

دراسة القدرة التضادية في المختبر لبعض أنواع *Trichoderma spp.* إزاء بعض عزلات الفطر *Fusarium spp.* المسبب لمرض الجرب على سنابل القمح

هدى بورعدة ورشيدة رنان

قسم علم النبات، المعهد الوطني للعلوم الفلاحية، الحراش، الجزائر العاصمة، الجزائر، البريد الإلكتروني: hou.bourehda@gmail.com

المخلص

بورعدة، هدى ورشيدة رنان. 2011. دراسة القدرة التضادية في المختبر لبعض أنواع *Trichoderma spp.* إزاء بعض عزلات الفطر *Fusarium spp.* المسبب لمرض الجرب على سنابل القمح. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 51-59.

يعد مرض جرب سنابل القمح (*Fusarium head scab*) أو لفحة السنابل الذي تسببه فطور تابعة للجنس *Fusarium* والنوع *Microdochium nivale* من المعوقات الرئيسية لإنتاج القمح في جميع أنحاء العالم. تمت في هذه الدراسة مواجهة عزلات تنتمي إلى ثلاثة أنواع من جنس *Trichoderma*: *T. longibrachiatum*، *T. harzianum* و *T. atroviride*. بعزلات من *Fusarium spp.* المسببة لمرض جرب سنابل القمح وهذه الأنواع هي: *F. moniliforme*، *F. solani*، *F. culmorum* و *F. avenaceum*. وتم تقويم القدرة التضادية لعزلات *Trichoderma* إزاء الفطور المسببة للمرض في المختبر وذلك من حيث تأثيرها في نمو الفطر الممرض في كل من المواجهة المباشرة وغير المباشرة (تحت تأثير المواد المتطايرة المضادة للفطور) وأيضاً من خلال الكشف عن المواد المضادة للفطور غير المتطايرة، بدراسة أثر معلق راشح الزراعة السائلة في نمو الفطر الممرض. في المواجهة المباشرة، تم تسجيل نسب تثبيط للنمو تراوحت ما بين 12 و 92% تجاه الأنواع الأربعة المختبرة، كما سجلت أعلى نسبة لتثبيط النمو (92%) عند الفطر *F. solani* عند مواجهته مع العزلة TL.9 المنتمية للنوع *T. longibrachiatum*. أما في المواجهة غير المباشرة، فقد تراوحت نسب تثبيط النمو ما بين 4 و 81%، وكانت أعلى نسبة للتثبيط (81%) للعزلة Th.15 المنتمية للنوع *T. harzianum* ضد *F. solani*. أفضى تقويم أثر معلق راشح المزارع السائلة في نمو الفطور الممرضة إلى تسجيل نسبة تثبيط للنمو تراوحت ما بين 52 و 90%، وكانت أكثر العزلات فعالية في تثبيط أنواع *Fusarium* هي العزلة Ta.13 المنتمية للنوع *T. atroviride*، والتي أحدثت نسبة تثبيط للنمو قدرتها 90% ضد الفطر *F. culmorum*.

كلمات مفتاحية: مكافحة حيوية، *Trichoderma spp.*، جرب السنابل، القمح.

المقدمة

من حيث المردود ونوعية الحبوب وتلوثها بالسموم الفطرية. وقد أشير إلى أن للعوامل البيئية (مثل درجة الحرارة، الأمطار والرطوبة) أثر هام في حدوث الإصابة وتفاقم المرض. إذ تسهم بدور كبير في إنتاج اللقاح المعدي وتوزيعه، وإحداث العدوى على السنابل وقاعدة الساق، كما تكون سنابل القمح أكثر عرضة للإصابة بالمرض في مرحلة الإزهار (3، 34)، لتصل إلى الحالة الباثية الخطيرة في المواسم التي يكون فيها متوسط درجات الحرارة والهطل المطري فوق المعدل في مرحلة الإزهار (12، 30). يتكون، على السنبليات المصابة، في الطقس الرطب والحرار ميسيليوم وأبواغ وردية إلى حمراء اللون ومن تم تنتشر العدوى إلى السنبليات المجاورة أو إلى كامل السنابل، أما بالنسبة للبادرات المصابة باللفحة، فيبدو عليها تعفن بني أو لفحة، سواء قبل أو بعد ظهورها فوق سطح التربة، كما يبدو تعفن قاعدة الساق أو الجذور كتلون بني أو تعفن واضح لجزء من قاعدة النبات على مستوى سطح التربة أو على بعد مسافة منها. أما البذور الناتجة من سنابل مصابة فتبدو مجمعة مع نمو واضح للفطر عليها (2).

تسبب مرض جرب السنابل، والمعروف أيضاً باسم لفحة السنابل، أو لفحة الشتلات للقمح عادة مجموعة من الفطور: *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc (*Gibberella avenacea* R.J.Cooke)، *F. graminearum* (Schwabe) *Gibberella zea* (Shwein) Petch، *F. poae* (Peck)، *Fusarium culmorum* (W.G.Smith) و *Wollenweber Microdochium nivale* (Fr.) Samuels et Hallett (المعروف أيضاً باسم *Monographella nivalis* (Schaffnit) Mull.)، هذا المرض يكون عادة مسبقاً أو مصحوباً بلفحة البادرات أو تعفن قاعدة الساق والجذور (2)، محدثاً أضراراً فادحة لمحاصيل القمح والحبوب الأخرى. سجل هذا المرض في معظم مناطق إنتاج النجيليات في العالم، بما في ذلك كندا (10)، الولايات المتحدة (3)، روسيا (25) وأوروبا (30)، وهو من أهم الأمراض الضارة المسجلة على القمح في الجزائر (33) إلا أن خسائره لم تقدر حتى الآن. ولقد لاقى هذا المرض اهتماماً كبيراً في السنوات الأخيرة بسبب الآثار السلبية التي قد تترتب عن الإصابة به

تم عزل الفطور الممرضة من سنابل القمح الحاملة لأعراض الجرب، والتي تم جمعها في شهر نيسان/أبريل 2007 من حقول المحطة التجريبية التابعة للمعهد الوطني للمحاصيل الحقلية لواد السمار (الجزائر العاصمة)، والمعهد الوطني للعلوم الفلاحية بالحرش (الجزائر العاصمة)، وتم تحديد تلك الأنواع اعتماداً على الخصائص الشكلية (6، 24، 35) وتبين أنها تنتمي إلى الأنواع: *F. culmorum*، *F. avenaceum*، *F. solani* و *F. moniliforme* (جدول 2)، والتي تم تقييم قدرتها الامراضية في أعمال سابقة (31).

