

تأثير بعض العزلات الفطرية في تثبيط فقس بيض نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood مختبرياً

الصادق محمد غزالة، بشير عثمان قشيرة، صالح الهادي الشريف، خليفة حسين دعاج

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة الفاتح ص. ب. 30940 طرابلس، الجماهيرية الليبية، البريد الإلكتروني: dabajhk@yahoo.com

المخلص

غزالة، الصادق محمد، بشير عثمان قشيرة، صالح الهادي الشريف، خليفة حسين دعاج. 2004. تأثير بعض العزلات الفطرية في تثبيط فقس بيض نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood مختبرياً. مجلة وقاية النبات العربية. 22: 132-135. قورن تأثير أربع عزلات فطرية محلية هي: *Verticillium sp.* و *Paecilomyces variotii*، *Fusarium oxysporum*، *Arthrobotrys sp.* نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* تحت الظروف المخبرية. أظهرت نتائج الاختبارات بأن عزلات الفطور *Verticillium sp.* و *P. variotii*، *F. oxysporum* لها تأثير مثبط لفقس بيض نيماتودا تعقد الجذور تحت ظروف المختبر مقارنة بالشاهد، في حين أن عزلة الفطر *Arthrobotrys sp.* لم تمنع فقس البيض كلياً مقارنة بالعزلات الفطرية الأخرى، إلا أنها شكلت حلقات صائدة تقبض على يرقات الطور الثاني (J_2) بعد الفقس. كلمات مفتاحية: عزلات فطرية، نيماتودا تعقد الجذور، ليبيا.

المقدمة

و *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood قد سجلت في ليبيا، ويعتبر النوعان *M. javanica* و *M. incognita* الأكثر انتشاراً في جميع المناطق الزراعية وخاصة في المناطق الغربية من ليبيا (7). ونظراً للتوجه نحو الاهتمام بحماية البيئة وإنتاج خضار خالية من الأثر المتبقي للمبيدات الكيميائية فقد هدفت هذه الدراسة إلى اختبار كفاءة بعض العزلات الفطرية المحلية كعوامل مكافحة إحيائية ضد نيماتودا تعقد الجذور *M. incognita* لتثبيط فقس البيض تحت ظروف المختبر.

مواد البحث وطرائقه

اختيرت أربع عزلات فطرية هي:

