تأثير استخدام الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *Bacillus subtilis* في مكافحة مرض الذبول الوعائي في البندورة (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)

علي صبيح[*1] و محمد مطر[2] و قصي الرحية[1] و وفاء شومان[3]

(1) مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، اللاذقية، سورية.

(2) قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

(3) مركز التقانات الحيوية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

(* للمراسلة: علي صبيح، البريد الالكتروني: ali_sbeeh@hotmail.com)

تاريخ الاستلام: 19/ 3/ 2024 تاريخ القبول: 23/ 6/ 2024

الملخص

هدف البحث إلى تقييم فعالية عزلات محلية من الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *Bacillus subtilis* في المكافحة الأحيائية لمرض الذبول الوعائي في البندورة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) تحت ظروف المختبر والبيت المحمي. نفذ البحث في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية خلال عامي 2021– 2022. أظهرت نتائج المختبر قدرة كل من عزلات البكتريا *B. subtilis*. وعزلات الفطر *Trichoderma* sp.على تثبيط نمو الفطر الممرض المُنمى على المستنبت الغذائي PDA بنسبة 50 % و33 % على التوالي، كما بينت نتائج الزراعة في الأصص قدرة عزلات البكتريا *B. subtilis* والفطر *Trichoderma* sp. المختبرة على تخفيض شدة الإصابة بالذبول مقارنة بالشاهد، ترافق ذلك مع زيادة في نمو النبات المعامل بكل منهما مقارنة بالشاهد السليم والشاهد المُعدى بالفطر الممرض، وأكدت تجربة الزراعة في البيت المحمي فعالية العزلات المختبرة في تخفيض مؤشرات المرض وزيادة إنتاجية النبات بلغت أعلاها 209.5% لدى العزلة B.FZB27 من البكتريا *B. subtilis* مقارنة بالشاهد المُعدى.

الكلمات المفتاحية: البندورة، مكافحة أحيائية، *Bacillus*، *Trichoderma*، *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

المقدمة:

تعد البندورة (*Solanum lycopersicum* L) من محاصيل الخضار المهمة عالمياً، وتحتل المرتبة الثانية بعد البطاطا، نظرا لقيمتها الغذائية العالية وغناها بالحديد والفيتامينات (C,B,A)، ومضادات الأكسدة (Fanasca *et al.*, 2006)، إضافة لاستخداماتها الطبية والغذائية المتعددة (Heuvelink, 2005). تُزرع البندورة في سورية في الحقول المكشوفة وفي البيوت المحمية، وقد بلغت مساحة الحقول المزروعة بها عام 2022 حوالي 13394 هكتاراً، أنتجت 650056 طناً من الثمار، وبلغ عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة في العام ذاته 91018 بيتاً، تركزت في محافظات طرطوس (82749 بيتاً) واللاذقية (6600 بيتاً) وحمص (1632 بيتاً)، وأنتجت 338436 طناً من الثمار (المجموعة الإحصائية السورية، 2022).

تصاب البندورة بعديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية، تتباين أهميتها وحجم الخسائر التي تسببها من منطقة إلى أخرى بحسب الظروف البيئية السائدة والأصناف المزروعة، ويعد مرض الذبول الفيوزاريومي المتسبب عن الفطر *Fusarium*

oxysporum f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen (FOL) من أهم هذه الأمراض التي تصيب البندورة وأكثرها انتشارا وخطورة، وبخاصة تحت ظروف البيوت المحمية (Debbi *et al*., 2018). ينمو الفطر ضمن الأوعية الناقلة للنباتات المصابة ويسبب انسدادها بشكل كلي أو جزئي، مما يؤدي إلى ضعف النبات وانخفاض إنتاجه أو انعدامه كلياً، واحداث خسائر اقتصادية كبيرة تتراوح بين 30–40% من المحصول في مناطق انتشاره (Murthy *et al*., 2009)، وقد تصل إلى 80% عند الإصابة الشديدة (McGrath *et al*., 1987).

يعد الفطر الممرض من قاطنات التربة، إذ يستوطن فيها لسنوات عديدة، ويهدد زراعة البندورة عند توافر الأصناف القابلة للإصابة والظروف الملائمة لانتشاره (Jones *et al*, 1991)، سجل المرض في 32 بلداً حول العالم، وتزداد خطورته في البلدان الدافئة والحارة (Mohammed, 1990).

استخدمت المبيدات الكيميائية على نطاق واسع في مكافحة المرض، ونظراً لأضرارها على الإنسان والبيئة، ولاحتمال ظهور سلالات مقاومة من الممرض لها، كان لابد من البحث عن بدائل أخرى للمكافحة. تعد المكافحة المتكاملة حاليا الوسيلةً الأكثر كفاءة في مكافحة المرض، وبخاصة المكافحة الأحيائية التي تعتمد على الكائنات النافعة ترابية المنشأ ومنها بعض أنواع الفطر *Trichoderma* والبكتريا *Bacillus* و*Pseudomonas* (Raza *et al*., 2015). أدى استخدام عزلات من البكتريا *B. subtilis* في الزراعة المزدوجة (Dual culture) في أطباق بتري إلى تثبيط نمو الممرض بنسبة (40.5 – 55.9)% (Machang'u *et al*., 2021)، وفي دراسات أخرى أدى استخدامها إلى كبح نمو الفطر وتخفيض شدة الإصابة بالذبول وزيادة نمو النبات، بسبب قدرتها على إنتاج المضادات الحيوية وبعض مغذيات النبات مثل الأمونيا، ومنظمات النمو مثل الأوكسين IAA، وكذلك قدرتها على حل الفوسفات وجعله متاحاً للامتصاص من قبل النبات (Bari *et al*., 2019, Aydi Ben Abdallah *et al*., 2019).

