاوف من المخاطر الصحية والبيئية وكذلك إمكانية تطوير مقاومتها ضد معظم مبيدات الفطريات الموصى بها ومن أجل التغلب على استراتيجيات المكافحة الخطرة باستعمال المبيدات الكيميائية، ركز العلماء والباحثون من جميع أنحاء العالم الاهتمام نحو تطوير طرائق بديلة تكون آمنة للبيئة، وغير سامة للبشر والحيوانات، وتكون قابلة للتحلل بسرعة، وقدٌوجِد أن وأحدة من هذه الاستراتيجيات استعمال العوامل الحيوية (الكائنات المضادة) للسيطرة على الفطريات المسببة للأمراض النباتية. وقد أُثبتت أنواع من الفطر الترايكوديرما *Trichoderma* بأنها واعدة وفعالة كعوامل مكافحة حيوية،

حيث كانت الترايكوديرما *Trichoderma* خصم شرس في السيطرة على مجموعة واسعة من الميكروبات الممرضة للنبات [13]. وفي دراسة ميدانية أجريت في ظل الظروف البيئية الطبيعية على نباتات البصل *Allium cepa* L. في المزرعة التجريبية لمعهد الدراسات والبحوث البيئية، جامعة مدينة السادات، محافظة المنوفية، مصر، لفصلين متتاليين 2013/ 2014م و2014/ 2015م بتطبيق بعض المبيدات الحيوية، في جرعات معينة، في إطار التجارب الميدانية للسيطرة على الفطر الذي يسبب البياض الدقيقي على البصل وتقييم فعاليتها في إنتاجية بصلات البصل باستخدام البكتيريا العصوية *Bacillus megaterium* بتركيز 2.5 x 10^7 وحدات تشكيل مستعمرات/ مل والبكتيريا العصوية *B. subtilis* بتركيز 3 x 10^6 وحدات تشكيل مستعمرات/ مل. كما أثبتت فطريات التريكوديرما *Trichoderma album* بتركيز 10^7 جرثومة/ جم، والتريكوديرما *Trichoderma spp* بتركيز 3 x 10^6، والتريكوديرما *Trichoderma harzianum* بتركيز 3 x 10^6، فعالية في التقليل من شدة المرض مقارنة بمعاملة الشاهد[25]. وفي دراسة اخرى تم التأكد من فعالية المضادات الفطرية في حماية البصل من مرض تعفن الرقبة الناجم عن الفطر *Botrytis aclada*. حيث عولجت جروح الأوراق التي حدثت بالبصل في أثناء الحصاد، التي تعدً مواقع مهمة لدخول الفطر *B. aclada*، بمعلقات كونيدية من الفطر *Trichoderma viride* بتركيز 5× 10^7 كونيدة/ مل. ووُجد أنها قللت من حدوث تعفن الرقبة أثناء الحصاد، الذي تم تقييمه بعد تخزين البصل لمدة ثلاثة أشهر عند 9 درجات مئوية، من 35 ٪ إلى 24 ٪ في عام 1989 ومن 28٪ إلى 18٪ في عام 1990[21].

