المكافحة الحيوية لمرض لفحة البامياء الذي يسببه الفطر *Rhizoctonia solani* بوساطة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* spp.

عوض محمد عبد الرحيم وأمل عبد الكريم ابو سريه
قسم النبات والميكروبيولوجي ـ كلية العلوم
جامعة الكويت ـ ص.ب 5969 الخالدية
رمز بريدي 13060 ـ الصفاة
الكويت

الملخص

عبد الرحيم، عوض محمد وأمل عبد الكريم ابو سرية. 1989. المكافحة الحيوية لمرض لفحة البامياء الذي يسببه الفطر *Rhizoctonia solani* بوساطة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* spp. مجلة وقاية النبات العربية 7: 167 ـ 171.

هدفت هذه الدراسة إلى اختبار كفاءة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* spp. في المكافحة الحيوية لمرض لفحة البامياء في الكويت الذي يسببه الفطر *Rhizoctonia solani*. أوضحت نتائج دراسة التضاد بين أنواع الفطر *Trichoderma* والفطر الممرض لبادرات البامياء بعد نموهما سوياً على المستنبت الغذائي أن عزلات الفطر *T. harzianum* وبعض عزلات الفطر *T. koningi* قد أوقفت نمو الممرض وقضت عليه تماماً. كما أظهرت نتائج دراسة سمية رشاحة الفطور المختبرة على نمو الممرض، أن لرشاحة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* القدرة على تثبيط نمو الممرض عند إضافتها إلى المستنبت الغذائي.

وقد جرى في هذا البحث أيضاً اختبار كفاءة الفطور المضادة في مكافحة مرض لفحة البامياء تحت ظروف الدفيئة الزجاجية، وقد أوضحت النتائج أن عزلات الفطر *T. harzianum* وبعض عزلات الفطر *T. koningi* استطاعت التقليل من نسبة إصابة بادرات البامياء بالفطر *R. solani* وان استعمال تركيزات عالية من اللقاح المعدي للفطر *T. harzianum* قلل كثيراً من نسبة الاصابة مقارنة بالتركيزات المنخفضة.

كلمات مفتاحية: مكافحة حيوية، لفحة، بامياء، الكويت.

المقدمة

يعد الفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn من فطور التربة الواسعة الانتشار في العالم ويصيب عدة مضيفات نباتية مسبباً لبادراتها أمراض ذبول وموت مفاجيء (1، 8، 13). وكان ميرزا (10) قد أشار إلى أن مرض لفحة البامياء الذي سجل في الكويت يسببه الفطر المذكور.

يعتبر التبخير بمادة بروميد الميثيل من أكثر الطرائق شيوعاً لمكافحة فطور التربة. وعلى الرغم من الفعالية الجيدة التي تتسم بها هذه المادة إلا أن لها تأثيرات ضارة كثيرة، منها أن بقاياها قد تكون سامة لبعض النباتات (Phytotoxic) وقد تتجمع في أوراق نباتات الخضر التي يستهلكها الانسان (6، 12) إضافة إلى سرعة إعادة تلوث التربة بالفطور الممرضة بعد معاملتها بهذه المادة (4). وقد أظهرت دراسات عديدة أن لمعظم المبيدات تأثيرات ضارة على صحة الإنسان والأحياء الأخرى، وهي من أهم عوامل تلوث البيئة.

لكل ما تقدم يتركز اهتمام الباحثين في الوقت الراهن على إيجاد طرائق بديلة لمكافحة أمراض النبات. وسوف يكون للمكافحة الحيوية دور كبير في المستقبل القريب(4، 7، 9). ونجد في المراجع حالياً عدد من البحوث التي توضح أهمية الفطر *Trichoderma harzianum* في مكافحة بعض الأمراض النباتية حيوياً (3، 11).

تهدف الدراسة الحالية إلى اختبار كفاءة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* في المكافحة الحيوية للفطر *R. solani* المسبب لمرض لفحة بادرات البامياء في الكويت.

