

# وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة أسيوط / كلية العلوم

قسم علم النبات / شعبة الأحياء الدقيقة

بحث مقدم للحصول على درجة البكالوريوس بعنوان:

مقارنة بين فطري *Trichoderma harzianum* و *Rhizoctonia solani* في المكافحة الحيوية  
لفطريات ممرضة مختبرياً.

**مقدم من:**

ابتهاج محمد ابراهيم

انصاف احمد بشير

آمنة عيسى ابوبكر

نور الهدى فوزي سعد

**إشراف:**

أ. ابتسام محمد احمادي

ربيع 2017 م

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

(قُلْ هَلْ عَزَمَكُم مِّنْ عِلْمٍ فَتُؤْتُوهُ لَنَا)

صَدَقَ اللّٰهُ الْغَفْلِیْمِ

سورة الانعام  
من الآية " 148 "

## الإهداء

علينا أن نتذكر من كانوا سبب بنجاحنا، من ساندنا وأمسك بأيدينا  
للاستمرار، من وجودهم حفزنا وشجعنا، فمهما عبرنا لهم  
الكلمات قليلة.

إلى من كلفه الله بالهبة والوقار إلى من علمني العطاء  
بدون انتظار ...

## إليكم أبدي

إلى رمز العطاء والوفاء، إلى من جعلت الجنة تحت أقدامها، إلى  
ينبوع العطف والحنان والحب...

## إليكم أمي

إلى من كانت معهم أجمل ذكرياتي ... إلى إلى الأيدي الحانية لي  
عوناً في حياتي

## أخواتي وأخواتي

إلى من هم بجانبني في جميع لحظات مشوراي ...

## صديقاتي



## الشكر والتقدير

الحمد لله الذي خلق الإنسان علمه .... البيان .... والصلاة والسلام  
على رسوله وصحبه أجمعين.

أما بعد ،،،

في البداية نشكر الله عز وجل الذي منا علينا بنعمه الكثيرة وتفضل  
سبحانه وتعالى أن ممكننا من إنجاز هذا البحث فله الحمد والشكر.  
نقدم الشكر والتقدير ....

## للأستاذة / ابتسام الحماصي

التي وضعت الخطوط الرئيسية لخطة البحث وساهمت بكل جهودها  
في أنجاح هذا العمل، ليأخذ القيمة العلمية، وهذا نتيجة الاهتمام  
والمتابعة الدائمة.

كما نقدم الشكر والامتنان لكافة أعضاء هيئة التدريس قسم علم  
النبات والأحياء الدقيقة وفي مقدمتهم ...

## الأستاذة / مسعودة خليفة والأستاذة / فادية جمعة

لما لمسناه من دعم وتشجيع ومساندة ...

# المحتويات

## Contents

الصفحة	الموضوع	
I	..... الآية	
II	..... الإهداء	
III	..... الشكر والتقدير	
IV	..... المحتويات	
VI	..... قائمة الجداول	
VII	..... قائمة الأشكال	
1	..... المقدمة	<b>الفصل الأول</b>
1	..... العلاقات التطفلية تجاه الفطريات	1.1
1	..... العلاقات التطفلية تجاه الفطريات	2.1
1	..... المكافحة الحيوية	3.1
1	..... بيئة الجذر ومحيطيه	4.1
4	..... فطريات <i>Trichoderma</i>	5.1
6	..... <i>Rhizoctonia solani</i>	6.1
6	.....	الهدف من البحث
7	..... <b>المواد و طرق العمل</b>	<b>الفصل الثاني</b>
7	..... بيئة النمو	1.2
7	..... عزل الفطريات	2.2
7	..... تحضير المعلق الفطري	3.2
8	..... تأثير زراعة الفطريات المختبرة على الفطريات الممرضة	4.2
9	..... التحليل الاحصائي	5.2
10	..... <b>النتائج و المناقشة</b>	<b>الفصل الثالث</b>
13	.....	<b>الخلاصة</b>
14	.....	<b>التوصيات</b>

15	.....	المراجع
22	.....	الملاحق
22	..... الفطريات المتواجدة على التربة والجذور والساق والأوراق لنبات البرسيم	1
23	..... التحليل الاحصائي	2

قائمة الجداول  
List of Tables

الصفحة	الجدول
10	1 . متوسط الكثافة الضوئية لنمو للفطريات تحت تأثير فطري <i>Trichoderma</i> و <i>harziaum</i> و <i>Rhizocotonia solani</i> .....

## قائمة الأشكال

### List of Figures

الصفحة	الشكل
11	1
متوسط الكثافة الضوئية لنمو للفطريات تحت تأثير فطري <i>Trichoderma</i> .....	
<i>Rhizocotonia solani</i> و <i>harziaum</i>	



الفصل الأول

المقدمة

**Introduction**

## 1.1. العلاقات الطفيلية تجاه الفطريات Parasitic Relations Against Fungi

تتعرض الفطريات للتأثيرات المضادة أو الضارة من الأحياء المختلفة، التي تشمل الفيروسات والبكتيريا وبعض الفطريات فوق الطفيلية والحشرات والنيماطودا. التأثيرات المضادة تشمل المنافسة، تكوين السموم أو المضادات الحيوية، التغيير الوراثي، التطفل المباشر أو الافتراس، هذه التأثيرات يمكن أن تؤدي إلى تغيرات مظهرية أو فسيولوجية قد تخفض نمو الفطر أو قتله أو افتراس نموات أو تراكيب الفطر التكاثرية (شريف، 2012).

### 2.1. فوق التضاد الفطر Fungi Hyerparasitism

تعرف هذه الظاهرة بالفطريات المضادة للفطريات Fungi Antagonist to Fungi وتحصل عند تواجد فطرين أو أكثر في البيئة الصغيرة ذاتها، يمكن أن يحصل ذلك بين الخمائر أو الخمائر والفطريات الخيطية أو الفطريات الخيطية مع بعضه، تعتمد عملية التضاد في الفطريات علي المنافسة، لذا تتميز الفطريات المضادة بسرعة النمو وإنتاج النواتج الأيضية الثانوية بما فيها السموم والمضادات الحيوية و إنتاج الإنزيمات المحللة أو التطفل المباشر (Rehman *et al.*, 2012).

