Faculty of Agriculture & Veterinary Medicine - Thamar University
Yemeni Journal of Agriculture & Veterinary Sciences
Available online at; WWW.YJAVS.COM

التضاد الحيوي بين فطر التريكوديرما *Trichoderma* spp. وفطر الرايزوكتونيا *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض القشرة السوداء في البطاطس معمليا

ساهر حافظ عابد [١] صديق محمد الحسن [٢] طارق السيد علي الشريف [٣]

[١] شركة البيدر للمشاريع المتطورة المحدودة

[٢] قسم وقاية المحاصيل– كلية الزراعة– جامعة الخرطوم.

[٣] قسم وقاية المحاصيل– كلية الزراعة– جامعة ام درمان الاسلامية.

تاريخ الاستلام:

٢٠١٣/١١/٠٤

تاريخ القبول:

٢٠١٣/١٢/٠٥

الملخص

يسبب فطر الرايزوكتونيا *Rhizoctonia solani* khun مرض القشرة السوداء في محصول البطاطس مما يؤدي الي تدني انتاجية ونوعية المحصول المنتج للأكل أو التقاوي. وقد اجريت هذه الدراسة المعملية لتقييم أثر استخدام نوعين من جنس التريكوديرما هما *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma koningii* Pers في تثبيط فطر الرايزوكتونيا الممرض.تم الحصول على عزلة ممرضة نقية للفطر *Rhizoctonia solani* من تقاوي بطاطس معتمده ومستورده من هولندا.كما تم الحصول على نوعي الفطر تريكوديرما *T.harzianum* و *T.koningii* المستخدمان في المكافحة ألاحيائية لكثير من المسببات المرضية الفطرية من جامعة تشرين – بالجمهورية العربية السورية. وقد تم تقدير النسبة المئوية للطاقة التثبيطية للنوعين أعلاه في بيئة البطاطس الصلبة (PDA) وبيئة مرقة البطاطس السائلة (PDB)، ومن ثم آلية سلوكهما التضادي.إستطاع نوعا التريكوديرما (المكافح) تثبيط نمو فطر الرايزوكتونيا معنويا مقارنة بالشاهدمع النمو والتبوغ الكثيف فوق نموات الفطر الممرض. وكانت عزلات *T.koningii* أكثر مقدرة على النمو وأكثر غزارة في تشكيل الأبواغ فوق مستعمرات الفطر الممرض من *T.harzianum* . لوحظ مقدرة التريكوديرما علي التطفل المباشر وظهر ذلك تحت الميكروسكوب الضوئ حيث كان هنالك ألتفاف(Coiling) لميسليوم التريكوديرما المكافح حول ميسليوم الفطر الممرض مع تشوه في الشكل الخارجي وظهور تحبب(Granulation) علي خيوطه. كما أظهرت مستخلصات نوعي الفطر المكافح بالتركيزين (١:١، ١:٢) كفاءة تنافسية عالية في تثبيط نمو عزلات فطر الرايزوكتونيا في وسط بيئة آجارالبطاطس المغذي(PDA)، مما يشير ألي أفراز مواد مثبطة ضد فطر الرايزوكتونيا (الممرض). لم تكن هنالك اي فروقات معنوية بين التركيزين للفطر *T.koningii*.بينما كان التركيز الأعلي للفطر *T.harzianum* أكثر كفاءة في التثبيط من التركيز الأدني. وقد أظهر *T.koningii* من الفطر المكافح كفاءة أكبر من *T.harzianum* في تثبيط أوأفراز مواد مثبطة ضد فطر الرايزوكتونيا.

كلمات مفتاحية :– التضاد الحيوي، المكافحة ألاحيائية.*Rhizoctonia solan* ، *T.harzianum*، *T.koningii*

مقـدمـــة

يعتبر البطاطس *Solanum tuberosum* L. محصول غذائي مهم حيث يحتل المرتبة الثالثة بعد القمح والأرز عالميا. وهو غذاء رئيسي في البلدان ذات المناخ المعتدل والمناطق الاستوائية وشبة الاستوائية في المرتفعات العالية أوفي فصل الشتاء في الأراضي المنخفضة (Rich,1983). تدخل البطاطس في تركيبة المحاصيل الشتوية المروية في شمال وسط السودان (ولايات الخرطوم ، نهر النيل والشمالية) كما تزرع كمحصول خريفي في مرتفعات جبل مرة وفي الشتاء في الوديان والأراضي المنخفضة في دارفور بغرب السودان (Baldo *et al*, 2010). أزدادت أهمية البطاطس في السودان في العقدين الأخرين حيث تضاعفت المساحات المزروعة وكمية التقاوي المستوردة المعتمدة وكذلك الأنتاج، وذلك لأسباب أقتصادية وديموغرافية، خاصة في ولاية الخرطوم حيث يبلغ الأستهلاك السنوى ١٠٠ألف طن أويزيد قليلا كما يشهد محصول البطاطس حاليا طفرة في نظم الأنتاج حيث بلغت المساحات المزروعة بنظم الأنتاج الحديث بالري المحوري وميكنة جميع العمليات الزراعية مالايقل عن الف هكتارفي وسط وشمال السودان (الحسن، 2012).