وفي دراسة لتقييم ما مجموعة 186 سلالة بكتيرية معزولة من مصادر التربة وأنواع نباتية مختلفة من منطقة الأناضول الشرقية في تركيا من حيث قدرتها على تثبيط الفطر*Botrytis cinerea* الذي يسبب مرض العفن الرمادي على الفراولة، وُجِد أنه من بين 186 سلالة بكتيرية، وأن 36 منها فعالة حيث منعت تطور نمو الفطر *B. cinerea* تحت ظروف المختبر، كما وجد أن ثلاثة عشر سلالة منها لها مساحة تثبيط أكبر كعامل مكافحة حيوية. ومن الأنواع التي تم تحديد سلالاتها المعادية *Bacillus lentimorbus* و*B. megaterium* و *B. pumilis* و*B. subtilis* و*Enterobacter intermedius* و*Kurthia sibirica* و*Paenibacillus polymyxa* و*Pantoea agglomerans*[15]. وفي تجربة لاختبار ثلاثة أنواعًا من الترايكوديرما *Trichoderma* ضد الفطر *Sclortium cepivorum*المسبب لمرض العفن الأبيض على البصل. أظهرت نتائج التجربة المختبرية أن *T. hamatum* هو الأكثر فاعلية حيث سجل أعلى نسبة تثبيط على النمو الفطري وصلت إلى 100% يليه الفطران *T. viride* 64.6% و*T. harzianum* 63.5% [20]. كما أشارت عدد من التقارير الى قدرت العوامل الحيوية على تثبيط الفطريات المسببة للأمراض ومنها البياض الدقيقي الذي يسببه الفطر *L. taurica* على الفلفل الحلو[12]. والبياض الدقيقي على الخيار[19]. وفي بحث أخر خفضت العلاجات المختلفة بالبكتيريا *Bacillus spp*. حدوث المرض وعززت معايير النمو مقارنة بالشاهد في المشتل. وكانت جميعها فعالة في زيادة نمو نباتات الطماطم، مما أدى إلى زيادة في الوزن الجاف لكل من المجموع الخضري والجذري للبادرات مقارنة مع الشاهد [17]. وفي دراسة أخرى اظهرت المكافحة الحيوية باستخدام البكتيريا *Bacillus spp* ضد الفطر *Colletotrichu acutatum* على الفلفل تحسن في نمو المجموع الخضري والجذري وكذلك زيادة في الكتلة الحيوية الطازجة والمادة الجافة الكلية. وعملت البكتيريا *B. subtilis* على تثبيط نمو الفطر *C. acutatum* بنسبة 60% وأدت إلى زيادة في وزن ثمار الفلفل في البيوت الزجاجية [23]. كما بينت مجموعة من الأوراق العلمية أن 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 استخدام آليات متنوعة مضادة لهذه المسببات[14، 22].

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم قدرات استعمال العوامل الحيوية البكتيريا العصوية *B. subtilis* وفطر التريكوديرما *T. viride* للسيطرة على الفطريات الممرضة للبصل *p. destructor*، *L. taurica*، *S. cepivorum*، *B. allii*، *A. porri* في المختبر والمشتل.

1. مواد البحث وطرائقه

1.1. مواد البحث

1.1.1. تحضير مسببات الامراض

جُمعِت العينات المصابة من حقول البصل بطريقة عشوائية شملت الجذور والثمار من مناطق مختلفة في محافظة لحج (الهجل، القريشي، الحمراء، سفيان، بيت عياض، هران ديان). ووضعت في أكياس من البولي ايثلين وأخِذت إلى المختبر، ثم غُسِلت هذه العينات بالماء العادي لإزالة الطين والأتربة العالقة ثم بالماء المقطر، بعدها تركت لتجف في حرارة الغرفة مع وجود تهوية جيدة. وقُطِعت إلى أجزاء صغيرة ثم عُقِمت سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم (كلوركس) 10% لمدة دقيقتين ثم غُسِلت بالماء المقطر المعقم وجُفِّفت بواسطة ورق ترشح معقمة، ثم زُرِعت في أطباق بتري معقمة تحتوي على الوسط الغذائي بطاطس دكستروز اجار Potato Dextros Agar (PDA) بعدد أربعة أجزاء نباتية في كل طبق وبعدها وضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 27 ± 1°م لمدة 5 أيام بغرض تشجيع نمو الفطريات والحصول على المستعمرات للفطريات *p. destructor*، *L. taurica*، *S. cepivorum*، *B. allii*، *A. porri*. بعد ذلك تم عملية التنقية من خلال اعادة الزراعة بطريقة زراعة طرف الهيفا Hyphal Tip من المستعمرة تبعاً لـ [16] وتم التعرف عليها طبقا لمفاتيح [3]، [5]، [28]. كررت الطريقة نفسها مع كل نوع على حدة من الأ نواع الفطرية المسببة للأمراض المراد اختبارها[9].

