

ВЛИЈАНИЕ НА *TRICHODERMA SP.* ВРЗ РАЗВОЈОТ НА ПРИЧИНТЕЛОТ НА СЕЧЕЊЕТО КАЈ ТУТУНСКИОТ РАСАД - *RHIZOCTONIA SOLANI*

Биљана Гвероска
Научен институт за тутун - Прилеп

ВОВЕД

Сечењето на тутунскиот расад е мошне деструктивна болест која предизвикува значителни штети во расадопроизводството. Болеста може да се појави во сите развојни фази и се шири мошне брзо во тутунските леи, поради што голем дел од расадот е уништен. Како причинители на оваа болест се истакнуваат патогените габи *Rhizoctonia solani* и *Pythium debarianum*.

Често пати симптомите се слични, што создава тешкотии во детерминирањето на патогенот, а оттука и во соодветната заштита. Во пракса се применуваат мал број препарати, поради што постојано се бараат и испитуваат нови. Но, се наметнува и потребата да се проучат и други средства и начини за борба со овие патогени.

Во последно време голем интерес предизвикуваат антагонистичките односи меѓу микроорганизмите, односно способноста на одделни микроорганизми да излучуваат антибиотици или некои фунгистатични материји и на тој начин да го спречуваат развојот на другите микроорганизми. Овие односи се користат за биолошко сузбивање на патогените, што е и составен дел на интегралната заштита.

Биолошкиот начин на сузбивање на патогените врз база на антагонистичките односи се состои во користење на самите микроорганизми-антагонисти против растителните патогени. Во последно време од поголем интерес се биохемиските основи во антагонистичките односи, кои се користат за развивање на нови фунгициди (Пејчиновски и Митрев, 2007).

Литературните податоци говорат дека видовите од родот *Trichoderma* покажуваат антагонистички односи во однос на голем

број габи, причинители на болести кај растенијата. Дејството на овие корисни микроорганизми било познато уште од 1930 год., а денес постојат развиени технологии за нивна примена во биоконтролата на повеќе болести (Harman, 1996).

Овие видови се познати по способноста за создавање на повеќе литички ензими и/или антибиотици. Се применуваат во биолошката борба против повеќе почвени патогени габи (Lieckfeldt et al., 1999).

Според Thornton et al.(2002), повеќе видови *Trichoderma* се сапрофити во почвата и компостот кои се користат во биолошката борба против растителните болести предизвикани од економски значајните патогени како *Rhizoctonia solani* и *Pythium ultimum*. Во истражувањата на Singh и Chand (2007), меѓу повеќе испитувани биоагенси, два вида на *Trichoderma*, покажале максимална редуција на порастот на колонијата од *Rhizoctonia solani* во лабораториски услови, како и максимална заштита на болеста во биолошка лабораторија.

Редуцирачкиот ефект, како и природата на дејство на *Trichoderma sp.* врз повеќе патогени меѓу кои и *Rhizoctonia solani*, го докажале Миркова (1982,1983) и Kivanc и Kivanç (2003).

Од изнесеното може да се констатира дека видовите од родот *Trichoderma* можат да се користат како биолошко средство за борба против предизвикувачите на сечењето кај тутунскиот расад. Но, тоа е проследено со претходна изолација на габите антагонисти и проучување на нивното дејство. Тоа беше цел и во нашите истражувања - да се изолира *Trichoderma sp.* и да се проучи нејзиното влијание врз патогената габа *Rhizoctonia solani*.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА РАБОТА

Чиста култура од патогенот *Rhizoctonia solani* беше добиена од инфициран тутунски расад по стандардна лабораториска метода.

Trichoderma sp. беше изолирана од ризосферата, поточно од коренската зона на тутунски растенија по методот на разредување, врз чапек - подлога.

Испитувањата се вршени по методот на двојни култури, на стандардна хранлива подлога компирдекстрозен агар (КДА).

Опитите се изведени во 3 повторувања, секое повторување со по 5 петријеви кутии по варијанта. Инкубацијата се вршеше на температура од 25°C и со секојдневно мерење на дијаметарот на колониите.