جدول 2. الفطور الممرضة المختبرة في هذه الدراسة من *Fusarium* spp.

Table 2. Pathogenic *Fusarium* spp. tested.

المنطقة Location	المصدر Source	أنواع الفطر <i>Fusarium</i> spp.
واد السمار Oued Smar	سنابل القمح الصلب، صنف (Vitron) Durum wheat spike	<i>F. avenaceum</i>
واد السمار Oued Smar	سنابل القمح الصلب، صنف (Vitron) Durum wheat spike	<i>F. culmorum</i>
المعهد الوطني للعلوم الفلاحية National Agronomic Institut	سنابل القمح الطري، صنف (Latino) Bread wheat Spikes	<i>F. moniliforme</i>
المعهد الوطني للعلوم الفلاحية National Agronomic Institut	سنابل القمح الطري، صنف (Latino) Bread wheat Spikes	<i>F. solani</i>

تأثير عزلات *Trichoderma* في نمو الفطر الممرض في حالة المواجهة المباشرة

لدراسة هذا التأثير استخدم قرصان بقطر 5 مم أحدهما من عزلة لفطر *Trichoderma* (بعمر 7 أيام) والثاني للفطر المسبب للمرض (بعمر 7 أيام) وزرعا في طبق بتري (9 سم) يحتوي على المستنبت الغذائي بطاطا دكستروز آجار (PDA). توضع القطعتان على الخط المنصف لكل طبق بتري وعلى بعد 5 سم عن بعضهما، وبواقع 4 مكررات لكل تفاعل ما بين الفطر الممرض وفطر المكافحة الحيوية (*Trichoderma*) بما في ذلك معاملة الشاهد الخاصة بالفطر الممرض. تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25°س لمدة 7 أيام (5) (شكل 1-أ). سجل تأثير عزلات *Trichoderma* في نمو مستعمرة الفطر الممرض ومدى غزوها لهذه الأخيرة، وكذا التبوغ عليها، وذلك مرة كل يومين. كما أخذت ملاحظات مجهرية من منطقة النقاء الفطرين من أجل توضيح أثر *Trichoderma* في ميسيليوم الفطر الممرض.

إن استعمال وسائل المكافحة الكيميائية أو الممارسات الزراعية هي في أغلب الأحيان غير مجدية أو غير ممكنة (27)، ويبقى استعمال الأصناف المقاومة من أكثر الوسائل نجاعة واقتصادية في تقليل الخسائر الناجمة عن هذا المرض (3)؛ إلا أن عدد أصناف القمح المقاومة للمرض (جرب السنابل) المتوفرة قليلة (11). وبما أن استعمال الطرائق المذكورة أعلاه يعطي فقط مكافحة جزئية، فقد أجريت عدة دراسات لعزل كائنات دقيقة ذات كفاءة في المكافحة الحيوية للمرض، وقد تم تعريف عديد من الفطور ذات قدرة تنافسية تجاه عزلات من *Fusarium* spp. (13، 22، 26). هدفت هذه الدراسة إلى تقويم النشاط التضادي في المختبر لعزلات تنتمي إلى الأنواع *T. atroviride* P.Karst.، *T. longibrachiatum* Rifai و *Trichoderma harzianum* Rifai إزاء أربع عزلات تابعة للجنس *Fusarium* المسببة لمرض جرب سنابل القمح.

مواد البحث وطرائقه

تم اختبار الكفاءة التضادية مخبرياً لخمسة عزلات من فطر *Trichoderma* spp. تنتمي إلى الأنواع الثلاثة (*Trichoderma harzianum*، *T. longibrachiatum* و *T. atroviride*) (جدول 1)، إزاء أربعة فطور ممرضة ومسببة للجرب على سنابل القمح. تم تحديد عزلات *Trichoderma* اعتماداً على الخصائص المورفولوجية والجزئية في دراسة سابقة (7).

جدول 1. عزلات أنواع الفطر *Trichoderma* المختبرة في هذه الدراسة، والمجموعة من المعهد التقني للمحاصيل الحقلية واد السمار (الجزائر العاصمة).

Table1. Tested *Trichoderma* species isolates collected from Technical Institute for Field Crops-Oued Smar (Algiers).

المصدر Source	أنواع <i>Trichoderma</i> <i>Trichoderma</i> species	رمز العزلة Isolate code
التربة Soil	<i>T. atroviride</i> P. Karst.	Ta.7
بذور القمح Wheat Seed	<i>T. atroviride</i> P. Karst.	Ta.13
بذور القمح Wheat Seed	<i>T. harzianum</i> Rifai	Th.6
بذور القمح Wheat Seed	<i>T. harzianum</i> Rifai	Th.15
جو جذور نبات الحمص Chikpea rhizospher	<i>T. longibrachiatum</i> Rifai	TL.9

وسكب الوسط في أطباق بتري. وبعد تصلب الوسط المغذي وضع في وسط كل طبق قطعة أسطوانية (6 مم) من الفطر الممرض *Fusarium spp.* تم استخدام أربعة مكررات لمستخلص الزراعة السائلة لكل عزلة *Trichoderma* و *Fusarium spp.*، وحضنت أطباق بتري عند درجة حرارة 25 °س وبعد 6 أيام تم قياس نمو الفطر الممرض (14).

تم احتساب كفاءة عزلات *Trichoderma* في تثبيط نمو الفطر الممرض بالنسبة للتقنيات الثلاث المستعملة في هذه الدراسة اعتماداً على النسبة المئوية لتقليل النمو حسب المعادلة التالية (20):

$$I(\%) = (1 - \frac{S_0}{S}) \times 100$$

S = متوسط قطر مستعمرة الفطر للممرض بوجود الفطر التضادي
S₀ = متوسط قطر مستعمرة الشاهد.

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج STATISTICA version 6، وأخضعت الاختبارات لتحليل التباين لعامل واحد، أما الفروق بين المعاملات فقد تم مقارنتها بواسطة اختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمال 5%.