2.1.1. الكائنات المضادة

الكائنات المضادة التي اخُتِبرت هي البكتيريا العصوية *B. subtilis* تحت الاسم التجاري MILdown وفطر التريكوديرما *T. viride* تحت الاسم التجاري Sanjeevni المحضرين من شركة International panacea Ltd الهندية، وتم تحضير معلق من هذه الكائنات المضادة وذلك من خلال اضافة 0.5 جم من مستحضرات البكتيريا *العصوية B. subtilis* وفطر التريكوديرما *T. virid* التجاري الى 95 مل من الماء المقطر المعقم ووضع المستحضر ين كلٍ على حدة على جهاز الدوار المغناطيسي على سرعة 400 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق من ثم تم التخفيف للبكتيريا العصوية *B. subtilis* للوصول إلى التركيز3x 10^5 وحدات تشكيل المستعمرة/ مل وكذلك تخفيف معلق تركيز فطر التريكوديرما *T. virid* إلى التركيز4x 10^6 وحدات تشكيل المستعمرة/ مل وتم ذلك بواسطة الشريحة مقياس الضغط haemacytometer slide. واستخدمها كعوامل حيوية ضد مسببات الأمراض في المختبر[6].

2.1. طرائق البحث

1.2.1. اختبار تأثير العوامل الحيوية في الفطريات الممرضة للبصل في المختبر

نفذ تقييم تأثير الكائنات المضاد في الفطريات الممرضة وهي *p. destructor*، *L. taurica*، *S. cepivorum*، *B. allii*، *A. porri* في المختبر، عَقِمت أطباق بتري الزجاجية 90 x20 ملم ، وصبت البيئة الغذائية أجار ديكستروز البطاطس Potato Dextros Agar (PDA) بمعدل 20 مل في كل طبق. وبعد تصلبها وضع قرص من الفطر الممرض في كل طبق بقطر 5 ملم ووضعت في مركز الطبق. ثم أضيفت 5 مل من معلق البكتيريا العصوية *B. subtilis* بتركيز3x 10^5 وحدات تشكيل المستعمرة/ مل إلى البيئة الغذائية، أما الشاهد، أضيف إليه الماء المقطر المعقم بمعدل 5 ملم. كررت كل معاملة أربع مرات لكل نوع من الفطريات الممرضة (المعاملة) وأربعة مكررات للشاهد ، ورُقمِت الأطباق، وكُتِب عليها تاريخ التحضين وأسم الفطر، وُرِقم المكرر، وحضنت تحت درجة حرارة 27 ± 2°م. لمدة 6 ايام [10،11] ،قيست أقطار المستعمرات، وحُسِبت النسبة المئوية للتثبيط، وكُررت الخطوات السابقة نفسها مرة أخرى مع المعلق الفطري لفطر التريكوديرما *T. virid* الذي كان بتركيز4x 10^6 وحدات تشكيل المستعمرة/ مل.
لتحديد قدرت التثبيط استعملت المعادلة الأتية:

النسبة المئوية للتثبيط (%)= $R_1 - R_2$ /100 x R_1 (2)

R_1 = متوسط قطر مستعمرة الفطر الممرض في الشاهد (ملم)
R_2= متوسط قطر مستعمرة الفطر الممرض في المعاملات المختلفة (ملم)

2.2.1. اختبار تأثير العوامل الحيوية في الفطريات الممرضة للبصل في المشتل

عقمت التربة في الفرن على درجة حرارة 180 درجة مئوية لمدة 3 ساعات لمدة ثلاثة أيام متتالية، وُوزعت التربة المعقمة على الأصص بمعدل 500 جم/ أصيص، وأُجريت العدوى الصناعية عن طريق إضافة المعلقات للفطريات الممرضة *p. destructor*، *L. taurica*، *S. cepivorum*، *B. allii*، *A. porri* إلى التربة المعقمة بمعدل 20 مل/ أصيص ،عوملت بذور البصل بالمعلق البكتيري *B. subtilis*، والمعلق الفطري *T. viride* كلّ على حدة ماعدا بذور الشاهد.، وزُرِعت بذور البصل الصنف بافطيم Baftim بمعدل 10 بذرة/ أصيص، وكُررت كل معاملة أربع مرات، وحُسِبت عدد البذور المنبتة، والنسبة المئوية للإنبات بعد 8 أيام، وطول المجموع الخضري والجذري بعد 50 يوم.