Во испитувањето беа вклучени следниве варијанти:

1. Засејување на едната половина од

подлогата со фрагмент од чиста култура на *Rhizoctonia solani*, а на другата со фрагмент од *Trichoderma* sp.

2. Истовремено поставување на фрагментите од *Rhizoctonia solani* и *Trichoderma* sp. еден до друг.

3. Претходно засејување на патогенот и инкубација до исполнување на половина од подлогата, а потоа засејување со *Trichoderma* sp.

4. Поставување фрагмент од *Trichoderma* sp. во добро развиена култура од патогенот (70-80% од петриевата кутија) и тоа:

- во културата

- во чистиот дел од подлогата

5. Засејување на *Trichoderma* sp. врз потполно развиена култура од патогенот.

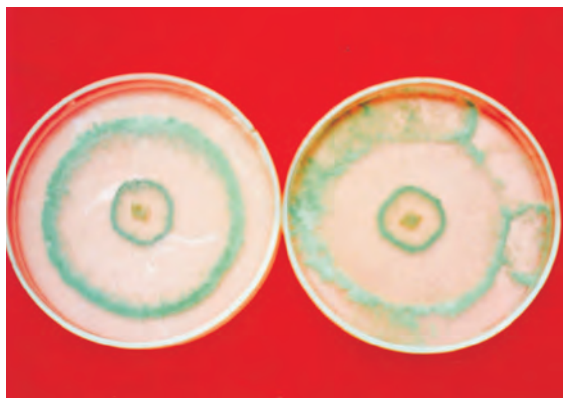
6. Чисти култури од *Rhizoctonia solani* и *Trichoderma* sp. - како контрола.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Trichoderma sp. формира колонија најпрвин со бела мицелија. Со формирањето на конидиофорите и конидиите се забележуваат концентрични кругови во

зелена боја. Изгледот на колонијата од *Trichoderma* sp. е прикажан на Сл. 1.

На Сл. 2 е прикажана чиста култура од патогената габа *Rhizoctonia solani*.



Сл. 1 *Trichoderma* sp. чиста култура
Ph 1. *Trichoderma* sp., pure culture



Сл. 2 *Rhizoctonia solani*, чиста култура
Ph 2. *Rhizoctonia solani*, pure culture

При поставување на фрагментите во двојни култури, (т.е. фрагмент од одделните габи во секоја половина од подлогата), на првиот ден од испитувањето двете габи имаа скоро еднаков дијаметар (Табела 1). На вториот ден, *Rhizoctonia solani* достигнала 65,0mm,

а *Trichoderma* sp. 40,0mm. Се забележува дека двете култури се споиле (Сл. 3а). На третиот ден, кај *Rhizoctonia* се забележува незначително зголемување (47,2mm), додека *Trichoderma* значително го зголемила дијаметарот на својата колонија (90,6mm).

Табела 1. Влијание на *Trichoderma sp.* врз развојот на *Rhizoctonia solani*
Table 1. Effect of *Trichoderma sp.* on development of *Rhizoctonia solani*

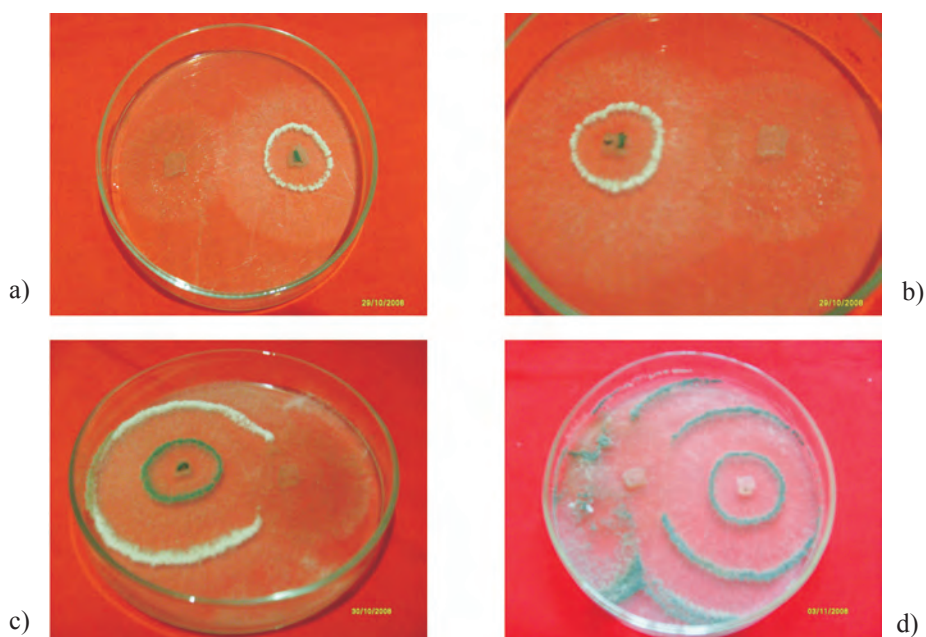
Дијаметар (mm) diameter (mm)		денови / days				
		1	2	3	4	5
Rhizoctonia		22,4	40,0	47,2	48,7	48,7
Trichoderma		29,4	65,0	90,6	107,2	110,0
Контрола Check Ø	Rhizoctonia	21,4	34,8	62,8	92,2	110,0
	Trichoderma	25,2	65,2	98,4	110,0	