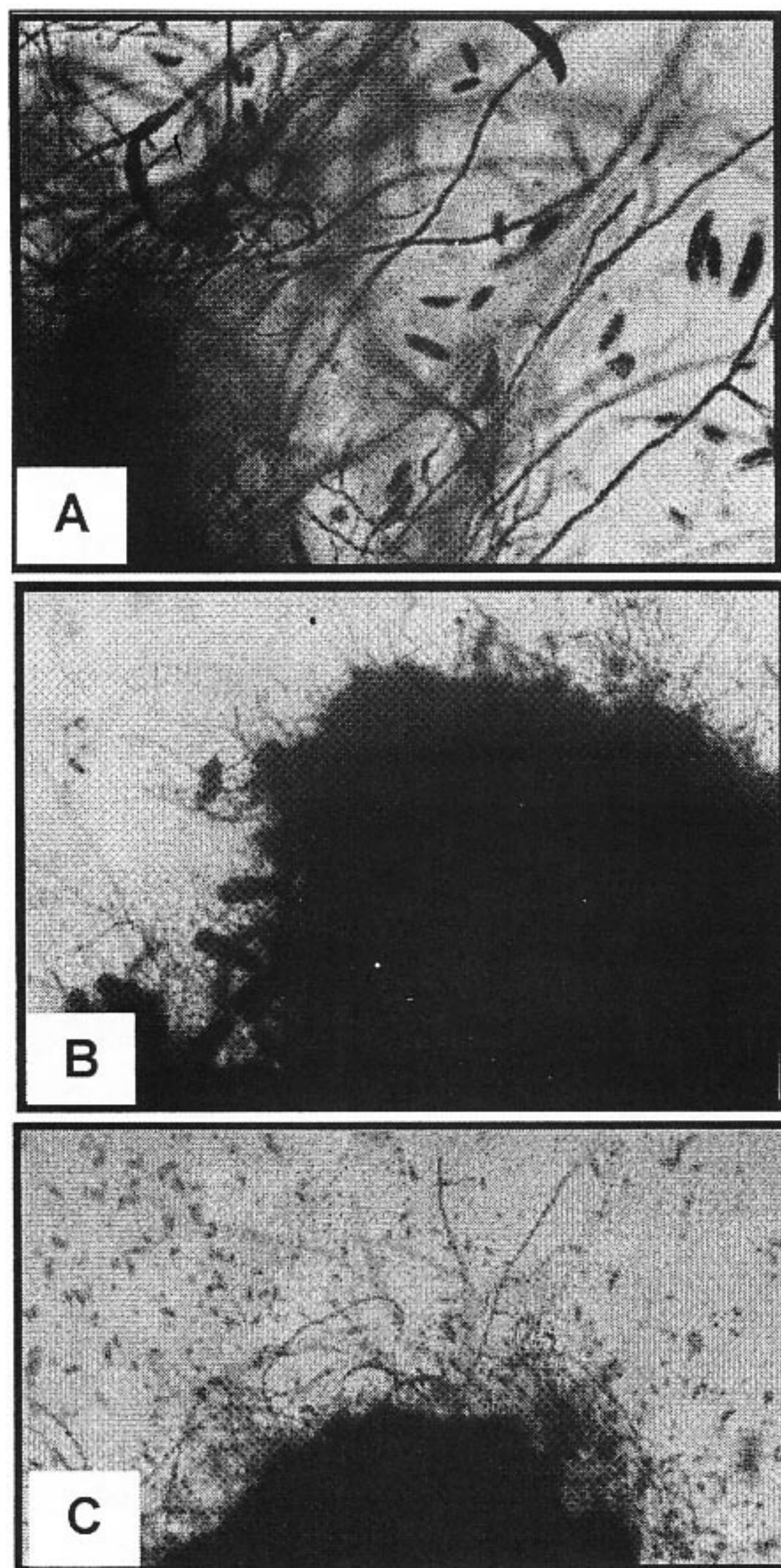
1. *Fusarium oxysporum* Schecht (معزولة من إناث نيماتودا حوصلات الصليبيات *Heterodera cruciferae* Franklin).
2. *Arthrobotrys sp.* (معزولة من أكياس بيض نيماتودا تعقد الجذور *M. javanica*).
3. *Paecilomyces variotii* Bain (معزولة من نيماتودا تقصف الجذور *Paratrichodorus sp.* والنيماتودا الخنجرية *Xiphinema sp.*).
4. *Verticillium sp.* (معزولة من يرقة حفار ساق التفاح *Zeuzera pyrina* L.).

تم عزل الفطرين الأول والثاني مباشرة من عينات حقلية على بيئة غذائية سابرويد، في حين عزل الفطرين الثالث والرابع من عينات محفوظة بقسم وقاية النبات على بيئة دكستروز آجار البطاطس (PDA). تم اختبار تأثير العزلات الفطرية الأربع على فقس بيض نيماتودا تعقد الجذور *M. incognita* تحت الظروف المخبرية حسب الخطوات التالية:

تشير العديد من الدراسات بان النيماتودا المتطفلة على النبات تتعرض لبعض المتطفلات والمفترسات في التربة الزراعية (1، 3، 5، 12، 16). وقد وجد أن بعض الفطور والنيماتودا المفترسة هي الأكثر تأثيراً في نشاط النيماتودا (3). لذلك جذب مجال مكافحة الإحيائية للنيماتودا المتطفلة على للنبات وخاصة باستخدام الفطور انتباه العلماء واهتمامهم في السنوات العشر الأخيرة من القرن العشرين. وأثناء ذلك تم عزل وتعريف عدد من عوامل المكافحة الإحيائية التي ثبت فعاليتها في حماية المحاصيل الزراعية من الإصابة بالعديد من أجناس النيماتودا المتطفلة على للنبات. وبالرغم من أن هذه الاكتشافات ما تزال في مراحلها التجريبية إلا أن بعضاً منها أصبح متوفراً في الأسواق على مستوى تجاري (5، 9، 10، 11، 12).