هذه الفطريات الفوق طفيلية واسع الانتشار وتتطفل على أنواع عديدة من الفطريات، يمكن أن تكون متخصصة لنوع محدد من الفطريات، أيضاً متطفلة على الأنسجة النباتية التي تتطفل عليها الفطريات، حيث تقوم بتنشيط الفطريات وحرمانها من المصادر الغذائية (شريف، 2012).

### 3.1. المكافحة الحيوية Biological Control

يقصد بالمكافحة الحيوية استعمال الكائن الحي الدقيق الطبيعي؛ لخفض تأثير أو القضاء على الكائنات الحية الدقيقة الغير مرغوب بها التي تسبب تضرر لكائنات أخرى، بحيث تلائم هذه الكائنات الحية الدقيقة استعمالها على كل المحاصيل الحقلية، الأشجار والكائنات الحية الدقيقة النافعة الأخرى ولا تسبب لها

ضرر (Sathiyabama & Parthasarathy,2016).

ازداد الاهتمام كثيراً بالبحث عن طرائق مكافحة آمنة بيئياً، باستخدام الجراثيم والفطريات كعوامل مكافحة حيوية للممرضات النباتية، حيث يعتمد نجاح المكافحة الحيوية للممرضات النباتية على الفهم الدقيق للعلاقات البيئية لمختلف المجتمعات الاحيائية المشتملة على الممرضات وعوامل المكافحة الحيوية (Gaylarde *et al.*, 2015)، طورت نظم حديثة في مجال المكافحة الحيوية في السنوات الأخيرة ضد الأمراض المنقولة بالتربة كبداية جديدة لإدارة مكافحتها بصورة فاعلة دون أن تحدث تلوثاً بالبيئة (Lewi and Papavizas 1991) وكانت فطريات *Trichoderma spp* الأكثر نجاحاً (Benhamou and Chet, 1993) ، فهي تهاجم الفطريات الممرضة بواسطة المضادات الحيوية التي تنتجها (Dennis and Webster 1971)، أو نتيجة لإفرازها إنزيمات محللة للجدار الخلوي مثل B-1,3Glucanases وProtenases وChitinases (Goldman *et al.*, 1993; Geremia *et al.*, 1996; Haran *et al.*, 1996; *al.*, 1994) ، إضافة إلى مادة الاسيتونتريل Acetonitrile ومادة Trichosetin (Elving and Pedersen 2003)، وهذه المركبات أعطت أهمية صيدلانية للفطر *Trichoderma* كمضاد للعديد من الأحياء المجهرية (Al-Obaidy and Al-Rijabo 2010) . أن الفطر *Trichoderma harzianum* ذو فاعلية عالية جداً ضد أنواع مختلفة من فطر *Trichophyton spp.* والمسبب لأنواع مختلفة من الأمراض الجلدية البشرية (الرجبو والعبيدي، 2011)، وتشرح بحوث مختلفة النظام الانزيمي الذي يفرزه الفطر *T. harzianum* (De la Cruz *et al.*, 1992; Haran *et al.*, 1995; (Lorito *et al.*, 1994

#### 4.1. بيئة الجذر ومحيطيه

يعتبر الجذر مصدراً للمواد الغذائية للأحياء الدقيقة المختلفة في التربة و يوفر بيئة لنموها تتمثل بسطح الجذر Rhizoplane ومحيطه Rhizosphere الذي يتألف من التربة المحيطة بالجذر و المواد العضوية الناتجة من بقايا الجذر و تلك المنتشرة منه، تمثل منطقة الجذر بيئة متميزة فيزيائياً و كيميائياً و بيولوجياً عن بقية التربة بتنوعها الميكروبي النشط، اختلاف إفرازات الجذور يرتبط بجنس و نوع و صنف و عمر النبات، إضافة لعوامل أخرى (Odham et al., 1986; Malloch, 1997). التحاليل الميكروبيولوجية لتربة الجذور بينت وجود أكثر من 7.16 مليون مستعمرة بكتيرية في الجرام الواحد و بعدد أقل للفطريات بلغ 35.8 ألف مستعمرة/ جم (Patkowska, 2002).

تباينت الفطريات المعزولة من التربة من ممرضة للنبات مثل *Alternaria* spp.، *Fusarium* spp. و *Rhizoctonia solani* إلى مترمة مثل *Trichoderma* spp. و *Penicillium* spp. (Patkowska, 2009).

الأحياء المجهرية النامية في منطقة الريزوسفير Rhizosphere قد يكون لها دور فعال في عمليات التضاد الميكروبي Antagonism، فمن المعروف أن هذه المنطقة هي خط الدفاع الأول لجذور النبات ضد الميكروبات (Hanifi & Vel, 2001; Sharif et al., 2003). بالتالي وجود اختلافات في أنواع الفطريات و البكتيريا بحسب نوع النبات (Gadkar et al., 2001).

إن لفطريات التربة أثر كبير في عملية التوازن الأحيائي في التربة، وأن جزءاً منها له أثر كبير في تفسخ المواد العضوية وتحليلها سواء كانت نباتية أو حيوانية، أما الجزء المهم بالنسبة المشتغلين بالأمراض النباتية فهو الفطريات التي تسبب أمراضاً نباتية مثل موت البادرات damping-off diseases seeding، وأمراض الذبول الوعائي المزمن أهم مسببات الفطر *Fusarium* spp.

(Lazrege et al., 2014).

### 5.1 فطريات *Trichoderma*

تستوطن التربة وهي الشكل الكونيدي للفطر الكيسي *Hypocrea* الذي يعيش على قلف الأشجار أو متطفلاً على الأجسام الثمرية للعرايين.