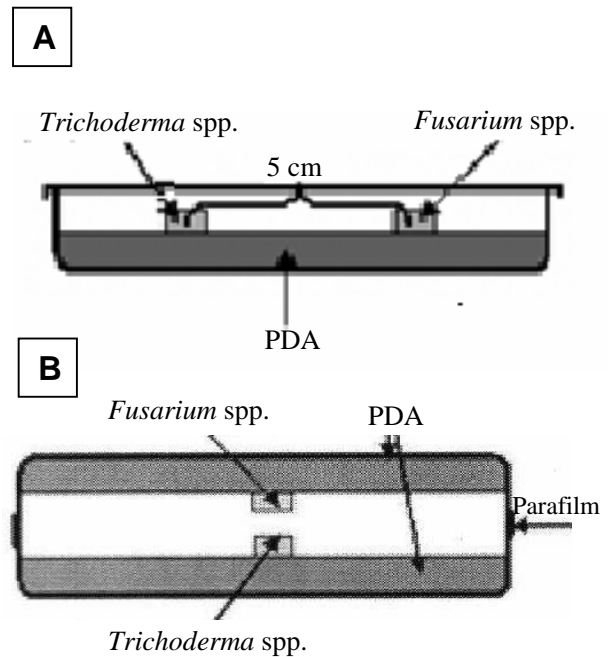
النتائج

أثر عزلات *Trichoderma spp.* في نمو عزلات *Fusarium spp.* في المواجهة المباشرة

بينت نتائج المواجهة المباشرة بين الفطر الممرض وفطر المكافحة الحيوية نمواً أسرع لعزلات *Trichoderma spp.* مقارنة مع عزلات *Fusarium spp.* فبعد مرور أربعة أيام من التحضين، غزت نموات فطر المكافحة الحيوية طبق بتري بينما لم تحتل عزلات *Fusarium spp.* سوى جزء بسيط من الطبق. كما تباينت عزلات *Trichoderma spp.* في درجة تأثيرها في أنواع *Fusarium spp.* المدروسة، فبعد سبعة أيام من المواجهة لوحظ أن العزلات Th.6، Th.15، والمنتمية للنوع *T. harzianum*، *T. longibrachiatum* (TL.9) و *T. atroviride* (Ta.13) قد غزت كامل مستعمرات الفطر الممرض *Fusarium spp.* وتبوغت فوقها، بينما لحظ بالنسبة للعزلة *T. atroviride* (Ta.3) غزو جزئي فقط مع وجود تبوغ شديد حول مستعمرة عزلات الفطر الممرض وذلك في منطقة التماس بين الفطرين. أما في حالة المواجهة بين *T. harzianum* (Th.6) وعزلات *F. avenaceum* و *F. culmorum* فقد لوحظ وجود تلون أصفر في منطقة التقاء الفطرين (الفطر الممرض وفطر المكافحة الحيوية) أحاط بمستعمرة

تأثير عزلات *Trichoderma* في نمو الفطر الممرض في حالة المواجهة غير المباشرة

زرعت قطعة أسطوانية (5 مم) من كل فطر على حدة في أطباق بتري تحتوي على وسط PDA ثم تواجه الفطور الممرضة مع فطور *Trichoderma* بإصاق الطبقتين وإغلاقهما بإحكام بوساطة بارافيلم وذلك لمنع تسرب المواد المتطايرة المضادة للفطور. وضع طبق بتري الذي يحوي *Trichoderma* في الأسفل والطبق الملقح بالفطر الممرض في الأعلى (شكل B-1)، وذلك في أربعة مكررات لكل مواجهة بين الفطر الممرض وفطر المكافحة الحيوية (*Trichoderma*) بما فيها معاملة الشاهد. حضنت أطباق بتري عند 25 °س لمدة 6 أيام، وتم أخذ قياسات النمو كل يومين (19).



شكل 1. المواجهة المباشرة (A) وغير المباشرة (B) بين *Trichoderma* و *Fusarium spp.* (19)

Figure 1. Direct (A) and indirect (B) interaction between mycelial growth of *Fusarium spp.* and *Trichoderma spp.*

تأثير رشاحة المستنبت السائل لعزلات *Trichoderma* في نمو الفطر الممرض

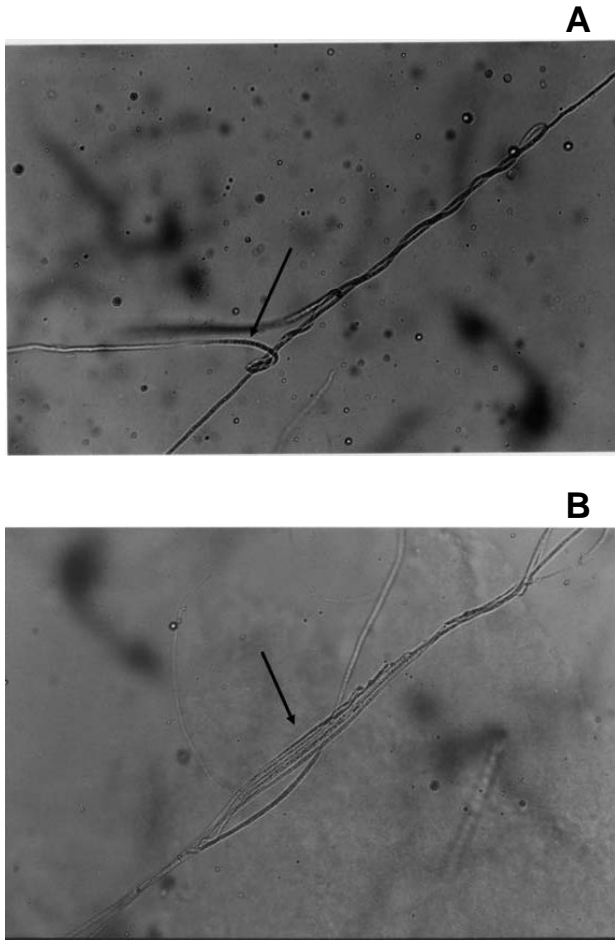
زرعت قطع أسطوانية (6 مم) من مزارع *Trichoderma* (بعمر 7 أيام) في دوارق سعتها 200 مل تحوي 100 مل من مرق البطاطا والديكستروز (PDB)، المعقم وبمعدل 4 قطع لكل 100 مل، وعرضت هذه الدوارق لدوران مستمر في المختبر لمدة 15 يوماً، ثم رشحت بعد ذلك بوساطة ورق ترشيح 0.22 ميكروميتر، ثم أضيفت 10 مل من راشح المزرعة إلى 90 مل من وسط PDA (40 °س)،

جدول 4. النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر الممرض في المواجهة المباشرة