وتشير عديد من الدراسات إلى قدرة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* في تخفيض شدة الإصابة بالذبول مخبرياً وحقلياً وزيادة النمو والإنتاج، وقد ذكر مطر (2012) أن استخدام عزلة تجارية من الفطر *T. harzianum* أدى إلى تثبيط نمو الفطر FOL بمقدار 71% في الزراعة المزدوجة، وفي دراسة أخرى ثبط الفطر *T. harzianum* نمو الفطر FOL بنسبة 63– 70% في المختبر، وخفض شدة المرض في تجارب الأصص بنسبة 18–48% (Debbi *et al*., 2018)، وفي الهند بلغت نسبة التثبيط 82% باستخدام عزلات مختلفة من الفطر ذاته (Meraj -ul-Haque and Nandkar., 2012)، وفي تايلاند ذكر Charoenporn وآخرون(2010) أن استخدام عزلات من الفطر *T. harzianum*، ثبطت نمو الفطر FOL بنسبة 90% في المختبر، وخفضت شدة الإصابة تحت ظروف العدوى الاصطناعية في الأصص إلى 44% وأدت إلى زيادة الإنتاج بنسبة 80%. وتشير دراسات أخرى إلى أن استخدام الفطر *T. asperillium* (T34) مع الميكوريزا *Rhizophagus irregularis* أدى إلى تخفيض شدة المرض على البندورة المزروعة في الأصص بنسبة 78– 100% (Bidellaoui *et al*., 2019).

ونظرا للانتشار الواسع لمرض ذبول فيوزاريوم على البندورة في مناطق زراعتها في سورية وبخاصة في الزراعات المحمية، فقد هدف البحث إلى:

1. دراسة فعالية عدد من العزلات المحلية من الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *Bacillus subtilis* في مكافحة مرض الذبول الفيوزاريومي على البندورة في الزراعة المحمية في الساحل السوري.
2. دراسة تأثير تلك العزلات في النمو الخضري وفي إنتاج البندورة من الثمار.

مواد البحث وطرائقه

- **دراسة تأثير عزلات من الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في تثبيط نمو الفطر FOL تحت ظروف المختبر:**

تم في هذه الدراسة اختبار فعالية عدد من العزلات المحلية والمستوردة من كل من الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* إزاء العزلة الشرسة F72 من الفطر FOL التي تم عزلها من نباتات بندورة مصابة بالمرض في أحد البيوت المحمية في منطقة بانياس خلال عام 2020 (جدول 1)، وتم الحصول على العزلات المحلية من التربة المحيطة بجذور نباتات البندورة المزروعة في البيوت المحمية في الساحل السوري والتي أبدت كفاءة جيدة إزاء مرض تفلن جذور البندورة المتسبب عن الفطر *Pyrenochaeta lycopersici* في دراسة سابقة (الرحية، 2015).

الجدول (1): عزلات الفطر FOL الممرض والفطر *Trichoderma sp.* والبكتريا *B. subtilis* المستخدمة في الدراسة.

العزلة	النوع	المصدر
F72	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*	البيوت المحمية في منطقة بانياس
T.ZH-9	*Trichoderma harzianum*	محلية (مركز البحوث الزراعية في اللاذقية)
T.SM-21	*Trichoderma viridae*	محلية (مركز البحوث الزراعية في اللاذقية)
T.34	*Trichoderma asperillium*	جامعة غينت، بلجيكا
B.Ra-27	*Bacillus subtilis*	محلية (مركز البحوث الزراعية في اللاذقية)
B.FZB27	*Bacillus subtilis*	مركز بحوث التقانات الحيوية برلين، ألمانيا

- **اختبار العزلات البكتيرية:**

تم اختبار كفاءة عزلات البكتريا *B. subtilis* في تثبيط نمو الفطر FOL على مستنبت غذائي معقم PDA محضر مسبقا في أطباق بتري معقمة قطرها 90 ملم. تم احداث خط طولي من مستعمرات بكتريا فتية عمرها 48 ساعة في منتصف الطبق بواسطة ابرة الزرع البكتيرية وتم وضع قرصين من الفطر الممرض FOL بقطر 0.5 سم على استقامة واحدة على طرفي الطبق وعلى بعد 1.5سم من حافته، واقتصرت معاملة الشاهد على وضع قرصين من الفطر الممرض FOL على طرفي الطبق فقط دون تلقيحها بالبكتريا حسب (أبو شعر،2007).

- **اختبار العزلات الفطرية:**

تم اختبار كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* sp. في تثبيط نمو الفطر FOL تحت ظروف المختبر، تم وضع قرص بقطر 0.5 سم من مستعمرة فتية بعمر 8 أيام للعزلة المراد اختبارها على بعد 1.5 سم من حافة طبق بتري (90ملم) يحتوي على مستنبت PDA المدعم بالصاد الحيوي ريفامبيسلين تركيز 100ملغ/ليتر، يقابلها من الجهة الأخرى قرص بقطر 0.5 سم من الفطر FOL بعمر 8 أيام على بعد 1.5 سم أيضاً من حافة الطبق، واقتصرت معاملة الشاهد على وضع قرصين متقابلين من الفطر FOL فقط. (Benhamou and chet, 1997).