يتألف جنس *Trichoderma* أكثر من 46 نوعاً منها *T. harzianum*، *T. viride*، *T. pseudokoningii*، *T. koningii*، *T. aureoviride*، *T. hamatum* (Samuels et al., 2010).

فطريات *Trichoderma* من أشهر فطريات المضادة للفطريات الأخرى ومنها الفطريات الممرضة للنبات (Dennis and Webster, 1971).

تستخدم هذه الفطريات كافة الآليات المعروفة في التضاد والمنافسة على المواد الغذائية، والمكان وفي هذا المجال تستفاد من سرعة النمو العالية في امتصاص المواد الغذائية وتمثيلها وتكوين كتل من الخيوط الفطرية أمام الخيوط الفطرية للفطريات الأخرى (Elad et al., 1982).

تثبيط فطريات النمو من خلال إنتاج المواد الطيارة وغير الطيارة كالسوموم والمضادات الحيوية مثل Gliotoxin و Trichodermin وغيرها وتثبيط تكوين الأجسام الحجرية للفطريات المنافسة أو الممرضة للنبات. التطفل المباشر بالإلتفاف حول الخيوط الفطرية وإحداث ثقوب فيها وإختراقها (Cakistru et al., 1997).

من الآليات المرجحة في عمل بعض فطريات *Trichoderma* ضد الفطريات الأخرى هو إنتاجها لطيف واسع من الإنزيمات المحللة التي تشمل الإنزيمات المحللة للنشا والكاييتين والبكتين والسليولوز والبروتينات والدهون بواسطة هذه الإنزيمات تثبتت نمو هذه الفطريات إنتاجها للسموم. وكما تختلف القدرة التنافسية للفطرين المضادين تجاه الفطريات الأخرى بسبب اختلاف قدرتها الإنزيمية وإنتاجه السموم. نقل الجينات المشفرة لبعض الإنزيمات المحللة من الفطريات *Trichoderma* إلى النبات أكسبه مقاومة ضد عدد من الفطريات التي تصيب

الأجزاء الهوائية، ما يعزز دور هذه الانزيمات في التضاد (Shalini and Kotasthane, 2007; Gachomo (and Kotchoni, 2008).  
عرفت أجناس *Trichoderma* بقدرتها المثبطة لنمو الفطريات منذ عام 1930، وقد تم استخدام العديد الانواع مثل (*T. harzianum*، *T. reesei*، *T. virens*، *T. viride*، *hamatum*) في مكافحة الحيوية للفطريات الممرضة للنباتات وعلى العديد من المحاصيل الزراعية مثل الفراولة والبقوليات والخيار والفجل والقطن والطماطم والشمندر (Manimegalai and Ambikapathy, 2012)، ومن الفطريات الممرضة التي تم مكافحتها حيويًا (*Plasmopara*، *Aspergillus niger*، *Penicillium*، *Pythium*، *Phytophthora*، *Fusarium*) كما اشارت الدراسات إلي أن استخدام *T. harzianum* مع اجناس مختلفة من البكتيريا يزيد من كفاءة مكافحة الحيوية ويحسن المحصول (Mouyedi and Ghalamfarsa., 2010; Senthilkumar et al., 2011).  
إن المحاصيل التي يتم معاملتها بالمستخلصات الفطرية للفطر *T. harzianum* تنمو أفضل من المحاصيل الي لم تعامل بهذه المستخلصات؛ وذلك باستحثاث مقاومة النبات ضد الفطر الممرض عن طريق تكوين بروتينات داخل الخلية النباتية تقوم بتنشيط نشاط الفطر الممرض، كما أنها تحفز زيادة تفرعات الجذور وتغلغها في التربة وبذلك تزيد من مقاومة النبات للجفاف لذلك استخدامها كأسمدة حيوية Biofertilizer، وقد لوحظ إن أنواع *Trichoderma* لها القدرة على إنتاج مواد شبيهة بالأوكسينات والجبرلينات المحفزة لنمو النبات، لذا استخدمت كمخصبات للتربة (Becquer et al., 2013) Soil amendments).  
نقل الجينات المشفرة لبعض الإنزيمات المحللة من فطريات *Trichoderma* إلى النبات اكسبه مقاومة ضد عدد من الفطريات التي تصيب الأجزاء الهوائية، مما يعزز دور هذه الانزيمات في التضاد (Gachomo and Kotchoni, 2008).

## ***Rhizoctonia solani*.6.1**

من الفطريات الفطريات الممرضة والمهمة للنباتات في العالم وذات المدى العائلي الواسع (Zachow et al, 2011)، إن الفطر *Rhizoctonia solani* من اسرع المسببات قتلاً للعوائل التي يتطفل عليها، كذلك أدى استخدام فطريات *Rhizoctonia spp.* غير ممرضة في مكافحة الأنواع الممرضة من الفطر نفسه، حيث يتميز بإنتاجه العديد من الإنزيمات والسموم الممرضة للنبات والتي تلعب دوراً في قابليته للأمراض التي تكون مسؤولة عن ظهور الأعراض الخاصة بالفطر، وأن هذه الخاصية درست مختبرياً إذ وجد ان هناك مجموعة من الأنزيمات التي تساعد في تفكيك جدران الخلايا كأنزيم Pectinase و Pectinmethylesterase ، كذلك يفرز مواد سامة Toxins (Dillard, 1987).

### **الهدف من البحث**

يهدف هذا البحث إلى اختبار كفاءة فطر *Trichoderma harziaum* والفطر *Rhizocotonia solani* في مكافحة الحيوية للفطريات ممرضة نباتياً في المعمل.

# الفصل الثاني

## المواد وطرق العمل

### Materials & methods



## المواد و طرق العمل Materials & Methods

### 2.1. بيئة النمو

استخدم لعزل الفطريات من التربة و تنميتها، علاوة على حفظها بيئة اجار مستخلص البطاطس و السكروز (Potato Sucrose Agar Extract (PSA) (Atlas, 2010) ، و التي تتكون من المركبات التالية في اللتر: بطاطس (200g) Potatoes، سكروز (20 g) Sucrose).