Table 4. Growth inhibition rate of pathogenic fungi in direct confrontation with antagonistic fungi

عزلات وأنواع الفطور المضادة				
FS	FM	FC	FA*	<i>Trichoderma</i> isolates used
90	57	53	65	Ta.7 (<i>T. atroviride</i>)
69	46	42	66	Ta.13 (<i>T. atroviride</i>)
88	52	12	44	Th.6 (<i>T. harzianum</i>)
88	28	4	62	Th.15 (<i>T. harzianum</i>)
92	70	63	69	TL.9 (<i>T. longibrachiatum</i>)

* FA = *F. avenaceum*, FC = *F. culmorum*, FM= *F. moniliforme*, FS= *F. solani*



شكل 2. تغيرات ميسيليوم الفطر الممرض تحت تأثير عزل *Trichoderma* spp.: التفاف ميسيليوم *Trichoderma* حول ميسيليوم *Fusarium* spp. (A)، تحول ألياف الفطر الممرض إلى حبال في وجود *Trichoderma* spp. (B).

Figure 2. Changes in pathogenic fungus mycelium as affected by the antagonistic fungus *Trichoderma* spp.: (A) Wrapping of *Trichoderma* mycelium around the *Fusarium* mycelium, (B) Transformation of mycelium of the pathogenic fungus into ropes in the presence of *Trichoderma* spp.

الفطر الممرض. كما شوهدت منطقة تحلل قطرها 1 مم في منطقة التقاء عذلة T.a3 (*T. atroviride*) وعذلة *F. solani*.

بينت النتائج المتحصل عليها تبايناً في كفاءة عزلات *Trichoderma* spp. في تثبيط نمو عزلات أنواع الفطر الممرض *Fusarium* spp. بحيث تراوحت النسبة المئوية لتثبيط النمو بين 4 و 92%. ففي اليوم السابع من المواجهة، لوحظ انخفاض كبير في متوسط قطر مستعمرات عزلات *Fusarium* spp. الأربعة بوجود فطر المكافحة الحيوية مقارنة بالشاهد (جدول 3). وكان أكثرها فاعلية العذلة (TL.9) *T. longibrachiatum*، حيث كانت نسب تثبيط النمو 92% مع *F. solani*، 70% مع *F. moniliforme*، 69% مع *F. avenaceum* و 63% مع *F. culmorum*. وكان الفطر *F. solani* أكثر أنواع الفطر الممرض حساسية تجاه فطر المكافحة الحيوية بحيث سجلت في وجود فطور المكافحة الحيوية (*T. atroviride* (Ta.7)، *T. longibrachiatum* (TL.9)، *T. harzianum* (Th.6، Th.15)، *T. atroviride* (Ta.13)، *T. harzianum* (Th.6، Th.15)) التثبيط التالية على التوالي، 92%، 88%، 90% و 69% (جدول 4). وكشف الفحص المجهرى لمنطقة الالتقاء بين مستعمرات *Trichoderma* spp. و *Fusarium* spp. وجود تغيرات في ميسيليوم الفطر الممرض، تمثل في تحلل ميسيليوم الفطور الممرضة عند مواجهتها كل من مستعمرات Ta.6، Th.6، TL.9، و Ta.13، وتحول ميسيليوم الفطر الممرض إلى حبال خيطية إزاء Ta.7، Th.6، و Ta.13، والتفاف لميسيليوم *Trichoderma* spp. Ta.7، و Ta.13، Th.15. حول ميسيليوم *Fusarium* spp. (شكل 2).

جدول 3. متوسط قطر مستعمرات (مم) *Fusarium* spp. بعد 7 أيام من المواجهة المباشرة مع *Trichoderma* spp.

Table 3. Average diameter of *Fusarium* spp. colonies seven days after direct confrontation with *Trichoderma* spp.

متوسط قطر مستعمرات (مم)				
<i>Fusarium</i> spp.				
Average diameter of <i>Fusarium</i> spp. colonies				عزلات وأنواع الفطور المضادة
FS	FM	FC	FA*	<i>Trichoderma</i> isolates used
70 a	62 a	85 a	64 a	Control الشاهد
7 c	27 cd	40 d	23 c	Ta.7 (<i>T. atroviride</i>)
22 b	34 c	50 c	22 c	Ta.13 (<i>T. atroviride</i>)
9 c	30 c	75 b	36 b	Th.6 (<i>T. harzianum</i>)
9 c	45 b	82 a	25 c	Th.15 (<i>T. harzianum</i>)
6 c	19 e	32 e	20 c	TL.9 (<i>T. longibrachiatum</i>)

المتوسطات في نفس العامود المتنوعة بأحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05.

Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at P= 0.05.

* FA = *F. avenaceum*, FC = *F. culmorum*, FM= *F. moniliforme*, FS= *F. solani*

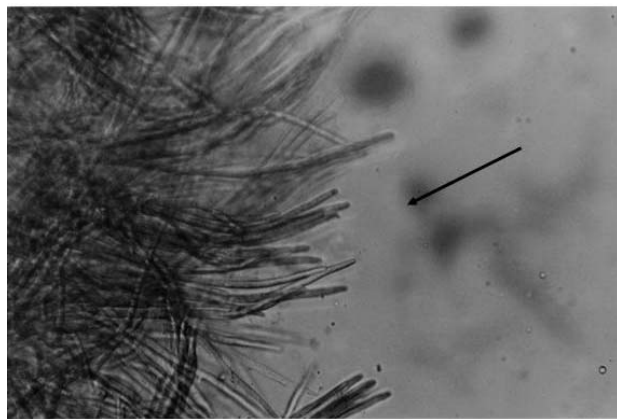
زراعة فطر المكافحة الحيوية في المستنبت الغذائي مقارنة بالشاهد (جدول 7). وتباين هذا الانخفاض تبعاً لعزلات *Trichoderma* spp. إذ سجلت أعلى نسبة لتثبيط النمو (90%) عند النوع *F. culmorum* تحت تأثير العزلة (Ta.13) *T. atroviride* وأدناها (52%) عند النوع نفسه لكن مع العزلة (T.a7) *T. atroviride* (جدول 8). أما بالنسبة لباقي أنواع الفطور الممرضة، فقد سجلت أعلى نسبة لتثبيط للنمو عزلات الأنواع *F. avenaceum* (85%) مع *T. longibrachiatum* (TL.9)، كما قدرت نسبة تثبيط *F. moniliforme* (86%) مع العزلتين *T. longibrachiatum* (TL.9) و *T. harzianum* (Th.15) و 87% عند *F. solani* مع العزلة *T. harzianum* (Th.15).