تضمنت التجربة خمس معاملات إضافة إلى معاملة الشاهد (بدون أعداء حيوية) بواقع 3 مكررات لكل معاملة وثلاث أطباق لكل مكرر. حضنت الأطباق عند حرارة 25±2 °س في مختبر الأمراض الفطرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، وتم إنهاء التجربة عند تلاقي طرفي مستعمرتي الشاهد في كل من معاملات الفطر والبكتريا.

حسبت النسبة المئوية للتثبيط حسب معادلة Fokkema (1976):

تثبيط النمو%= (متوسط نصف قطر مستعمرة الفطر في معاملة الشاهد – متوسط نصف قطر المستعمرة في المعاملة × 100)/ متوسط نصف قطر المستعمرة في معاملة الشاهد.

تم قياس مسافة الكبح (وهي المسافة الفاصلة بين طرف مستعمرة العدو الحيوي وطرف مستعمرة الفطر الممرض FOL) في الأطباق على المستنبت ذاته (Bari *et al.*, 2019).

حللت النتائج احصائيا باستخدام برنامج CoStat وجدول تحليل التباين ANOVA وحساب أقل فرق معنوي LSD عند مستوى ثقة 99%.

- **اختبار كفاءة عزلات من الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في مكافحة الفطر FOL في الأصص:**

تم اختبار كفاءة العزلات المذكورة في الجدول(1) في مكافحة الفطر FOL تحت ظروف الزراعة في الأصص حسب Shishido وآخرون (2005)، حيث استخدمت بادرات بندورة من الهجين هدى(القابل للإصابة) بمرحلة الثلاثة أوراق حقيقية، تم قص نهايات جذورها (لتسهيل اختراق الفطر)، ثم غمرت جذور قسم منها في معلق بوغي تركيزه 10^6 بوغ /مل من عزلات الفطر *Trichoderma* (T.ZH-9 وT.SM-21 وT.34) كل على حدة لمدة 15 دقيقة ، وغمرت جذور قسم آخر بمعلق بكتيري تركيزه 10^8 خلية بكتيرية/مل من عزلات البكتريا *B. subtilis* (B.Ra-27 وB.FZB27) كل على حدة لمدة 15 دقيقة، ثم زرعت الشتول في أصص قطرها 10 سم تحتوي خلطة من تربة زراعية معقمة وتورب معقم بنسبة 1:2حجم/حجم، وبواقع شتلة واحدة في كل أصيص و 3 مكررات لكل معاملة و3 أصيص في كل مكرر. أعديت تربة الأصص بإضافة 20 مل من معلق بوغي من الفطر الممرض FOL تركيزه 10^6 بوغ/مل (القبيلي، 2019) في حفرة الزراعة أثناء التشتيل، وزرعت شتول الشاهد في تربة معقمة. وضعت الأصص في بيت محمي في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية وتمت خدمات الري والتسميد عند الحاجة، شملت التجربة عدة معاملات وفقا للجدول (2):

الجدول (2): معاملات تجربة الزراعة في الأصص تحت ظروف البيت المحمي

رمز المعاملة	تربة سليمة	رمز المعاملة	تربة معداة بالفطر Fol
T.ZH	نباتات بندورة معاملة بعزلة *Trichoderma* T.ZH-9	FT.ZH	نباتات بندورة معاملة بعزلة الفطر *Trichoderma* T.ZH-9
T.SM	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Trichoderma* T.SM-21	FT.SM	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Trichoderma* T.SM-21
T.34	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Trichoderma* T.34	FT.34	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Trichoderma* T.34
B.Ra	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Bacillus* B.Ra-27	FB.Ra	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Bacillus* B.Ra-27
B.27	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Bacillus* B.FZB27	FB.27	نباتات بندورة معاملة بالعزلة *Bacillus* B.FZB27
Co	نباتات بندورة غير معاملة (شاهد سليم)	F.Co	نباتات بندورة غير معاملة (شاهد معدى)

نفذت التجربة بتاريخ 2021/12/18 وأخذت القراءات بعد ثمانين يوماً من العدوى بالفطر الممرض.

حسبت نسبة الإصابة في كل معاملة وفق المعادلة:

نسبة الإصابة%= (عدد النباتات المصابة 100X)/عدد النباتات الكلي

تم تحديد درجة الإصابة بالذبول وفق سلم من خمس درجات (0–4) حسب مطر (2012)، وتم حساب مؤشر شدة الإصابة DII (disease intensity index)% وفق معادلة McKinney(1923):

DII % = مجموع (عدد النباتات المصابة في كل درجة إصابة X الدرجة الموافقة في السلم) X 100/ العدد الكلي للنباتات في المعاملة X أعلى درجة في السلم.

حسبت النسبة المئوية لكفاءة عامل المكافحة الإحيائية في تخفيض نسبة وشدة الإصابة بالممرض، ونسبة الزيادة في الإنتاج مقارنة بالشاهد وفقاً للمعادلة التالية حسب EL-Sharkawy وآخرون (2021):

نسبة التخفيض أو الزيادة % = (القيمة في الشاهد– القيمة في المعاملة)100X/ القيمة في الشاهد.

سجلت أطوال المجموع الخضري والوزن الرطب والجاف للمجموع الجذري والخضري.

صممت التجارب وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة وحللت النتائج احصائيا باستخدام برنامج CoStat وجدول تحليل التباين ANOVA وحساب أقل فرق معنوي LSD عند مستوى ثقة 95%.