% النسبة المئوية للإصابة = ب. ك- ب. م x 100/ ب. ك (1)
ب. م = البذور المنبتة
ب. ك = البذور الكلية

2. التحليل الإحصائي

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

3. النتائج والمناقشة

1.3. فعالية العوامل الحيوية على الفطريات الممرضة للبصل في المختبر

أظهرت النتائج فعالية عوامل المكافحة الحيوية للبكتيريا العصوية *B. subtilis* وفطر التريكوديرما *T. viride* المضادة للفطريات الممرضة ،حيث أثرت بشكل ملحوظ في نمو الفطريات الممرضة *p. destructor*، *L. taurica*، *S. cepivorum*، *B. allii*، *A. porri* ولكن كانت بشكل متفاوت إلا أن جميع المعاملات أعطت فعالية مقارنة بالشاهد، حيث عملت على تثبيط نمو ميسيليوم الفطريات الممرضة في المختبر جدول (1). وكانت أعلى فعالية للبكتيريا العصوية *B. subtilis* في تثبيط الفطر الممرض *p. destructor* بنسبة وصلت إلى 87.5% كما أعطى هذا المضاد البكتيري أدنى فعالية ضد الفطر الممرض، *A. porri* بنسبة تثبيط 77.52%. أما الفطر المضاد التريكوديرما *T. viride* فقد كانت أعلى فعالية له ضد الفطر الممرض *L. taurica* بنسبة تثبيط وصلت الى 81.41% وادنى فعالية ضد الفطر الممرض *L. taurica* حيث لم تتجاوز 64.08%. وهذا يتفق مع نتائج [7، 8] الذين أكدوا فعالية أربعة انواع من البكتيريا العصوية هي *B. amyloliquefaciens* و *B. cereus* و*B. Pumilus* و*B. subtilis* التي كانت لها فعالية حيوية في المكافحة ضد الفطر *F. solani* في المختبر وأظهرت نتائج التحليل المختبري أن البكتيريا *B. amyloliquefaciens* منعت نمو الفطر *F. solani* بنسبة وصلت الى 95.2% بينما كانت نسبة تثبيط البكتيريا *B. cereus* ضد نمو الفطر *F. solani* بنسبة 55.7%. وأظهر *B. pumilus* و*B. subtilis* تثبيط بنسبة 70.46% و82.1% على التوالي. ويعود النشاط المثبط للبكتيريا *B.subtilis* إلى أن هذه البكتيريا لديها مجموعة واسعة من مضادات الميكروبات[18]. كما أشار[27] إلى أن البكتيريا *B. subtilis* استطاعت تثبيط ميسيليوم الفطر *F. oxysporum* بنسبة تراوحت بين 25-34% في المختبر. كما منعت نمو ميسيليوم الفطر *R. solanacearum*[9]. واستطاعت سلالتان من بكتيريا *B. subtilis* هما (FZB24 وFZB37) تثبيط نمو ميسليوم الفطريات *F. oxysporum, R. solani, Sclerotinia Sclerotiosum*

، فقد لوحظ أنه تم خفض الإصابة بمرض الذبول الفيوزاريومي الذي يسببه الفطر *F. oxysporum* بشكل ملحوظ بنسبة وصلت إلى 50 % حيث أدى إلى ارتفاع النبات (زيادة طول الجذر والمجموع الخضري) وزيادة الوزن الطازج بشكل ملحوظ مقارنة مع الشاهد في المشتل، ولكن ليس بالضرورة دائما أن تكون النتيجة في المختبر لها التأثير نفسه في المشتل او الحقل بمعنى أن الأنشطة المضادة للفطريات في المختبر لا ترتبط دائما مع الحد من الأمراض في المختبر[24]. كما أوضحت نتائج أخرى في المختبر أن بكتيريا *B. subtilis* كان لها تأثير على فطريات الذبول المختلفة مقارنة مع الشاهد فقد تبين أن الفعالية كانت عالية على الفطرين *F.solani* و*F. oxysporum f. sp. lycopersici* وبدرجة أقل على الفطر *R.solani* [1].