مواد وطرائق البحث

1. الكائنات الحية الدقيقة: تم الحصول على عزلة من فطر *R. solani* ممرضة لنبات البامياء بعزلها بدءاً من نباتات مصابة وأمكن الحصول على عزلة الفطر *T. harzianum* من مختبر أمراض النبات، أما عزلات الفطر *T. koningi* و *T. viride* فقد استقدمت من وحدة الاستنبات الميكروبي بقسم النبات

والميكروبيولوجي، جامعة الكويت. ونمّيت جميع هذه الفطور على مستنبت مستخلص البطاطا والدكستروز والآجار (PDA).

2. دراسة التضاد: جرى اختبار أنواع الفطر *Trichoderma* spp. كعوامل مكافحة حيوية لفطر *R. solani* بدراسة التضاد بينهما مختبرياً. وقد تم ذلك بوضع قرص بقطر 5 مم يحمل نموات احدى الفطور المختبرة على مسافة 3 سم من قرص مماثل يحمل نمو الفطر الممرض على سطح مستنبت (PDA) مصبوب في طبق بتري، وبواقع ثلاثة مكررات لكل فطر. اخذت النتائج بعد 5، 10، 15 يوماً من تحضين الأطباق على 25° م باتباع سلم تقييس خماسي (شريف وزملاؤه (11)) وفقاً لما يلي:

1 ـ نموات الفطر المختبر تغطي كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو.
2 ـ نموات الفطر المختبر تغطي ثلثي مساحة الطبق وتغطي نموات الممرض الثلث الباقي.
3 ـ نموات الفطر المختبر تغطي نصف مساحة الطبق ونموات الممرض تغطي النصف الآخر.
4 ـ نموات الفطر المختبر تغطي ثلث مساحة الطبق بينما تغطي نموات الممرض الثلثين الآخرين.
5 ـ الفطر المختبر غير نام وتغطي نموات الممرض كامل مساحة الطبق.

3 ـ دراسة تأثير المواد السامة على الفطر الممرض: لدراسة تأثيرات المواد السامة التي تفرزها أنواع الفطر *Trichoderma* spp. على نمو الفطر الممرض تم وضع 50 مل من مستنبت البطاطا والدكستروز السائل (PDB) في دوارق سعة 250 مل، وجرى إلقاح الدوارق بالفطور المختبرة ثم حضنت لمدة 14 يوماً على درجة حرارة 25 م رشحت المزرعة بعدها على ورق ترشيح وقسمت رشاحة كل فطر إلى قسمين: قسم تم تعقيمه بوساطة أغشية ترشيح خاصة (0.22 م) وعُقم القسم الآخر داخل معقمة (Autoclave) على درجة حرارة 121 م وضغط 15 رطل/ بوصة 2 لمدة 15 دقيقة. أضيف كل جزء على حدة بنسبة 15% إلى مستنبت البطاطا والدكستروز والآجار وهو سائل على درجة 45 - 60 م والذي تم توزيعه في أطباق بتري، وبعد تصلب المستنبت تم وضع قرص من نمو الفطر الممرض قطره 5 مم في منتصف كل طبق، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 25 م. تم حساب تأثير المواد السامة على نمو الفطر الممرض بقياس قطر نمو هذا الأخير بعد 48 ساعة.