تصاب البطاطس بمرض القشرة السوداء(Black scurf) المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* Khun والذي يقلل من إنتاجية ونوعية المحصول بسبب أطواره المختلفة ابتداء بلفحة النموات ثم تقرح الساق، كما أن الانتشار السطحي للأجسام الحجرية للفطر على سطح الدرنات الناتجة يجعلها غير مرغوبة في السوق كغذاء أو الأستخدام كتقاوي، فضلاً عن أن الأصابة الشديدة بالأجسام الحجرية تزيد من كمية اللقاح في التربة (Platt *et al,*1993). وجد أن هذا المرض ينتشر في كل زراعات البطاطس المهمة في ولاية الخرطوم وأنه محمول في التقاوي المعتمدة المستوردة من الخارج كما إن الأجسام الحجرية للفطر تلوث بكثافة درنات البطاطس المحجوزة لدى المزارعين من محصول العام السابق لاستخدامها كتقاوى (Magzoub, 1994). يكافح مرض القشرة السوداء بإجراءات علاجية مختلفة، ومن بينها أسلوب المكافحة الكيميائية والذي قد يساهم في تعريض عناصر البيئة المختلفة للتلوث وما يترتب على ذلك من أضرار مباشرة وغير مباشرة للإنسان. مما أدي الي اللجوء لإستخدام المكافحة الأحيائية، كأحد أساليب الإدارة المتكاملة للآفات (البغام وصلاح، ٢٠٠٢؛ بخيت وحسن، ٢٠٠٢). وقد ثبت أن الأنواع المستخدمة من الفطر تريكوديرما ذات كفاءة عالية في مكافحة كثير من المسببات المرضية لفطور التربة، عن طريق واحدة أو أكثر من آليات التأثير، فقد ذكر Itamar *et al.* (٢٠٠٠) أن ٤٠عزلة لفطر التريكوديرما أستطاعت ثبيط نمو فطر الرايزوكتونيا معمليا، ثلاثة انواع منها كانت نسبة تثبيطها لنموالميسليوم ٧٩%، اضافة الي أن عزلة *T. koningii* قد خفضت حيوية الأجسام الحجرية الي ٨١,٨%. وقد أظهر الفحص بالمجهر الألكتروني نمو والتصاق والتفاف ميسليوم الفطر المكافح حول مسيليوم الفطر الممرض. (Benhamou , *et al.*; 1994; Lemon, *et al.*; 1999; Mukherjee and Tripathi, 2000, Prasad and Rangeshwaran, 2002; Howell. 2003)

يهدف هذا البحث الي اختبار كفاءة عزلات نـوعين مـن فطـر تريكوديرمـا هما *Trichoderma harzianum* و *T.koningii* Pers فـي المكافحـة الحيويـة لعزلـة الفطر *Rhizoctonia solani* الممرض للبطـاطس معمليـا وكـذلك معرفـة آليـة تضـاد الفطـر المكافح للفطر الممرض.

المواد و طرائق البحث

التضاد الحيوي بين نوعي فطر التريكوديرما وعزلة الريزوكتونيا سولاني:

عزل وتشخيص فطر الريزوكتونيا *Rhizoctonia solani*

تم أخذ درنات بطاطس بقطر (28–60 مم) من مزارع البطاطس في ولاية الخرطوم تحتوي على علامات ألإصابة بالقشرة السوداءكأجسام حجرية للكائن الممرض *R. solani*. تم غسل الدرنات المصابة بمحلول كلوركس بتركيز ١٠% وذلك لمدة دقيقة ثم غسلها بالماء المقطر والمعقم وذلك على مرحلتين ومن ثم زراعة هذه الأجسام الحجرية على المستنبت الغذائي PDA بشكل مباشر، وتحضن لمدة سبعة أيام على

درجة حرارة ٢٥ مْ. تم تشخيص الفطر الممرض *R. solani* إعتماداً على الصفات التشخيصية لشكل ولون المستعمرة الفطرية والفحص بواسطة المجهر الضوئي لتفرعات الميسليوم، (روبرت دانيال، ١٩٩٢ ,Walker 1969). ثم تحفظ إلي حين إستخدامها في التجربة الرئيسة في حاضنة على درجة حرارة ٢٥ ± ٢مْ.