جدول 6. النسبة المئوية لتثبيط نمو عزلات *Fusarium* spp. في حالة المواجهة عن بعد.

Table 6. Growth inhibition rate of *Fusarium* spp. isolates in indirect confrontation with antagonistic fungi

عزلات وأنواع الفطور المضادة				
FS	FM	FC	FA*	<i>Trichoderma</i> isolates used
25	55	53	68	Ta.7 (<i>T. atroviride</i>)
71	44	42	70	Ta.13 (<i>T. atroviride</i>)
56	52	12	43	Th.6 (<i>T. harzianum</i>)
81	25	4	65	Th.15 (<i>T. harzianum</i>)
58	69	63	72	TL.9 (<i>T. longibrachiatum</i>)

* FA = *F. avenaceum*, FC = *F. culmorum*, FM= *F. moniliforme*, FS= *F. solani*



شكل 3. تثبيط النمو وألياف عقيمة عند الفطر *F. solani* تحت تأثير المواد المتطايرة المضادة للفطر المفروزة من قبل العزلة *T. atroviride* (Ta. 13)

Figure 3. Growth inhibition and formation of sterile hyphae of the pathogenic fungus *F. solani* under the influence of volatile antifungal compounds produced by *T. atroviride* (Ta 13)

أثر عزلات *Trichoderma* spp. في نمو عزلات *Fusarium* spp. في المواجهة غير المباشرة

سمحت هذه التقنية بإبراز عامل الكبح عن بعد لعزلات *Trichoderma* spp. تجاه عزلات *Fusarium* spp. بنتيجة لإنتاج مواد متطايرة مضادة للفطور. فبعد ستة أيام من المواجهة بينت النتائج انخفاضاً معنوياً في متوسط قطر مستعمرات الفطر الممرض مقارنة بالشاهد (جدول 5). وتباين هذا التثبيط تبعاً لعزلات *Trichoderma* spp. المختبرة، إذ تراوحت النسبة المئوية لتثبيط النمو ما بين 4 و 81% (جدول 6). وكانت أعلى نسبة لتثبيط النمو مع عزلات الأنواع *F. culmorum*، *F. avenaceum* و *F. moniliforme* تحت تأثير العزلة *T. longibrachiatum* (TL.9) بحيث بلغت 72% مع *F. avenaceum*، 69% مع *F. moniliforme* و 63% مع *F. culmorum*. كما لوحظ بصورة عامة تباين في فاعلية عزلات *Trichoderma* spp. إزاء عزلات *Fusarium* spp. (جدول 6). وأظهر الفحص المجهرى لمحيط مستعمرات الفطر الممرض تثبيطاً للنمو وتشكل ألياف عقيمة تحت تأثير المواد المتطايرة المضادة للفطور (antifungal volatiles) التي أفرزتها عزلات *Trichoderma* spp. (شكل 3).

جدول 5. متوسط قطر مستعمرات *Fusarium* spp. (مم) بعد 6 أيام من المواجهة غير المباشرة مع عزلات *Trichoderma* spp.

Table 5. Average diameter of *Fusarium* spp. colonies six days after indirect confrontation with *Trichoderma* spp. Isolates.

متوسط قطر مستعمرات (مم)				
<i>Fusarium</i> spp.				
Average diameter of <i>Fusarium</i> spp. colonies				
FS	FM	FC	FA*	عزلات وأنواع الفطور المضادة
68 a	60 a	85 a	71 a	الشاهد
51 b	27 de	40 d	23 c	Ta.7 (<i>T. atroviride</i>)
20 e	34 c	50 c	22 c	Ta.13 (<i>T. atroviride</i>)
30 c	30 cd	75 b	41 b	Th.6 (<i>T. harzianum</i>)
13 f	45 b	82 a	25 c	Th.15 (<i>T. harzianum</i>)
29 c	19 f	32 e	20 c	TL.9 (<i>T. longibrachiatum</i>)

المتوسطات في العمود نفسه المتبوعة بأحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05.

Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at P= 0.05.

* FA = *F. avenaceum*, FC = *F. culmorum*, FM= *F. moniliforme*, FS= *F. solani*

أثر مستخلص الزراعة السائلة لعزلات *Trichoderma* spp. في نمو عزلات *Fusarium* spp.

بعد 7 أيام من التحضين ظهر انخفاض معنوي في متوسط قطر مستعمرات عزلات الفطر الممرض *Fusarium* spp. بوجود مستخلص

Fusarium spp. الأكثر حساسية تجاه فطر *Trichoderma spp.* هي عزلة النوع *F. solani*. ولوحظ في اليوم السابع من المواجهة أن غالبية عزلات *Trichoderma spp.* قد غزت مستعمرات *Fusarium spp.* وتبوغت فوقها مما يبين قدرتها التطفلية العالية إزاءها. واتفقت هذه النتائج مع دراسات سابقة أظهرت المقدرة التثبيطية للنوع *T. longibrachiatum* تجاه النوع *F. graminearum* بحيث تراوحت نسبة التثبيط بين 62.21 و 66.66% تجاه *F. graminearum* (8).

كما بينت أعمال أخرى أن عزلات النوعين *T. harzianum* و *T. viride* تقلل نمو *Rhizoctonia solani* Kühn بنسبة 52.2 و 55.8%، على التوالي، ومع *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* Gordon بنسبة 57.2 و 50.6%، على التوالي (18). أما في مواجهة الفطر *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* (Pad.) Kato et sato المسبب لمرض ذبول الحمص مع عزلات *Trichoderma spp.* فقد سجلت أعلى نسبة لتقليل النمو 65.64% مع النوع *T. atroviride* كما سبب كلا من النوعين *T. longibrachiatum* و *T. harzianum* النسب التالية على التوالي 60.51 و 52.82 (7). كما ذكر غزو مستعمرات مختلف أنواع الفطور الممرضة والتبوغ عليها من قبل عزلات *Trichoderma spp.* في عدة أعمال سابقة منها غزو مستعمرات الفطر *Pythium ultimum* Trow بواسطة *T. harzianum* (5) وغزو مستعمرات *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* من قبل *T. harzianum* (19) وأيضاً غزو مستعمرة الفطر *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* والتبوغ عليها بواسطة عزلات من *T. atroviride* (9).