На четвртиот ден, *Rhizoctonia* запира со својот развој (48,7mm), а се забележува и издолжен, деформиран изглед на колонијата поради тенденцијата на развој кон спротивните страни.

Trichoderma како да поминува низ самата култура од *Rhizoctonia*, истовремено заобиколувајќи ја (Сл. 3b,c). Нејзиниот развој се одвива непречено и таа ја исполнува целата

петриева кутија (Табела 1, Сл. 3d).

Може да се констатира дека *Rhizoctonia solani* го редуцира својот развој од моментот кога ќе се спои со колонијата на *Trichoderma sp.* Според Almeida et al. (2007), во двојните култури инхибиција на развојот на *R. solani* настанува наскоро по контактот со антагонистот.



Сл. 3(a-d) Развој на колониите на *R. solani* и *Trichoderma sp.* во двојна култура
Ph. 3 (a-d) Development of the colonies of *R. solani* and *Trichoderma sp.* in double culture

Резултатите од испитувањата за влијанието на *Trichoderma* врз *Rhizoctonia* кога фрагментите се поставени во непосредна близина еден до друг се прикажани во Табела 2 и Сл. 4 (a-e).

Се забележува дека и во овој случај тие го започнале својот развој со исти вредности на дијаметарот (Табела 2, Сл. 4a). Но, веќе на вториот ден *Trichoderma* има скоро двојно поголем пораст. Истовремено, таа

ја заобиколува културата на *Rhizoctonia* и го продолжува својот развој (Сл. 4b). Изгледот на колонијата на *Rhizoctoniae* сличен како и кај варијантата 1, односно таа има издолжена форма и воопшто не се развива кон страната на антагонистот.

Како и во претходниот случај, *Trichoderma* се развива непречено, истовремено редуцирајќи го развојот на *Rhizoctonia solani* (Сл. 4 c,d).