### 2.2. عزل الفطريات

تم الحصول على الفطريات من تربة الريزوسفير لنبات البرسيم بطريقة تخفيفات التربة، بالإضافة إلى الأجزاء المختلفة لنبات البرسيم (ساق، أوراق، جذور) والتي يلاحظ عليها بعض الأعراض المرضية (ملحق1)، وتنميتها على اجار مستخلص البطاطس والسكروز، تم التحضين عند درجة حرارة 28م لمدة 5-7 أيام، بعد انتهاء فترة التحضين تم نقل العزلة الفطرية إلى أطباق بتري تحتوي على نفس الوسط لغرض التنقية (الخليل، 1994). تم فحص تعريف عزلات الأعفان النقية مجهرياً وفقاً للشكل الظاهري، وطبيعة النمو في الأطباق ومقارنتها بكتب التعريف والمراجع والاستعانة بالمفاتيح التصنيفية (Watanabe, 2010; Campbell et al., 2013).

الفطريات المضادة المستخدمة تم استخدام كلاً من الفطر *Trichoderma harzianum* والفطر *Rhizoctonia solani* لمعرفة فاعليتهم التضادية اتجاه الفطريات الممرضة المعزولة.

### 2.3. تحضير المعلق الفطري

جهزت العزلات الفطرية المنمأة في أنابيب مائلة (Slant Agar – Fnug) (Tomc et al., 1995)، وحضنت عند درجة حرارة 28م ، وعندما أصبحت في عمر 5 أيام وتحت ظروف معقمة، تم غمر تلك المستعمرات الفطرية بـ 2ml ماء مقطر معقم، ثم باستخدام الإبرة Loop المعقمة تم كشط الجزء العلوي للمستعمرات الفطرية الذي يحتوي على الوحدات الفطرية Fungi untis، والتي

تشمل على الخيوط الفطرية والكونيدات والأبواغ وتم تحريك الأنابيب جيداً حتى تكون مزيج معلق (Frommtling *et al.*,1993; Espinel– Suspension Ingroff & Kerkering,1995)، وتم نقل المزيج إلى أنابيب معقمة وتركه خمس دقائق لكي تترسب الأجزاء الثقيلة، ثم أخذ المزيج المعلق المتجانس وتم خلطه جيداً بجهاز Vortex mixer حتى تم التجانس، ومن ثم أخذ قياس كثافة هذا المزيج المعلق بواسطة جهاز قياس الكثافة الضوئية وذلك حسب المعايير الدولية كما موضح بالخطوات التالية: تم معايرة وضبط الجهاز وضبط النفاذية Transmittance وتم ضبط الطول الموجي Wavelength عند 550 nm حيث تم وضع المحلول المعياري الذي تم استخدامه في تحضير اللقاح الفطري Stock inoculum وهو الوسط الغذائي Potato Broth في الانبوبة الخاصة بالجهاز Cuvette 2ml بعد تعقيمها لكل الفطريات للحصول على تركيز اللقاح الفطري وذلك باتباع المعادلة الآتية:  $C_1V_1 = C_2V_2$  حيث إن:

$C_1$  = التركيز الأصلي

$C_2$  = التركيز النهائي

$V_2$  = الحجم الأصلي

الحجم المراد الوصول إليه  $V_1$

ثم أخذ هذا المعلق الذي يحتوي على الوحدات الفطرية تقاس الكثافة الضوئية له، ثم يعوض في المعادلة السابقة حيث كانت الكثافة الضوئية للفطريات (التركيز الأصلي المعلوم = 0.05 O.D) ، الحجم الأصلي المستخدم 10ml (Morris and Nicholls, 1978).

## 2.4. تأثير زراعة الفطريات المختبرة مع الفطريات الممرضة

لدراسة تأثير نمو فطر *Trichoderma harzianum* والفطر *Rhizoctonia solani* على نمو الفطريات المختبرة تم استخدام وسط PB، بعد تحضير المعلق الفطري لكل الفطريات، وباستعمال الوسط السابق ذكره ، وبعد قياس الكثافة الضوئية لكل الفطريات وتطبيق المعادلة السابقة تؤخذ كمية المعلق

الفطري المحسوبة وتكمل الكمية بماء مقطر معقم و بمعدل ثلاث مكررات لكل فطر، بالإضافة إلى معاملة المقارنة "الشاهد" Control التي شملت الفطريات الممرضة دون فطر *Trichoderma harzianum* والفطر *Rhizoctonia solani*، تركت الانابيب لمدة 5 أيام عند درجة حرارة الغرفة في جهاز الهزاز، وكذلك يؤخذ من البيئة الغير ملقحة بالفطريات وذلك لضبط التلوث Contamination control، ومن ثم سُجلت النتائج بحساب الكثافة الضوئية (Morris and Nicholls,1978).

علما بأن قراءة الجهاز تتناسب عكسياً مع النمو بمعنى كلما كانت قراءة الجهاز كبيرة دل ذلك على إن النمو الفطري قليل، لان النموات الكثيفة تحجب أكبر قدر من الضوء.

## 2.5. التحليل الاحصائي

استخدم برنامج SPSS Version 23، حيث تم تحليل البيانات باستخدام تحليل التباين الأحادي و تم مقارنة بأقل فرق معنوي (LSD)، حيث ميزت المتوسطات المختلفة فيما بينها معنوياً عند مستوى احتمال 0.05 (ملحق 2).

