Journal homepage
www.ajas.uoanbar.edu.iq
Anbar Journal of Agricultural Sciences
(University of Anbar – College of Agriculture)

تقييم كفاءة بعض مضادات الأكسدة ومنتجات الايض الثانوي للفطر Trichoderma spp في نمو وامراضية الفطر Hendersonula toluroidea الممرض لأشجار اليوكالبتوز المنتشرة في مواقع مختلفة من محافظة الانبار

سعد نضال موسى ساجد صلاح الدين سليم

جامعة الأنبار – كلية العلوم

المراسلة الى: ساجد صلاح الدين سليم، كلية العلوم، جامعة الانبار، الرمادي، العراق.

البريد الالكتروني: sc.saggedalseaidy@uoanbar.edu.iq

Article info

Received: 29-01-2021
Accepted: 11-04-2021
Published: 30-06-2021

DOI -Crossref:
10.32649/ajas.2030.175977

Cite as:
Musa, S. N. and El-Din Selim, S. S. (2021). Evaluation the efficacy of some antioxidant and secondary metabolism products of Trichoderma spp in growth and pathogenicity of Hendersonula toluroidea the pathogen of Eucalyptus trees scattered in different location in Anbar governorate. Anbar Journal of Agricultural Sciences, 19(1): 84–95.

©Authors, 2021, College of Agriculture, University of Anbar. This is an open-access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

الخلاصة

استهدفت الدراسة عزل المسبب المرضي لأشجار اليوكالبتوز في مواقع مختلفة من جامعة الانبار وبعض بساتين مدينة الرمادي والمناطق المحيطة التي امتازت بعلامات ذبول السيقان والأفرع النباتية والتي ظهرت عليها الترسبات السخامية. اختبر تاثير راشح الفطر Trichoderma spp المعزول بعد 10 و15 و20 يوم من الحضن اذ اظهرت نتائج الفحص نسب عدم التثبيط لكلا مواعيد الجمع 10 يوم و15 يوما كانت النسب 0% لكلا مواعيد الجمع السابقة اما نتائج مواعيد الجمع بعد 20 يوم من اللقاح الأعلى أعطت تأثيرا في تثبيط نمو الفطر الممرض Hendersonula. toluroidea اذ بلغت النسبة للتثبيط 73% واستهدفت الدراسة فحص تأثير الخلط بين منتجات الايض الثانوي للفطر Trichoderma spp المعزول بعد 20 يوم من الحضن و بعض من مضادات الأكسدة والتي بلغت نسب تثبيط نمو الفطر الممرض 100 % و 70 % و 69% عند معاملات الخلط لرواشحات الأيض الثانوي للفطر Trichoderma spp بكل من الهايدروكوينون و فيتامين E والأمونيوم تارتريت على الترتيب.

كلمات مفتاحية: Dieback Disease، Hendersonula toruloidea، Trichoderma spp ، ايض ثانوي، مضادات أكسدة.

EVALUATION THE EFFICACY OF SOME ANTIOXIDANT AND SECONDARY METABOLISM PRODUCTS OF TRICHODERMA SPP IN GROWTH AND PATHOGENICITY OF HENDERSONULA TOLUROIDEA THE PATHOGEN OF EUCALYPTUS TREES SCATTERED IN DIFFERENT LOCATION IN ANBAR GOVERNORATE

S.N. Musa and S. S. El-Din Selim
University of Anbar - College of Science

***Correspondence to**: Sajid Salah al-Din Salim, College of Science, University of Anbar, Ramadi, Iraq
E-mail: sc.saggedalseaidy@uoanbar.edu.iq

Abstract

The study aimed to isolate the pathogen of eucalyptus trees scattered in various locations of Anbar University and some of the groves of the city of Ramadi and the surrounding areas that were marked by signs of wilting stems and branches that showed soot deposits. The effect of Trichoderma spp fungi isolated 10 days, 15 days, and 20 days from cuddling was tested, as examination results showed non-inhibiting ratios for both collection dates 10 days and 15 days. The percentages were 0% for both previous collection dates. The results of collection dates after 20 days of the higher vaccine gave an effect in Inhibiting the growth of pathogenic mushrooms H. toluroidea As the percentage of inhibition reached 73% the result showed to examine the effect of mixing between products of secondary metabolism of the fungus Trichoderma spp isolated after 20 days from brood and some of the antioxidants, which reached the percentage of inhibition of the growth of pathogenic fungi 100% and 70% and 69% when mixing treatments for secondary metabolites Trichoderma spp. Has hydroquinone, vitamin E and ammonium tartrate, respectively..

