Selection of local isolates of the genus Trichoderma for use in eggplant in Hama. the control of wilt diseases and Damping off

Dr. Mosa AlSamara[*]
Dr. Mohamed Ahmed[**]
Dr. Nawal Ali[***]
Shady Soliman[****]

(Received 6 / 8 / 2023. Accepted 29 / 11 /2023)

□ ABSTRACT □

The research aimed to conduct a field survey of the genus Trichoderma in Hama governorate in order to determine the most efficient local isolates in controlling wilting and Damping off diseases on eggplant plants caused by *Fusarium oxysporum* and Rhizoctonia *solni* in laboratory conditions to be adopted in the mass prodaction of *Trichoderma* fungus. The results showed the isolation of 76 local isolates of the genus *Trichoderma* from 100 soil samples that were collected from the fields of the areas of Hama Governorate, in addition to isolating and identifying the pathogens tested from samples of infected eggplant roots and testing their pathogenicity. A series of efficiency tests were conducted, where the linear growth rate of each of the tested isolates was calculated, and the average linear growth speed of all isolates was 17.2 ± 0.3 mm / day. isolate and the rest of the isolates were excluded, a test of the degree of fungal antagonism with laboratory tested pathogens was performed; The ability of all tested isolates to antagonize pathogens was shown to varying degrees and ranged from 1 to 2.67 degrees on the Bell scale, and ten tested isolates outperformed the rest of the isolates by obtaining the highest degree of fungal antagonism with each of the pathogens (and it was between 1 to 1.33 degrees), and the results of the laboratory inhibition ratio test showed the ability of these ten isolates to inhibit the growth of pathogens with an inhibition rate of 69.99% for *Fusarium oxysporum* and 49.49% for *Rhizoctonia solni*. The ten tested isolates were able to produce abundant quantities of conidia, and their production ranged from 3.33 * 10^9 to 15.33 * 10^9 spores / gram, and outperformed both isolate No. 25 (15.33 * 10^9 spores / gram) and isolate No. 57 (6*10^9 spores / g) over the rest of the ten isolates in the production of conidia.

Keywords: *Trichoderma* fungus, growth rate, inhibition rate, conidia

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

[*] **Professor -Department of Environmental Protection - Higher Institute for Environmental Research Tishreen University-lattakia-syria**
[**]Professor -Plant Protection Department - Faculty of Agricultural Engineering - Tishreen University-lattakia-syria
[***]Professor -Department of Biology - Faculty of Science - Tishreen University- lattakia-syria
[****]Postgraduate student (PhD) - Department of Environmental Protection - Higher Institute for Environmental Research - Tishreen University. shady.soliman@tishreen.edu

اختيار عزلات محلية من الجنس *Trichoderma* لاستخدامها في مكافحة أمراض الذبول وسقوط بادرات نبات الباذنجان في حماة.

د. موسى السمارة[*]

د محمد أحمد[**]

د نوال علي [***]

شادي سليمان[****]

(تاريخ الإيداع 6 / 8 / 2023. قبل للنشر في 29 / 11 / 2023)

□ ملخّص □

أجري مسح حقلي للجنس *Trichoderma* في محافظة حماه لتحديد أكفأ العزلات المحلية في مكافحة أمراض الذبول و سقوط البادرات على نبات الباذنجان المتسببة عن فطري *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia Solni* في الظروف المخبرية لاعتمادها في الإكثار الكمي لفطر *Trichoderma*. أظهرت النتائج عزل 76 عزلة محلية من الجنس *Trichoderma* من 100 عينة من التربة التي جمعت من حقول المناطق التابعة لمحافظة حماة، بالإضافة لعزل و تعريف العوامل الممرضة المختبرة من عينات جذور نبات الباذنجان التي تعاني من الإصابة و اختبار قدرتها الإمراضية . أجريت سلسلة من اختبارات الكفاءة ، حيث تم حساب سرعة النمو الخطي لكل عزلة من العزلات المختبرة و قد بلغ متوسط سرعة النمو الخطي لكافة العزلات 17,2± 0,3 مم/ يوم ، اختيرت العزلات التي زاد معدل سرعة نموها عن هذا المتوسط و عددها 40 عزلة و استبعدت بقية العزلات، تم إجراء اختبار درجة التضاد الفطري مع العوامل الممرضة المختبرة مخبرياً؛ تبين قدرة كافة العزلات المختبرة على التضاد مع العوامل الممرضة بدرجات متفاوتة و تراوحت بين 1 إلى 2,67 درجة على مقياس Bell،و تفوقت عشر عزلات مختبرة على بقية العزلات بحصولها على أعلى درجة تضاد فطري مع كل من العوامل الممرضة(و كانت بين 1 إلى 1.33 درجة)، كما بينت نتائج اختبار نسبة التثبيط المخبري قدرة هذه العزلات العشرة على تثبيط نمو العوامل الممرضة بنسبة تثبيط 69,99% لفطر *Fusarium oxysporum* و 49,49% لفطر *Rhizoctonia solni* . كانت العزلات العشرة المختبرة قادرة على إنتاج كميات وفيرة من الأبواغ الكونيدية وتراوح إنتاجها بين $3,33*10^9$ إلى $15,33*10^9$ بوغة/ غرام وتفوق كل من العزلة رقم 25 ($15,33*10^9$ بوغة/ غرام) و العزلة رقم 57 ($6*10^9$ بوغة/ غرام)على بقية العزلات العشرة في إنتاج الأبواغ الكونيدية.

الكلمات المفتاحية: فطر *Trichoderma*، سرعة النمو ، نسبة التثبيط، الأبواغ الكونيدية

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

---

[*] أستاذ- قسم الوقاية البيئية- المعهد العالي لبحوث البيئة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية

[**] أستاذ -قسم وقاية النبات-كلية الهندسة الزراعية- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية

[***] أستاذ -قسم علم الحياة- كلية العلوم- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية

[****] طالب دكتوراه- قسم الوقاية البيئية- المعهد العالي لبحوث البيئة- جامعة تشرين. - اللاذقية- سورية

مقدمة:

يعد نبات الباذنجان *Melongena solanum* أحد أهم محاصيل الخضار الصيفية في سوريا لما يتمتع به من قيمة غذائية عالية و كونه يدخل في صناعة العديد من أنواع الأغذية. بلغت المساحة المزروعة في سوريا عام 2020 /7671/ هكتارا أنتجت /146424/ طن. تنتشر زراعته في معظم المحافظات السورية وتنجح في المناطق المعتدلة، و يزرع في البيوت المحمية و الحقول المكشوفة.

تلعب أمراض النبات دوراً مباشراً في تخفيض الإنتاج الزراعي وتعد أمراض الذبول و سقوط البادرات من اهم الأمراض الفطرية التي تؤدي إلى انخفاض إنتاج العديد من الخضار و منها الباذنجان (Barone and Frusciante,2007) وتتراوح نسبة الفاقد في المحصول نتيجة هذه الإصابات بين 30 إلى 40% و قد ترتفع لتصل إلى 80% في ظروف بيئية مناسبة (Kapoor *et al*, 2008). وبالتالي تشكل هذه الأمراض عائقاً كبيراً أمام زراعة وإنتاج محاصيل الخضار في سوريا.

تعد المكافحة الكيميائية لهذه الأمراض من الإجراءات الصعبة لأنها مستوطنة في التربة و تصيب طيفاً واسعاً من الأنواع النباتية، فضلاً عن كونها مكلفة للغاية و غير مستدامة، بالإضافة لتأثيراتها السلبية على البيئة و الإنسان و تراكمها في التربة الزراعية و تلويث المياه الجوفية والاحتمالات العالية لتشكيل سلالات مقاومة لها (Redda *et al*,2018).

استعملت العديد من العوامل الحيوية على شكل مبيدات حيوية لمكافحة مسببات الأمراض الفطرية و تعد أنواع الجنس *Trichoderma* من الفطريات التي أثبتت فعاليتها كمبيدات حيوية ضد العديد من الأمراض الفطرية المستوطنة في التربة.(Anand and Jayarama, 2009).

تشكل أنواع جنس الفطر *Trichoderma* 50% من المبيدات الحيوية الفطرية المتوفرة في الأسواق العالمية. (Verma *et al*,2007) تمتاز أنواعه بامتلاكها قدرة تضادية عالية و آليات تأثير متنوعة ضد المسببات المرضية إضافة إلى قدرتها على تشجيع نمو النبات و سهولة عزلها من بيئتها و سرعة نموها و إمكانية تنميتها على أوساط غذائية رخيصة الثمن.(Harman,2000) .