- **اختبار كفاءة عزلات من الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في مكافحة الفطر FOL تحت ظروف البيت المحمي.**

تم اختبار كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *B. subtilis* في مكافحة الفطر FOL في التربة الدائمة تحت ظروف البيت المحمي حسب Doan وآخرون (2019)، حيث لقحت الشتول (الهجين هدى) بكل من عزلات الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *B. subtilis* وفق الطريقة المتبعة في تجربة الأصص السابقة وزرعت الشتول في التربة وفق الأسلوب المحلي المتبع من قبل المزارعين. نفذت التجربة بتاريخ 2021/9/15 في أحد البيوت المحمية في موقع الزهيريات في منطقة جبلة في الساحل السوري. أعديت الشتول بالفطر FOL بإضافة 20 مل من معلق بوغي من الفطر الممرض (العزلة F72) تركيزه 10^6 بوغ/مل في حفرة الزراعة أثناء التشتيل، تم زراعة 12 بادرة لكل مكرر وأربعة مكررات لكل معاملة وفقا للجدول (3):

الجدول (3): معاملات تجربة الزراعة في البيت المحمي

المعاملة	تربة معداة بالفطر Fol
FT.ZH	نباتات بندورة معاملة بعزلة الفطر *Trichoderma* T.ZH-9
FT.SM	نباتات بندورة معاملة بعزلة الفطر *Trichoderma* T.SM-21
FT.34	نباتات بندورة معاملة بعزلة الفطر *Trichoderma* T.34
FB.Ra	نباتات بندورة معاملة بعزلة البكتريا *Bacillus* B.Ra-27
FB.27	نباتات بندورة معاملة بعزلة البكتريا *Bacillus* B.FZB27
F.Co	نباتات بندورة غير معاملة (شاهد معدى)

بالإضافة لمعاملة الشاهد السليم Co: نباتات بندورة غير معاملة وغير معداة بالفطر FOL.

حسبت النسبة المئوية للإصابة ومؤشر شدة الإصابة وفق المعادلات المذكورة سابقاً، كما حسب مؤشري الوزن الرطب للمجموع الخضري وإنتاج النبات (وزن الثمار/النبات) والنسبة المئوية لزيادة الإنتاج مقارنة بالشاهد المعدى بعد 120 يوما من العدوى، حيث تم إيقاف التجربة عند موت نباتات الشاهد المعدى.

صممت التجارب وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة وحللت النتائج احصائيا باستخدام برنامج CoStat وجدول تحليل التباين ANOVA وحساب أقل فرق معنوي LSD عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة

- **تأثير عزلات الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في تثبيط نمو الفطر FOL تحت ظروف المختبر.**

أظهرت النتائج أن عزلتي البكتريا B.Ra و B.27 ثبطتا نمو الفطر FOL بنسبة 50% و46% على التوالي، دون فروق معنوية بينهما(جدول 4)، كما أدتا إلى كبح نمو الفطر FOL مسافة (3 و2) مم على التوالي، مما يعني أن البكتريا قد أفرزت مضادات حيوية فعالة منعت نمو الفطر في هذه المنطقة، ويتوافق ذلك مع نتائج Bari وآخرون (2019) الذين أشاروا إلى قدرة عزلات البكتريا *B. Subtilis* المعزولة في العراق على تثبيط نمو الفطر FOL تحت ظروف المختبر وكبح النمو مسافة تراوحت بين 1.5–11 مم، كما يتوافق مع نتائج Machang'u وآخرون (2021) في تنزانيا حيث بلغت النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر FOL 55.9% في عزلة *B. subtilis* التجارية، أما في العزلة المحلية فقد بلغت 40%.

الجدول 4: كفاءة عزلات البكتريا *B. subtilis* في تثبيط نمو الفطر FOL بطريقة الزراعة المزدوجة بعد 7 أيام من التحضين عند حرارة 25±2°س.

رمز العزلة	متوسط قطر المستعمرة (مم)	مسافة الكبح (مم)	نسبة للتثبيط (%)
B.Ra	**15**	**3 a**	**50 a**
B.27	**16.2**	**2 a**	**46 a**
الشاهد	**30**	**-**	**–**
LSD0.01		**1.15**	**5.95**

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة عمودياً لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى دلالة 1%.

إن ارتفاع النسبة المئوية للتثبيط عند العزلة المحلية B.Ra ووصولها إلى درجة قريبة من كفاءة العزلة المستوردة B.27 في تثبيط نمو الفطر دليل على سرعة نمو البكتريا المحلية وقدرتها العالية على المنافسة على المكان والغذاء.

أظهرت النتائج أيضا كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* (T.34, T.ZH, T.SM) في كبح نمو الفطر FOL على مستنبت PDA، حيث بلغت نسبة التثبيط (33%–33%–30%) على التوالي بدون فروق معنوية بينها (جدول5)، وهذا يعني أن كفاءة تأثير العزلتين المحليتين (T.ZH, T.SM) توافقتا مع كفاءة تأثير العزلة المستوردة (T34) في نسبة التثبيط، وقد لوحظ أن مستعمرات جميع العزلات المختبرة نمت بسرعة فوق مستعمرات الفطر الممرض FOL وغطت نمواته، وقد يكون هذا دليل على سلوك هذه الفطور في استعمار المكان ومنع نمو الفطور الممرضة ومنافستها على الغذاء، ويتوافق ذلك مع نتائج Debbi وآخرون (2018) ومطر (2012) و Meraj -ul-Haque and Nandkar (2012) و Charoenporn وآخرون(2010).

الجدول5: كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* sp في تثبيط نمو الفطر الممرض FOL بطريقة الزراعة المزدوجة بعد 7 أيام من التحضين عند حرارة 25±2°س.