مصدر عزلات فطر التريكوديرما:

تم الحصول على مستعمرة فطرية نقية لنوعين من فطر *T.harzianum* و *T. koningii* من قسم وقاية النباتات – جامعة تشرين –الجمهورية العربية السورية – تم زراعة ميسليوم الفطرفي طبق بتري يحوي مستنبت البطاطس (PDA) أضيف إليه قبل تصلبه المضاد الحيوي ستربتومايسين ٥٠ ملغم / لتر لتفادي نمو البكتريا. حضنت الأطباق (خمسة أطباق لكل عينة) بعد ذلك على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ مْ وظلام مستمر لمدة أسبوع مع الفحص يومياً بعد اليوم الثالث. تم التعرف علي المستعمرات الفطرية الناتجة بالاعتماد على الصفات التشخيصية لشكل ولون المستعمرة الفطرية والفحص بواسطة المجهر الضوئي لتفرعات الميسليوم والكونيديا (Barnett & Hunter, 1962)

التضاد الحيوي عن طريق التطفل المباشر:

أستخدمت طريقة (Ferriera *et al*.,1991) وذلك بأخذ قرص بقطر (٥مم) من حواف مستعمرة الفطر الممرض بعمر أربعة أيام. ويوضع على بعد ٢ سم من حافة طبق بتري (قطره ٩ سم) يحتوي علي PDA بشكل مقلوب ومتناظر مع قرص مشابه لكل عزلات الفطر تريكوديرما تحت الأختبار بعمر أربعة أيام وعلى الجهة المعاكسة من الطبق تاركين مسافة 4سم بين القرصين. تضم التجربة خمس مكررات لكل معاملة وتحضن على درجة حرارة ٢٥م° لمدة خمس أيام ثم تؤخذ القراءات بعد ٤٨ ساعة ولمدة خمسة أيام على التوالي تحسب النسبة المئوية لتثبيط نمو عزلة الممرض تحت تأثير كل من عزلة نوعي التريكوديرما حسب المعادلة التالية:

$$Y= 100((A-B)/A)$$

حيث أن:

Y= النسبة المئوية لتثبيط نمو المسبب المرضي.

A= متوسط نمو ميسيليوم المسبب المرضي عكس اتجاه الفطر المضاد.

B= متوسط نمو ميسيليوم المسبب المرضي تجاه الفطر المضاد.

التضاد الحيوي عن طريق أفراز مواد سامة:

تـم تنميـة نـوعي الفطـر *T.harzianum*و *T.koningii* كـل علـي حـده بأخـذ ثـلاث أقـراص بقطر(٥ملم) من المستعمرة الفطرية لكل نـوع (عمر ٤ أيام) وتوضـع فـي ٥٠مـل مـن بيئـة البطـاطس السـائلة Potato Dextrose Broth (PDB) في دورق سعة (١٥٠مل) ثم يرج المزيج علـى جهـاز الـرج فـي ظـلام 12ساعة لمدة ١٤ يوما على درجة حرارة (٢٥م°)، ثم يـتم طـرح الميسـليوم والابـواغ الناتجـة بعيـدا وذلـك عبـر عمليـة ترشـيح باسـتخدام (Mille pore filter) بقطر(0.20µm) والمستخلص الناتج تم خلطه مـع PDAقبل تجمده عند درجة حرارة ٤٥م° (بنسبة ١:١، و ١:٢) علي التوالي، ثم يصب المزيج داخل طبق بتري قطـرة ٩سـم، وبعـد تصـلب هـذه البيئـة الغذائيـة مـع المسـتخلص أخـذ قـرص بقطـر ٥ملـم مـن مسـتعمرة الرايزوكتونيـا المنمـاة مسـبقا فـي بيئـة (PDA) وبعمـر أربعـة أيـام وزرع فـي وسـط الأطبـاق المحتويـة علـي المستخلصات أعلاه، وزرع قرص آخر في بيئة (PDA) غيـر معاملـة بالمستخلصـات المـذكورة كشـاهد بواقـع ٥ مكـررات لكـل معاملـة، ثـم تحضـن علـى درجـة حـرارة (٢٨±٢م°) فـي مكـان مظلـم لمـدة سـبعة أيـام. أخـذت القـراءات فـي اليـوم الثـاني بقيـاس نصـف قطـر النمـو ألشـعاعي للرايزوكتونيـا داخـل البيئـة المعاملـة وغيـر المعاملة(Agrawal *et al*.,1977). صممت التجربة على التصميم العشوائي الكامل(CRD) واستخدم اختبار Paired Samples Test (T.Test) للفصل بين المتوسطات.

النتائج والمناقشة

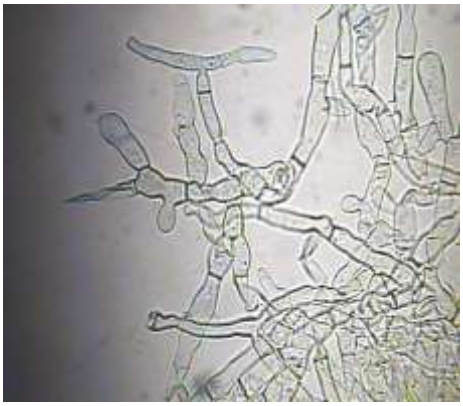
عزل وتشخيص فطر الرايزوكتونيا:

أظهرت الأجسام الحجرية المعزولة من تقاوي البطاطس نمو شعاعي لميسيليوم الفطرعلى بيئة PDA باللون الأبيض عندما تكون المزرعة حديثة النمو. كما لوحظ ظهور اللون البني الفاتح أو الكريمي للميسيليوم عند تقدم عمر المزرعـــــة (صورة١).