Keywords: Dieback Disease, Hendersonula toruloidea, Trichoderma spp, secondary metabolism, antioxidants.

المقدمة

ينتشر الفطر H. toruloidea عالميا ويستوطن في الولايات المتحدة الأمريكية وأوربا والعديد من البلدان الاستوائية ، وشبه الاستوائية. سجل الفطر لأول مرة عالميا على أشجار الخوخ والمشمش في مصر، ووصفه العالم البريطاني Rolland Marshall Nattrass المتخصص في علم الفطريات، اذ يصيب العديد من أشجار الفاكهة في العديد من البلدان (15). و في دراسات لاحقة وصف الفطر H. toruloidea على انه عامل ممرض للأشجار و انه مستوطن على أشجار اليوكالبتوز في ولاية أريزونا الامريكية ويسبب الداء السخامي والموت التراجعي للافرع والسيقان (8)، يمتلك الفطر Trichoderma . harzianum مقدرة عالية في المكافحة على الكثير من المسببات المرضية فهو يعمل على خفض نسبة وشدة الإصابة بأمراض الجذور المتسببة عن الفطر Fussarium spp. في العديد من النباتات مثل الطماطة والبطاطا والحنطة والرز و البزاليا (13) وفي الخصوص اشار (12) الى امتلاك الفطر Trichoderma spp تأثيرا فاعلا ضد عدد من الفطريات الممرضة

من خلال تثبيط نمو الفطرين Rhizoctonia. Solani و F solani المسببين لامراض ذبول بادرات الطماطه بفعل T.viride مختبريا.

تكمن أهمية المركبات المضادة للأكسدة في كونها مركبات تكون فعالة ضد الأضرار التي تتسبب في مختلف انواع التفاعلات الاوكسجينية والتي تساهم في وجود مجموعه مختلفة من الأمراض والاضرار التي تصيب الحمض النووي (DNA) مثل التحلل الخلوي والسرطان (5). وصف (4) مركب Hydroquinone على انه مضاد أكسدة امن وفي نفس الوقت فعال تجاه الكثير من الفطريات وخوصا تلك التي تصيب البذور او تلك التي تنتقل بوساطة البذور إذ اثبت انه يمنع نمو الخيوط الفطرية Hyphae بتركيز 20 ملي مول وفي الخصوص أشارت الدراسات ا إلى أن استخدامه لا يتأثر بقيمة الرقم الهيدروجيني pH سواء عند معاملة البذور او للوسط الزرعي المعزول عليه الفطر الممرض وبذلك يكتسب اهمية كبيرة في استعماله كمبيد حيوي امن وفعال تجاه الكثير من المسببات المرضية التي تتسبب بها الفطريات تعتمد الوظيفة المضادة للأكسدة لفيتامين E على مقدرته على اقتناص الجذور الحرة مثل الأوكسجين المفرد، فوق الأوكسيد والبيروكسيد، وبالتالي إخماد نشاط الجذور الحرة على مستوى الأغشية في مرحلتها الابتدائية، وهذا على عكس Glogtation peroxidase الذي يقضي على الأكسدة الفوقية بعد إتلافها للأغشية، بالإضافة إلى هذا يتميز بنشاطه المضاد للجذور اللبيدية Alcoxyl وجذور Hydroperoxy ويساهم فيتامين E في تشكيل فوسفولبيدات الغشاء مما يؤمن المرونة الوظيفية للأغشية وهي مستقلة عن نشاطه المضاد للأكسدة (5). اشار (2) الى ان تأثير مركبات الامونيوم في نمو الفطريات الممرضة يعود الى تكوين الامونيا الحرة التي تعد مادة سامه تمنع نمو الفطريات الممرضة كما تمنع استطالة الخيوط الفطرية وتكوين السبورات بتراكيز محددة فضلا عن تغير pH داخل الخلايا الفطرية إذ تمنح الامونيا الحرة بروتونات تغير من قيم الأرقام الهيدروجينية داخل الخلايا الفطرية والذي يؤثر كثيرا في نمو قسم من الفطريات التي تحتاج الى وسط ملائم من درجات الحموضة وأشار (10) إلى أن التركيزات المطلوبة لتوليد الامونيا الحرة في الوسط الغذائي من أملاح الامونيوم بحدود 5 ملي مول الى 11 ملي مول كافية كانت للقضاء الى الفطريات F. graminearum وتثبيط نموها .