جدول (1) فعالية العوامل الحيوية على الفطريات الممرضة للبصل في المختبر

الفطر الممرض	الكائن المضاد	قطر المستعمرة	التثبيط (%)
P. destructor	*B. subtilis*	11.20^{a}	87.5
	T. viride	19.45^{b}	78.39
L. taurica	*B. subtilis*	11.70^{c}	87.00
	T. viride	16.65^{d}	81.41
S. cepivorum	*B. subtilis*	14.18^{e}	84.23
	T. viride	25.75^{f}	71.94
B. allii	*B. subtilis*	19.53^{b}	78.30
	T. viride	32.08^{g}	64.08
A. porri	*B. subtilis*	20.28^{h}	77.52
	T. viride	29.30^{i}	67.44
الشاهد		90.00^{j}	00.00
L. S. D		0.1699	

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

2.3. فعالية العوامل الحيوية على الفطريات الممرضة للبصل في المشتل

من خلال مؤشرات الإنبات فقد أُظهرت العوامل الحيوية البكتيريا العصوية *B. subtilis* والفطر *T. viride* فعالية عالية في حماية بذور البصل من الفطريات الممرضة تحت ظروف المشتل. وكان تأثير للبكتيريا العصوية *B. subtilis* والفطر *T. viride* ضد الفطر الممرض *P. destructor* المسبب لمرض البياض الزغبى عاليًا ،حيث وصلت نسبة الإنبات للبذور البصل لكل منهما الى 95%. وكذلك البكتيريا *B. subtilis* اثبتت فعالية عالية ضد الفطر الممرض *S. cepivorum* المسبب لمرض والعفن الأبيض فقد وصلت نسبة الإنبات أيضًا إلى 95%. وعند نمو البادرات اظهرت الكائنات المضاد فعالية عالية فقد استطاعت هذه الكائنات حماية المجموع الخضري والجذري للبادرات من الفطريات الممرضة مقارنة بالشاهد. وبينت النتائج أن البكتيريا العصوية *B. subtilis* وفطر التريكودرما *T. viride* كانت الأعلى تأثير في حماية المجموع الخضري والجذري ضد الفطر الممرض *P. destructor*، بينما كان الكائن المضاد *B. subtilis* والفطر التريكودرما *T. viride* أقل فعالية ضد الفطر *S. cepivorum* في حماية المجموع الخضري والجذري للبادرات. الجدير بالذكر أنه في دراسة سابقة اظهرت مؤشرات الإنبات لبذور الطماطم المعالجة بالبكتيريا العصوية *B. subtilis* أن الإصابة للبذور بفطر *F.solani* المعالجة لم تتجاوز 15% بينما كانت إصابة البذور بفطر *R.solani* المعالجة بنفس النوع من البكتيريا 45%، ووصلت إلى 80% في الشاهد. ولوحظ أن نمو البادرات التي عولجت بذورها بالبكتيريا العصوية *B. subtilis* وتعرضت للفطريات الممرضة *F.solani*, *F. oxysporum f. sp. lycopersici*, *R.solani*, كان المجموع الخضري والجذري أعلى ب 72.3، 66.4، 17.5% على التوالي مقارنة بالشاهد،

وأما طول الجذر فقد كان أعلى ب 68.7، 54.5، 11.4%على التوالي مقارنة بالشاهد، واظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة من ناحية والشاهد من ناحية اخرى [1]. ووفقا لما ذكرة Singh [26]، فإن البذور المعالجة ب *B. subtilis* BN1 كان إنباتها في وقت مبكر، كما وجد أن *Bacillus spp* معروفة بأنها تحد من مؤشر الذبول الذي يسببه الفطر *F. oxysporum* وأدى إلى زيادة نمو النبات ،كما حدث نمو سريعًا لأنسجة نباتات الطماطم من خلال تحفيز المقاومة النظامية ضد الفطر *F. oxysporum* [22].

جدول (2) فعالية العوامل الحيوية على الفطريات الممرضة للبصل في المشتل

الفطر الممرض	الكائن المضاد	عدد البذور المنبة	نسبة الانبات	طول الجزء الهوائي (سم)	طول الجذر (ملم)
P. destructor	*B. subtilis*	18.75^{a}	95	32.70^{a}	25.70^{a}
	T. viride	17.50^{b}	95	32.20^{b}	23.90^{b}
L. taurica	*B. subtilis*	18.25^{abc}	90	31.70^{c}	22.80^{c}
	T. viride	16.50^{d}	85	27.20^{d}	21.80^{d}
S. cepivorum	*B. subtilis*	18.25^{bce}	95	23.60^{e}	20.60^{e}
	T. viride	18.50^{ac}	85	25.30^{f}	20.90^{f}
B. allii	*B. subtilis*	17.75^{bcef}	90	28.18^{g}	23.70^{g}
	T. viride	17.00^{bdf}	85	27.90^{h}	24.80^{h}
A. porri	*B. subtilis*	18.50^{acefg}	85	29.10^{i}	21.30^{i}
	T. viride	18.50^{acefgh}	85	26.10^{j}	21.20^{j}
الشاهد		8.00^{i}	40	10.00^{k}	10.00^{k}
L. S. D		0.8675		0.1559	0.1417