عند المواجهة المباشرة بين عزلات *F. solani* وعزلة (Th6) *T. harzianum*، لوحظ وجود منطقة تحلل للميسيليوم عرضها 1 مم، ولقد وجدت الظاهرة نفسها عند مواجهة *T. harzianum* و *R. solani* وقد عزيت إلى إفراز إنزيمات محللة *Lytic enzymes* وليس إلى مضادات حيوية مثبطة للنمو (4). بينما فسّر آخرون هذا السلوك بإنتاج مستقلبات سامة في البيئة توقف نمو الفطور عن بعد (18). أما بالنسبة للهالة ذات اللون الأصفر المتشكلة في منطقة الاتصال الفاصلة بين مستعمرات عزلة (Th.6) *T. harzianum* وكل من *F. avenaceum* و *F. culmorum*، فقد لوحظت هذه الظاهرة أيضاً بين الفطر *Armillaria mellea* (Vaht.) Karst و *T. harzianum* بإفراز لمرض لصبغة بنية اللون في الوسط (23). ولقد ذكر في أعمال سابقة قدرة عزلات الفطر *T. koningii* على تكوين هالة عريضة صفراء بنية اللون، تحيط بمستعمرات الفطر الممرض (1). وقد بينت الملاحظات المجهرية المجراة في منطقة الاتصال بين عزلات *Fusarium spp.* الممرضة وعزلات

جدول 7. متوسط قطر مستعمرات الفطر المسبب للمرض *Fusarium spp.* بعد 7 أيام من التحضين تحت تأثير مستخلص الزراعة السائلة لفطر المكافحة الحيوية.

Table 7. Average diameter of pathogenic fungi colonies seven days after incubation with crude filtrate of antagonistic fungi.

متوسط قطر مستعمرات (مم) <i>Fusarium spp.</i>				عزلات وأنواع الفطور المضادة
Average diameter of <i>Fusarium spp. colonies</i>				Antagonistic <i>Trichoderma isolates used</i>
FS	FM	FC	FA*	
53 a	42 a	85 a	40 a	Control الشاهد
11 b	11 b	41 b	10 b	Ta.7 (<i>T. atroviride</i>)
8 b	7 bc	9 d	7 b	Ta.13 (<i>T. atroviride</i>)
8 b	12 b	15 c	11 b	Th.6 (<i>T. harzianum</i>)
7 b	6 c	19 c	7 b	Th.15 (<i>T. harzianum</i>)
8 b	6 c	15 c	6 b	TL.9 (<i>T. longibrachiatum</i>)

المتوسطات في العمود نفسه المتبوعة بأحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05.

Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at P= 0.05.

* FA = *F. avenaceum*, FC = *F. culmorum*, FM= *F. moniliforme*, FS= *F. solani*

جدول 8. النسبة المئوية لتثبيط نمو مستعمرات الفطر الممرض *Fusarium spp.* بعد 7 أيام من التحضين تحت تأثير مستخلص الزراعة السائلة لفطر المكافحة الحيوية.

Table 8. Growth inhibition(%) of pathogenic fungi seven days after incubation with crude filtrate of antagonistic fungi

عزلات وأنواع الفطور المضادة				
FS	FM	FC	FA*	<i>Trichoderma isolates used</i>
80	74	52	75	Ta.7 (<i>T. atroviride</i>)
85	84	90	83	Ta.13 (<i>T. atroviride</i>)
85	72	83	73	Th.6 (<i>T. harzianum</i>)
87	86	79	83	Th.15 (<i>T. harzianum</i>)
87	86	83	85	TL.9 (<i>T. longibrachiatum</i>)

* FA = *F. avenaceum*, FC = *F. culmorum*, FM= *F. moniliforme*, FS= *F. solani*

المناقشة

بينت المواجهة المباشرة بين عزلات الفطر الممرض *Fusarium spp.* وعزلات فطر المكافحة الحيوية *Trichoderma spp.* أن هذه الأخيرة تتسم بسرعة نمو كبيرة مقارنة مع عزلات *Fusarium spp.* ففي اليوم السابع من المواجهة احتلت عزلات *Trichoderma spp.* ثلاثة أرباع مساحة الطبق بينما لم يحتل الفطر *Fusarium spp.* سوى مساحة صغيرة. بينت النسب المئوية لتثبيط نمو الفطر الممرض أن أعلى نسبة لتقليل نمو الأنواع الأربعة التابعة لجنس *Fusarium* تم الحصول عليها مع عزلة *T. longibrachiatum* (TL.9) وأن عزلة

T. harzianum (19). وقد ذكر أيضاً إنتاج مواد متطايرة مضادة للفطور مثل 6-pentyl- α -pyrone لعزلات *T. atroviride* و *T. viride* (15، 32) وأيضاً لعزلات *T. harzianum* (29). وأظهر الفحص المجهرى لمحيط مستعمرات عزلات الفطر *Fusarium* spp. عند مواجهتها مع عزلات *Trichoderma* spp. وجود ألياف عقيمة تحت التأثير المباشر للمواد المتطايرة المنبعثة من الفطور الأخيرة. وهذه النتائج مماثلة لما ذكر سابقاً حول المواجهة غير المباشرة بين عزلات *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* و *T. atroviride*، *T. harzianum*، *T. longibrachiatum* حيث تمت الإشارة إلى إحداث تثبيط للنمو وتكون ألياف عقيمة عند الفطر الممرض (7).

وبالإضافة إلى قدرة عزلات *Trichoderma* spp. على تثبيط نمو أنواع الفطر الممرض في المواجهة المباشرة وغير المباشرة، استطاعت أيضاً أن تمارس هذا الفعل من خلال مستخلص بيئتها السائلة المضاف إلى المستنبت الغذائي، حيث سجلت أعلى نسبة تقليل للنمو 90% مع العزلة *T. atroviride* (Ta.13) تحت تأثير المواد الاستقلابية غير المتطايرة المضادة للفطور. وبينت أعمال أخرى نتائج مماثلة، إذ تأثر سلبي نمو الفطر *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* المزروع في مستنبت يحتوي مستخلص الزراعة السائلة لعزلات *Trichoderma* spp. وكانت المواد المثبطة للنمو غير المتطايرة لعزلات *T. harzianum* أكثر فعالية من المواد غير المتطايرة لعزلات *T. virens* Mill., Gidde et Foster (16).