العزلة	متوسط قطر المستعمرة (مم)	النسبة المئوية للتثبيط (%)
T.SM	**20**	**33.3 a**
T.ZH	**20**	**33.3 a**
T.34	**21**	**30 a**
الشاهد	**30**	**-**
LSD 0.01	**–**	**5.00**

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة عمودياً لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى دلالة 1%.

- **اختبار كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في مكافحة الفطر FOL في الأصص**

بينت النتائج أن استخدام عزلات البكتريا *B. subtilis* أبدى تأثيرا طفيفا في مكافحة المرض، حيث انخفضت نسبة الإصابة في التربة المعداة إلى 83.33%، بفارق معنوي مقارنة مع الشاهد المعدى (100%) (جدول6)، في حين لم يكن لعزلات الفطر *Trichoderma* تأثيرا في نسبة الإصابة إذ بلغت 100% في جميع العزلات، وانعكس الأمر ذاته على شدة الإصابة، إذ خفضت العزلات البكتيرية والفطرية مؤشر شدة الإصابة بالذبول بشكل طفيف تراوح بين 7% و18% في المعاملات المختلفة، بفروق معنوية بينها وبين الشاهد المعدى(90%). وقد يعزى انخفاض كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في مكافحة الفطر FOL مقارنة بالدراسات المرجعية التي ذكرت أن معاملة النبات بعزلات من الفطر *Trichoderma* sp خفضت شدة الإصابة بالذبول بنسبة (44%-48%- 100%) (Bedellaoui *et al*., 2019; Debbi *et al*., 2018; Charoenporn *et al*., 2010) إلى معاملة الشتول بعامل المكافحة الأحيائية في نفس وقت إجراء العدوى بالفطر الممرض مما لم يتح الوقت الكافي لحماية جذور النبات من الإصابة بالمرض، بالإضافة إلى قوة شراسة العزلة المستخدمة (F72)، وإلى القابلية العالية للإصابة عند الهجين(هدى)، وعدم قدرته على المقاومة، وقد ذكر Huertas-Gonzalez وآخرون (1999) أن تحفيز المقاومة الجهازية ضد مرض الذبول الفيوزاريومي في البندورة يزداد بوجود مورثات المقاومة، وهي أحدى أهم طرائق المكافحة الاحيائية في الحد من الإصابة بالممرض FOL (Doan *et al*., 2019 ،Raza *et al*., 2015).

الجدول (6): تأثير عزلات الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في نسبة الإصابة بالذبول وشدتها على نباتات البندورة المعداة بالفطر FOL في الأصص بعد 80 يوماً من العدوى.

المعاملة	نسبة الإصابة%	مؤشر شدة الإصابة %DII	نسبة تخفيض شدة الإصابة %
FB.27	**83.33b**	**73.3 d**	**18.55**
FB.Ra	**83.33b**	**76.6 cd**	**14.8**
FT.ZH	**100a**	**80 bc**	**11.1**
FT.34	**100a**	**80 bc**	**11.1**
FT.SM	**100a**	**83.3 b**	**7.4**
F.Co	**100a**	**90 a**	
LSD0.05	**2.29**	**5.43**	

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة عمودياً لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى دلالة 5%.

بينت النتائج أيضا أن استخدام عزلات الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *B. subtilis* شجع نمو النبات وأدى إلى زيادة في طول النبات وفي الوزن الرطب والجاف لنباتات البندورة المعاملة بهما بشكل طفيف مقارنة مع نباتات كل من الشاهد المعدى والشاهد السليم (جدول 7)، إذ كانت الفروق المعنوية منخفضة في جميع المعاملات المعداة بالفطر FOL عند جميع مؤشرات النمو المدروسة (الوزن الرطب والوزن الجاف لكل من المجموع الخضري والجذور) مقارنة بمعاملة الشاهد المعدى، وبلغت القيم أعلاها لدى عزلتي البكتريا B.27 وB.Ra في حين لم تبد معاملات الفطر *Trichoderma* تأثيرا يذكر في زيادة نمو النبات ولم تكن الفروق معنوية بينها وبين الشاهد المعدى في جميع المؤشرات المدروسة، وكانت المعاملة T.ZH أعلاها تأثيرا في حين كانت العزلة T.SM أقلها تأثيراً.

الجدول (7): تأثير عزلات من الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *B. subtilis* في تشجيع نمو نباتات البندورة بعد 80 يوما من التشتيل في الأصص.

المعاملة	طول المجموع الخضري (سم)	الوزن الرطب (غ /نبات)		الوزن الجاف (غ/ نبات)	
		المجموع الخضري	الجذور	المجموع الخضري	الجذور
B.27	56.3 a	22.06 a	11.8 ab	3.8 a	1.14 a
B.Ra	54 a	20.79ab	13.2 a	3.5 ab	1.18 a
T.ZH	56.3 a	20.73 ab	9.2 bc	3.4 ab	1.08 ab
T.34	52.8 a	20.34 ab	9.13 bc	3.3 ab	1.05 ab
T.SM	53.8 a	19.75 ab	9.13 bc	3.2 ab	0.94 abc
Co	49.5 ab	17.9 abc	9.07 bc	3.02 bc	0.85 abcd
FB.27	46 ab	16.09 abc	8.1 c	2.75 bcd	0.80 bcd
FB.Ra	46.5 ab	15.4 bcd	8.6 c	2.3 cde	0.85 abcd
FT.ZH	48.5 ab	15.2 bcd	7.5 c	2.01 de	0.76cd
FT.34	39.3 bc	13.1 cd	7.7 c	1.9 e	0.77 cd
FT.SM	40.6 bc	11.05 d	6.8 c	1.8 e	0.71 d
F.Co	35.6 c	10.09 d	6.5 c	1.7 e	0.68 d
LSD0.05	9.05	5.57	2.64	0.74	0.27

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة عمودياً لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى دلالة 5%.