# الفصل الثالث

## النتائج والمناقشة

### Results & Discussion

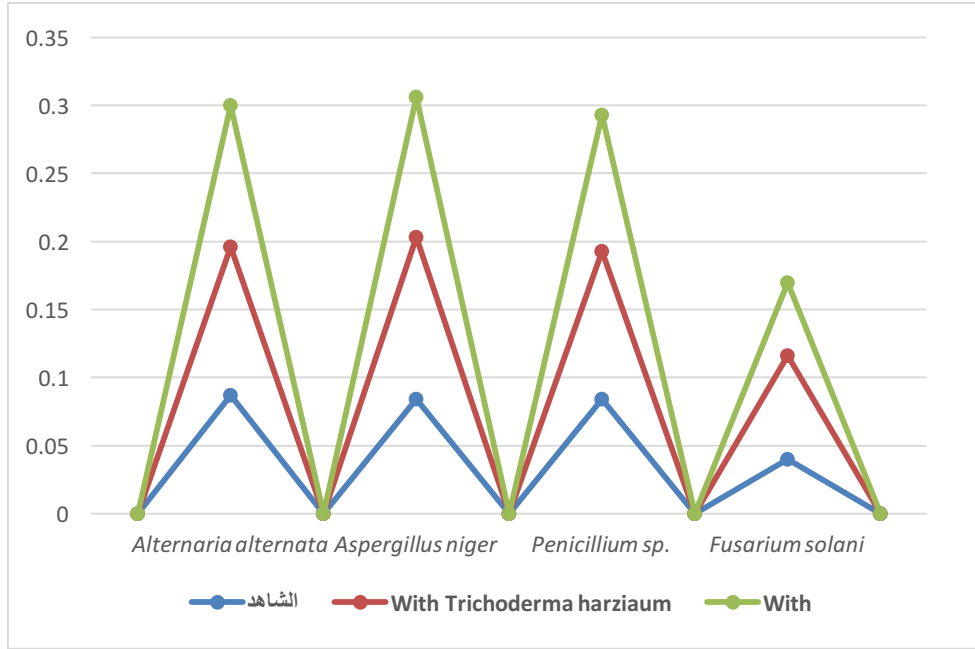
## النتائج والمناقشة

تشير نتائج زراعة الفطريات المختبرة مع الفطريات الممرضة إلى حدوث خفض معنوي في النمو أوضحت النتائج (جدول1) أن فطري *Trichoderma harzianum* و *Rhizoctonia solani* أدى إلى تثبيط الفطريات الممرضة حيث كان نمو فطر *Alternaria alternata* المُعامل بفطري المكافحة متقاربة كما موضح (شكل1) بمتوسطات 0.109 و 0.104 على التوالي مقارنةً بالشاهد الذي بلغ 0.087 و كان ذلك عند مستوى معنوي أقل من 0.05، وعند أخذ الفرق بين متوسط الشاهد ومتوسط الفطر المُعامل مع *Trichoderma harzianum* و *Rhizoctonia solani* كانا 0.022، 0.017، وكان ذا دلالة إحصائية عند مستوى معنوية أقل من 0.05 ملحق 2.

جدول1. متوسط الكثافة الضوئية لنمو للفطريات تحت تأثير فطري *Rhizocotonia solani* و *Trichoderma harziaum*.

مُعامل بـ	مُعامل بـ	الشاهد	الكثافة الضوئية الفطر
<i>Rhizocotonia solani</i>	<i>Trichoderma harziaum</i>		
<sup>a</sup> 0.104 (0.011590)	<sup>a</sup> 0.109 (0.002517)	0.087* (0.006429)	<i>Alternaria alternata</i>
<sup>a</sup> 0.103 (0.010000)	<sup>a</sup> 0.119 (0.007211)	<sup>a</sup> 0.084 (0.006557)	<i>Aspergillus niger</i>
<sup>a</sup> 0.100 (0.002517)	<sup>a</sup> 0.109 (0.002646)	<sup>a</sup> 0.084 (0.008185)	<i>Penicillium sp.</i>
<sup>b</sup> 0.054 (0.016073)	<sup>b</sup> 0.076 (0.039887)	<sup>b</sup> 0.040 (0.007937)	<i>Fusarium solani</i>

\*متوسط لثلاث تكرارات (O.D). <sup>a</sup> توجد فروق معنوية، <sup>b</sup> لا توجد فروق معنوية بأقل فرق معنوي (LSD)، ( ) الانحراف المعياري.



شكل 1. متوسط الكثافة الضوئية لنمو للفطريات تحت تأثير فطري *Rhizoctonia solani* و *Trichoderma harziaum*.

أما الفطر *Aspergillus niger* فمتوسط المعاملة بفطري الماكفحة الحيوية كانت بالفطر *Trichoderma harzianum* 0.119، 0.103 للفطر *Rhizoctonia solani* هو أكبر متوسط للكثافة الضوئية عينات الدراسة، أما الشاهد فكان 0.084 كما مبين (شكل 1)، والفرق بين متوسط الشاهد وعند معاملة الفطر بفطري المكافحة كان ذلك دال احصائياً.

نتائج متوسط الفطر *Penicillium sp.* (شكل 1) كانت كالتالي المعاملة بالفطر *Trichoderma harzianum* بلغ 0.109 و 0.100 للفطر *Rhizoctonia solani*، وهو دال احصائياً؛ أي يوجد فروق ذات دلالة إحصائية بين متوسط الشاهد و متوسط المعاملة بفطري المكافحة، أما عينة الشاهد فكانت 0.084.

أما الفطر *Fusarium solani* (شكل 1) فكان متوسط المستعمرات النامية بالفطر التي عُمِلت بـ *Trichoderma harzianum* 0.076 و *Rhizoctonia solani* 0.054 على التوالي، أما الشاهد فكان بمتوسط 0.040، لم يكون ذلك له

أي دلالة احصائياً (ملحق 2) .