بينت هذه الدراسة كفاءة عزلات الأنواع الثلاثة من *Trichoderma* spp. المستعملة في هذه الدراسة في كبح نمو عزلات الفطر الممرض والمسببة للجرب على سنابل نبات القمح، كما بينت أن الآليات التي تبديها عزلات *Trichoderma* spp. تجاه *Fusarium* spp. هي القدرة التطفلية العالية (mycoparasitism) المتمثلة في الغزو والتبوغ على مستعمرات عزلات الفطر الممرض وإنتاج إنزيمات محللة لميسليوم الفطر الممرض، إضافة إلى إنتاج مواد متطايرة مضادة للفطور وأيضاً إنتاج مواد مثبطة للنمو غير متطايرة. وتباينت كفاءة عزلات فطور المكافحة الحيوية تبعاً لترجح النتائج التي تم الحصول عليها إلى إمكانية استخدام عزلات الفطر التي تمت دراستها في المكافحة الحيوية لمرض جرب سنابل القمح. إلا أن ذلك يتطلب التوسع في الدراسة وإجراء تجارب حقلية تؤكد إمكانية استخدام هذه الطريقة للمكافحة في حقول المزارعين.

Trichoderma spp. إحداث تغيرات عميقة في ميسليوم الفطر الممرض، تمثلت بتحلله بدرجة كبيرة، وتحويله إلى حبال وتشكل لفائف من ميسليوم عزلات *Trichoderma* spp. حول ميسليوم عزلات *Fusarium* spp. وقد ذكرت سابقاً نتائج مماثلة في المواجهة بين *T. harzianum* و *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (19). وفي السياق نفسه، تمت الإشارة إلى حدوث التفاف لميسليوم *T. hamatum* حول ميسليوم *R. solani* مع تدهور جزئي لهذا الأخير. وأيضاً تحلل ميسليوم *Sclerotium rolfsii* Sacc عند المواجهة مع *T. harzianum* (17)، وذكرت تغيرات في ميسليوم *R. solani* سببها الفطر *T. harzianum*، تمثلت في إحداث التفاف لميسليوم فطر المكافحة الحيوية حول ميسليوم الفطر الممرض تلاها فقدان محتويات ميسليوم الفطر الممرض وتدهوره (4). كما وصف تدهور ميسليوم *S. rolfsii* عند المواجهة مع *T. harzianum*، الذي تمثل في تجمع، نقلص، تراجع وتحوصل للسيتوبلازم (5). وقد أفادت أعمال أخرى أن لعزلات *T. lignorum* القدرة على الالتفاف حول ميسليوم *R. solani* مما تسبب في تفسخ سيتوبلازم الفطر الممرض (21).

في المواجهة غير المباشرة أو المواجهة عن بعد، استطاعت عزلات *Trichoderma* spp. تثبيط نمو عزلات *Fusarium* spp. وبلغت أعلى نسبة لتقليل النمو (72%) مع عزلة *T. longibrachiatum* (TL 9)، على الرغم من عدم وجود اتصال مباشر بين عزلات *Fusarium* spp. وعزلات *Trichoderma* spp. ويعزى هذا التثبيط إلى إنتاج مواد متطايرة مضادة للفطور من طرف فطر المكافحة الحيوية. وكانت كل عزلات فطر المكافحة الحيوية ذات كفاءة واضحة في تثبيط نوع ممرض أو أكثر، إلا أنها تميزت في نشاطها الحيوي، فعلى سبيل المثال كانت أكثر العزلات كفاءة في تثبيط نمو الفطور الممرضة (*F. moniliforme*، *F. avenaceum*)، *F. solani* العزلات التابعة للأنواع *T. longibrachiatum* و *T. atroviride*. بينما مع النوع *F. culmorum* فإن أعلى نسبة تثبيط تم الحصول عليها مع عزلة *T. harzianum* (Th.15). وهذه النتائج تماثل ما ذكر سابقاً حول تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* تحت تأثير المواد المضادة للفطور المتطايرة التي تفرزها أنواع *T. atroviride*، *T. harzianum*، *T. longibrachiatum* وكانت أكثر العزلات كفاءة عزلات النوع *T. atroviride* (7). وفي السياق ذاته، ذكرت أعمال أخرى تثبيط نمو *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* بنسبة 63% في المواجهة غير المباشرة مع

Abstract

Boureghda, H. and R. Renane. 2011. *In vitro* Study of Antagonistic Activity of Some Isolates of *Trichoderma* spp. Against *Fusarium* spp. Isolates the Causal Agent of Wheat Head Scab. Arab Journal of Plant Protection, 29: 51-59.

Wheat Fusarium head blight (scab) caused by several species of *Fusarium* and *Microdochium nivale* is considered a major constraint of wheat production worldwide. Three species of *Trichoderma*: *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* and *T. atroviride* were evaluated for their antagonistic effect against four *Fusarium* spp. (*F. moniliforme*, *F. solani*, *F. culmorum* and *F. Avenaceum*) isolated from scabbed heads of wheat. The antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against these pathogens was estimated *in vitro*, in dual cultures and through production of volatile and non-volatile inhibitors. In direct confrontation, rates of growth inhibition ranged from 12 to 92% were obtained against the four *Fusarium* species used in this study, with the highest rate of inhibition (92%) conferred by the isolate TL.9 of the species *T. longibrachiatum* against *Fusarium solani*. In indirect confrontation, inhibition rates ranged between 4 and 81%, with the highest rate of inhibition was obtained by the isolate Th.15 of the species *T. harzianum* (81%) against *Fusarium solani*. Evaluation of the culture filtrate of *Trichoderma* on the pathogenic fungus *Fusarium* spp. growth showed that inhibition rates ranged between 52 and 90% and the most effective isolate for *Fusarium* spp. inhibition was the isolate Ta.13 (*T. atroviride*) which produced 90% inhibition against *F. culmorum*.

Keywords: Biological control, *Trichoderma* spp., Wheat scab.