المواد وطرائق العمل

جمع عينات النباتات المصابة وعزل الفطر Hendersonulla spp: جمعت عينات عدة من اشجار اليوكالبتوز (Eucalyptose) من جامعة الانبار تظهر عليها اعراض الاصابة بالمرض ووضعت في أكياس بلاستيكية معقمة ونقلت إلى المختبر إذ عدت مصدرا لعزل الفطر الممرض ، قطعت الانسجة النباتية الى قطع صغيرة وغسلت بالماء المقطر جيدا وعقمت بمادة هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 6%، ولمدة على دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لمرات عدة لإزالة تأثير المادة المعقمة و نقلت بعدها قطع الأنسجة الصغيرة على وسط (PDA) وحضنت الأطباق بدرجات حرارة25 ± 2 ْم.

تنقية العزلات الفطرية وحفظها حضر الوسط PDA وعقم الوسط في جهاز المؤصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 o م وضغط 1.5 بار ولمدة 20 دقيقة. في أطباق بتري قياس (9) سنتمتر وتركت لتتصلب لغرض الحصول على عزلات فطرية نقية اعتمدت طريقة الزراعة المتكررة للفطريات ونقلت أجزاء من المستعمرات النامية للفطر الممرض وفطريات المكافحة الإحيائية على وسط P.D.A، وذلك بأخذ أقراص بقطر 6 ملم من حافة مستعمرة الفطرية النامية بعمر 7 أيام وباستعمال ثاقب فلين (Cork Borer) معقم. حضنت المزارع الفطرية الى درجة حرارة 25±2ْ م لمدة 7أيام لحين ظهور المستعمرات الفطرية. كررت العملية لمرات عدة بغية الحصول على مزارع فطرية نقية. حفظت العزلات المنقاة بزرعها على وسط PDA في أنابيب اختبار وعلى درجة حرارة 5م°.

التشخيص: شخصت الفطريات المعزولة والمنقاة باعتماد الصفات الزرعية والصفات المظهرية من خلال فحص النموات الفطرية بأخذ أجزاء من المزرعة وفحصها مجهرياً تحت قوة تكبير 100 X بعد تحميلها بقطرة من صبغة اللاكتوفينول . وقد اعتمدت المفاتيح التصنيفية الواردة في (7) لتشخيص الفطر .Hendersonula spp في حين تم الحصول على عزلة الفطر Trichoderma spp من مختبر الأحياء المجهرية في قسم علوم الحياة، كلية العلوم –جامعة الانبار.

تحضير راشح الفطرTrichoderma spp حضر الوسط PDB وفق مااشار اليه (1) في دوارق سعة 500 مل بمعدل 200 مل /دورق وعقمت في جهاز الموصدة، لقحت الدوارق بأربعة أقراص قطر كل منها 0.5 سم أخذت من أطراف المزارع الفطرية Trichoderma pp حضنت جميع الدوارق في الحاضنة الهزازة (112 دورة/ بالدقيقة) تحت درجة حرارة 25 +2 م لمدة 10 يوم و 15 يوم و20 يوم وبعد انتهاء فترة الحضن رشحت المزارع السائلة خلال ورق الترشيح نوع Whatman no.1 عقمت الرواشح باستخدام مرشحات بكتيرية قطر 0.22 ملي مايكرون بمساعدة جهاز تفريغ هوائي ، اختبر تأثير رواشح الفطر .Trichoderma spp في نمو الفطر Hendersonula .spp