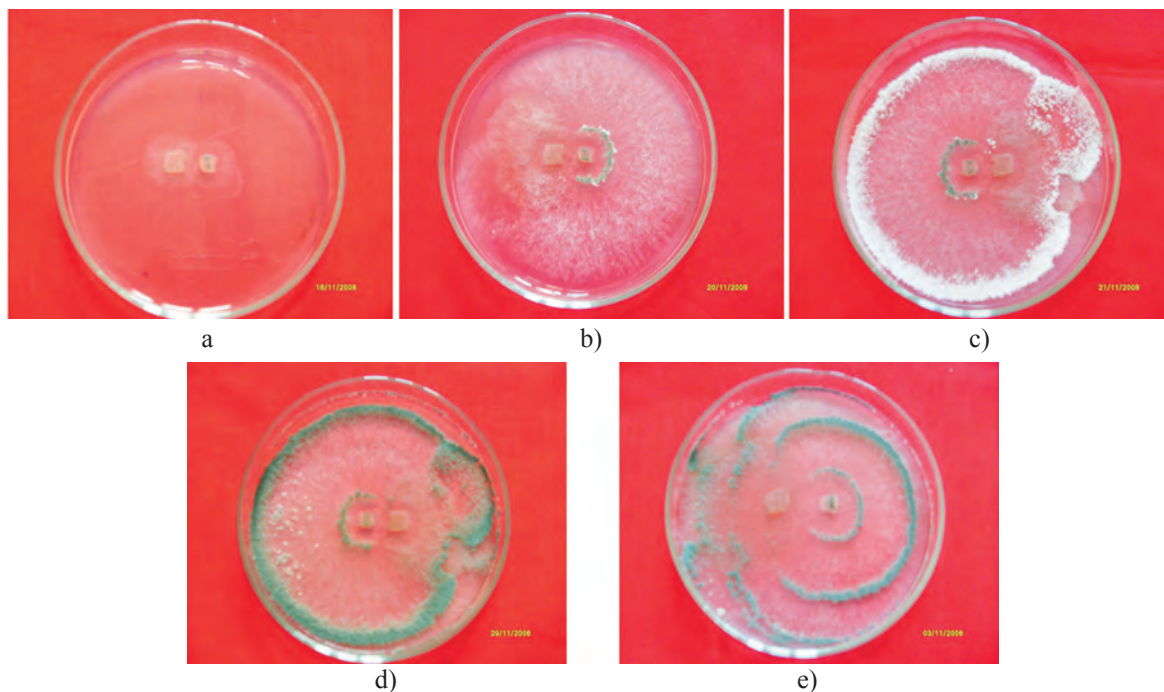
Табела 2. Влијание на *Trichoderma* sp. врз развојот на *Rhizoctonia solani*
Table 2. Effect of *Trichoderma* sp. on development of *Rhizoctonia solani*

Дијаметар (mm) diameter (mm)		денови / days			
		1	2	3	4
Rhizoctonia		24,6	36,8	41,2	45,2
Trichoderma		28,6	69,6	106,0	110,0
Контрола Check Ø	Rhizoctonia	19,4	56,4	86,0	110,0
	Trichoderma	26,75	86	93,75	110,0

На крајот од испитувањето, културата на *Rhizoctonia* едвај се забележува (Сл. 4e). Во целата петриева кутија јасно можат да се забележат концентричните прстени специфични за развојот на поголем дел од видовите *Trichoderma*. Повеќето видови *Trichoderma* најдобро се развиваат и покажуваат најголем редуцирачки ефект кон *Rhizoctonia*

solani, на почвен агар и на КДА (Zhao et al., 2007).

Антагонистичката активност на *Trichoderma* sp. во култура се изразува со задржување на растот на тест-габите и брзото нарастување на антагонистот, кој се размножува врз колонијата на патогенот (Миркова, 1982).



Сл. 4 (a-e) Развој на колониите на *R. solani* и *Trichoderma* sp. во двојна култура со доближани фрагменти

Ph. 4 (a-e) Development of the colonies of *R. solani* and *Trichoderma* sp. in double culture with near-contact fragments

Во случајот каде што беше овозможена временска и просторна предност на *Rhizoctonia solani* (варијанта 3) се забележува дека од моментот на поставување на фрагмент од антагонистот, таа престанува да се развива кон него, но продолжува кон спротивните страни (Сл. 5a). Истовремено, *Trichoderma* се развива

непречено и ја заобикоува колонијата од *Rhizoctonia*, при што се забележува и промена на нејзината пигментацијата (Сл. 5b).

На крајот од испитувањето, културата на *Rhizoctonia* останува взаробена, а целата петриева кутија е исполнета со *Trichoderma* (Сл. 5c).



a) b) c)

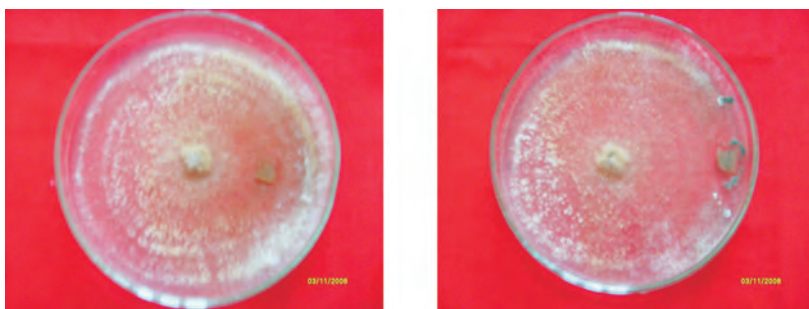
Сл. 5 (a-c) Развој на колониите на *R. solani* и *Trichoderma* sp. при временско и просторно предимство во развојот на патогенот
Ph. 5 (a-c) Development of the colonies of *R. solani* and *Trichoderma* sp. in temporal and spatial advantage of pathogen growth

Trichoderma sp. го продолжи својот развој и покрај тоа што културата на *Rhizoctonia* беше развиена 70-80% (Сл. 6a).