سجلت الأنواع التالية من الجنس *Trichoderma* : *T. hamatum , T.harzianum, T.viride* خفضاً في نمو ميسيليوم كلاً من فطري *Fusarium solni* و *Rhizoctonia solni* و ذلك بفضل إفرازها لعدد من أنزيمات الدفاع عن النبات ضد المسببات المرضية الفطرية كالكيتيناز Chitinase و البيروكسيداز Peroxidase و البولي فينيل اوكسيداز Polyphenol oxidase (Cherif *et al*. 2007; Latha *et al*. 2009; Prlak and Kose 2009; Saksirirat *et al*. 2009).

تعد المستحضرات الحيوية المستخدمة في مكافحة الأمراض الفطرية بديل ممكن للمبيدات الكيميائية فهي صديقة للبيئة وتتلاءم مع الزراعة المستدامة و أكثر فعالية من المبيدات الكيميائية على المدى الطويل، و إن النجاح في تطوير صناعة منتج وطني نظيف و منافس للمبيدات الكيميائية و بتكلفة اقتصادية يشكل دعماً للمساعي الحكومية الرامية إلى التخفيف من استخدام المبيدات الكيميائية و دعم الزراعة و المزارعين.

أهمية البحث و أهدافه

يعد فطر *Trichoderma* من أهم عوامل المكافحة الحيوية لأمراض النبات الفطرية المنقولة عن طريق التربة والتي تسبب خسائر كبيرة في إنتاج محاصيل الخضار، و تشكل تحدياً كبيراً للمزارعين بسبب صعوبة مكافحتها

باستخدام المبيدات الكيميائية و ارتفاع تكاليف المكافحة، بالإضافة للتأثير السلبي لهذه المبيدات على صحة الإنسان وبيئته. يهدف البحث إلى إجراء عملية مسح حقلي للجنس *Trichoderma* في محافظة حماه بهدف تحديد أكفأ العزلات المحلية في مكافحة أمراض الذبول و سقوط البادرات على نبات الباذنجان المتسببة عن فطري *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia Solni* كخطوة أولى لاعتمادها في الإكثار الكمي لفطر *Trichoderma*.

طرائق البحث ومواده:

مكان تنفيذ البحث: مناطق بيئة مختلفة في محافظة حماه و مخابر معمل المبيدات الحيوية التابع لوزارة الزراعة. نفذ المسح الحقلي خلال عام 2020 من خلال جمع 100 عينة من تربة المحيط الجذري و الملاصقة للجذور لعدد من أنواع الخضار الصيفية كالخيار و البندورة و الباذنجان و بالإضافة لعينات من جذور هذه النباتات التي تبدو عليها أعراض الإصابة بأمراض الذبول الفطري من مناطق مختلفة تابعة لمحافظة حماه .

وضعت العينات في أكياس من البولي ايتلين وكتب عليها المعلومات اللازمة (تاريخ ومكان الجمع و النبات المزروع) ونقلت إلى المختبر وجففت في غرفة مظللة و مهواة بشكل جيد وبعد تمام التجفيف، تم قشط طبقة التربة المحيطة بالجذور بلطف باستخدام مشرط معدني داخل مرطبان بلاستيكي وجرى تنعيم التربة الناتجة باستخدام الهاون وغربلتها وترقيمها وحفظها في البراد، كما تم حفظ الجذور المتبقية مع التربة الملاصقة لها السليمة منها والتي تظهر عليها علامات الإصابة بفطريات الذبول الضارة كل منها على حدى بعد ترقيمها .

عزل *Trichoderma*:

- عزل *Trichoderma* من التربة المحيطة بالجذور **Rhizosphere** : أخذ 1 غ من كل عينة و وضعت داخل أنبوب بلاستيكي مدرج معقم وأكمل الحجم إلى 10 مل بواسطة الماء المقطر والمعقم المضاف له توين 80 تركيز 01% كمادة مشتتة وذلك داخل غرفة العزل الجرثومي. رج الأنبوب باستخدام جهاز رجاج 300 دورة /د لمدة 10 دقائق ، أخذ من المحلول الأم 1 مل أضيفت إلى أنبوب آخر يحتوي 9 مل ماء مقطر و معقم، و كرر التخفيف بالطريقة نفسها للوصول إلى التخفيفات 10^2 و 10^3 و 10^4 . أخذ من كل تخفيف 0.5 مل بواسطة ميكروبيت عياري و وضعت في طبق بتري معقم داخل غرفة العزل الجرثومي وزعت عن طريق تحريك الطبق البتري بشكل رحوي على شكل رقم 8، و صب 20 مل من بيئة PDA المحضرة و المعقمة مسبقا و المضاف لها المضاد الحيوي chloramphenicol 250 ملغ/ ليتر بثلاث مكررات و حركت بشكل جيد و حضنت عند درجة حرارة 25±1 و رطوبة نسبية 70±5% و إضاءة 12:12 لمدة 5 أيام (الموسوي،2011) (Al-Zujaji,2000)
- **عزل *Trichoderma* من التربة الملاصقة لسطح الجذور:** تم تقطيع الجذور من كل عينة لقطع صغيرة 1 سم و وضعت في بيشر سعة 200 مل تم ملأه ب 50 مل ماء مقطر و وضع على جهاز هزاز رحوي لمدة خمس عشر دقيقة بسرعة 350 د/د و أعيد وضعه على خلاط مغناطيسي و ذلك لضمان تحرر الأبواغ العالقة على سطح الجذور أخذ 1 مل من المحلول و حضر سلسة تخفيفات إلى 10^2 و 10^3 و زرعنا من هذه التخفيفات كما في الفقرة السابقة (Al-Zujaji,2000) (Abdel-Hafez and Al-Maghraby ,1992) .(الموسوي،2011)

وتم تنقية أنواع الجنس *Trichoderma* على الوسط المغذي PDA و عرفت اعتماداً على الصفات المورفولوجية بدلالة المظهر الخارجي و اللون و الفحص المجهري و سرعة النمو، و أعيد زراعتها بظروف معقمة.

- **الحصول على مزرعة *Trichoderma* وحيدة البوغة:** تم زراعة عزلات فطر *Trichoderma* في أطباق بتري على وسط PDA وحضنت عند درجة حرارة 25±1 و رطوبة نسبية 70±5% وإضاءة 12:12 لمدة 5 أيام وعند اكتمال نمو الفطر وتبوغه تم إضافة 5 مل من محلول مائي معقم 0.01% توين 80 إلى سطح الطبق و حرك الطبق بشكل رحوي وكشط سطح المستعمرة لفصل الأبواغ و سكب الناتج داخل أنبوب زجاجي مخبري 10 مل عبر تمريره بطبقتين من قماش الموسلين لحجز بقايا الميسيليوم ، و رج معلق الأبواغ الناتج بواسطة جهاز الرجاج 300 دورة في الدقيقة لمدة 60 ثانية و أخذ من المعلق الناتج 1مل وضع في أنبوب سعة 10 مل و أكمل الحجم إلى 10 مل بإضافة الماء المقطر المعقم و كررت العملية حتى الوصول للتخفيف الثامن، أخذ من المحلول المخفف 1 مل و لقحت في طبق بتري على الوسط المغذي PDA و حضنت في الظلام عند درجة حرارة 25±1 و رطوبة نسبية 70±5%. (Choi *et al*,1999)

فحصت الأطباق بعد 24 ساعة تحت المكبرة و تم تمييز الأبواغ المنفردة النامية بدلالة شكل المظلة للميسيليوم أما النموات ذات الشكل النجمي فتكون ناشئة من أكثر من بوغة، أزيلت الأبواغ المنتشة المنفردة بواسطة شفرة مشرط معقمة بحذر وأعيد زرعها في طبق آخر.