تاثير راشح الفطر .Trichoderma spp في نمو الفطر H.toluroidea أضيف راشح الفطر المحضر مسبقا للفطر .Trichoderma spp المعزول بعد 10 و15 و20 يوم من اللقاح الى اطباق بتري 9 سم حاوية على الوسط الغذائي PDA المعقم بنسبة 2: 20 مل لكل طبق وذلك قبل تصلب الوسط ، لقحت بعدها الأطباق بالفطر H. toruloidea وذلك بأخذ قرص بقطر 5ملم من أطراف مزرعة الفطر بعمر 5 أيام ووضع في منتصف الطبق ، حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 +2 م واخذت قياسات حسب قياس متوسط العمر خلال 24 و 48 و 72 و96 ساعة بأخذ معدل قطرين متعامدين لمستعمرة الفطر H. toruloidea الممرض ومقارنة النتائج بمعاملة السيطرة . كررت التجربة لمرتين.تأثير خلط تراكيز مختلفة من مضادات الأكسدة مع منتجات الايض الثانوي للفطر Trichoderma SPP بعمر 20 يوم في نمو H.toruloidea مختبريا وعلى مدد حضن مختلفة.

نفذت التجربة بخلط محاليل مضادات الأكسدة (الهايدروكينون وفيتامين E والامونيوم تارتريت) اذ حضرمحلول هايدروكينون بتركيز 20 مايكروليتر من إذابة 0.002 غم من المادة في 500 مل من الماء المقطر.و محلول

امونيوم تارتريت تركيز 3 ملي مول حضر المحلول باذابه 0.05 من المادة في 100 مل من الماء المقطر.اما محلول فيتامين E بتركيز 9 ملي مول فتم تحضير المحلول بإذابة 0.38 غم من المادة في 100 مل ماء مقطر .

ورمزت المعاملات كالأتي:

1 = 0.25 مل فيتامين E او امونيوم تارتريت أو هايروكوينون + 1.75 مل رواشح Trichoderma spp

2 = 0.5 مل فيتامين E او امونيوم تارتريت أو هايروكوينون + 1.5 مل رواشح Trichoderma spp

3 = 1مل فيتامين E او امونيوم تارتريت أو هايروكوينون + 1مل رواشح Trichoderma spp

4 = 1.25مل مل فيتامين E او امونيوم تارتريت أو هايروكوينون + 0.75 مل رواشح Trichoderma spp

5 = 1.5 مل فيتامين E او امونيوم تارتريت أو هايروكوينون + 0.5 مل رواشح Trichoderma spp

6 = 1.75 مل فيتامين E او امونيوم تارتريت أو هايروكوينون + 0.25 مل رواشح Trichoderma spp

عقمت الخلائط باستخدام مرشحات بكتيرية بحجم فتحات 0.22 مايكرون وأضيفت كل على انفراد إلى الوسط الغذائي PDA بعد صب الأطباق بنسبة 1 مل من الخليط إلى 10 مل من الوسط الغذائي قبل عملية التصلب ومزجت جيدا بعدها اخذ 5 ملم من حافة مزرعة الفطر الممرض H.toruloidea بواسطة ثاقب الفلين Cork borer من مزرعة بعمر 5 أيام وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ±O2 م أخذت النتائج بعد 24 و28 و72 و 96 ساعة من الحضن بقياس بأخذ متوسط قطرين متعامدين للمستعمرة و لكل خليط وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز من كل خليط وقورنت النتائج مع معاملة السيطرة والتي تمت تنميتها بدون اي إضافات مع الوسط الغذائي ، كررت التجربة لمرتين.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج العزل من أفرع وقطع سيقان أشجار اليوكالبتوز المصابة، ظهور الفطر *Hendersonula toruloidea Nattrass*، وقد تميزت مستعمرة الفطر على وسط PDA بشكلها القطني وعديمة اللون في مراحل نموها الأولية لا تلبث ان تتحول الى اللون الزيتوني ثم الأسود الداكن بعد أربعة أيام من التحضين على درجة حرارة 25 ± 2 °م. وقد بين الفحص المجهري تكوين الفطر للسبورات المفصلية Arthrospores بسبب تجزئة الغزل الفطري إذ تكون شفافة في بداية الأمر ثم يدكن لونها بتقدم العمر وقد تحتوي على خليتين او اكثر أحيانا وبأبعاد 2.2 – 8.5 × 3.4 – 5 مايكروميتر وهذه الصفات تطابق في صفاتها الفطر *Hendersonula toruloidea* الموصوفة من(14)

تشير النتائج المعروضة في جدول 1 وجود تناسب عكسي في فاعلية رواشح المزارع السائلة للفطر *Trichoderma spp* ومدة تعريض الفطر *H. toruloidea* لهذه الرواشح (الايض الثانوي) المنتجة من هذه