السطح السفلي السطح العلوي

صورة ١: ميسيليوم حديث النمو لفطر الريزوكتونيا *R.solani* على بيئة(PDA)

أمـا الصـفات المورفلوجيـة باسـتخدام المجهـر الضـوئي فأوضحت أن الميسيليوم يتألف من خلايا طويلة أبعادها (٨-١٠µm) ويكون فروع تنمو بشكل زوايا قائمة تقريبا على الهيفا الرئيسية وهي منقبضة قليلا عند نقطة التفرع ولها جدار عرضي بالقرب من التفرع حيث كان ذلك مطابقاً لما جاء به كل من Papavizas, *et al.* (1975) و Agrios (2005) (صورة ٢).

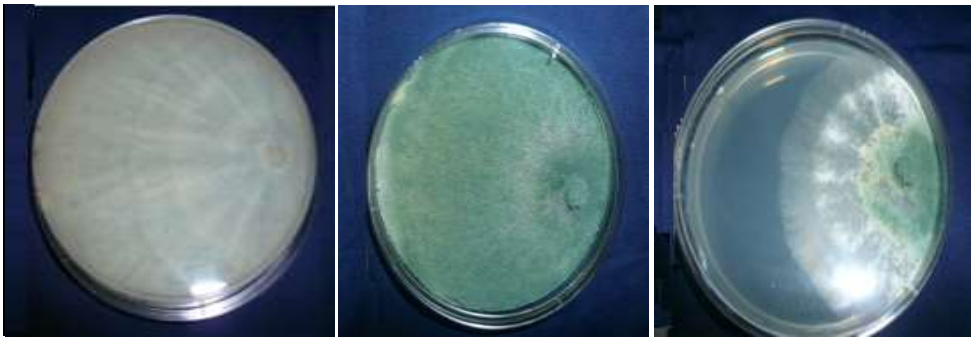


صورة ٢ : تفرعات ميسيليوم الفطر *R.solani* تحت المجهرالضوئي40x

عزل وتشخيص التريكوديرما:

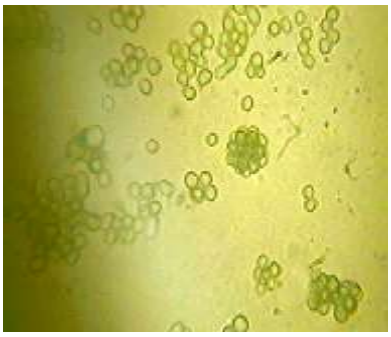
أظهر الفطرالمكافح (المضاد) *T.koningii* أنه يمتاز بنموالمستعمرات حيث تكون في البداية بيضاء رقيقة ونصف شفافة ثم تتحول بعد ذلك إلي اللون الأخضر على شكل خصلات شعرية كثيفة (صورة ٣)؛ الحوامل الكونيدية طويلة ورفيعة وفروعها ممتدة بشكل دائري من ٢-٣ فروع عريضة حول المحور الرئيسي.

أما الفروع الجانبية فيزداد طولها بشكل واضح مع مسافة من قمة الحوامل الكونيدية، الفرع الجانبي يتفرع بشكل مماثل للـــــــفرع الرئيسي (صورة ٤). جاء ذلك طبقاً لوصف (Rifai., 1969; Komatsu, 1976).



السطح السفلي اليوم الثاني السطح العلوي

صورة ٣: مستعمرة فطرية للفطر المكافح *T.koningi*



صورة ٤ : الابواغ الكلاميدية للفطر *T.koningi*

أما الفطر المكافح الثاني *T.harzianum* فأعطي نمو سريع للمستعمرات كانت في البداية رقيقة ونصف شفافة ثم بعد ذلك صارت خليط من خصل مخضرة تميل إلى أن تكون مرتبة في حلقات(صورة ٥). الحوامل الكونيدية طويلة ورفيعة وذات فروع مرتفعة مع فرع جانبي غالبا طويل محاط بشكل ثنائي أو ثلاثي المحور الرئيسي والفروع الجانبية منتهية بفاليدات (صورة ٦) جاء ذلك طبقاً لما أوضحه الباحثون Rifai,1969; (Komatsu,1976; Domasch, *et al.*,1980)