وأخذ جزء من الطرف الخارجي للمزرعة الفطرية كي يتم تعريفها ودراسة خصائصها المجهرية والمورفولوجية(Champion,1997) ، و تم استخدام مفاتيح التعريف المعتمدة لجنس *Trichoderma* اعتماداً على الصفات المظهرية كسرعة النمو ومظهر الميسيليوم الفطري و لون المستعمرات من الوجه السفلي والعلوي للطبق وقوام المستعمرة والفحص المجهري للحوامل الكونيدية conidiophores ونمط تفرعها وزاوية المحور الرئيسي وعدد الفياليدات ولونها وترتيبها وشكل الأبواغ الكونيدية ووجود الأبواغ الكلاميدية ومكان تشكيلها .(Rabbani,2004)

1. **عزل *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia Solni*** من الجذور : أخذت جذور نبات الباذنجان التي ظهرت عليها أعراض الإصابة، غسلت الجذور بالماء الجاري؛ لإزالة جميعً العوالق والأتربة الموجودة على سطحها ثم قطعت الجذور إلى أجزاء صغيرة بطول 1سم و عقمت سطحيا بغمرها بمحلول هيبوكلورايت الصوديوم 3 % لمدة دقيقتين، بعد ذلك غسلت بماء مقطر معقم مرتين ثم أزيل الماء منها بوضعها على ورق ترشيح معقم من نوع Watmann No. 1 ، نقلت القطع بواسطة ملقط معقم إلى أطباق بتري تحتوي على الوسط الغذائي (Potato PDA Dextrose agar) المعقم عند درجة حرارة 121° س لمدة 20 دقيقة بجهاز الاوتوغلاف حيث وضعت 5 قطع في كل طبق و بثلاث مكررات بعد إضافة المضاد الحيوي Amoxicillin للوسط بمقدار: 500 مليجرام/ لتر لمنع نمو البكتيريا ، حضنت الأطباق عند الدرجة حرارة 25±2°س لمدة خمسة أيام . (Haggage and El-Gamal, 2012).

تم تنقية العزلات النامية على الوسط المغذي باستخدام طريقة طرف الخيط الفطري (technique tip hypha) ،.و تم تنمية الفطر على وسط الآجار المائي Water agar وتم التقاط طرف الخيط الفطري مع الوسط وزراعتها على الوسط المغذي PDA.

عرفت العزلات المتحصل عليها بناء على الصفات المزرعية و الشكل الظاهري وباستخدام المفاتيح التصنيفية الخاصة بها (Sneh *et al*,1996)

-اختبار القدرة الإمراضية للممرضات المعزولة:

- *F. oxysporum*:

تحضير لقاح عزلات الفطر الممرض:

- استخدمت بذور نبات الدخن *Panicum miliaceum* كوسط لتنمية فطر *F.oxysporum* ، حيث نقعت البذور بالماء لمدة 6 ساعات و تم تصفيتها على قطعة قماش من الماء الزائد و نقلت إلى دوارق زجاجية سعة 250 مل بمعدل 50 غ لكل دورق ، عقمت بجهاز الأوتوغلاف عند درجة حرارة 121° م لمدة 20 دقيقة، و بعد التبريد لقحت من مستعمرة نقية لفطر *F.oxysporum* المنمى بشكل مسبق على الوسط المغذي PDA بعمر 7 أيام و حضنت الدوارق عند درجة حرارة 25± 2° م بالظلام لمدة عشرة أيام و رجت الدوارق كل يومين لضمان التهوية و توزيع اللقاح (Dewan,1989).

و استخدمت الطريقة نفسها لتنمية فطر *Rhizoctonia solni*

- عقمت بذور الباذنجان بهيبوكلوريت الصوديوم (1%) لمدة دقيقتين، وغسلت بالماء المقطّر المعقم عدّة مرات، ثم نقعت في الماء المقطّر المعقم لمدة ساعة قبل الزراعة .زرعت البذور في صواني تشتيل فلينية تحوي على تربة معقمة وملقحة سابقا بإضافة 5 مل من معلق بوغي للفطر الممرض*F.oxysporum*

تركيزه $1*10^6$ بوغ/مل لكل مكرر (Boyaci *et al*,2011) .

كما تم خلط لقاح *Rhizoctonia Solni* المنمى عل بذور الدخن بنسبة 1% مع تربة الصواني

نفذت التجربة بتصميم كامل العشوائية بثلاثة مكررات للعدوى بالعزلة الواحدة وعشر بذار للمكرّر الواحد، إضافةً إلى معاملة الشاهد. وضعت الصواني الفلينية في بيت بلاستيكي و سقيت بانتظام و بعد مرور عشرة أيام حسبت نسبة إنبات بذور الباذنجان حسب المعادلة:

نسبة الإنبات=(عدد البادرات المنبتة/ العدد الكلي للبذار)*100

كما تمت مراقبة النباتات الباقية لحين ظهور اعراض الإصابة، و بعد36 يوماً من الزراعة قلعت النباتات و حسبت النسبة وفق المعادلة:

نسبة الإصابة = (عدد النباتات المصابة/العدد الكلي للنباتات) *100

وأعيد عزل العامل الممرض من منطقة اتصال الساق بالجذر، وتم التّأكد من أن المسبب لأعراض الاصابة هو نفس الفطر المزروع. جرى اختبار القدرة الامراضية لعزلات من الفطر *R.solni* حسب طريقة Bolkan و Butler (1974). حيث حضرت أطباق بتري قطرها 9 سم تحوي على الوسط الزرعي الأغار المائي (20غم آغار ، 1 لتر ماء مقطر) والمعقم بجهاز الأوتوغلاف عند درجة حرارة 121°م لمدة 15 دقيقة والمضاف له المضاد الحيويTetracycline. وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم من حافة مزرعة الفطر *R.solni*المنمى على الوسط الزرعي PDA بعمر 5 أيام كل على انفراد. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1 م° لمدة 3 ثلاثة أيام، بعدها زرعت بذور الفجل المعقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم وبصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل 25 بذرة / طبق. استعملت 3 أطباق لكل عزلة إضافة لمعاملة الشاهد بدون الفطر. وضعت الأطباق في حاضنة عند درجة حرارة 25±1 م° ثم سجلت نسبة الإنبات بعد 7 أيام.

2. اختبار فعالية عزلات *sp Trichoderma* في مكافحة الفطريات الممرضة (*Rhizoctonia Solni* و *Fusarium oxysporum*) عن طريق الإختبارات التالية:

A. قياس معدل سرعة النمو الخطية لمستعمرة فطر *Trichoderma*: أخذ أقرص بقطر5 مم و عمر أسبوع من طرف مستعمرة نقية لكافة العزلات المختبرة و لقحت بها أطباق البتري الحاوية على 20 مل من الوسط المغذي PDA، حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1° س و رطوبة نسبية 70±5% و فترة ضوئية (12:12) ظلام: إضاءة قيس النمو الخطي لميسيليوم الفطر بشكل يومي (وذلك بعمل خطين متعامدين على قاعدة الطبق و أخذ متوسط القياسين)، وذلك بمعدل 3 مكررات لكل معاملة. حيث تم قياس النمو الخطي للمستعمرات بشكل يومي و لمدة ثلاثة أيام وتم حساب معدل سرعة النمو الخطي باستخدام المعادلة التالية:

$$ALGR(mm/day)=(C3_\ C0)/3$$

ALGR معدل سرعة النمو الخطي

C3 قطر المستعمرة بعد ثلاث أيام من التلقيح

C0 قطر المستعمرة التي تم بها التلقيح

(Elad *et al*,1981)

B. اختبار درجة التضاد و نسبة التثبيط مخبرياً: نفذت الاختبارات باعتماد طريقة الزرع المزدوج dual culture لعزلات فطر *Trichoderma* المختبرة والتي اجتازت اختبار سرعة النمو و أنواع الفطريات الممرضة المختبرة (*Rhizoctonia Solni* و *Fusarium oxysporum*) حيث أخذ قرصين متساويين بقطر 5 مم بواسطة ثاقب الفلين المعقم من كل من الفطر الممرض و فطر *Trichoderma* و تم تلقيح طبق بتري حاوي على 20 مل من بيئة PDA بدون إضافة مضاد حيوي وفقاً لمحور قطري متساوي البعد عن مركز الطبق بحيث يبعد مكان الزرع عن طرفي الطبق 1 سم وبمعدل 3 مكررات لكل معاملة بالإضافة لمعاملة الشاهد التي تضمنت تلقيح الطبق بالفطر الممرض فقط.

حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1°س و رطوبة نسبية 70±5%و إضاءة 12:12 . تم حساب درجة التضاد تبعاً لمقياس Bell حسب سلم التقييس الخماسي بعد سبعة أيام من الحضانة (Bell *et al*,1982):

حيث: 1= الفطر المضاد يغطي كامل الطبق و ينمو فوق الفطر المرض

2= الفطر المضاد يغطي ثلثي الطبق و الثلث الباقي يغطيه الفطر الممرض

3= الفطر المضاد يغطي نصف الطبق يغطي الفطر الممرض النصف الاخر

4= الفطر المضاد يغطي ثلث مساحة الطبق و الفطر الممرض يغطي الثلثين

5= الفطر المضاد لا ينمو و الفطر الممرض يحتل كامل مساحة الطبق

يعد الفطر المضاد الذي يقع ضمن الدرجتين 1 و 2 ذو قدرة تطفلية عالية

c.حساب نسبة التثبيط: تم كذلك بالاعتماد على تقنية الزرع المزدوجdual culture لعزلات فطر *Trichoderma* التي اجتازت اختبار التضاد الفطري على مقياس Bell وأنواع الفطريات الممرضة المختبرة (*Rhizoctonia Solni* و *Fusarium oxysporum*) ، صب 20 مل من بيئة PDA في كل طبق بتري بدون إضافة أي مضاد حيوي و ذلك في ظروف معقمة داخل غرفة الزرع الجرثومي ، لقح قرص بقطر 5 مم من الفطر الممرض المختبر مأخوذ من حافة مستعمرة نشطة بعمر خمسة أيام و قرص آخر لفطر *Trichoderma* مأخوذ من

حافة مستعمرة نشطة بعمر خمسة أيام و تمت عملية التلقيح بشكل متقابل بحيث يبعد كل قرص عن حافة الطبق 1 سم و حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1° س و رطوبة نسبية 70 ±5 %و إضاءة 12:12 و استمر التحضين حتى تسجيل بداية الاتصال بين الفطر الممرض و فطر *Trichoderma* ، وتم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري بالاعتماد على المعادلة التي اقترحها Ezziyyani *et al.* (2007)

PICR%=(R2-R1/R2)*100

PICR%= النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري

R1= نصف قطرالنمو(مم) للفطر الممرض باتجاه *Trichoderma*

R2=نصف قطر النمو(مم) للفطر الممرض في الشاهد(بدون *Trichoderma*)

تم إجراء الاختبار مع أثنين من المسببات المرضية (*Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia Solni*) و عشر عزلات من فطر *Trichoderma* و بمعدل ثلاث مكررات لكل معاملة.

3. تركيز الأبواغ الكونيدية المنتجة من عزلات *Trichoderma* :

تم إعداد قوارير Erlenmeyer 250 مل تحتوي على 25.6 مل الوسط الغذائي PDA (ما يعادل 1 غرام من المادة الجافة). , تم تحضير معلق من الأبواغ الكونيدية في الماء المعقم عن طريق كشط سطح مزرعة نقية عمرها 7 أيام. تم تعديل التعليق الذي تم الحصول عليه إلى 2* 10^5 بوغة / مل باستخدام شريحة عد الملاسيز . و تم إضافة 1مل من المعلق المحضر في وسط PDA. تم تجانس القوارير عن طريق التحريك اللطيف والحضانة عند 30 درجة مئوية. وبعد خمسة أيام من الحضانة ، تم إضافة 100 مل من الماء المعقم الحاوي على 0.01 ٪ (حجم / حجم) توين 80 في القوارير ، وتم كشط الأبواغ باستخدام خلاط مغناطيسي. رشح المحلول البوغي الناتج باستخدام طبقتين من قماش الموسلين (Singh &Nautiyal,2012)., حسب تركيز الأبواغ التي تم الحصول عليها في كل وسط باستخدام شريحة عد الملاسيز وتم التعبير عن النتائج بعدد الأبواغ لكل جرام مادة جافة من وسط PDA.حسب طريقة Rayhane *et al* (2020)المعدلة.

أجري العمل بظروف معقمة في غرفة العزل الجرثومي بواقع عشر معاملات (عشر عزلات أثبتت فعاليتها في الاختبارات السابقة).و بثلاث مكررات لكل معاملة.

النتائج و المناقشة:

1. **عزل فطر *Trichoderma*** :بلغ عدد العينات التي تم جمعها 100 عينة، احتوت ثلاثون عينة منها على 76 عزلة محلية للفطر *Trichoderma*، عرفت جميعها على مستوى الجنس ، حيث أن مستعمرات هذا الجنس تتميز بسرعة نموها وتشكيلها حلقات متحدة المركز و تلونها باللون الأخضر المميز لها و ينمو الميسيليوم على شكل خصل متموجة قطنية الهيئة و بلون أبيض قبل تشكيل الأبواغ الكونيدية الخضراء . أظهرت نتيجة الفحص المجهري: تفرعات الحوامل الكونيدية من محور رئيسي على مسافات منتظمة غالباً و يؤدي التفرع إلى بنية هرمية متشعبة، و كانت الفياليدات على شكل مخروطي منضغطة غالباً ، وبدت الأبواغ الكونيدية بشكل كروي إلى بيضاوي متجمعة غالباً حول رؤوس الفياليدات و لوحظ وجود الأبواغ الكلاميدية في عدد من العزلات.و هذا ما يتطابق مع المراجع التصنيفية المعتمدة (Bissett,1991;Rifai,1969;Samuels,1996)

تم تنقية العزلات الفطرية و أعيد زراعتها بطريقة العزلة وحيدة البوغة و أعطيت أرقاماً مميزة و حفظت بالبراد لحين الاستخدام.

2. **عزل العوامل الممرضة:** عزلت العوامل الممرضة الفطرية المدروسة من عينات الجذور لنبات الباذنجان:

Fusarium oxysporum : تميزت مستعمرات هذا النوع بلونها الأبيض حيث ينمو الميسيليوم بشكل سميك و متكتل مع حواف غير منتظمة، كما أن الأبواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia منحنية قليلا و ذات جدر مقسمة إلى 5.3 حواجز، بالإضافة إلى تواجد الأبواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia بأعداد كبيرة و توضعت هذه الأبواغ على رؤوس الحوامل الكونيدية Phialides و كانت الحوامل مفردة و قصيرة و منتفخة، و تشكلت الأبواغ الكلاميدية بوفرة.

Rhizoctonia solni: يتميز بنمو شعاعي للميسيليوم على وسط PDA و يكون باللون الأبيض في المزرعة الحديثة النمو و يتحول تدريجيا إلى اللون البني الفاتح أو الكريمي مع تقدم المزرعة بالعمر، كما تبدأ الأجسام الحجرية بالظهور بعد مضي أسبوع من عمر المزرعة وتكون على شكل كتل غير منتظمة ومتماسكة وصلبة ، لونها بني إلى أسود ، بطول 3−5 مم. و بالدراسة المجهرية: يتكون الميسيليوم من خلايا طويلة مقسمة بطول 10.8 ميكرون و يكوِن فروع تنمو بشكل زوايا قائمة على الهيفا الرئيسية و تكون متضيقة قليلاً عند نقطة التفرع. و كانت هذه الخصائص المورفولوجية متوافقة مع المراجع التصنيفية المعتمدة.

3. **اختبار القدرة الإمراضية للفطريات الممرضة:**

- *Rhizoctonia solni*: اوضحت النتائج أن العزلة المختبرة من الفطر *R.solni* سببت انخفاضاً معنوياً في النسبة المئوية لإنبات بذور الفجل مقارنة مع الشاهد ، حيث كانت نسبة الإنبات 20% قياساً بمعاملة الشاهد التي بلغت نسبة الانبات فيها 95 %.
- *Fusarium oxysporum* : أظهرت نتائج اختبار القدرة الإمراضية أن العزلة المختبرة سببت انخفاضا معنويا في نسبة الانبات في الصواني الفلينية لبذور الباذنجان مقارنة مع الشاهد، حيث بلغت نسبة الانبات 35% مقارنة مع 90% لمعاملة الشاهد، و في متابعة النباتات التي انبتت بعد 36 يوماً فقد بلغت نسبة الإصابة 70% مع عدم وجود أي إصابة للنباتات الشاهد، و تمثلت أعراض الإصابة بإصفرار الأوراق السفلية للنبات مترافقاً مع ضعف النمو و تلون الأوعية الناقلة للنبات باللون البني الداكن.