وتعتبر النيماتودا المتطفلة على النبات وخاصة نيماتودا تعقد الجذور إحدى أهم العقبات التي تقف حائلاً دون تحقيق الحد الأدنى من الإنتاج الزراعي تحت نظام الزراعة المحمية أوفي الحقل وذلك بسبب انتشارها في مناطق جغرافية مختلفة من ليبيا (7). ولا يقتصر دورها كعامل مسبب للمرض فقط، بل تعتبر عاملاً مشاركاً ومهيئاً للإصابة بالمسببات المرضية الأخرى، فطرية وبكتيرية، ولها دور هام في الأمراض المركبة (6، 14). ويضاف إلى ذلك دورها في فقدان المقاومة الوراثية لبعض الأصناف النباتية المهجنة ضد بعض مسببات الأمراض الهامة مثل أمراض الذبول المتسببة عن الفطور *Fusarium spp.* و *Verticillium spp.* (1، 6، 14). وتشير الدراسات السابقة بأن أهم أربعة أنواع تابعة للجنس *Meloidogyne* هي: *M. hapla* Chitwood، *M. javanica* (Trueb) Chitwood، *M. arenaria* (Neal) Chitwood

تختلف معنوياً مع معاملة الشاهد. إلا أنه لوحظ أن الفطر شكل حلقات صائفة بأعداد كبيرة في الخيط الواحد، تعمل على قنص الطور اليرقي الثاني (J_2) (شكل 2). وقد لوحظ ان الحلقات الفطرية قد تقبض على النيماتودا من طرفيها الأمامي والخلفي وتشل حركتها، ومن الواضح أن للفطر قدرة على النمو وتكوين الأبواغ بكثافة عالية على الحامل الكونيدي في معلق النيماتودا (شكل 3). وقد تبين من الفحص المجهرى أن الأطوار اليرقية في معاملات الفطور كانت غير قادرة على الحركة أو ميتة مقارنة بمعاملة الشاهد، حيث استمرت الأطوار في الحركة في المعلق حتى اليوم العاشر من بداية التجربة.



شكل 1. نموات لفطر *Fusarium oxysporum* (A)، وفطر *Paecilomyces variotii* (B)، وفطر *Verticillium sp.* (C) على أكياس بيض نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita*.

Figure 1. Growth of *Fusarium oxysporum* (A), *Paecilomyces variotii* (B) and *Verticillium sp.* (C) on egg-mass of root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*).

- تحضير بيئة آجار الماء وذلك بإذابة 15 غ آجار/لتر ماء (12).
- عزل أكياس بيض نيماتودا تعقد الجذور وغسلها سطحياً بالماء المقطر المعقم ووضعها في أطباق بتري صغيرة قطر 9 سم تحتوي 10 مل آجار الماء بمعدل ثلاث أكياس بيض/طبق.
- تحضير معلق مائي لأبواغ العزلات الفطرية وسكبها بمعدل 0.1 مل/طبق على أكياس البيض.
- وزعت الأطباق عشوائياً داخل حاضنة عند 24 ± 2 س، وكررت كل معاملة ثلاث مرات، إضافة إلى الشاهد المعامل بماء مقطر معقم بدون إضافة الفطريات.
- تم متابعة التجربة يومياً لملاحظة نمو الفطر وفقس بيض النيماتودا حتى توقف فقس البيض في معاملة الشاهد وسجلت النتائج خلال 7-10 أيام من بداية التجربة حسب طريقة Meyer وآخرون (12).

النتائج والمناقشة

بينت نتائج اختبار معاملة أكياس بيض نيماتودا تعقد الجذور بأن ثلاث عزلات هي *Verticillium sp.*، *F. oxysporum* و *P. variotii* قد ثبتت فقس البيض في جميع المكررات بفروق معنوية مقارنة بمعاملي العزلة *Arthrobotrys sp.* والشاهد، خلال فترة تراوحت ما بين 3-7 أيام (جدول 1). وقد لوحظ تكون شبكة من الخيوط الفطرية حول أكياس البيض (شكل 1). وبالتالي يمكن اعتبار هذه العزلات الثلاثة عوامل مكافحة إحيائية للنيماتودا المتطفلة على النبات. وهذا يتطابق مع نتائج دراسة سابقة تم فيها عزل بعض الفطور النامية على عينات نيماتودا مختلفة جمعت من بعض الحقول الزراعية ببعض المناطق الغربية من ليبيا (2).

جدول 1. تأثير عزلات الفطور المختبرة على فقس بيض نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* تحت الظروف المخبرية.

Table 1. Effect of Fungal isolates on egg hatching of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions

متوسط عدد فقس البيض Mean of egg hatching	المعاملات Treatments
107.00	الشاهد Control
98.00	<i>Arthrobotrys sp.</i>
23.33	<i>Paecilomyces variotii</i>
17.67	<i>Fusarium oxysporum</i>
27.67	<i>Verticillium sp.</i>
23.44	أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%
	LSD at P = 5%

كل قراءة تمثل متوسط ثلاث مكررات لكل معاملة.
Each value is the mean of three replicates.