السطح السفلي السطح العلوي اليوم الثاني

صورة ٥: **مستعمرة فطرية للفطر *T.harzianum***

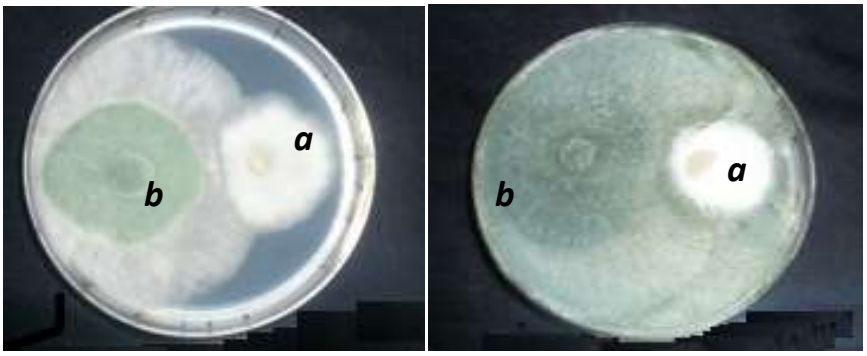
صورة ٦:**الابواغ الكلاميدية للفطر *T. harzianum***

التضاد الحيوي عن طريق التطفل المباشر(Mycoparasitism):

أوضحت النتائج أن عزلات نوعي فطر التريكوديرما لهما قدرة عالية على تثبيط نمو فطر الرايزوكتونيا حيث استطاعت أن تنمو وتتبوغ فوق نموات عزلة الفطرالممرض (صورة ٧، ٨) كما أثبتت نتائج الدراسة أن نسبة التثبيط في اليوم الخامس كانت ٨٩%و

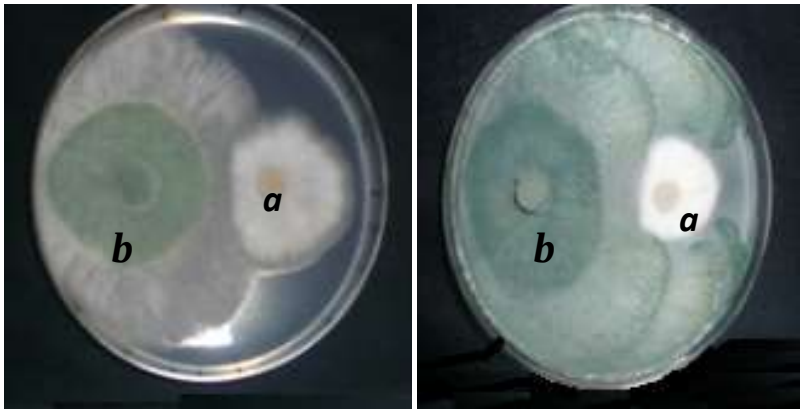
(٨٥%) *T.koningi* و *T.harzianum* علي التوالى (جدول ٥)، كما أثبت التحليل الأحصائي أنه لم تكن هنالك فروق معنوية بين نوعي فطر التريكوديرما في تثبيط نمو فطر الرايزوكتونيا، حيث جاء ذلك طبقا للباحثين (Eisendle *et al.*, 2004; Hawell , 2003).

فيما أوضحت الصور المهجرية لمنطقة التضاد التفاف خيوط الفطر *T.harzianum* على الغزل الفطري للمضيف(*R.solani*) مع تشوه في الشكل الخارجي وتحبب (Granulation) داخل خيط العائل (صورة ٩).وجاء ذلك وفقا لما جاء به (Agrios, 2005). قد تمارس أنواع التريكوديرما مباشرة المكافحة الإحيائية بواسطة التطفل على مجموعة من الفطريات الأخرى وتنمو عليها وتتطفل من خلال سلسلة من الخطوات تبدأ بإرتباط التريكوديرما المضاد بالكائن الممرض ترتبط به تلتف وتشكل ممص(Appressoria). والخطوة اللاحقة تتألف من إنتاج إنزيمات Chitinase و Protease و Gluconase) . تحطيم جدار الخلية (Ridout *et al.*, 1986; Lorito et al., 1993; 1994; Howell, 2003; Elade et al., 2004; Harman, et al., 2004); الذي يسهل من دخول الخيط الفطري (Hypha) للتريكوديرما إلى داخل تجويف (Lumen) الفطر الممرض (العائل) وتمثيل محتويات جدار الخلية. عزلات التريكوديرما تؤثر بشكل فعال على الخيوط الفطرية لأنواع الفيوزاريوم وعندما تكون بجانب الكائن الممرض يحدث تشوه في الشكل الخارجي داخل خيط العائل، ومرات كثيرة تنفجر الخيوط الفطرية ويلاحظ تحوصله (Vacoulation) (Komatsu., 1968;Gae *et al.*, 2001) بالإضافه إلى تحبب (Granulation) وتخثر(Coagulation) وتفتت (Disintegration) وأخيراً تفسخ (Lysis) (Elad, *et al.*,2000; Lim and The,1990; Geo, *et.al.*; 2001)



اليوم الثاني اليوم الخامس

صورة ٧: **التضاد الحيوي بين الفطر*R.solani*(مشار له بالحرف A) والفطر *T. koninigii* (مشار له بالحرف B) على بيئة (PDA) بطريقة Ferreira**