اختبارات الكفاءة المخبرية:

تم إجراء سلسلة من اختبارات الكفاءة بهدف انتخاب أكفأ العزلات الفطرية من الجنس *Trichoderma* في مكافحة الفطريات الممرضة السابقة:

- **اختبار سرعة النمو الخطي:** تم إجراء هذا الاختبار على 76 عزلة محلية من جنس التريكوديرما و كانت النتائج حسب الجدول رقم (1).تراوحت سرعة النمو اليومي في نهاية اليوم الثالث من التحضين بين 6.9 إلى 25.9 مم/يوم عند درجة حرارة 25° م و بلغت متوسط سرعة النمو الخطي اليومي لكافة العزلات المختبرة 17.2 ±0.3 مم/ يوم نلاحظ من خلال النتائج وجود تفاوت كبير بمعدل النمو اليومي للعزلات المختبرة و هي تزيد بحدها الأعلى عما وجده jahan *et al*(2013) أن أعلى معدل للنمو اليومي لفطر *Trichoderma harzianum* بلغ 22.86 مم/ يوم على الوسط المغذي PDA ، في حين لاحظ Sekhar *et al*(2017) وجود اختلافات كبيرة فيما يتعلق بإجمالي معدل النمو و سجل أقصى نمو قطري بمعدل 30.00 مم / يوم. و أقل نمو قطري بمعدل 24.33 مم / يوم. وذلك من بين عشر عزلات لـ *Trichoderma* spp تم اختبارها، و بالمقارنة يتبين انخفاض كبير للحد الأدنى لمعدل سرعة النمو في العزلات المختبرة لدينا 6.9 مم/ يوم و قد لاحظنا أن منشأ العزلات ضعيفة النمو هو الأراضي الواقعة شرق مدينة حماه و التي تعاني من ارتفاع نسبة الملوحة و ارتفاع في رقم PH، في حين أن العزلات سريعة النمو كان

منشؤها الأراضي الواقعة غرب مدينة حماه و التي تتميز بانخفاض في رقم PH .و من المحتمل أن يكون ذلك هو سبب هذا التفاوت الكبير و خصوصاً أن الفطريات من جنس *Trichoderma* تتأثر إيجابياً بالبيئات الحمضية، حيث أن معظم الأنواع لديها مجال مثالي لدرجة الحموضة من 3.5 إلى 5.6 لكل من النمو و إنتاج الأبواغ كما يمكنها النمو حتى درجة حموضة 2.1 (Domsch *et al*, 1980). لقد نمت مجمل العزلات المحلية لفطر *Trichoderma* بشكل أسرع من كلا العاملين الممرضين و منحها هذا النمو السريع ميزة إضافية في المنافسة على المساحة و المغذيات مع العوامل الممرضة.

تعد سرعة نمو فطر *Trichoderma* من أهم العوامل المحددة لكفاءته في مكافحة الممرضات الفطرية فقد وجد Harman *et al* (2004) أن أنواع جنس التريكوديرما تنمو بسرعة كبيرة و تحتل المساحات الحرة بالبيئات الغذائية كما تمتلك القدرة على النمو مع النظام الجذري مما يعزز قدرته كعامل من عوامل المكافحة الحيوية عن طريق المنافسة على استعمار الحيز المكاني و الحصول على المغذيات أيضاً و يتم تحقيق أفضل منافسة مع تناقص تركيز المواد الغذائية في التربة.و تعتمد القدرة التنافسية له بالدرجة الأولى على النمو السريع و إنتاج الأبواغ الكونيدية (Chet *et al*,1998) . و لذلك تم استبعاد كافة العزلات التي كانت سرعة نموها أقل من المتوسط العام و تابعنا الاختبارات الأخرى على بقية العزلات الأخرى و البالغ عددها 40 عزلة.

جدول(1) : متوسط سرعة النمو اليومي لعزلات فطر *Trichoderma*

رقم العزلة	متوسط سرعة النمو اليومي مم	رقم العزلة	متوسط سرعة النمو اليومي مم	رقم العزلة	متوسط سرعة النمو اليومي مم
1	18.0	27	25.0	53	24.1
2	19.0	28	23.5	54	23.8
3	17.3	29	14.2	55	16.0
4	25.9	30	12.8	56	18.1
5	19.0	31	10.8	57	18.3
6	24.0	32	12.7	58	12.5
7	24.1	33	18.0	59	12.1
8	20.3	34	15.0	60	10.6
9	23.7	35	20.0	61	15.4
10	21.3	36	17.4	62	20.6
11	19.0	37	12.8	63	15.0
12	15.4	38	18.4	64	14.1
13	13.8	39	17.4	65	14.0
14	18.0	40	13.0	66	15.3
15	8.1	41	16.4	67	20.0
16	16.3	42	16.3	68	24.8
17	14.0	43	14.5	69	19.5
18	10.3	44	18.0	70	16.0
19	6.9	45	14.9	71	17.0
20	9.1	46	21.0	72	15.7

21	20.6	47	18.8	73	15.3
22	20.0	48	22.6	74	8.0
23	22.9	49	17.0	75	11.3
24	18.0	50	20.6	76	14.7
25	18.3	51	22.3		
26	18.0	52	21.0		
المتوسط	الخطأ القياسي				
± 17.2	0.3				

- **اختبار درجة التضاد الفطريdegree of antagonism :** تم إجراء الاختبار مخبرياً عن طريق عملية الزرع المزدوج مع كل من الفطرين الممرضين لنبات الباذنجان *F.oxysporum و R. solni* و كانت النتائج حسب الجدول (2): حيث يتبين قدرة كافة العزلات المختبرة على التضاد مع العوامل الممرضة المختبرة من خلال التطفل الفطري المباشرو تراوحت درجات التضاد الفطري بين 1 إلى 2.67 على مقياس Bell علماً أن العزلات الأكثر فعالية هي ذات درجات التضاد من 1 إلى 2 ، هناك عشرة عزلات فطرية ظهرت فيها أعلى درجات التضاد الفطري على مقياس Bell و كانت بين 1 إلى 1.33 على كلا العاملين الممرضين و هذه العزلات هي: (10، 14، 24، 25، 26، 33، 39، 44 ، 50، 57) . و بالتالي تفوقت العزلات المذكورة على بقية العزلات في التطفل الفطري على كل من (*Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia Solni*) و يعود ذلك إلى تفاوت كفاءة عزلات جنس *Trichoderma* في قدرتها التضادية مع مسببات الأمراض المختلفة بسبب تفاوت قدرتها على افراز المضادات الحيوية المسؤولة عن تثبيط نمو الكائن الممرض و الأنزيمات المسؤولة عن تحلل الجدر الخلوية للكائن المرض بالإضافة لاختلاف قدرتها على المنافسة و استغلال المغذيات الموجودة في البيئة، و من جهة أخرى مدى قدرة الكائن الممرض نفسه على النمو و المنافسة و التضاد الفطري (Michereff *et al*,1993). و قد أشار Bell *et al* (1982) إلى أن النتائج المخبرية لا تعبر بالضرورة عن درجة التضاد الحقيقية في الحقل، لكنها تعكس القدرة الوراثية و تنوع مصادر التضاد و مدى مقاومة العوامل الممرضة لهذه المضادات، و بالتالي لا بد من متابعة الاختبارات الحقلية للعزلات الفطرية التي أثبتت كفاءتها المخبرية.

جدول(2): درجات التضاد لعزلات فطر التريكوديرما مع الفطرين الممرضين *F. oxysporum* و *R.solani* حسب مقياس Bell .