أن لنوعي الفطرين المضادين تأثيراً معنوياً في خفض معدل نمو الفطريات الممرضة بعد فترة الحضانة؛ ويرجع ذلك إلى أن لهذه الفطريات القدرة على افراز مواد سامة للفطريات وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Ishikawa and Kiriya 1976)، من ان الفطر *T. harzianum* ينتج مواد ايضية سامة للفطريات المرضية وهي *Trichodermin* و *Trichodermol* وصبغات الانثراكينون، كذلك لهذا الفطر قابلية التنافس على الغذاء والتطفل على الاحياء الأخرى، في الدراسة التي أجريت لأختبار القدرة التضادية للفطر *T. harzianum* ضد الفطر الممرضة *Alternaria alternate* ، كذلك أظهرت نتائج *T. harzianum*، والفطر *T. konangi* ضد فطر الذبول *Fusarium* وقد أعطى الفطران المضادان كفاءة عالية في خفض شدة الإصابة وهذا ما درسه (Fravel et al., 2003) هذه النتيجة تتفق مع نتائج هذا البحث ، فيما يتعلق بكلا الفطرين *Aspergillus niger* و *Penicillium italicum* فقد لوحظ ان للفطر *Trichoderma* القدرة على تثبيط نمو الفطرين الممرضين اذا أظهرت النتائج فروقا معنوية عالية في خفض نمو الفطر الممرض بالمقارنة بمعاملة السيطرة وهذا يتفق مع ما ذكره (Bell et al., 1982). كذلك اتفقت هذه النتيجة مع العديد من الدراسات في كفاءة وفعالية فطر *T. harzianum* في المكافحة الحيوية وتخفيف الآثار الضارة للفطريات الممرضة للنباتات.

## الخلاصة

تصاب النباتات بالعديد من الأمراض المتسببة عن الفطريات، النيماطودا، الفيروسات، والجراثيم فضلا عن الأمراض الفسيولوجية، والأمراض المتسببة عن النباتات الزهرية المتطفلة والتي تؤثر على كمية الإنتاج ونوعيته. وتعد الفطريات من أخطر المسببات لأمراض النبات وتعود خطورتها للظروف البيئية الملائمة بصورة عامة والمدى العائلي الواسع الذي تتميز به اغلب الأنواع الفطرية، ولهذا ظهر في الفترة الأخيرة اتجاه جديد نحو استخدام بدائل آمن للبيئة بشكل عام وهي المكافحة باستخدام مركبات طبيعية نباتية، أو الكائنات الحية الدقيقة يقل معها أو ينعقد التأثير الجانبي، حيث وجد أن هذه الكائنات تحوي مادة أو أكثر في تركيبها لها القدرة علي تثبيط ، وتوقف نمو كثير من الكائنات المسببة للأمراض، وخاصة الفطريات والبكتيريا والحشرات.



## التوصيات

- هذه الدراسة وضعت أسئلة عديدة تحتاج إلى مزيد من البحث لمعرفة آلية التأثير و اختبار هذه الفطريات على فطريات ممرضة أخرى تصيب نباتات ذات أهمية اقتصادية.
- الكشف عن نوعية وكمية النواتج الايضية التي تفرزها الفطريات في وسط النمو.
- إكتشاف ووصف الأنواع الفطرية الغير معروفة، والتي يمكن أن تكشف عن صفات وإمكانات غير مسبوقه على المستوى العلمي الأساسي والتطبيقي.
- انتاج المبيدات الحيوية للسيطرة على أمراض النبات بطريقة آمنة غير ضارة بالبيئة.

المراجع

**References**

## المراجع

الخليل، عبد الله بن صالح (1994). الأساس العملي للفطريات ، جامعة الملك سعود ، المملكة العربية السعودية.

الرجبو، مها اكرم، العبيدي، عمر مؤيد (2011). تأثير مستخلصات الفطرين *Trichoderma harzianum* و *T. viride* على أنواع من الفطر *Trichophyton* المسبب للأمراض الجلدية البشرية ، مجلة علوم الرافدين. 22 (2):16-27 .

شريف، فياض محمد (2012). بيئة الفطريات ، الذكراة للنشر والتوزيع ، عمان ، الأردن.

**Al-Obaidy, O. M., and Al-Rijabo M. A., (2010).** Antagonistic activity and production of antifungal compounds from selected *Trichoderma* spp. *J. Edu. Sci.* **23**(3):18-27.

**Atlas, R. (2010).** Handbook of Microbiological Media .4<sup>th</sup> ed. Taylor and Francis Group, LLC.

**Becquer, C., Lazarovits G. and Lalin I. (2013).** In vitro interaction between *Trichoderma harzianum* and plant growth promoter rhizosphere bacteria. *Cuban J.Agricul. Sci* . **47** (1):97-102.

**Bell, D .K., wells, H.O. and Markham, C.R .(1982) .** in vitro antagomism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens *.Phytopathology.* **72** :379-382.

**Cakistru, C., M. McLean and P. Berjak. (1997).** In vitro

studies on the potential for biological control of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* by *Trichoderma* species. *Mycopathologia*, **137**:115-124.

**Campbell, C. K., Johnson, E. M., & Warnock, D. W. (2013).** Identification of pathogenic fungi .2<sup>nd</sup> ed. WILEY-BLACKWELL.

**De la Cruz, J., Hidalgo-Gallego A., J.M. Lora, T. Benitez, J.A. Pintor-Toro and A. Llobell. (1992).** Isolation and characterization of three chitinases from *Tichoderma harzianum*. *Eur. J. Biochem.*, **206**:859-867.

**Dennis, C. and J. Webster. (1971).** Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **57**:41–48.

**Dillard, H.R. (1987).** Characterization of isolates of *Rhizoctonia solani* from lima bean grown in New York state. *Phytopathology*. **77**:748-751.

**Elad, Y., Chet I., and Henis., Y. (1982).** Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.*, **28**:719–725.

**Elving, S.G., and Pedersen, P.B., (2003).** Safety evolution of a glucanase preparation intended for use in food including a subchronic study in rats and mutagenicity studies .**Regul.**

**Toxicol. Pharmacol. 37(1):11-19.**

**Fnug- Tomc ,J.C.B. Minassian,E. Huczko ,B. Kolek ,D.P.Bonner and Kessler ,R.E. , (1995).** In vitro antifungal and Fungicidal Spectra of a new pradimicin derivative , BMS – 181184- anti Microbial Agents and chemoth, 295-300 .

**Fravel, D., Olivain, C., and Alabouvette. (2003).** *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*, **157**: 494-502.