اليوم الخامس اليوم الثاني

صورة ٨: **التضاد الحيوي بين الفطر *R.solani* (مشار له بالحرف A) والفطر *T.harzianum(T2)* (مشار له بالحرف B) على بيئة (PDA) بطريقة Ferreira**

جدول ١: نسبة تثبيط نمو فطر *R.solani* بواسطة فطرتريكوديرما *T. koninigii* و *T.harzianum* كلا علي حده علي بيئة (PDA)

اليوم	% للتثبيط *T.harzianun*	% للتثبيط *T.koningii*
الأول	٣٧,٣	٢٣,٥
الثاني	٤٣,٣	٥٩,٣
الثالث	٧٢,٦	٧٢,٥
الرابع	٨٢	٨٣
الخامس	٨٥	٨٩
	NS	

NS: لاتوجد فروق معنوية بين نوعي فطر التريكوديرما

صورة ٩ : **تثبيط نمو فطر *R.solani* بواسطة فطر*T.harzianum(T2)* على بيئة (PDA) بواسطة الالتفاف وتشكيل (Appressoria) (40X)**

تأثير مستخلصات نوعي التريكودرما علي النمو الشعاعي للفطر الممرض الريزوكتونيا (Antibiosis) :

أوضحت النتائج أن كلا التركيزين المستخدمان في التجربة (١:١ و ١:٢) لمستخلصات الترايكوديرما ***T.koninigii*** **و** ***T.harzianum*** أديا إلي تثبيط نمو فطر الرايزوكتونيا في ببيئة PDA المخلوطة بمستخلص فطري التريكوديرما كل على حدا. عند إستخدام النسبة١:١ أظهر الفطرالنوع الأول فرق معنوي في كفاءة التثبيط فوق النوع الثاني حيث بلغت ٨٢,٢% و ٤٦,٧% على التوالي. عندما استخدم التركيزالأعلي (١:٢) زادت كفاءة النوع الثاني زيادة معنوية (إلي مايقارب الضعف) في تثبيط ***R.solani***، في حين أن النوع الأول لم يتأثر بمضاعفة التركيز. لم تكن هناك فروق معنوية بين النوعين في اليوم السابع بأستخدام التركيز الأعلي حيث كان متوسط نسبة تثبيط نمو ميسيليوم فطر الرايزوكتونيا في اليوم السابع ٨١,٧% ، ٩١,١% علي التوالي (جدول ٢). فحص Fadel (2005) قدرة عزلات التريكوديرما على إنتاج مضادات حيوية في الوسط الغذائي (PDB) الممزوج مع (PDA) بنسبة ١٠% حيث أظهرت النتائج تثبيط نمو الفطر ريزوكتونيا بمعدل ٧٠%).وقد سجل (Dwivedi 1992) أن البيئة الغذائية التي تم ترشيحها من الفطر *T.harzianum* قد ثبطت نمو الفطر *Fuzarium solani* و *F.logipus* الى ٦٤% و ٦٠% على التوالي. كما أثبت Deshmukh and Pants (1992) أن المركبات غير المتطايرة في البيئة الغذائية التي تم ترشيحها من *Trichoderma* spp. تثبط نمو ميسيليوم الكائن الممرض. وجاء ذلك مطابقا نتائج عـــدد من الباحـــثين (Eisendle *et al.*, 2004 ;Brewer and Larkin, 2005; Harmen, 2007)

جدول (٢): نسبة التضاد الحيوي لمستخلص نوعي التريكوديرما *T.koningii* (T1) و *T.harzianum*(T2) على تثبيط نمو فطر الريزوكتونيا *R.solani (R)* على بيئة PDA بنسبة ١:١ و1:٢

المستخلصات		اليوم						
التضاد	التركيز	الأول	الثاني	الثالث	الرابع	الخامس	السادس	السابع
T1وR	١ : ١	a ١٠٠	a ٧٧,٤	a ٧٧,٣	a ٧٨,٧	a ٧٦,٥	a ٨١,٣	a ٨٢,٢
	٢ : ١	a ١٠٠	a ٩٧,٤	a ٩٧,٨	a ٩٠,٦	a ٨٣,٧	a ٨٤,٠	a ٨٢,٧
T2,R	١ : ١	b ٢٧	b ١٠,٢	b ١٢,٦	b ٦,٥	b ٢٧,٦	b ٢٧,٦	b ٤٦,٧
	٢ : ١	a ١٠٠	a ١٠٠	a١٠٠	a ١٠٠	a ٩٤,١	a ٩٥,٨	a ٩١,١
C.V %		٥١,١	٢٥,٦	٣٢,٩	٢٥,٤	١٩,١	١٦,٧	١٠,٣
SE±		١٤,٥	١٠,٩	١١,٥	٩,٢	٦,٥	٦,٥	٤,٢
LSD		٤٦,٨	٢٢,٧	٢٨,٩	٢٣,٥	١٨,٠	١٦,١	١٠,٥

*المتوسطات التي تحمل أحرف متشابهه لا يوجد بينها فرق معنوي عندما ($P \geq 0.05$) حسب DMRT

*كل الأرقام الموجودة بالجدول تم تقريبها لمنزلة عشرية واحدة.