كما بينت نتائج الاختبار بأن العزلة *Arthrobotrys sp.* لم يكن لها تأثير في فقس بيض النيماتودا مقارنة ببقية العزلات الفطرية الأخرى، ولم

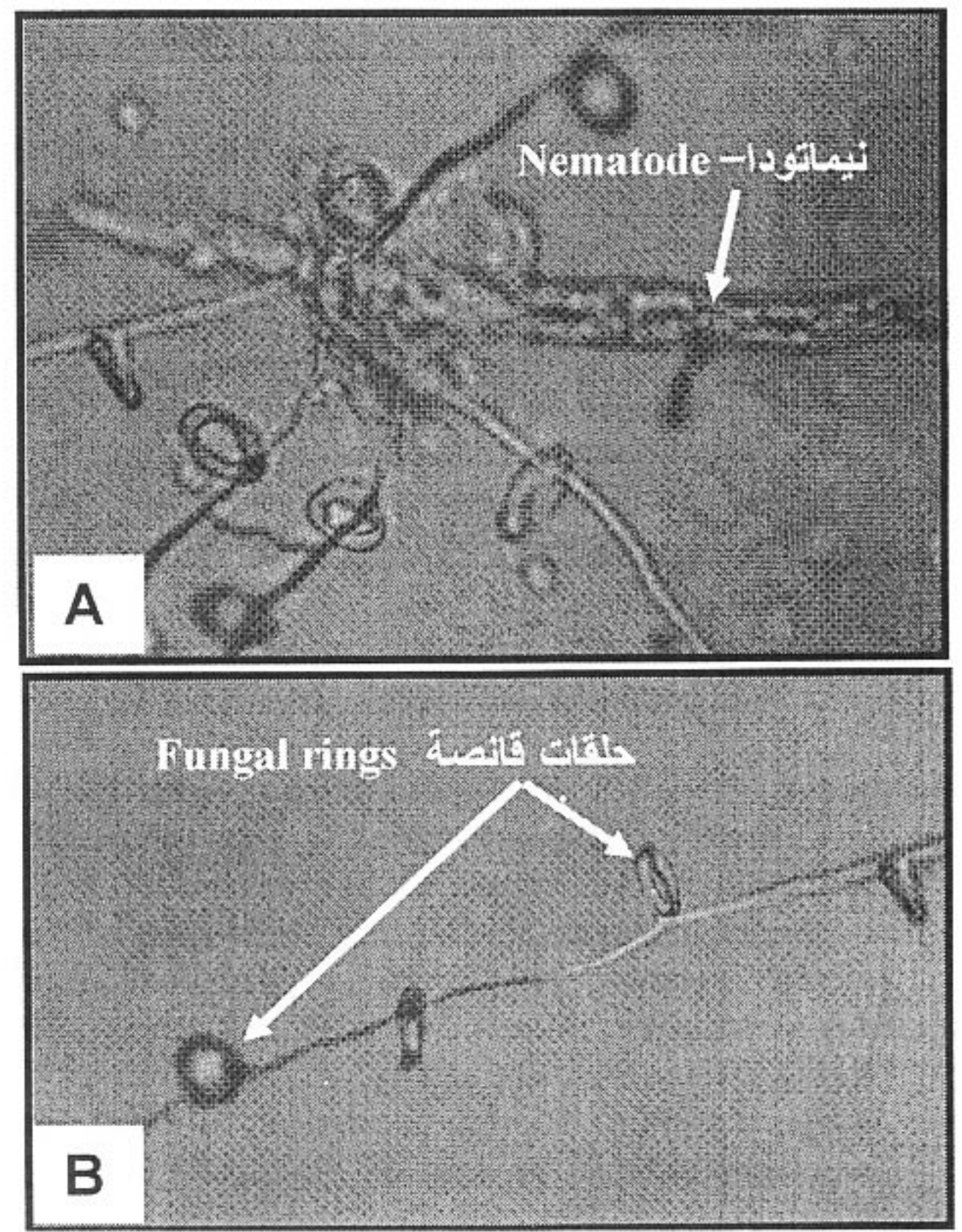
فتشل حركتها بعد فترة قصيرة قبل افتراسها (1)، وبالتالي يعتبر هذا الفطر من الفطور القانصة للأطوار الحرة في التربة (4، 15، 17).