**Formtling ,R.A. Galgiani ,J.N. Pfaller, M. Ingroff,A. E.F. Bartizal ,M.K. F. Bartlett ,M.Boby, B.A. Frey,C. Hall,G. Roberts G.D. Nolte , F.B.Odd,F.C. Rinaldi, M.G. SugarA.M. and Villareal K. (1993)** Multicenter Evaluation of Broth Microdilution Antifungal susceptibility testing of Yeasts .*Antimicrob. Agent& chemotherapy .Jan*, 39 -45 .

**Gachomo, E.W. and S. O. Kotchoni. (2008).** The use of *Trichoderma harizanum* and *viride* as potential biocontrol agents against peanut microflora and and their effectiveness in reducing aflatoxin contamination of infected kernels. *Biotechnology*, **7(3)**:439-447.

**Gadkar, V., David-schwartz, R., Kunik, T., & Kapulnik, Y. (2001).** Update on Mycorrhizal Symbiosis Arbuscular Mycorr-hizal Fungal Colonization . Factors Involved in Host Recogni-tion. *Plant Physiology*, **127**, 1493–1499. <http://doi.org/10.1104/pp.010783.vitro>.

**Gaylarde C., Otlewska A., Celikkol-Aydin S., Skora J.,**

**Sulyok M., Pielech-Przybylska K., Gillatt J., Beech I., and Gutarowska B.,(2015).** Interactions between fungi of standard paint test method BS3900. *Elsevier.*, **104**:411-418.

**Geremia, R., G. Goldman, D. Jacobs, W. Ardiles, A. Vila, M. van Montagu and A. Herrera-Estrella. (1993).** Molecular characterization of the proteinase-encoding gene, *prb1*, related to mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*. *Mol. Microbiol.*, **8**:603–613.

**Goldman, H. G., C. Hayes and G. E. Harman. (1994).** **Molecular** and cellular biology of biocontrol by *Trichoderma* spp. *Trends Biotechnol.*, **12**:478–482.

**Hanifi, M., & Vel, D. E. L. (2001).** In Vitro Inhibition of the Mycelial Growth of Some Root Rot Fungi by *Rhizobium leguminosarum* Biovar *phaseoli* Isolates, **25**: 435–445.

**Haran, S., H. Schickler, A. Oppenheim and I. Chet. (1995).** New components of the chitinolytic system of *Trichoderma harzianum*. *Mycol. Res.*, **99**:441–446.

**Haran, S., H. Schickler, A. Oppenheim and I. Chet. (1996).** Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology*, **9** (86):980-985.

**Ishikawa , H ., OK. T. and Kiriyaama , H ., (1976) .** The

function of antifungal compound prepared by some *Hypocrea* species to wood rotting fungi . Review of plant .

**Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., and Bayaa B.(2014).** Pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with diseases of Aleppo-pine seedlings in Algerian forest nurseries. *JOURNAL OF FOREST SCIENCE*, **60** (3): 115–120.

**Lewis, J.A. and G.C. Papavizas. (1991).** Biocontrol of cotton damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in the field with formulations of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*. *Crop Protection*, 10:396–402.

**Lorito, M., C.K. Hayes, A. di Pietro, S.L. Woo and G.E. Harman. (1994).** Purification, characterization, and synergistic activity of a glucan 1,3-B-glucosidase and an N-acetyl-B-glucosaminidase from *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 84:398–405.

**Lumsden, R.D., J.F. Walter and C.P. Baker. (1996).** Development of *Gliocladium virens* for damping-off disease control. *Can. J. Plant Pathology*, **18**:463–468.

**Malloch, D. (1997).** Moulds, their isolation, cultivation and identification. Department of Botany, University of Toronto. <http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Moulds.html>.

**Manimegalai V. and Ambikapathy V. (2012).** Studies on the compounds and antifungal potentiality of fungi isolated from paddy field of thanjavur district, south India. *Int. J. Med. Biosci.* **1(3):1-4.**

**Morris, S. C., and P. J. Nicholls. (1978).** An evaluation of optical density to estimate fungal spore concentrations in water suspensions. *Phytopathology* **68:** 1240-1242.

**Mouyedi G. and Ghalamfarsa R M. (2010) .** Antagonistic activities of trichoderma spp. On phytophthora root rot of sugar beet. *Iran. Agricul. Res.* **29(2):22-27.**

**Odham, G., Tunlid, A., Valeur, A., Sundin, P., & White, D. C. (1986).** Model system for studies of microbial dynamics at exuding surfaces such as the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, **52(1)**, 191–196.

**Patkowska, E. (2002).** The Role of Rhizosphere Antagonistic Microorganisms in Limiting The Infection of Underground Parts of Spring Wheat. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, **5(2)**, 1–8.

**Rehman S., Lawrence R., Kumar E., and Badri Z., (2012)** Comparative efficacy of *Trichoderma viride*, *T. harzianum* and carbendazim against damping-off disease of cauliflower caused by *Rhizoctonia solani* Kuehn., *JBiopest.* **5(1): 23-27**

**Samuels, G. J., P. Chaverri, D. F.Farr and E. B. McCray.(2010).** Trichoderma Online, Systematic Mycology and microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved from



<http://nt.arsgrin.gov/taxadescriptions/keys/TrichodermaIndex>.

Cfm.

**Sathiyabama, M., & Parthasarathy, R.,(2016)** Biological preparation of chitosan nanoparticles and its in vitro antifungal efficacy against some phytopathogenic fungi. *Carbohydrate Polymers*.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.033>.

**Senthilkumar G.; Madhanraj P. and Panneerselvam A. (2011).** Studies on the compounds and its antifungal potentiality of fungi isolated from paddy field soils of jenbagapuram village, thanjavur district, and south India. *Asian J. Pharm. Res.* **1(1):**19-21.

**Shalini S. and A. S. Kotasthane. (2007)** .Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. *Electronic Journal of Environmental, Agriculture and food Chemistry*, **6(8):**499-506.