4 ـ مكافحة المرض: للحصول على اللقاح نمي الفطر الممرض على مستنبت الآجار المائي (W.A.) لمدة يومين ثم نقل النمو إلى المستنبت الغذائي السائب باتباع طريقة Henis، Ben-Yephet (5) وجُمع النمو باستعمال أوراق ترشيح ثم أُضيف الغزل الميسيليومي إلى تربة زراعية معقمة حرارياً بنسبة 2 غ غزل فطري/ كغ تربة. نميت الفطور المختبرة لمدة 14 يوماً على مستنبت غذائي مكون من خليط من قش نباتات قمح ونخالة حبوب قمح وتربة زراعية بنسبة (1:1:1) بعد تعقيمه بالحرارة الرطبة، داخل معقمه، على درجة حرارة 121 م وضغط 15 رطل/ بوصة 2 ولمرتين متتاليتين، ثم أضيف الوسط الغذائي الحاوي على الفطور المختبرة إلى تربة معاملة بالفطر الممرض كما ذكر أعلاه، بنسبة 15 غ/ 3 كغ (11) ولم تجر هذه الاضافة لمعاملة المقارنة. وُزعت التربة على أحواض بلاستيكية معقمة أبعادها 10 × 25 × 40 سم ثم زرعت الأحواض بـ 15 بذرة بامياء هجين صنف (2 - 4 - 1 - 10 Ku) وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة وتم ريّها بالماء وجرت متابعتها يومياً لحساب عدد البادرات المصابة تحت ظروف الدفيئة الزجاجية (على درجة حرارة 28 - 25 م) وتم تقويم شدة الاصابة باستخدام سلم تقييس خماسي (0 - 4).

0 = النباتات سليمة بدون إصابة
4 = شديد الاصابة.

لدراسة تأثير التركيزات المختلفة من لقاح الفطور المضادة *T. harzianum* و *T. viride* على الكائن الممرض نميّ الفطران على المستنبت الغذائي المذكور أعلاه وأضيفا إلى التربة الملوثة بالممرض بتركيزات مختلفة تراوحت بين 2 - 10 غ/ كغ. بعد ذلك وزعت التربة المعاملة على أحواض بلاستيكية معقمة وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز، وزرعت الأحواض ببذور البامياء، وسقيت بالماء، وجرت متابعتها يومياً لحساب نسبة البادرات المصابة تحت ظروف الدفيئة الزجاجية.

النتائج والمناقشة

يوضح الجدول 1 أن درجة التضاد بين الفطر الممرض وكل من الفطرين *T. harzianum* و *T. koningi* كانت 2 أو أقل بعد خمسة أيام من التحضين وهي درجة تضادّ عالية، أما باقي أنواع الفطور المختبرة فقد أعطت درجات أكبر. أما بعد 10 و 15 يوماً من التحضين، فقد أعطت كل الفطور درجة تضاد 2 أو أقل ما عدا الفطرين *Trichoderma viride* و *Trichoderma* sp. (WFI). ويلاحظ من النتائج تفوق عزلات الفطر *T. harzianum* على بقية العزلات المختبرة وهذا يتطابق مع ما أشار إليه بعض الباحثين (2، 11). كما يوضح الجدول 2، أن كل أنواع الفطور المختبرة أفرزت مواداً سامة للفطر الممرض. وقد لوحظ أن تعقيم الرشاحة حرارياً بوساطة المعقمة يثبط فاعلية الرشاحة، كما لوحظ أن فاعلية المواد السامة تنخفض بصورة كبيرة عند حضن الاطباق لأكثر من يومين. وقد دوّن شريف وآخرون (11) ملاحظات مماثلة دعتهم يستنتجون أن فعل المواد السامة لا

جدول 1. فئات التضاد بين فطور المكافحة الحيوية والفطر *R. solani* فوق المستنبتات على درجة 28 م.

Table 1. Class of antagonism *(in vitro)* of the biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* on culture media at 28°C.

عوامل المكافحة الحيوية The biocontrol agents	فئات التضاد (1 - 5) بعد Class of antagonism (1 - 5) after		
	5 أيام 5 days	10 أيام 10 days	15 يوماً 15 days
Trichoderma harzianum WF	1.1	1.4	1.8
T. harzianum PPc 83.011	2.0	1.9	1.9
T. koningi Kcc 83.010	1.2	1.5	2.0
T. koningi PPc 83.023	1.4	1.6	1.9
T. koningi PPc 86.025	2.3	2.5	2.9
T. viride Kcc 81.025	2.5	2.9	3.9
T. viride Kcc 82.071	2.2	2.9	3.1
T. viride Kcc 82.087	2.1	2.6	2.9
Trichoderma sp. (Wafra)	2.9	3.1	3.6

جدول 2. تأثير رشاحة فطور المكافحة الحيوية على نمو الفطر *R. solani* بعد يومين من الالقاح.