Corresponding author: Houda Boureghda, Departement de Botanique, Institut National Agronomique (INA), El Harrach, Algiers, Algeria, Email: hou.boureghda@gmail.com

References

المراجع

1. الشعيبي، صلاح ولينا مطرود. 2002. دراسة مختبرية لتقويم فاعلية عزلات مختلفة من أنواع فطور الترايكودرما تجاه بعض الفطور الممرضة المنقولة بالتربة. مجلة وقاية النباتات العربية، 20: 77-83.
2. Agrios G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth edition, Elsevier Academic Press, 962 pp.
3. Bai, G. and G. Shaner. 1996. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. Plant Disease, 80: 975-979.
4. Benhamou, N. and I. Chet. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. Phytopathology, 83: 1062-1071.
5. Benhamou, N. and I. Chet. 1996. Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. Phytopathology, 86: 405-416.
6. Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institut, Key, England. 237 pp.
7. Boureghda, H. 2009. Recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick) Matuo et K. Sato (*Foc*), agent du flétrissement du pois chiche. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique. El Harrach, Alger. 153pp.
8. Boureghda, H. and L. Sidhoumi. 2003. Biological control of root rot of wheat by use of isolates of *Trichoderma longibrachiatum*. In Abstract book of 8th Arab congress of Plant Protection, 12-16 October 2003, El Beida, Libya.
9. Boureghda, H. and Z. Bouznad. 2009. Biological control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica, 44(1): 25-38
10. Campbell, K.A.G and P.E. Loppes. 1998. Allocation of resources: Sources of variation in *Fusarium* head blight screening nurseries. Phytopathology, 88: 1078-1086.
11. Chen, Yu., J.X. wang, M.G. Zhou, C.J. Chen and S.K. Yuan. 2007. Vegetative compatibility of *Fusarium graminearum* isolates and genetic study on their carbendazim-resistance recombination in China. Phytopathology, 97: 1584-1589.
12. Clear, R.M. and S.K. Patrick. 2000. Fusarium head blight pathogens isolated from Fusarium-damaged kernels of wheat in western Canada, 1993 to 1998. Canadian Journal of Plant pathology, 22: 51-60.
13. Dawson, W.A.J.M., M. Jestoi, A. Rizzo, P. Nicholson and G.L. Bateman. 2004. Field evaluation competitors of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*, causal agents of ear blight of winter wheat, for the control of mycotoxin production in grain. Biocontrol Sciences and Technology, 15: 783-799.
14. Dennis, C. and J. Webster. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. Production of non-volatiles antibiotics. Transaction British Mycological Society, 57: 25-39.
15. Dodd, S.L., E. Lieckfeldt and G.J. Samuels. 2003. *Hypocrea atroviridis* sp. nov., the teleomorph of *Trichoderma atroviride*. Mycologia, 95: 27-40.
16. Dubey, S.C., M. Suresh and S. Birendra. 2007. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. Biological Control, 40: 118-127.
17. Elad, Y., I. Chet and Y. Henis. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Canadian Journal of Microbiology, 28: 719-72
18. Hassanein, A.M., G.A. Elmorsy and H.H. Abou-Zeid. 1996. Biological control of damping off root rot and wilt diseases of lentil, pp. 369-374 In: proceeding du symposium regional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires, 11-14 novembre, 1996, Rabat, Maroc.
19. Hibar, K., M. Daami-Ramadi, H. Khiareddine and M. El Mahjoub. 2005. Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Biotechnology Agronomy Society and Environment, 9:163-171

28. **Müllernborn, C., U. Steiner, M. Ludwig and E-C. Oerke.** 2008. Effect of fungicides on the complex of *Fusarium* species and saprophytic fungi colonizing wheat kernels. *European Journal of Plant Pathology*, 120: 157-166.
29. **Olivier, J.M. et Germain, R.** 1983. Etude des antibiotiques volatils des *Trichoderma*. In: Les antagonismes microbiens mode d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes. 24^{ème} colloque de la Société Française de Phytopathologie, Bordeaux, 26-28 mai 1983. Ed. INRA, pp, 17-34
30. **Parry, D.W., P. Jenkinson and L. Mcleod.** 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals- a review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.
31. **Renane, R. et H. Boureghda.** 2008. Etude de la croissance *in vitro* et de l'agressivité de quelques isolats de *Fusarium* spp. agent de la gale de l'épi du blé. 7^{ème} Journées Scientifiques et Techniques Phytosanitaires. INPV, El Harrach, Alger, Algérie 15-16 Décembre 2008. Recueil des résumés.
32. **Samuels, G.J., S.L. Dodd, W. Gams, L.A. Castlenry and O. Petrini.** 2002. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, 94: 146-170.
33. **Sayoud, R., B. Ezzahiri. et Z. Bouznad.** 1999. Les maladies des légumineuses alimentaires *in*: les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Guide pratique. 64pp.
34. **Sutton J.C.** 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 4: 195-209.
35. **Tousson, T.A. and P.E. Nelson.** 1976. *Fusarium* a pictorial guide to the identification of *Fusarium* species according to the taxonomy system of Snyder and Hansen. Second edition the Pennsylvania State University Press. 43pp.
20. **Hmouni, A., M.R. Hajlaoui and A. Mlaiki.** 1996. Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO Bulletin*, 26: 697-705.
21. **Howell, C.R.** 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87: 4-10.
22. **Khan, I.A., S.S. Alam and A. Jabbar.** 2001. Standardization of medium for the production of maximum phytotoxic activity by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4: 1374-1376.
23. **Lanusse, M., B. Lung-Escarmant, B. Dubos. et B. Taris.** 1983. Etude *in vitro* des propriétés de huit espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea* (vahl.) karst. In: Les antagonismes microbiens mode d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes. 24^{ème} colloque SEF, Bordeaux, 26-28 mai 1983. Ed. INRA. pp 178-189.
24. **Leslie, J. and B. Summerell.** 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. First edition, Blackwell Publishing. 387 pp
25. **Levitin M.M.** 2000. Recent developments in research on *Fusarium* head blight of cereals in Russia. In: 6th European *Fusarium* Seminar and Third COST 835 Workshop of Agriculturally Important Toxicogenic Fungi (p 25) Berlin, Germany.
26. **Luongo, L., M. Galli, L. Corazza, E. Meeke, L. de Haas. and C. Lombaers van der Plas.** 2005. Potential of fungal antagonists for biocontrol of *Fusarium* spp. in wheat and maize through competition in crop debris. *Biocontrol Sciences and Technology*, 15: 229-242.
27. **Ma, H.X., G.H. Bai, X. Zhang and W.Z. Lu.** 2007. Main effects, epistasis, and environmental interactions of quantitative trait loci for *Fusarium* head blight resistance in a recombinant Inbred Population. *Phytopathology*, 96: 534-541.

Received: January 20, 2010 ; Accepted: August 3, 2010

تاريخ الاستلام: 2010/1/20؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2010/8/3