**Sharif, T., Khalil, S., & Ahmad, S. (2003).** Effect of *Rhizobium* sp., on growth of pathogenic fungi under in vitro conditions. *Pak. J. Biol. Sci.*, **6(18)**, 1597–1599. doi:10.3923/pjbs.2003.1597.1599.

**Watanabe, T. (2010).** Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi .3<sup>rd</sup> ed. Taylor and Francis Group LLC.

**Zachow C. , Grosch R., and Berga G., (2011)** Impact of

biotic and a-biotic parameters on structure and function of microbial communities living on sclerotia of the soil-borne pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. *Applied Soil Ecology*., **48** :193–200.

الملاحق

Appendixes

## الملاحق

ملحق 1. الفطريات المتواجدة على التربة والجذور والساق والأوراق لنبات  
البرسيم.

نوع الإصابة	اوراق	ساق	جذر	تربة	مكان العزل الفطر
تبقع بني	-				<i>Alternaria alternata</i>
لا يوجد				-	<i>Aspergillus niger</i>
لا يوجد				-	<i>Penicillium sp.</i>
ذبول للجذر			-		<i>Fusarium solani</i>
لا توجد				-	<i>Trichoderma harziaum</i>
تعفن للجذر			-		<i>Rhizoctonia solani</i>

ملحق 2. التحليل الأحصائي

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
<i>Alternaria alternata</i>	Control	3	.08700	.005292	.003055	.07386	.10014	.083	.093
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	3	.10967	.002517	.001453	.10342	.11592	.107	.112
	With <i>Rhizocotonia solani</i>	3	.10433	.011590	.006692	.07554	.13313	.091	.112
	Total	9	.10033	.012145	.004048	.09100	.10967	.083	.112
<i>Aspergillus niger</i>	Control	3	.08400	.006557	.003786	.06771	.10029	.078	.091
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	3	.11900	.007211	.004163	.10109	.13691	.113	.127
	With <i>Rhizocotonia solani</i>	3	.10300	.010000	.005774	.07816	.12784	.093	.113
	Total	9	.10200	.016703	.005568	.08916	.11484	.078	.127
<i>Penicillium sp.</i>	Control	3	.08400	.008185	.004726	.06367	.10433	.077	.093
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	3	.10900	.002646	.001528	.10243	.11557	.106	.111
	With <i>Rhizocotonia solani</i>	3	.10033	.002517	.001453	.09408	.10658	.098	.103
	Total	9	.09778	.011872	.003957	.08865	.10690	.077	.111
<i>Fusarium solani</i>	Control	3	.04000	.007937	.004583	.02028	.05972	.031	.046
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	3	.07600	.039887	.023029	-.02309	.17509	.031	.107
	With <i>Rhizocotonia solani</i>	3	.05467	.016073	.009280	.01474	.09459	.043	.073
	Total	9	.05689	.026905	.008968	.03621	.07757	.031	.107

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>Alternaria alternata</i>	Between Groups	.001	2	.000	7.494	.023
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.001	8			
<i>Aspergillus niger</i>	Between Groups	.002	2	.001	14.169	.005
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.002	8			
<i>Penicillium sp.</i>	Between Groups	.001	2	.000	18.054	.003
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.001	8			
<i>Fusarium solani</i>	Between Groups	.002	2	.001	1.542	.288
	Within Groups	.004	6	.001		
	Total	.006	8			

## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Rep	(J) Rep	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
<i>Alternaria alternata</i>	Control	With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.022667*	.006122	.010	-.03765	-.00769
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	-.017333*	.006122	.030	-.03231	-.00235
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	Control	.022667*	.006122	.010	.00769	.03765
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	.005333	.006122	.417	-.00965	.02031
	With <i>Rhizocotonia solani</i>	Control	.017333*	.006122	.030	.00235	.03231
		With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.005333	.006122	.417	-.02031	.00965
<i>Aspergillus niger</i>	Control	With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.035000*	.006583	.002	-.05111	-.01889
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	-.019000*	.006583	.028	-.03511	-.00289
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	Control	.035000*	.006583	.002	.01889	.05111
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	.016000	.006583	.051	-.00011	.03211
	With <i>Rhizocotonia solani</i>	Control	.019000*	.006583	.028	.00289	.03511
		With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.016000	.006583	.051	-.03211	.00011
<i>Penicillium sp.</i>	Control	With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.025000*	.004225	.001	-.03534	-.01466
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	-.016333*	.004225	.008	-.02667	-.00599

	With <i>Trichoderma harziaum</i>	Control	.025000*	.004225	.001	.01466	.03534
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	.008667	.004225	.086	-.00167	.01901
	With <i>Rhizocotonia solani</i>	Control	.016333*	.004225	.008	.00599	.02667
		With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.008667	.004225	.086	-.01901	.00167
<i>Fusarium solani</i>	Control	With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.036000	.020615	.131	-.08644	.01444
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	-.014667	.020615	.504	-.06511	.03578
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	Control	.036000	.020615	.131	-.01444	.08644
		With <i>Rhizocotonia solani</i>	.021333	.020615	.341	-.02911	.07178
With <i>Rhizocotonia solani</i>	Control	.014667	.020615	.504	-.03578	.06511	
	With <i>Trichoderma harziaum</i>	-.021333	.020615	.341	-.07178	.02911	

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Means Report

Rep		<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Fusarium solani</i>
Control	Mean	.08700	.08400	.08400	.04000
	N	3	3	3	3
	Std. Deviation	.005292	.006557	.008185	.007937
With <i>Trichoderma harziaum</i>	Mean	.10967	.11900	.10900	.07600
	N	3	3	3	3
	Std. Deviation	.002517	.007211	.002646	.039887
With <i>Rhizocotonia solani</i>	Mean	.10433	.10300	.10033	.05467
	N	3	3	3	3
	Std. Deviation	.011590	.010000	.002517	.016073
Total	Mean	.10033	.10200	.09778	.05689



N	9	9	9	9
Std. Deviation	.012145	.016703	.011872	.026905