Кога фрагментот на *Trichoderma* беше поставен на чистиот дел од подлогата, *Rhizoctonia* престана да се развива кон таа страна, додека пак јасно можат да се забележат промена на пигментацијата на

колонијата и развој на *Trichoderma* sp. (Сл. 6b).

Патогенот се развива до моментот на контакт со габата-антагонист, а таа пак го продолжува својот развој врз колонијата на патогенот, спорулира и ја променува бојата на колонијата, т.е. дејствува како суперпаразит (Миркова, 1983).

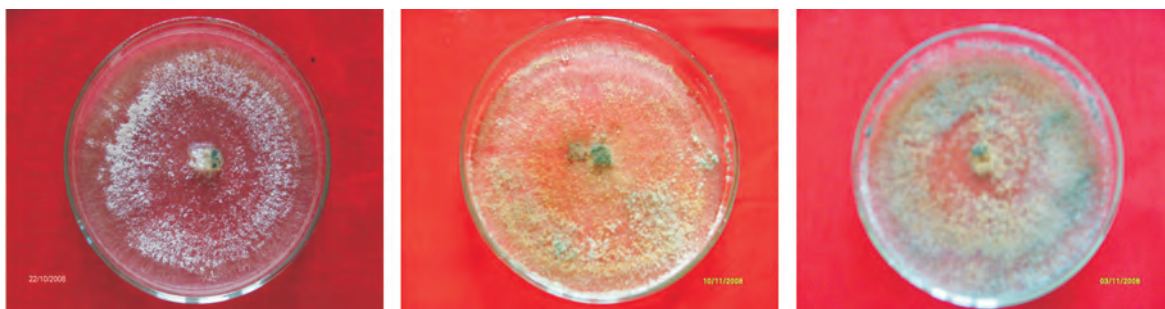


a) b)

Сл. 6 (a,b) Развој на колониите на *R. solani* и *Trichoderma* sp. при изразито предимство во развојот на патогенот
Ph. 6 (a,b) Development of the colonies of *R. solani* and *Trichoderma* sp. in pronounced advantage of pathogen growth

Промена на развојот на *Trichoderma* sp. не беше забележана ни во случај кога фрагментот беше поставен врз развиена култура од патогенот. Таа се развиваше

нормално, како да ги црпи хранливите материи од неа. Врз *Rhizoctonia* се забележува потполно развиена култура на *Trichoderma* sp. (Сл. 7 a-c).



a) b) c)

Сл. 7(a-c) Развој на *Trichoderma* sp. врз потполно развиена култура на *R. solani*
Ph. 7 (a-c) Development of *Trichoderma* sp. on completely developed culture of *R. solani*

Според Harman (1996), *Trichoderma* sp. се развива точно кон хифите од другите габи, се намотува околу нив и ги деградира нивните клеточни ѕидови. Ова реакција на микопаразитизам го ограничува развојот

и активноста на патогените габи. Дополнително, како и заедно со микопаразитизмот, некои видови *Trichoderma* ослободуваат антибиотици.

ЗАКЛУЧОЦИ

1. Во испитувањата in vitro, *Trichoderma* sp. влијаеше врз развојот на патогенот *Rhizoctonia solani*.

2. Во двојните култури патогенот се развива до моментот кога културата ќе се доближи до *Trichoderma* sp.

Trichoderma sp. продолжува да се развива непречено, истовремено инхибирајќи го развојот на патогенот.

3. Кај варијантата каде фрагментите се поставени истовремено еден до друг, *Rhizoctonia* се развива краток период, додека *Trichoderma* се развива околу неа и ја исполнува целата петриева кутија.