- **اختبار كفاءة عزلات من الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *Bacillus subtilis* في مكافحة الفطر FOL تحت ظروف البيت المحمي.**

أظهرت النتائج قدرة عزلات الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* المدروسة على تخفيض نسبة وشدة الإصابة بالذبول الفيوزاريومي بشكل معنوي مقارنة مع الشاهد المعدى، وانعكس ذلك ايجابا على زيادة معنوية في الوزن الرطب للمجموع الخضري للنبات وزيادة الإنتاج مقارنة مع الشاهد المعدى، وتباينت العزلات فيما بينها في فعاليتها في مكافحة مرض الذبول وبشكل معنوي عند بعض المؤشرات المدروسة، (الجدولين 8و9).

الجدول (8): تأثير عزلات من الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في نسبة الإصابة بالذبول الفيوزاريومي وشدتها بعد 120 يوماً من الزراعة تحت ظروف البيت المحمي.

المعاملات	نسبة الإصابة%	كفاءة العزلة%	شدة الإصابة%	كفاءة العزلة%
F.Co	100.00 a	–	82.92 a	–
FT.SM	87.50 bc	12.50	57.92 b	30.14
FT.34	93.75 ab	6.25	48.75 c	41.2
FT.ZH	89.59 bc	10.41	48.34 c	41.7
FB.Ra	89.59 bc	10.41	42.50 c	48.74
FB.27	83.33 c	16.67	42.50 c	48.74
LSD 0.05	7.86		6.96	

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة عمودياً لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى دلالة 5%.

إذ أن جميع العزلات المختبرة خفضت نسبة الإصابة بالذبول، وكانت الفروق معنوية مقارنة بالشاهد المعدى، لكن كفاءتها كانت منخفضة وبلغت اقصاها 16.67% عند معاملة العزلة البكتيرية B.27 ، وانعكس الأمر ذاته على شدة الإصابة بالمرض، إذ أن جميع العزلات المختبرة خفضت مؤشر شدة الإصابة بالذبول، وكانت الفروق معنوية عند جميع العزلات مقارنة بالشاهد المعدى، لكن كفاءتها كانت منخفضة– متوسطة أيضا وبلغت اقصاها48.74% عند معاملتي عزلتي البكتريا B.27 وB.Ra بدون فروق معنوية بينهما، بينما كانت كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* أقل نسبيا مقارنة بعزلتي البكتريا وتراوحت بين 30.14% و41.7% في معاملتي عزلتي الفطر T.SM وT.ZH على التوالي.

أظهرت النتائج أيضا في الجدول (9) قدرة جميع العزلات المدروسة على زيادة وزن المجموع الخضري للنباتات المعاملة، وتفوقت العزلة B.27 على باقي العزلات المدروسة، بدون فروق معنوية مع العزلتين B.Ra و T.ZH، في حين كان الفرق معنوياً مع عزلتي الفطر T.34وT.SM. كما أدت المعاملة إلى زيادة إنتاج الثمار حيث تفوقت العزلتان البكتيريتان (B.27، B.Ra) معنوياً على باقي المعاملات، وكذلك تفوقت معاملتي الفطر (FT.ZH، FT.34) معنوياً على المعاملة FT.SM، حيث بلغ الإنتاج 2633.27غ في المعاملة FB.27، مقارنة بـ 850.81غ في معاملة الشاهد المعدى، وتراوحت نسبة الزيادة في الإنتاج مقارنة بالشاهد في المعاملتين FT.SM، FB.27 بين 90.85% و209.5%، على التوالي. ويعزى دور كل من البكتريا والفطريات المستخدمة في تشجيع نمو النبات إلى إنتاج المغذيات مثل الأمونيا، وحل المعادن مثل الفوسفات وبالتالي تسهيل امتصاصها من قبل النبات، وإفراز الهرمونات النباتية والحموض العضوية والمركبات الطيارة (Bari *et al*., 2019، Sundaramoorthy & Balabaskar, 2013).

الجدول (9): تأثير عزلات الفطر *Trichoderma* sp. والبكتريا *B. subtilis* في وزن المجموع الخضري وإنتاج النبات من الثمار بعد 120 يوما من الزراعة تحت ظروف البيت المحمي.

المعاملات	الوزن الرطب (غ)	إنتاج الثمار (غ/نبات)	زيادة الإنتاج %
F.Co	**355.02 d**	**850.81 d**	**0**
FT.SM	**538.84 d**	**1623.81 d**	**90.85**
FT.34	**679.54 c**	**2094.19 c**	**146.14**
FT.ZH	**711.79 bc**	**2252.77 c**	**164.77**
FB.Ra	**751.10 bc**	**2490.71 b**	**192.74**
FB.27	**770.36 b**	**2633.27 b**	**209.5**
Co	**941.17a**	**3475.72 a**	
LSD 0.05	**80.39**	**208.49**	

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة عمودياً لا توجد بينها فروق معنوية عند مستوى دلالة 5%.