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

4. الاستنتاج

يبين هذا البحث أن البكتيريا *B. subtilis*، الفطر *T. viride* مهمة جدًا وفعالة كعامل مكافحة حيوية، كما لوحظت فعاليتها في قدرتها على تشجيع النمو في النباتات، وهي من الطرائق الأمنة بيئياً وصحياً، لذلك يجب أن تستمر الأبحاث للوصول إلى عوامل المكافحة الميكروبية الفعالة والصديقة للإنسان والكائنات الحية النافعة للبيئة.

المراجع

1. السنيدي، محمد علي محمد (2018)- فعالية المكافحة الحيوية للبكتيريا *Bacillus subtilis* ضد الفطريات *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, F.solani, Rizhoctonia solani* في المختبر والمشتل- جامعة اسيوط- مجلة البحوث البيئية (21) 2: 37- 45.
2. الصايغ، غادة (2017)- دراسة تأثير انواع *Trichoderma* في تثبيط الفطر *Fusarium oxysporum fragariae* – مجلة جامعة البعث المجلد 39(39):39-52.
3. الهباء، جهاد محمد. مصطفى، محمود شاكر (2011) - امراض النبات - وزارة التربية والتعليم- جمهور مصر العربية
4. محطة البحوث الزراعية –الكود (2006)- دليل المحاصيل الزراعية في السهل الجنوبي- الهيئة العامة للبحوث والارشاد الزراعي- دار الكتاب- صنعاء- الجمهورية اليمنية- 43- 49.

5. مولان، يوسف يونس. محمد، صلاح الدين الحسيني. ياسر، عيد إبراهيم (2008)- تشخيص الأمراض الفطرية وطرق مكافحتها – قسم وقاية النبات- كلية علوم الأغذية والزراعة- جامعة الملك سعود- دار المريخ للنشر- الرياض- المملكة العربية السعودية- ص199-230.

6. Abdel-Kader, M. M., El-Mougy, N. S., Aly, M. D. E., Lashin, S. M., Abdel-Kareem, F.,(2012) - Greenhouse Biological Approach for Controlling Foliar Diseases of Some Vegetables- Advances in Life Sciences, 2(4): 98-103.

7. 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.

8. Ajilogba, C., Ahmad, F., Babalola, O. O., (2013)-Antagonistic Effects of Bacillus Species in Biocontrol of Tomato Fusarium Wilt Studies on Ethno-Medicine 7(3):205-216

9. 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(28):7193-7201.

10. Babalola O. O., (2010a)- Improved mycoherbicidal activity of *Fusarium arthrosporioides*. *African Journal of Microbiology Research*, 4(15): 1659-1662.

11. 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.

12. Brand, M., Mesika, Y., Elad, Y., Sztejnberg, A., Rav, D.,Nitzani, Y., Kohi, J., Shtienberg, J., (2002)- Effect of green-house climate on biocontrol of powdery mildew (*Leveillula taurica*) in sweet pepper and prospects for integrated disease management. OEPP/EPPO, Bull. 25, 69–72.

13. Chet, I., Inbar, J., Hadar, I., (1997)- Fungal antagonists and mycoparasites. In: The Mycota IV: Environmental and Microbial Relationships. Wicklow DT and Soderstorm B, eds. Pp: 165-184.

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. Donmez, . M. F., Esitken. A., Yildiz. H., and Ercisli, S. (2011)- Biocontrol of botrytis cinerea on strawberry fruit by plant growth promoting bacteria- The Journal of Animal & Plant Sciences, 21(4): 758-763.

16. Flentje,N.T. and Sakesena, H.(1957)- Studies on *Pellicularia filamentosa*(Pat) Rogers.II. Occurrence and distribution of pathogenic strains. *Transactions of the British Mycological Society*, 40: 95-108.