4. Кај варијантите каде беше овозможен развој на културата од патогенот до половина или до 70-80% од петриевата

кутија, *Trichoderma* се развиваше непречено, истовремено инхибирајќи го развојот на културата од патогенот.

5. *Trichoderma* sp. се развиваше непречено и во потполно развиената култура од испитуваниот патоген.

6. *Trichoderma* sp. покажа силно редуцирачко дејство врз развојот на *Rhizoctonia solani*.

7. Ваквото дејство на *Trichoderma* sp. кон предизвикувачот на сечењето кај тутунскиот расад може да се искористи во биолошкото сузбивање на овој патоген.

8. Испитувањата треба да продолжат и во услови на производство на тутунски расад.

ЛИТЕРАТУРА

1. Almeida F., Cerqueira F., Silva R., Uhoa C., Lima A., 2007. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. *Microbiology*, Jun; 153 :1734-42 17526831

2. Harman G.E., 1996. *Trichoderma* for Biocontrol of Plant Pathogens: From Basic Research to Commercialized Products. Conference on Biological Control, Cornell community, April 11-13.

3. Küçük Ç., Kivanç M., 2003. Isolation of *Trichoderma* Spp. and Determination of Their Antifungal, Biochemical and Physiological Features. *Turk J Biol* 27, 247-253.

4. Lieckfeldt E., Samuels G. J., Nirenberg H. I., Petrini O., 1999. A Morphological and Molecular Perspective of *Trichoderma viride*: Is It One or Two Species. *Appl Environ Microbiol.* 65(6): 2418-2428.

5. Миркова Е., 1982. Иследване in vitro на антагонистичната активност на *Trichoderma* sp. към някои почвени патогени. Градинарска и лозарска наука, год. XIX, № 1, 73-81.

6. Миркова Е., 1983. Приложение на *Trichoderma harzianum* Rifai за борба с

фузаријното увряхване (*Fusarium oxysporum* sch.f. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyd. et Hans.) при оранжерийния карамфил. Селскостопанска академия, Градинарска и лозарска наука, год. XX, № 1, 65-69.

7. Пејчиновски Ф., Митрев С., 2007. Земјоделска фитопатологија (Општ дел). Институт за јужни земјоделски култури, Струмица.

8. Singh S., Chand H., 2007. Screening of bioagents against root rot of mung bean caused by *Rhizoctonia solani*. *Mycopathologia*, Jun 26, :17 592-758.

9. Thornton C.R., Pitt D., Wakley G., Talbot N., 2002. Production of a monoclonal antibody specific to the genus *Trichoderma* and closely related fungi, and its use to detect *Trichoderma* spp. in naturally infested composts. *Microbiology* 148, 1263-1279.

10. Zhao A-Na., Ding W-L., Zhu D-L., 2007. Screening strains for *Trichoderma* spp. for strong antagonism against ginseng root pathogens and study on their biological characters. *Fungal Genet Biol.* Jan 9, ; 17 218128.

**THE INFLUENCE OF *TRICHODERMA SP.* ON *RHIZOCTONIA SOLANI*
- THE AGENT OF ROOT ROT DISEASE IN TOBACCO SEEDLINGS**

B. Gveroska

Scientific Tobacco Institute-Prilep

SUMMARY

In vitro investigation was made to study the influence of *Trichoderma sp.* on *Rhizoctonia solani* - the agent of root rot disease in tobacco seedlings.

In all double-culture variants, *R. solani* stops its development in the moment when the culture comes close to *Trichoderma sp.*, while the latter continues its development without interruption. Also, in both variants where spatial and temporal advantage of *R. solani* was enabled, further development of *Trichoderma sp.* inhibited its further growing. *Trichoderma sp.* was growing continually even in the completely developed culture of the test-pathogen.

The strong reducing effect of *Trichoderma sp.* toward *R. solani* can be used in biological control of this pathogen.

Key words: pathogen, antagonist, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma sp.*, inhibitory effect

Author's address:

Biljana Gveroska

Scientific Tobacco Institute - Prilep

Kicevski pat bb, 7500 Prilep

Republic of Macedonia

e-mail:gveroska@t-home.mk