يتضح مما سبق أن جميع عزلات البكتريا *B. subtilis* والفطر *Trichoderma* sp. المستخدمة في هذه الدراسة لم تبد تأثيرا ملحوظا في تخفيض نسبة الإصابة وشدتها بمرض الذبول الوعائي للبندورة في تجربة الأصص، وكان تأثيرها منخفضاً أو متوسطاً مقارنة بالشاهد المعدى، لكن تأثيرها كان معنويا في زيادة مؤشرات النمو وفي إنتاج النبات من الثمار في تجربة البيت المحمي، ويبدو أن عزلات البكتريا *B. subtilis* تفوقت على عزلات الفطر *Trichoderma* في جميع المؤشرات المدروسة في كل من المختبر، وفي الأصص والبيت المحمي. تباينت العزلات فيما بينها من حيث كفاءة التأثير، وتفوقت العزلات المستوردة B.27 و T.34 على العزلات المحلية بشكل غير معنوي في المؤشرات المدروسة.

تتفق هذه النتائج مع نتائج عديد من الدراسات السابقة في مناطق مختلفة من العالم حول دور عزلات البكتريا *Bacillus* والفطر *Trichoderma* في الحد من نمو الفطر الممرض FOL وتشجيع نمو النبات حقلياً، فقد أشار Aydi Ben Abdallah وآخرون (2019) في تونس إلى دور عزلة محلية من *B. subtilis* في تخفيض شدة الإصابة بالذبول تحت ظروف الحقل مقارنة مع الشاهد المعدى، كما ازداد طول النبات ووزن الجذور وإنتاج الثمار حيث وصلت الزيادة إلى 10.6%، 16.3%، 12.5% على التوالي مقارنة مع المؤشرات ذاتها لدى الشاهد المعدى.

كما تتفق هذه النتائج مع نتائج Doan وآخرون (2019) في أمريكا الذين أشاروا إلى فعالية عزلات محلية من كل من البكتريا *Collimonas arenae* والبكتريا *Bacillus* في تثبيط نمو عدد كبير من المسببات المرضية الفطرية ومنها FOL في الزراعة المزدوجة على المستنبت الغذائي في المختبر، في حين لم تبد التأثير ذاته في التجارب الحقلية ونصف الحقلية (أصص) عند استخدام كل منهما منفرداً، في حين أسهم استخدامهما المشترك في تخفيض شدة الإصابة بذبول البندورة (FOL) معنوياً مقارنة بالشاهد المعدي.

الاستنتاجات

1. ثبطت عزلتي البكتريا *B. subtilis* المختبرة نمو الفطر FOL في المختبر بنسبة 46– 50%.
2. ثبطت عزلات *Trichoderma* sp. المختبرة نمو الفطر FOL في المختبر بنسبة 30–33%.
3. كان تأثير عزلات الفطر *Trichoderma* sp والبكتريا *B. subtilis* منخفضا أو متوسطاً في تخفيض نسبة الإصابة وشدتها بالذبول الفيوزاريومي ضمن الأصص وفي البيت المحمي، لكنها شجعت نمو النبات وزادت في انتاج الثمار.
4. أبدت العزلات المحلية المختبرة كفاءة متقاربة مع العزلات المستوردة، وكانت البكتريا أكثر تأثيرا من الفطر في زيادة مؤشرات النمو.

التوصيات

التوسع في دراسة كفاءة عزلات محلية جديدة من البكتريا *B. subtilis* والفطر *Trichoderma* sp. في مكافحة الفطر الممرض.

المراجع

الرحية، قصي (2015). تحسين الكفاءة الحيوية للسماد العضوي وتأثيرها في مرض تفلن جذور البندورة *Pyrenochaeta lycopersici*. أطروحة دكتوراه في قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة حلب، 127 ص.

القبيلي، ميس (2019). مقارنة تأثير بعض المبيدات الفطرية في مكافحة مرض الذبول الوعائي على البندورة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. أطروحة دكتوراه، جامعة تشرين، كلية الزراعة، 98 صفحة.

المجموعة الإحصائية السورية (2022). وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دائرة الإحصاء، دمشق، سورية.

أبو شعر، محمد (2007). المكافحة الأحيائية للفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder& Hansen المسبب لمرض ذبول البندورة الوعائي. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية، العدد 6.

مطر، محمد (2012). فاعلية بعض مبيدات الفطور الكيميائية والحيوية في مكافحة الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* المسبب لمرض ذبول البندورة. مجلة جامعة تشرين، سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد 34، العدد 4، 57–76.

Aydi Ben Abdallah, R; H, Jabnoun-Khiareddine; A, Nefzi; F, Ayed; M, Daami-Remadi (2019). Field suppression of Fusarium wilt and microbial population Shifts in tomato rhizosphere following soil treatment with two selected endophytic bacteria. Eurasian J Soil Sci, 8 (3): 208 – 220.

Bari, M; R, Hussein; F, Toama (2019). Biological control of Fusarium wilt of tomato by endophytic rhizobactria. Energy procedia 157: 171-179.

Benhamou N., Chet,I. (1997) - Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. Appl. Environ. Microbiol. 63. P: 2095–2099.

Bidellaoui,B & G. Segarra & A. Hakkou & M. Isabel Trillas (2019). Beneficial effects of *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma asperellum* strain T34 on growth and fusarium wilt in tomato plants. Journal of Plant Pathology 101:121–127

Charoenporn, C.; S. Kanokmedhakul; F. C. Lin; S. Poeaim and K. Soytong (2010). Evaluation of bio-agent formulations to control Fusarium wilt of tomato. African Journal of Biotechnology Vol. 9(36), pp. 5836-5844.