شكل 3. تكون أبواغ فطر *Arthrobotrys* sp. على الحامل الكونيدي.
Figure 3. Typical conidia and conidiophore of *Arthrobotrys* sp.

وتتوافق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة سابقة تفيد بأن فطر *V. chlamydosporium* Goddard من الفطور المتطفلة على أطوار البيض والإناث لعدة أجناس من الـنيماتودا الممرضة للنبات (5، 11، 13). ويعتبر نفس الفطر عامل مكافحة إحيائية ضد الـنيماتودا المتطفلة على النبات وخاصة تلك الأنواع التي تضع بيضها داخل أكياس أو حوصلات، ويقلل من كثافة الـنيماتودا في التربة تحت الظروف الحقلية (11، 13).

تؤكد نتائج هذه الدراسة كفاءة بعض المعزولات الفطرية الموجودة في التربة الزراعية في ليبيا كعوامل مكافحة إحيائية تعمل على تقليل كثافة عشائر الـنيماتودا تحت الظروف الطبيعية. وتعتبر نتائج هذا البحث دراسة مبدئية تساهم في استخدام المكافحة الإحيائية تحت الظروف الليبية خصوصاً بعدما تأكد وجود تلك العوامل المفيدة في التربة المحلية. ولذلك فإن دراسة إمكانية استعمالها كعوامل مكافحة إحيائية وخاصة تحت نظام الزراعة المحمية يُعد مساهمة في إيجاد بدائل للمكافحة الكيميائية التي تستخدم بشكل غير مقنن تحت نظام الزراعة المحمية مما يؤثر سلباً في صحة الإنسان وتلوث البيئة. إن استخدام عوامل المكافحة الإحيائية ضمن برامج المكافحة المتكاملة قد يقلل من الاعتماد على استخدام المبيدات الكيميائية للحد من مخاطرها على صحة الإنسان والبيئة، خاصة وأن هذه الفطور يمكن تميمتها على بيئات مغذية سهلة التحضير.



شكل 2. حلقات قانصة لفطر *Arthrobotrys* sp. قابضة على طور الحدث الثاني (J_2) لنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* (A) وتكون حلقات على خيط الفطر (B).

Figure 2. Ring of *Arthrobotrys* sp. trapping second stage juveniles (J_2) of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (A) and ring formation on a single hypha (B).

ويمكن أن تعزى قدرة الفطر *P. variotii* على منع فقس بيض نيماتودا تعقد الجذور إلى نمو الخيوط الفطرية التي تهاجم الجنين داخل البيضة كما يحدث في فطر *P. lilacinus* (Thom) Samson (9، 10) أو إفرازه بعض السموم الفطرية التي تثبط أو تمنع نمو الكائنات الدقيقة (16). ويعتبر فطر *P. lilacinus* من أفضل عوامل المكافحة الإحيائية ضد العديد من أجناس الـنيماتودا المتطفلة على النبات وخاصة نيماتودا تعقد الجذور. فقد ذكر Jatala (11) بأن هذا الفطر يتطفل على بيض نيماتودا تعقد الجذور ويهلك الجنين داخل البيضة في غضون 5 أيام تحت الظروف المخبرية. وتجدر الإشارة إلى أن هذا الفطر ينتج الآن بكميات كبيرة ويستعمل كعامل مكافحة إحيائية ضد نيماتودا تعقد الجذور وأعطى نتائج مشجعة تعادل أو تفوق استخدام المبيدات الخاصة بمكافحة الـنيماتودا (8).

بالرغم من نمو فطر *Arthrobotrys* sp. على أكياس بيض نيماتودا تعقد الجذور، إلا أنه لم يكن له تأثير معنوي في منع فقس البيض مقارنة بمعاملات الفطور الأخرى المستخدمة في هذه الدراسة ولم يختلف معنوياً مع معاملة الشاهد. وبالمقابل فقد لوحظ أن للفطر قدرة عالية على تكوين حلقات تقتنص الأطوار المتحركة أو الطور اليرقي الثاني (J_2) بعد الفقس

Abstract

Ghazala, S.M., O.B. Ghashira, S.E. El-Sharif and K.H. Dabaj. 2004. Inhibitory effect of some fungal isolates on egg hatching of root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. Arab J. Pl. Prot. 22: 132-135.