ت	رقم العزلة	درجة التضاد f	درجة التضاد R	ت	رقم العزلة	درجة التضاد f	درجة التضاد R
1	I1	2	2	21	I33	1	1.33
2	I2	2	2	22	I35	1.67	2
3	I3	1.67	1.67	23	I36	1.67	2
4	I4	2.33	1.67	24	I38	2	2.33
5	I5	1.67	2.33	25	I39	1	1.33
6	I6	2.67	1.67	26	I44	1	1.33
7	I7	2.67	2	27	I46	1.67	2.33
8	I8	2	2	28	I47	2	1.67

2	2.33	I48	29	1.67	1.67	I9	9
1	1.33	I50	30	1	1.33	I10	10
1.67	1.67	I51	31	2.33	3	I11	11
2.33	2	I52	32	1.33	1	I14	12
2	2	I53	33	2.67	3	I21	13
2	1.67	I54	34	2	2.67	I22	14
2.33	2	I56	35	1.67	3	I23	15
1.33	1.33	I57	36	1	1.33	I24	16
2	1.67	I62	37	1.33	1	I25	17
2.33	2	I67	38	1	1.33	I26	18
1.67	1.67	I68	39	2.33	2	I27	19
2	2.33	I69	40	2.33	2.33	I28	20

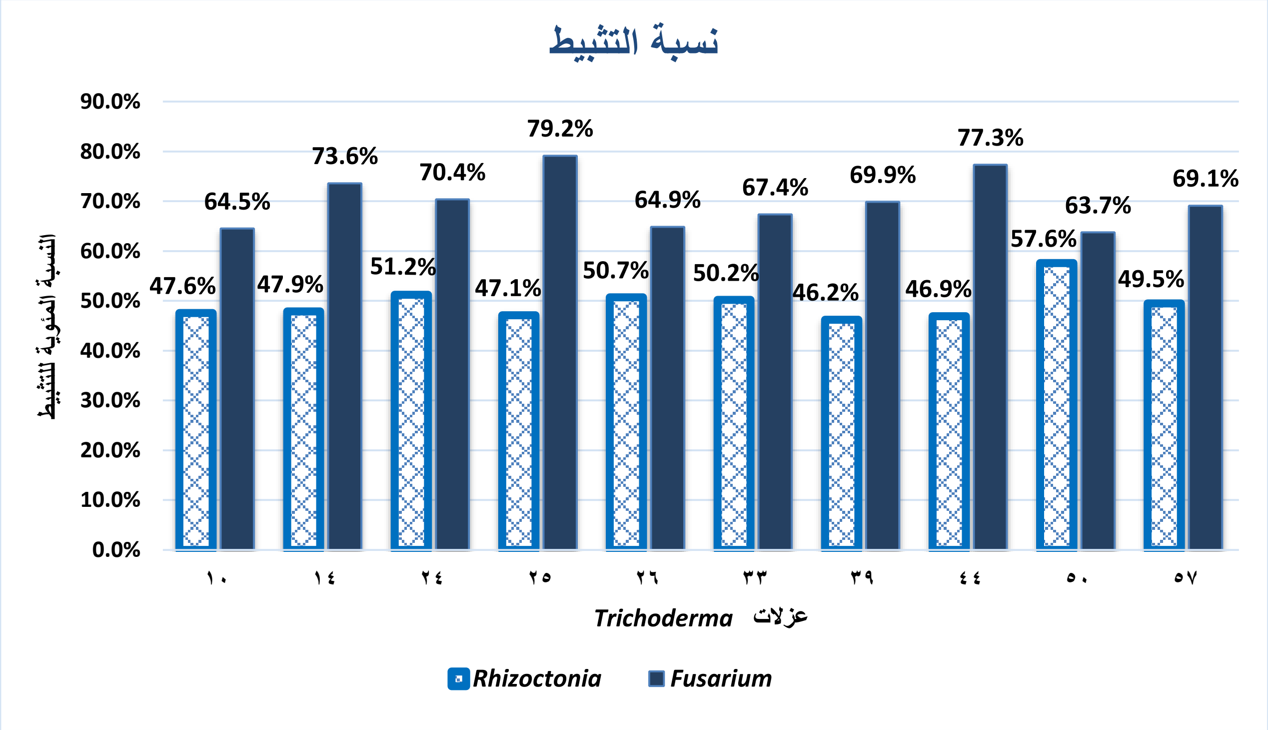
- **اختبار نسبة التثبيط:** تم إجراء اختبار نسبة التثبيط للتحقق من قدرة العزلات العشرة (التي اجتازت اختبار التضاد الفطري) على تثبيط نمو العوامل الممرضة المختبرة. النتائج التي تم الحصول عليها موضحة بالجدول رقم (3). بينت النتائج أن جميع العزلات المختبرة لها القدرة على تثبيط النمو الفطري للعوامل الممرضة مخبرياً وتراوحت نسب تثبيط فطر *F. oxysporum* بين 63.7% إلى 79.15% بمتوسط وقدره 69.99% و لم يكن هناك فروق معنوية بين نسب التثبيط للعزلات العشرة، كما تراوحت نسب تثبيط فطر *R. solni* بين 46.24 إلى 57.57 % بمتوسط وقدره 49.49% مع عدم وجود فروق معنوية بين نسب التثبيط للعزلات العشرة. و هذا ما يتوافق مع العديد من المراجع فقد وجد Shrestha *et al*(2019) أن نسبة تثبيط فطر *Fusarium oxysporum* الذي يصيب نبات البندورة بلغت 59% في ظروف مخبرية على الوسط المغذي PDA كما أظهر *Trichoderma harzianum* تثبيطاً لجميع عزلات *Rhizoctonia solni المختبرة* على الوسط المغذي PDA عند درجة 2 على مقياس Bell (Jaafar *et al*,2022) . أظهرت عزلات فطر *Trichoderma* المختبرة عدة أشكال من التضاد الفطري مع العوامل الممرضة كوجود منطقة خالية من النمو بين مستعمرتي الفطرين ونمو مستعمرة فطر *Trichoderma* فوق مستعمرة العامل الممرض، بالإضافة لوجود نمو غزير لميسيليوم *Trichoderma* بشكل حاجز يمنع تقدم العامل الممرض وتعود هذه القدرة التضادية إلى تكوين مركبات ذات أثر تثبيطي كالأنزيمات المحللة لجدران الخلية كيتيناز وغلكوناز وبروتياز إضافة إلى نواتج استقلاب ومضادات حيوية (Shrestha *et al* ,2019)

كما بينت النتائج تفاوت قدرة هذه العزلات في تثبيط كل من العاملين الممرضين حيث تفوقت العزلات المختبرة في تثبيط فطر *F. oxysporum* بمتوسط وقدرة 69.99 مقارنة بالانخفاض النسبي لتثبيط فطر *R solni* بمتوسط وقدره 49.49% . و يعود سبب انخفاض نسبة تثبيط *R.solni* إلى سرعة النمو التي يتمتع بها فطر *R. solni* مقارنة مع فطر *F. oxysporum*، و ربما يكون بسبب تنوع عزلات فطر *Trichoderma* (Filizola *et al*,2019) . تتفق هذه النتائج مع الأبحاث التي أشارت إلى أن عزلات مختلفة من *Trichoderma* تكافح بعض الفطريات المسببة للأمراض. ومع ذلك، تختلف كفاءة عزلات *Trichoderma* في السيطرة على بعض مسببات الأمراض أكثر من غيرها وقد تكون أقل كفاءة ضد بعض الفطريات (Michereff *et al*,1993). مما يجعل من الضروري إجراء تحديد دقيق للعزلات الفعالة عن طريق إجراء مثل

هذه الاختبارات للعزلات المحلية لإظهار فعاليتها في مكافحة أمراض معينة على نباتات محددة و ذلك قبل تطبيقها كمبيدات حيوية فطرية (Bedine *et al*,2022. Formica,2015).

جدول(3): نسبة تثبيط عزلات فطر *Trichoderma* لكل من *F.oxysporum* و *R. solni*

تسلسل	رقم العزلة	نسبة التثبيط F%	نسبة التثبيط R%
1	I10	64.51 ± 1.24	47.56 ± 4.28
2	I14	73.63 ± 1.63	47.88 ± 2.33
3	I24	70.38 ± 8.62	51.24 ± 1.92
4	I25	79.15 ± 2.40	47.12 ± 2.43
5	I26	64.87 ± 12.03	50.70 ± 1.36
6	I33	67.35 ± 2.65	50.17 ± 7.03
7	I39	69.86 ± 2.54	46.24 ± 1.32
8	I44	77.33 ± 2.48	46.94 ± 0.50
9	I50	63.73 ± 8.27	57.57 ± 5.82
10	I57	69.12 ± 0.00	49.47 ± 6.49
المتوسط± الخطأ القياسي		69.99 ± 1.75	49.49 ± 1.21
LSD		16.59	11.88