Debbi, A., H. Boureghda, E. Monte and R. Hermosa (2018). Distribution and genetic variability of *Fusarium oxysporum* associated with tomato diseases in Algeria and a biocontrol strategy with indigenous *Trichoderma* SPP. Front. Microbiol. 9:1-11.

Doan,H; N. Maharaj; K. Kelly; E. Miyao; R. Davis and J. Leveau (2019). Antimycotal activity of *Collimonas* isolates and synergy-based biological control of Fusarium wilt of Tomato. Phytobiomes Journal. DOI: 10.1094/PBIOMES-05-19-0027-R.

El-Sharkawy, H; M, Abbas; A, Soliman; S, Ibrahim; I, El-Nady (2021). Synergistic effect of growth-promoting microorganisms on bio-control of Fusarium oxysporum f. sp. pisi, growth, yield, physiological and anatomical characteristics of pea plants. Pesticide Biochemistry and Physiology. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104939.

Fanasca S.; G. Colla; G. Maiani; E. Venneria; Y. Rouphael; E. Azzini and F. Saccardo (2006). Changes in antioxidant content of tomato fruits in response to cultivar and nutrient solution composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54. 4319-4325.

Fokkema N. J. (1976). Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. In: Microbiology of aerial plant surfaces. Eds: C.H. DKKINSON and T.F. PREECE. pp. 487-506. Academic Press. London.23.

Heuvelink, E. (2005). Tomatoes. Crop production science in Horticulture 13. Wageningen University, Wageningen.

Huertas-Gonzalez, M. D; M. C. Ruiz-Roldan; A. Di Pietro and M. I. G. Roncero (1999). Cross protection provides evidence for race-specific avirulence factors in *Fusarium oxysporum*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 54, 63–72.

Jones, J. B.; J. P. Jones; R. E. Stall and T. A. Zitter (1991). Compendium of tomato disease, 1st edition. The American Phytopathological Society, New York, p. 100.

Machang'u, R; A. Maerere; B. Mwinuka; J. Nashon and G. Makingi (2021). Antifungal effect of a local *Bacillus subtilis*, isolate TM07, on *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in Morogoro, Tanzania. Tanzania Journal of Agricultural Sciences Vol. 20 No. 1, 118-125

McGrath, D. J.; D. Gillespie and L. Vawdrey**.** (1987). Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 and race 3 in *L. pennellii*. Aust. J. Agric. Res. 38: 729-733.

McKinney, H.H (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. J. Agrie. Res. 26:195-217.

Meraj-ul-Haque and Nandkar P.B (2012). Antagonistic effect of rhizospheric Trichoderma isolates against tomato damping-off pathogen, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. International Journal of Research in BioSciences Vol. 1 Issue 2, pp. (27-31).

Mohammed, B (1990). *Fusarium* wilt or "Yellows" of tomato. University of Illinois at Urbania, RPD No.929.

Murthy, D. S.; M. Sudha; M. R. Hegde and V. Dakshinamoorthy (2009). Technical efficiency and its determinants in tomato production in Karnataka, India: data envelopment analysis (DEA) Approach. Agricultural Economics Research Review. 22: 215-224.

Raza, w; N, Ling; R, Zhang; Q, Huang; Y, Xu and Q, Shen (2016). Success evaluation of the biological control of *Fusarium* wilts of cucumber, banana, and tomato since 2000 and future research strategies, Critical Reviews in Biotechnology, DOI: 10.3109/07388551.2015.1130683.

Shishido, M.; C. Miwa; T. Usami; Y. Amemiya and K. B. Johnson (2005). Biological control efficiency of Fusarium wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo-B2 in different environments. Phytopathology 95:1072-1080.

Sundaramoorthy, S and P, Balabaskar (2013). Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of Applied Biology & Biotechnology Vol. 1 (03), 36-40.

The effect of the fungus *Trichoderma* sp. and the bacteria *Bacillus subtilis* on controlling tomato vascular wilt disease (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)

Ali Sbieh*[1], Mohamed Matar[2], Qusay Alrhayeh[1] and Wafaa Choumane[3]

(1) Agricultural scientific research centre in Lattakia. Syria.
(2) Department of plant protection, Faculty of Agricultural engineering, Tishreen University, Lattakia. Syria.
(3) Biotechnology Centre, Tishreen University, Lattakia. Syria.
(*Corresponding author: Ali Sbieh, E-Mail: ali_sbeeh@hotmail.com)

Received: 19/3/2024 Accepted: 23/6/2024

Abstract

This study aimed to assess the efficiency of local isolates of the fungus *Trichoderma* sp. and the bacteria *Bacillus subtilis* in the biological control of Fusarium wilt disease of tomato, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), *in vitro* and in the greenhouse. This research conducted in the Agriculture Research Centre in Lattakia during the years 2021 and 2022. The results showed the ability of the used isolates to inhibit the growth of *Fusarium* in *in vitro*, by 50% (by *Bacillus subtilis*) and 33% (by *Trichoderma* sp) on PDA medium. The results of planting in pots in greenhouse showed the ability of the fungus *Trichoderma* sp. and the bacteria *Bacillus subtilis* isolates to reduce the wilt severity percentage and to promote the growth of tomato plants compared to healthy and infected controls. The greenhouse trial confirmed the efficiency of tested isolates in decreasing the disease symptoms and increasing plant growth and production by 209.5%, by *Bacillus subtilis* isolate B.FZB27, compared to infected control.

Key words: Tomato, Biological control, *Bacillus, Trichoderma sp, Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*,