The effect of *Arthrobotrys* sp., *Fusarium oxysporum*, *Paecilomyces variotii*, *Verticillium* sp. on egg hatching inhibition of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* was tested under laboratory conditions. Results indicated that fungal isolates of *Fusarium oxysporum*, *Paecilomyces variotii* and *Verticillium* sp. significantly inhibited egg-hatching of egg-mass of root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita* compared with the control. Although, *Arthrobotrys* sp. was not inhibitory to egg hatching, but formed trap rings that captured second stage juveniles after hatching. The results confirmed that these fungal isolates could act as biological control agents in agricultural soils under natural conditions.

Key words: Fungal isolates, Root-knot nematodes, Libya.

Corresponding author: S.M. Ghazala, Plant Protection Department Faculty of Agriculture, El-Fateh University, Tripoli, Libya, e-mail: dabajhk@yahoo.com

References

المراجع

1. الحازمي، أحمد سعد. 1992. مقدمة في نيماتولوجيا النبات. مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية. 326 صفحة.
2. دعجاج، خليفة حسين وصالح الهادي الشريف. 1997. عزل وتعريف أولي لبعض عوامل مكافحة الحويوة للنيماتودا المتطفلة على النبات تحت الظروف الحقلية في ليبيا. المؤتمر العربي السادس لعلوم وقاية النبات، 27-31 تشرين الأول/أكتوبر، بيروت، لبنان.
3. Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological control of plant pathogens. H.W. Free Man and Company, Sanfrancisco. 433 pp.
4. Boag, B. and W.M. Robertson. 1988. The sensitivity of the nematophagous fungi for plant parasitic nematodes. Journal of Nematology, 20(4): 629.
5. Brown, R. H. and B.R. Kerry. 1987. Principles and practice of nematodes control in crops. Academic press. Sydney, Orlando, San Diego, New York, London, Montreal, Tokyo, Toronto. 447 pp.
6. Cauquil, J. and R.L. Shepherd. 1970. Effect of root knot nematode-fungi combinations on cotton seedling disease. Phytopathology, 60: 448-451.
7. Dabaj, K.H. 1981. Studies on root knot nematodes on certain vegetable crops in the western region of the Libyan Jamahirya. M.Sc. Thesis, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Al-Fateh University, Libya. 63 pp.
8. David, R.G. 1988. Nematodes problems affecting agricultures in the Philippines. Journal of Nematology, 20 (2): 214-218.
9. Jatala, P. 1982. Biological control with the fungus *Paecilomyces lilacinus*. Pages. 183-187. In: Proceeding of the third research planning conference on root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. September 13-17, 1982. A Cooperative Publication of the North Carolina State University Department of Plant Pathology.
10. Jatala, P. 1982. Biological control with the fungus *Paecilomyces lilacinus* Progress to date and possibilities for collaborative research between CIP and IMP collaborators. Pages 214-216. In: Proceeding of the third research planning conference on root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. March 22-26, 1982. Region 2, Raleigh, North Carolina State University.
11. Jatala, P. 1986. Biological control of plant parasitic nematodes Annual Review of Phytopathology, 55:100-102.
12. Meyer, S.L., R.H. Huettel and R.M. Sayre. 1990. Isolation of fungi from *Heterodera glycines* and bioassay for their antagonism to eggs. Journal of Nematology, 22 (4): 532-537.
13. Mousa, E.M., A.M. Basiony and M.E. Mahdy. 1995. Control of *Meloidogyne javanica* by *Verticillium chlamydosporium* on tomato. Afro-Asian Journal of Nematology, 5(1): 113-115.
14. Samota, D., M. Ivezic, Z. Milakovic and M. Todorovic. 1988. Dynamics of nemato fauna and microflora in vineyards as possibilities of biological control of plant parasitic nematodes. Zastita-bilja, 39(184): 159-170.
15. Sasser, J.N. 1987. A perspective on nematode problems worldwide. Pages 1-12. In: Nematode parasitic to cereals and legumes in temperate semi-arid regions. M.C. Saxena, R.A. Sikora and J.P. Srivastava (Editors). Proceeding of a workshop, Larnaca, Cyprus, March 1-5, 1987. ICARDA, Aleppo, Syria.
16. Sayer, R.M. 1980. Promising organisms for biological control of nematodes. Plant Disease, 64(6): 527-532.
17. Timper, P. and B.B. Brodee. 1993. Infection of *Pratylenchus penetrans* by nematode pathogenic fungi. Journal of Nematology, 25(2): 297-302.

Received: October 12, 2003; Accepted: August 21, 2004

تاريخ الاستلام: 2003/10/12؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2004/8/21