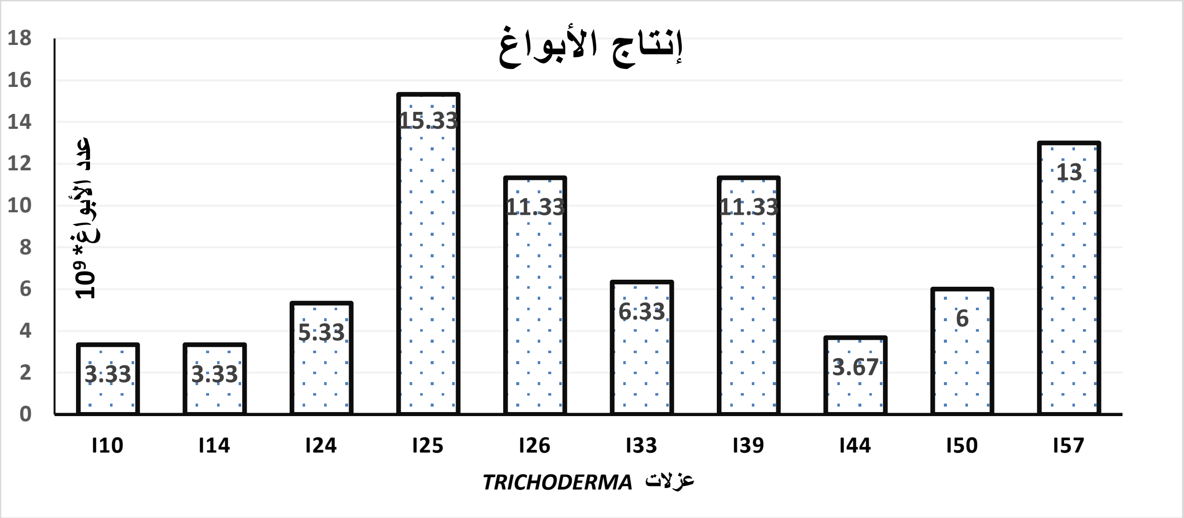
الشكل(1): نسبة تثبيط عزلات فطر *Trichoderma* لكل من *F.oxysporum* و *R. solni*

إنتاج الأبواغ الكونيدية للعزلات المنتخبة:

من خلال النتائج الواردة في الجدول رقم (4) و التوضيح الوارد في المخطط(2) يتبين إن كافة العزلات المختبرة كانت قادرة على إنتاج كميات وفيرة من الأبواغ الكونيدية على الوسط المغذي PDA و تراوح إنتاج هذه العزلات بين $3.33*10^9$ إلى $15,33*10^9$ بوغة/ غرام و نلاحظ تفوق العزلة رقم (25) معنوياً على كافة العزلات الأخرى من حيث عدد الأبواغ الناتجة عن 1 غ من الوسط المغذي(PDA) ، حيث بلغ تركيز الأبواغ المنتجة من العزلة (25) $15,33*10^9$ بوغة/ غرام و تبين وجود فرق معنوي بينها و بين بقية العزلات على مستوى ثقة 0.05% في حين احتلت العزلة رقم (10) و (14) المرتبة الأخيرة بتركيز $3,33*10^9$ بوغة/غرام . تم إجراء هذا الاختبار لضمان إمكانية عالية للعزلات الفطرية في إنتاج الأبواغ و التي تعد المادة الفعالة في صناعة المبيدات الحيوية الفطرية ومن المعروف أن فطر *Trichoderma* هو من الأنواع سريعة النمو و تتميز بإنتاج عالي من الأبواغ الكونيدية . (Al-Ani., & Albaayit, 2018; Prakash and Basu 2020; Carro-Huerga *et al*. 2021). و بمقارنة إنتاج العزلات المحلية من الأبواغ الكونيدية مع ما وجده (Bedine) و آخرون، 2022. عند دراسته لإنتاج 9 عزلات من فطر التريكوديرما للأبواغ الكونيدية حيث تراوح إنتاجها بين $30*10^8$ و $300*10^8$ و هي معدلات تقارب ما أنتجته العزلات المحلية، وفي دراسة أخرى بلغ إنتاج الأبواغ الكونيدية بالمتوسط $30*10^8$ بوغة/ غرام (Karoglu *et al*,2018) وهو ما يقل عن إنتاج العزلات المحلية المختبرة عموماً. و يرتبط الاستخدام التجاري لفطر *Trichoderma* بإنتاج الحد الأقصى من الأبواغ الكونيدية و الكتلة الحيوية عموماً بأقل قدر ممكن من التكلفة الاقتصادية.

الجدول(4) مؤشرات التبوغ لعزلات فطر *Trichoderma*

رقم العزلة	عدد الأبواغ $*10^9$	±	الخطأ التجريبي
I10	3.33	±	0.9
I14	3.33	±	0.3
I24	5.33	±	0.3
I25	15.33	±	0.7
I26	11.33	±	0.7
I33	6.33	±	0.7
I39	11.33	±	0.3
I44	3.67	±	0.9
I50	6	±	0.6
I57	13	±	0.6
LSD 0.05	1.52		



الشكل(2): إنتاج الأبواغ من عزلات فطر *Trichoderma* في كل 1 غرام من وسط التنمية

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات

أظهرت العزلات المحلية المنتخبة لفطر *Trichoderma* كفاءة عالية في تثبيط فطري *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solni* المسببة لأمراض الذبول و سقوط البادرات في نبات الباذنجان، و أثبتت سرعة نمو عالية تتفوق فيها على العوامل الممرضة المختبرة و هذا يعزز قدرتها على احتلال الحيز المكاني و منافسة العوامل الممرضة في التربة، كما تميزت العزلتان I25 و I57 بإنتاج عالي من الأبواغ الكونيدية ما يجعلها عزلات واعدة في الإنتاج الكمي لفطر *Trichoderma* . كما تدعم النتائج التي حصلنا عليها إمكانية استغلال العزلات المحلية لفطر *Trichoderma* ضمن برنامج إدارة مستدامة للأمراض الفطرية للتقليل من المخاطر البيئية لاستخدام المبيدات الكيميائية، و تبين النتائج أن البيئة المحلية هي مصدر مهم من مصادر التنوع الوراثي لعوامل المكافحة الحيوية المتاحة بسهولة و فعالية عالية.

التوصيات

إن الدراسة الحقلية لفعالية العزلات المحلية هي تتمة لسلسلة الاختبارات المخبرية و لا بد من إجراءها للتحقق من الفعالية الحقلية ضمن ظروف التربة المعقدة و المتشابكة، كما سيكون من المهم تحديد المركبات الكيميائية المضادة للفطريات الممرضة و التي تنتجها عزلات فطر *Trichoderma* خارج الخلية في الدراسات المستقبلية بالإضافة لأهمية إجراء توصيف جزيئي للأنواع و السلالات المنتخبة حيث أن التوصيف المورفولوجي غير كاف لوحده.

References:

رشا نوري جواد الموسوي. دراسة المجتمع الفطري لتربة نبات البامياء. مجلة جامعة بابل/ العلوم الصرفة و التطبيقية، 2011 ، 19(2)، 55−70.

ALMOSAWY,R.J. *Study of the fungal community of the soil of the okra plant*. babel University Journal of Pure and Applied Sciences,19(2),2011,55-70.(in Arabic)

ABDEL –HAFEZ, S.I., EL-MAGHRABY, O. *Seasonal Fluctuation of root and surface fungi of Zygophyllium coccineum growth in wadi Bir-Ain* , Eastern desert ,Egypt ,Abhath Al-Yarmouk , .(1992).1:107-125.

AL-ANI, L. K. T., & ALBAAYIT, S. F. A.. *Antagonistic of some Trichoderma against Fusarium oxysporum sp. f. cubense tropical race 4 (FocTR4)*. The Eurasia Proceedings of Science Technology Engineering and Mathematics, (2), (2018) 35-38

AL-ZUJAJI , R.N .Study Of Fungal Community To The Soil Alhagi Graecorum And Phonix Dactylifera In Kerbala And Babylon Province M.Sc. Thesis Coll.Sci. Univ. Babylon . .(2000)

ANAND, S.N, AND JAYARAMA REDDY. "*Biocontrol potential of Trichoderma sp. against plant pathogens.*" International Journal of Agriculture Sciences 1.2 (2009): 30.

BARONE, A., & FRUSCIANTE, L. *Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogens in tomato*. Guimaraes (ed) marker-assisted selection: Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish FAO, Rome, (2007).151-164

BEDINE, M. A. B., TAÏEB, N., AGRIOPOULOU, S., MICHÉ, L., MOUSSANGO, D., SAMEZA, M. L., ... & FEKAM BOYOM, F. *Identification of native soil-derived Trichoderma spp. isolates and analysis of their antagonist traits against Lasiodiplodia theobromae causing stem-end rot in papaya*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, (2022). *55*(15), 1766-1794.