المراجع العربية

البغام، سعيد حسن وصلاح عبدالله موسى. ٢٠٠٢. التقريرالقطري حول أوضاع المكافحة الحيوية للآفات الزراعية للحد من تلوث البيئة بدولة الإمارات العربية المتحدة. (تقرير فني) المنظمة العربية للتنمية الزراعية – إستخدام المكافحة الحيوية للأفات الزراعية للحد من تلوث البيئة. دمشق الجمهورية العربية السورية –١٥–١٧ ديسمبر–٢٠٠٢.

الحسن، صالح،محسن. ٢٠١٢. النقرير الفني لتقييم محصول البطاطس للعام ٢٠١١–٢٠١٢ (نشرة فنية) وزارة الزراعة ولاية الخرطوم، السودان.

بخيت، وحسن قاسم محمد. 2002. التقريرالقطري حول أوضاع المكافحة الحيوية الآفات الزراعية للحد من تلوث البيئة في جمهورية مصرالعربية. (تقرير فني) المنظمة العربية للتنمية الزراعية – إستخدام المكافحة الحيوية للأفات الزراعية للحد من تلوث البيئة. دمشق الجمهورية العربية السورية –١٥–١٧ ديسمبر–٢٠٠٢.

روبرت، دانيال. ١٩٩٠. أساسيات أمراض النبات– الدار العربية للنشر والتوزيع– الطبعة الثالثة. صفحات ٢٨٧–٢٨٩.

المـراجع الأجنبيـة

Agrawal,S.C.,Khare,M.W.and Agrawal,P.S.1977. Biological control of *Sclerotia rolfsii* causing collar rot of lentil. *Indian Phytopathology*. *30*: 176–179.

Agrios,G.N. 2005. Plant Pathology 5rd ed. *Academic Press*, New York. 304–306.

Baldo, N. H., Elhassan, S. M. and Elballa, M. M. A. 2010. Occurrence of viruses affecting Potato crops in Khartoum state–Sudan. Potato Research, 53, 61–67.

Benhamou, N., Lafotaine, P. J., and Nicole, M. 1994. Induction of systemic resistance to Fusarium crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology*.84, 1432–1444.

Brewer MT, Larkin R.P, 2005. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. *Crop Protection* 24: 939–50

Deshmukh, P.P. and J.G. Pant, 1992. Antagonism by *Trichoderma spp*. on five plant pathogenic fungi. *N. Agriculturist*, 2: 127–130.

Domasch, K.H., Gams. W and Anderson, Traute–Heidi., 1980. Compendium of soil fungi. *vol.I & II.Academic Press*.

Eisendle, M., H. Oberegger, R. Buttinger P. Illmer and. HaasH. , 2004. Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the PacC–mediated ambient–pH regulatory system in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryotic Cell*, *3*: 561–563.

Itamar s.dc. M. Jane L. and Faul L. 2000. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* species. *Scientica Agricola Vol 57n.1. Piracicaba*.

Komatsu.M. 1976. Studies on Hypocrea, *Trichoderma* and allied fungi antagonistic to shiitake , Lentinus edodes. Rep.*Tottori Mycol.Inst.,13*,1-113.

Lemon , M. C., Pintor-Toro , J. A., and Benitez ,T.1999. Increased Antifungal Activity of *Trichoderma harzianum* Transformants That Over expresses a 33-Kda Chitinase. *Phytopathology 89*:254-261..

Lim, T.K. and The, B.K., 1990. Antagonism in vitro of *Trichoderma sp*. against several basidiomycetes, soil borne pathogens and Sclerotium rolfsii. *Zeitschrift Fci Pflanzenkarkheiten Pur Pflanzenschutz, 97*: 33-34.

Lorito ,M., Harman ,G. E., Hayes ,C. K., Broadway ,R. M., Tronsmo , A., Woo ,S. L., and Di Pietro ,A.1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum* : Antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology 83*:302-307.

Elad Y. FreemanS and MonteE., 2000. Biocontrol Agents: Mode of Action and Interaction with other Means of Control. *Vol. 24. IOBC, Sevilla,* Espana.

Ferreira, J.H.S.; Mathee, F.N. and Thomas, A.C., 1991. Biological control of Eutypa lotaon grapevine by an antagonistic strain of Bacillus subtilis. Phytopathology,81: 283-287.

Fadel. A. Al. Fattah, Mahariq, A. 2005. Biological cntrol of Rhizoctonia solani and Sclerotia rolfsii by using isolate of Trichoderma spp Thesis M. sc. An-Nahag University, P. 35-38.