Table 2. Effect of the culture filtrates of the biocontrol agents on growth of *R. solani* two days after inoculation.

عوامل المكافحة الحيوية The biocontrol agents	التأثير على نمو الفطر الممرض[أ] Effect on pathogen growth[a]	
	رشاحة معقمة بورق ترشيح خاص Filter-sterilized filtrate	رشاحة معقمة بالحرارة Autoclaved filtrate
Trichoderma harzianum WF	+++	–
T. harzianum PPc 83.011	+++	–
T. koningi Kcc 83.010	+++	–
T. koningi PPc 83.023	++	–
T. koningi PPc 86.025	++	–
T. viride Kcc 81.025	++	–
T. viride Kcc 82.071	+	–
T. viride Kcc 82.087	+	–
Trichoderma sp. (Wafra)	+	–
المقارنة Control	–	–

أ) درجة التأثير على النمو:
+++ شديد التأثير، ++ متوسط التأثير، + ضعيف التأثير، – لا يوجد أي تأثير
a) Effect on pathogen growth:
+ + + = growth strongly affected; + + = moderately affected; + = weakly affected and – = growth not affected.

جدول 3. تأثير فطور المكافحة الحيوية على شدة المرض الذي يسببه الفطر *R. solani* ونسبة إصابة بادرات الباميا به.

Table 3. Effect of the biocontrol agents on disease severity caused by *R. solani* and percentage of infection to okra seedlings.

عوامل المكافحة الحيوية The biocontrol agents	شدة المرض Disease severity	نسبة الاصابة% % Disease infection
Trichoderma harzianum WF	0.41	36.5
T. harzianum PPc 83.011	0.50	33.9
T. koningi Kcc 83.010	0.96	48.1
T. koningi PPc 83.023	1.20	50.5
T. koningi	1.60	70.5
T. viride Kcc 81.025	2.00	69.2
T.viride Kcc 82.071	2.12	72.3
T. viride Kcc 82.087	3.14	80.5
Trichoderma sp. (Wafra)	4.02	83.3
المقارنة Control	5.00	89.5

يفسر كيفية التضاد نظراً لأنّ الفاعلية تقل بدرجة كبيرة مع الوقت.

تشير نتائج هذه الدراسة إلى مقدرة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* على مكافحة مرض ذبول الباميا الذي يسببه الفطر *R. solani* حيوياً. وقد اختلفت كفاءة العزلات المختلفة من الفطر المضاد، سواء من حيث تأثيرها على النسبة المئوية للبادرات المصابة، أو على شدة المرض في البادرات المصابة (جدول 3). وقد بينت النتائج تفوق عزلات الفطر *T. harzianum* معنوياً على العزلات الأخرى في مكافحة المرض، وهذا يتفق مع ما توصل إليه نخبة من الباحثين في مناطق مختلفة من العالم (12, 11, 9, 4, 3).

يوضح الشكل 1 أن تركيز اللقاح المعدي للفطر *T. harzianum* يؤثر على درجة مكافحته حيوياً للمرض، وأن التركيزات العالية منه قللت كثيراً من نسبة إصابة الباميا بالممرض بينما لم تؤثر التركيزات العالية من الفطر *T. viride* على نسبة الاصابة بطريقة مماثلة، وقد توصل Elad وآخرون (2) إلى نتائج مماثلة عند دراستهم للمكافحة الحيوية للفطر *Sclerotium rolfsii*.