Bell, D. K., *et al*. *In vitro antagonism of Trichoderma species against six fungal plant pathogens*. Phytopathology, 1982, 72.4: 379-382.

BISSETT, J. A revision of the genus *Trichoderma.* III. Section Pachybasium. Canadian journal of botany, 1991, 69.11: 2373-2417.

Bolkan , H. H. and Butler,E.E. *Studies on Heterokaryosis Virulence of Rhizoctonia solni* . Phytopathology . . 1974 . 64 : 513 – 522 .

BOYACI, H. F., UNLU, A., & ABAK, K.. *Genetic analysis of resistance to wilt caused by Fusarium (Fusarium oxysporum melongenae) in eggplant (Solanum melongena).* Indian Journal of Agricultural Sciences, 2011, 81.9: 812-15

Carro-Huerga, G., Mayo-Prieto, S., Rodríguez-González, Á., Álvarez-García, S., Gutiérrez, S., & Casquero, P. A. The influence of temperature on the growth, sporulation, colonization, and survival of *Trichoderma* spp. in grapevine pruning wounds. Agronomy, (2021). 11(9), 1771.

CHET, I. *Trichoderma* applications, mode of action and potential as a biocontrol agent of soil borne plant pathogenic fungi. Innovative approaches to plant disease control. John Wiley and Sons, New York, N.Y. 1998.137–160.

CHOI, Y.W., HYDE, K.D. AND HO, W.H. *Single spore isolation of fungi. Fungal Diversity*,(1999), 3. 29-38.

CHAMPION, R. Identifier les champignons transmis par les semences. Identifier les champignons transmis par les semences, (1997). 1-400.

Cherif M, Arafaoui A, Rhaiem A Phenolic compounds and their role in biocontrol and resistance of chickpea to fungal pathogenic Attacks. Tunisian J Pl Prot 2: (2007) 7–21

Dewan , M.M. *Identity and frequency of fungi in root of wheat and Ryegrass and their effect on take all and host growth* , 1989, Ph. D. Thesis , Univ. , Wes. Australian210 pp.
Domsch, K. H., Gams, W. & Anderson, T.-H.. Compendium of Soil Fungi. London; New York: Academic Press(1980)
Elad, Y., I. Chet and Y. Henis. *A selective medium for improving quantitative isolation of Trichoderma spp. From soil. Phytoparasitica*, 1981, 9(1): 59-69
EZZIYYANI, M.; REQUENA M. E.; EGEA-GILABERT C. AND CANDELA M. E. *Biological Control of Phytophthora Root Rot of Pepper Using Trichoderma harzianum and Streptomyces rochei in Combination*. Journal of Phytopathology,2007,155(6):342-349.
FILIZOLA, P. R. B., LUNA, M. A. C., DE SOUZA, A. F., COELHO, I. L., LARANJEIRA, D., & CAMPOS-TAKAKI, G. M. *Biodiversity and phylogeny of novel Trichoderma isolates from mangrove sediments and potential of biocontrol against Fusarium strain*s. Microbial cell factories, (2019). *18*(1), 1-14.
FORMICA, P. T. *Molecular characterization of Rhizoctonia spp. isolates and sustainable approaches to control Rhizoctonia diseases in ornamental nurs*ery. 2015.
Haggage, K.H.E. and El-Gamal, N.G. In vitro Study on *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solni* Isolates Causing the Damping Off and Root Rot Diseases in Tomatoes .Nature and Science.10(11): . (2012)16-25.
Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M. *Trichoderma* species-opportunistic, a virulent plant symbiont. Nat Rev Microbiol.; 2: (2004). 43–56. doi: 10.1038/nrmicro797.
Harman, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzinum* T-22. Plant disease, 84(4), (2000).377-393.
JAAFAR, O. H., S ABOSHOSHA, S., SHOEIB, A. A. E. B., & HM SHAMS, A, *Eco-Friendly Microbial Fungicide of Bacillus spp., Trichoderma album, and Saccharomyces cerevisiae on Rhizoctonia solni , the Causal Agent of Potato Black Scurf Disease*. Alexandria Science Exchange Journal, 2022, 43.4: 637-649.
JAHAN, N., SULTANA, S., ADHIKARY, S. K., RAHMAN, S., & YASMIN, S. *Evaluation of the growth performance of Trichoderma harzianum (Rifai.) on different culture media*. *J. Agri. Vet. Sci*, (2013). *3*, 44-50
John, F. Leslie and Brett A. Summerell. *Fusarium laboratory manual*. Web site: www.blackwellprofessional.com.2006.
Kapoor, I. The postcolonial politics of development (Vol. 1) (2008).. Routledge.
KARAOĞLU, Ş. A., Bozdeveci, A., & Pehlivan, N. Characterization of local *Trichoderma* spp. as potential bio-control agents, screening of in vitro antagonistic activities and fungicide tolerance. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 46(2), (2018). 247-261.
Latha, P.A, Ragupathi N.T, Samiyappan N.T Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against Alternaria solani. Biol Cont, .(2009) , 50:85–93
Michereff, S. J., Menezes, M., & Mariano, R. L. R. *Antagonism of Trichoderma species against Colletotrichum graminicola, an agent of sorghum anthracnose, under laboratory conditions*. Summa Phytopathologica, . (1993). *19*(1), 14-17.
Prakash, V., & Basu, K. Mass multiplication of Trichoderma in bioreactors. Trichoderma: Agricultural Applications and Beyond, (2020). 113-126.
Prlak L, Kose M Effects of plant growth promoting rhizobacteria on yield and some fruit properties of strawberry. J Pl Nutrit 32: (2009) 1173–1184
RABBANI, G.M. *Fungal Bonsai.* Mycologia, 55(1), 2004, 1-5.

Rayhane, H., Josiane, M., Gregoria, M., Yiannis, K., Nathalie, D., Ahmed, M., & Sevastianos, R. *From flasks to single used bioreactor: Scale-up of solid state fermentation process for metabolites and conidia production by Trichoderma asperellum*. Journal of environmental management, (2019). *252*, 109496.

Redda, E. T., MA, J., MEI, J., LI, M., WU, B., & JIANG, X. *Antagonistic potential of different isolates of Trichoderma against Fusarium oxysporum , Rhizoctonia solni , and Botrytis cinerea*. European Journal of Experimental Biology, (2018). *8*(2), 1-8..

RIFAI, Mien A. A revision of the genus *Trichoderma.* Mycological Prpers, 1969, 116: 1-56.

Saksirirat W, Chareerak P, Bunyatrachata W . Induced systemic resistance of biocontrol fungus, Trichoderma spp. against bacterial and gray leaf spot in tomatoes. Asian J food and Agro-Indust, Special issue, (2009) pp 99-104.

SAMUELS, Gary J. *Trichoderma:* a review of biology and systematics of the genus. *Mycological research*, 1996, 100.8: 923-935

SEKHAR, Y. C., AHAMMED, S. K., PRASAD, T. N. & DEVI, R. S. *Identification of Trichoderma species based on morphological characters isolated from rhizosphere of groundnut (Arachis hypogaea L)*. Int J Sci Environ Technol, (2017). *6*(3), 2056-2063

Shrestha, R. *Evaluation Of Trichoderma Harzianum As A Biocontrol Agent On Fusarium Wilt Of Tomato Grown In Eastern Nepal* (Doctoral dissertation, Department of Microbiology, Central Campus of Technology, Tribhuvan University, Dharan, Nepal, in Partial Fulfillment of the Requirements for the Award of Degree of Master of Science in Microbiology). (2019).

SINGH, P.C., NAUTIYAL, C.S. , *novel method to prepare concentrated conidialbiomass formulation of Trichoderma harzianum for seed application*. J. Appl.Microbiol. 2012. 113, 1442–1450.

SNEH B.; BURPEE L. AND OGOSHI A.. Identification of *Rhizoctonia* species. American Phytopathology Society, MN. 1991 133 p.

SNEH, B., JABAJI-HARE, S., NEATE, S. AND DIJST, G. *Rhizoctonia species:taxonomy, molecular, biology, ecology, pathology and disease control.* Eds. Kluwer Academic Publishers,The Netherlands. 1996.pp.247-391.

Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. N., & Valero, J. R. (2007). Antagonistic fungi, Trichoderma spp.: panoply of biological control. Biochemical Engineering Journal, 37(1), 1-20.