Gao, K.X., LiuX.G., GaoR.F., HuaiW.X. and ZhangM. 2001. Study on the antagonism of *Trichoderma spp*. on canker pathogen fungi of popular. *Scientia-Silvae-Sinicae*, *37*: 82-86.

Harman, G.E. Howell Viterbo, A., Chet I. and Lorito M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol., 2*: 43-56.

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.

Platt, H. W., Canale.F., and Gimenes,G.1993.Effect of tuber-borne inoculums of *Rhizoctonia solani* and fungicidal seed potato treatment on plant growth and *Rhizoctonia* disease in Canada and Uruguay. *American Potato Journal.70*: 553-559.

Rich,A.E., 1983 .*Rhizoctonia* or "black scurf" in: Potato diseases. United Kingdom edition. Published by *Academic Press,INC* (London) LTD.

Ridout ,C. J., Coley - Smith ,J. R., and Lynch ,J. M .1986. Enzyme activity and electrophoretic profile of extracellular protein included in *Trichoderma spp.* By cell walls of *Rhizoctonia solani*. *Journal of General Microbiology. 132*: 2345-2352.

Rifai,M. A. 1969. A Revision of the genus *Trichoderma*. *Mycol.* Pap. No. 116, CMI, Kew.

Walker,J. C. 1969. Summary of discussions at a conference on Rhizoctonia Hell at Twin Falls. Idaho. Feb .24 .1977 In : Plant Pathology 2nd ed. McGarw. hill, New York.

Lorito ,M., Peter baeurrg ,C. K. , and Harman ,G. E., 1994. Synergistic interaction between fungal cell wall degrading enzymes and different antifungal compounds enhances inhibition of spore germination. *Microbiology 140*:623-629.

Magzoub, A., Abubakr, E. 1999. A thesis submitted to the Graduate College, University of Khartoum in partial fulfillment of the requirements for the degree of M.Sc. (Agric.)(plant pathology).

Mukherjee ,S., and Tripathi ,H. S.2000. Biological and Chemical Control of Wilt Complex of French bean. *Journal of Mycology and Plant Pathology* (India). *30*:380-385.

Papavizas ,G. C; Adams, P.B; Lumsden, R. D; Lewis ,J. A.; Dow, R. L.; Ayers ,W. A. and Katzes ,J. G. 1975. Ecology and epidemiology of *Rhizoctonia solani* in field soil. *Phytopathology 65*:871,876.

Prasad, R.D., RangeshwaranR., Anuroop , C.P. and RashmiH.J., 2002. Biological control of wilt and root rot of chickpea under field conditions. *Ann. Plant Prot. Sci., 10:* 72-75.

In vitro Evaluation of Antagonism between *Trichoderma* spp.and *Rhizoctonia solani* causing black scurf disease on potato

Sahar Hafez Aabed[1] , Seddig Mohamed Elhassan[2] and Tarig Al-Sayed Ali[3]

1. *Elbayder company for development projects limited*
2. *Dept. of crop protection, Faculty of Agric, University of Khartoum, Sudan*
3. *Dept. of crop protection, Faculty of Agric, University of Omdurman Islamic, Sudan*

Abstract: The fungus *Rhizoctonia solani* causes black scurf disease in potato crops, which results in lower yield and quality of ware and seed potatoes. This study was under taken to evaluate in vitro the inhibitive effect of two antagonistic *Trichoderma* species on the fungus pathogen *Rhizoctonia.* Apure isolate of the pathogen *R.solani* was recovered from certified tubers imported from Holland, while the two antagonists, *T.harzianum* and *T.koningii* Pers that have been used in biological control of several pathogenic fungi were obtained from University of Tushreen, Syria. The percent inhibitive capability of the two antagonists was assessed in both solid potato dextrose agar (PDA) and liquid potato dextrose broth (PDB) media, and in turn the underlying mechanism of the antagonistic behavior involved was inferred. Bothe species of *Trichoderma* antagonists inhibited *Rhizoctonia* growth significantly compared to the control, with extensive growth and sporulation over the pathogen. Isolates of *T. koningii* showed higher growth rates and more proliferative sporulation on the pathogen colonies than *T.harzianum*. The direct parasitism of *Trichoderma* could be inferred from the observation under the light microscope of the coiling of the antagonist mycelium around that of the pathogen with external malformation on its hyphae. Also, the culture filtrates of the two antagonist species (at 1:1 and 2:1 concentration) displayed high competitive efficacy of growth inhibition of the pathogen *Rhizoctonia* isolates in PDA, indicating secretion of inhibitive substances to *Rhizoctonia*(pathogen). There were no significant differences between the two concentrations of *T. koningii,* while the higher concentration was more efficacious in *T.harzianum*than the lower one for inhibition or secretion of inhibitive substances to *Rhizoctonia*.

Key word: *Biological control, Antagonism, Rhizoctonia solan ،T.harzianum ، T.koningii*