شكر وتقدير

جرى تمويل هذا البحث بوساطة وحدة الأبحاث، جامعة الكويت، مشروع البحث رقم SO 036.

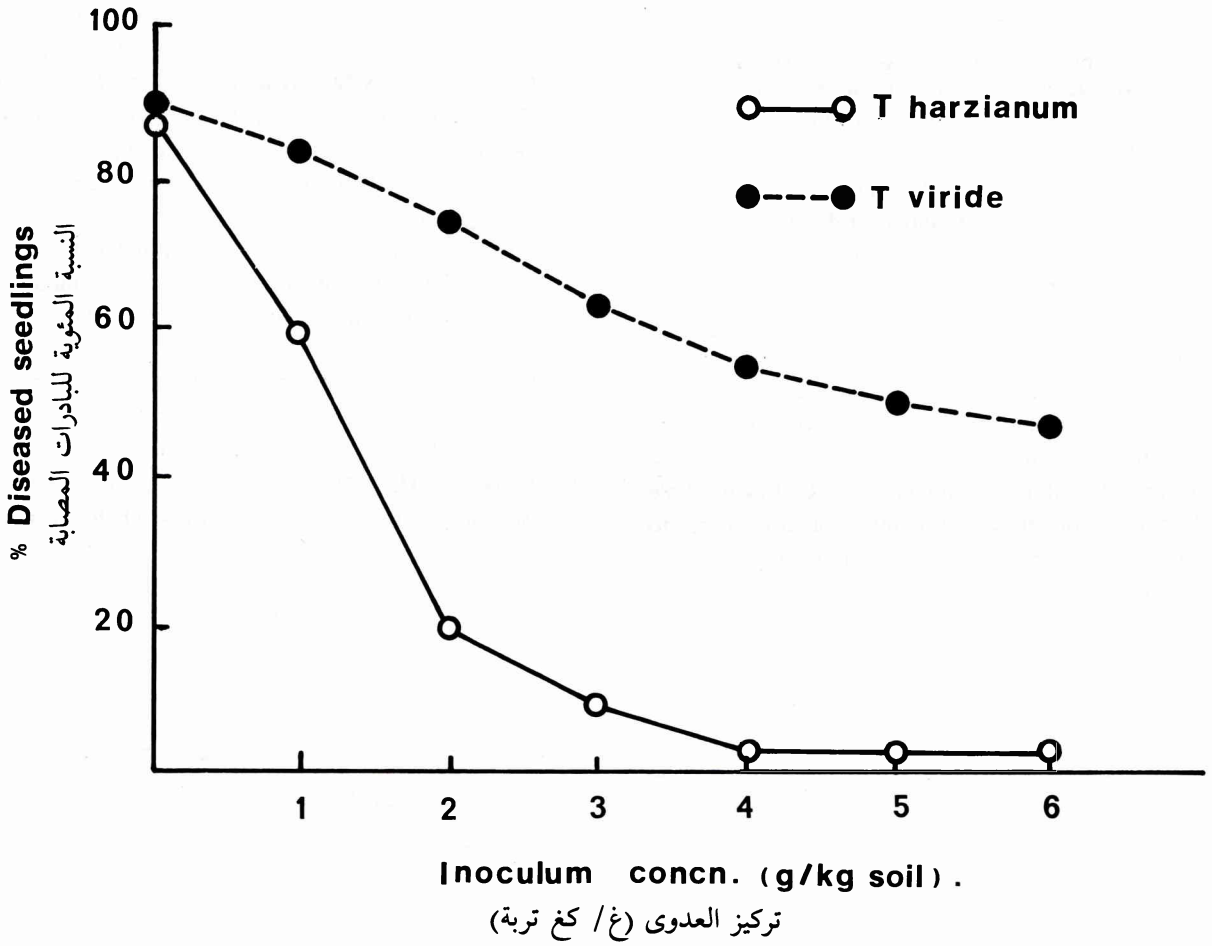

Figure 1. Effect of inoculum concentration of the biocontrol fungi on the incidence of seedling blight of okra caused by *R. solani.*

شكل 1. تأثير تركيز لقاح فطور المكافحة الحيوية على نسبة إصابة بادرات الباميا بمرض اللفحة الذي يسببه الفطر *R. solani*

Abstract

Abdel-Rahim,A.M.and A.A. Abu-Surrieh. 1989. Biological control of *Rhizoctonia solani* the causal agent of seedling blight in Okra. Arab J. Pl. Prot. 7:167 - 171.