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

18. Grover, M., Nain, L ., Saxena, A., (2009)- Comparision between Bacillus subtilis RP24 and its antibiotic-defective mutants- World Journal of Microbiology and Biotechnology 25(8):1329-1335 ·

19. Haggag, W.M., El-Gamal, N.G., (2002)- Efficiency of the antagonist Tilletiopsis pallescens formulated with some natural oils on biocontrolling the powdery mildew of the greenhouse cucumber. Rus. J. Phytopathol., 4, 1244–1250.

20. Hussain. W. A., Elzaawely, A. A., El Sheery, N. I., Ismail, A.A., and El-Zahaby. H.M., (2017)- Biological Control of Onion White Rot Disease Caused by Sclerotium cepivorum- Environment , Biodiversity & Soil Security Vol.1, pp. 101- 107.

21. Jürgen Köhl , W. M. L. Molhoek ,and N. J. Fokkema (1991)- Biological Control of Onion Neck Rot (Botrytis aclada): Protection of Wounds Made by Leaf Topping- Biocontrol Science and Technology 1(4):261-269.

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. 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.
25. Shahin, S.I.. (2017). Effect of some biocides on development of the onion downy mildew disease, caused by peronospora destructor (Berk.). Egyptian Journal of Biological Pest Control. 27. 71-77.
26. Singh N, Pandey P, Dubey RC, Maheshwari DK (2008) Biological control of root rot fungus Macrophomina phaseolina and growth enhancement of Pinus roxburghii (Sarg.) by rhizosphere competent Bacillus subtilis BN1. World J Microb Biotechnol Macrophomina phaseolina and growth enhancement of Pinus roxburghii (Sarg.) by rhizo-24:1669–1679
27. Swain,M.R., and Ray, R. C., (2009)- Oxalic acid Production by Fusarium oxysporum Schlecht and Botryodiplodia theobromae Pat. , Post-harvest fungal pathogens of yams (Dioscorea rotundata L.) and detoxification by Bacillus subtilis CM1 isolated from culturable cowdung microflora- Archives of Phytopathology and Plant Protection 42(7):636-648.
28.Woudenberg, J.H.C.,Truter. M., Groenewald. J.Z., Crous. P.W., (2014) - Large-spored *Alternaria* pathogens insection *Porri* disentangled- Stud Mycol. - 79: 1–47 Pp.

The effectiveness of biological control for control the causal agents of Onion diseases in the laboratory and nursery

Mohammed A. M. Al- Sunaidi* and Mahmoud Ahmed Salem Al- Misri **
*****Department of Biology, Faculty of Educationl - Saber, Aden University
**Department of Biology, Faculty of Education - Zanzibar, Abyan University
DOI: https://doi.org/10.47372/uajnas.2020.n1.a01

Abstract

The study was carried out in the vivo during the period from July to August and during the nursery in the period from September to December 2018 in the Department of Biology, Faculty of Education / Saber, Aden University- Yemen. The effect of biological agents, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma viride*, on fungus pathogens in the southern coastal plain of Yemen, namely *peronospora destructor*, *Leveillula taurica*, *Sclortium cepivorum*, *Botrytis allii*, *Alternaria porri*, was evaluated in vitro. Vital factors have proved their ability to inhibit pathogens under vivo conditions and gave the most effective biological factors, compared to the witness and were of highest effectiveness of bacteria *B. subtilis* against the fungus *peronospora destructor* where the rate of inhibition to 87.5%, while the lowest efficacy of *T. viride* against pathogenic fungi *Botrytis allii* did not exceed 64.08%. As for the protection of onion seeds from these pathogenic fungi under the nursery conditions, bacteria *B. subtilis* and *T. viride* gave the highest effect against *P. destructor* where the germination rate of seeds was 95% and *B. subtilis* against pathogen *S. cepivorum* has also reached the rate of germination to 95%. When the seedlings were grown, the fungus was shown to be highly effective. These organisms protected the root vegetation of the pathogenic fungi, compared to the witness. The high efficacy of *B. subtilis* was to protect the root vegetation against *P. destructor*, while *B. subtilis* was less effective against *S. cepivorum*.

Keywords: Biological control, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma viride*, Onion diseases.