The present study has been undertaken to determine the efficacy of some *Trichoderma* spp. for the biological control of *Rhizoctonia solani,* the causal organism of seedling blight of okra, in Kuwait. In vitro studies showed that isolates of *Trichoderma harzianum* and some isolates of *T. koningi,* were highly antagonistic to the pathogen when grown together in culture plates. Culture filtrate of these isolates were able to supress growth of *R. solani,* if incorporated in the medium. In the glasshouse experiments, isolates of *Trichoderma harzianum* and some isolates of *T. koningi* proved to be effective in controlling the disease caused by *R. solani* on okra plants. However, isolates of *T. viride* were less effective in controlling the disease. Increasing inoculum concentrations of *T. harzianum* decreased the incidence of the disease, as compared to *T. viride.*

Key words: biological control, wilting, okra, Kuwait.

References

المراجع

1. Anderson, N.A. 1977. Evaluation of the *Rhizoctonia* complex in relation to seedling blight of flax. Plant Dis. Rep. 6: 111 - 112.
2. Bell, D.K., H.D. Wells and C.R. Markham. 1982. The *in vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72: 379 - 382.
3. Cook, R.J. and K.F. Baker. 1983. **The nature and practice of biological control of plant pathogens.** The Amer, Phytopath. Soc. 539 pp.
4. Elad, Y., I. Chet and J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium*

rolfsii and *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70: 119 - - 121.

5. Henis, Y. and Y. Ben-Yephet. 1970. Effect of propagule size of *Rhizoctonia solani* on saprophytic growth, infectivity and virulence on bean seedlings.Phytopathology62: 1351 - 1356.
6. Hoffman, G.M. and H.P. Malkonnes. 1979. The fact of fumigant In: **Soil Disinfestation** (Ed. by D. Mulder). Elsevier, Amsterdam. pp 291 - 335.
7. Howell, C.R. 1982. Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* and dampping-off of cotton seedlings. Phytopathology 72: 496 - 498.
8. Jones, R.W. and R.E. Pettit. 1987. Variation in sensitivity among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* to the antibiotic gliotoxin. Plant Disease 71: 34 - 36.
9. Lifshitz, R., M.T. Windham and R. Baker. 1986. Mechanism of biological control of pre-emergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. Phytopathology 76: 720 - 725.
10. Mirza, G.H. 1984. A study of fungal diseases of crop plants in Kuwait. A report submitted to the Research Unit, Univ. of Kuwait for Project No. SO 009.
11. Sharif, F.M., A.M. Okasha and K.T. Kasem. 1988. *Penicillium stiptatum* and *Trichoderma harzianum* in the biological control of cucumber damping-off disease caused by *Pythium aphanidermatum*. J. Univ. Kuwait (Sci). 15: 107 - 114.
12. Strashinow, Y., Y. Elad, A. Sivan and I. Chet. 1985. Integrated control of *Rhizoctonia solani* by methyl bromide and *Trichoderma harzianum*. Plant Pathology 34: 146 - 151.
13. Sunner, D.R. and D.K. Bell. 1980. Root diseases of corn caused by *Rhizoctonia zeae* (Abstr.) Phytopathology 70:572.
14. Vigodsky, H. 1970. Methyl bromide and PCHB for *Sclerotium* crown rot control in iris. Phytoparasitica 4: 202 - 205.