المزارع ويمكن ملاحظة ذلك من قيم معدلات مدة التعريض التي سجلت اعلى فاعلية للرواشح عند معاملة الفطر *H. toruloidea* لمدة 24 ساعة وبقطر مزرعة بلغ 2.2 سم ومسجلا فوارق معنوية واضحة مقارنة بما سجلته مدد التعريض من معدل اقطار مستعمرات بلغت 3.1 سم و4.2 سم و6.1 سم للمدد 48 ساعة و72 ساعة و96 ساعة على الترتيب والتي بدورها سجلت فوارق معنوية فيما بينها

كما تفسر النتائج وجود تاثير واضح بين مواعيد جمع منتجات الايض الثانوي للفطر *Trichoderma spp* من المزارع السائلة في نمو *H. toruloidea* اذ كان لموعد جمع الرواشحات بعد 20 يوم من تلقيح الاوساط السائلة التأثير الاعلى وبفارق معنوي اذ سجلت معدل قطر المستعمرات بلغ 1.2 سم بالمقارنة بما سجله كل من موعدي الجمع 10 يوم و15 يوم من معدلات اقطار مستعمرات بلغت 4.9 سم و4.5 سم على الترتيب واللتان لم تبديا فروقا معنوية فيما بينهما من جهة او مع معاملة السيطرة التي سجلت معدلا مقداره 4.7 سم ،. كررت التجربة لمرتين .وقد تعود الاسباب الى احتواء راشح الفطر *Trichoderma spp* على مركبات سامة مثل Trichothecin و Gliotoxin و Virdin و Trichodermin و Pyrones والتي تعمل على تحلل الجدار الخلوي للفطر الممرض ان النتائج السابقة تتفق مع ما وجده (1) اما عن تأثير الراشح بعد 20 يوم من اللقاح فقد تعود الأسباب الى أكمال إفراز بعض المواد المؤثرة والتي لا تفرز الا بعد وصول مدة الحضن 20 يوم وهو العمر المناسب لأنتاج المواد المؤثرة سواء كانت إنزيمية أو سمية والتي تمنع تكوين الجدار الخلوي للفطر الممرض مما يضعف نمو الفطر الممرض

جدول1 تأثير رواشح المزارع السائلة للفطر *Trichoderma spp* المنمى لمدد زمنية مختلفة في نمو الفطر *H.toruloidea*

مواعيد جمع رواشح الفطر *Trichoderma.SPP* (يوم)	مدة حضن الفطر *H.toruloidea* (ساعة)				معدل قطر المستعمرة (سم)
	24	48	72	96	
10	2.4 ef	4.0 hij	5.2 jk	7.1 mn	**4.6 cd**
15	2.0 de	4.1 ij	5.2 jk	6.7 ln	**4.5 bd**
20	0.0 abc	0.6 bc	1.2 cdf	2.9 fghi	**1.2 a**
السيطرة (بدون معاملة)	2.4 ef	3.8 ghi	5.5 k	7.3 n	**4.7 d**
المعدل	2.2 A	3.1 B	4.2 C	6.1 D	**Lsd 0.2**

الأرقام تمثل متوسطات ثلاثة مكررات (أقطار مقاسة بالسنتمتر).

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة افقيا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية0.05

المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية0.05

وفي خصوص تأثير مزج نسب مختلفة من مركب مضاد الاكسدة الهايدروكوينون ورواشح المزارع السائلة للفطر *Trichoderma spp* بعمر 20 يوم ، تبين نتائج الجدول 2 ان نسب خلط المشار اليها بالأرقام2 و 3 و 4 قد ثبطت بشكل كامل نمو الفطر *H. toruloidea* وبفوارق معنوية واضحة عما سجلته نسب الخلط 1 و 5 و 6 من معدلات اقطار مستعمرات بلغت 0.4 سم و 0.9 سم و 1.1 سم على الترتيب مما يشير الى ان فاعلية الخليط تنخفض بازدياد نسبة رواشح الفطر *Trichoderma spp* لتصل أدنى مستوياتها (الفاعلية) عند الخلطة 6 اذ تكون نسبة رواشح الفطر في ادناه وبغض النظر عن نسب الخلط المختلفة وما اظهرته من تباين في فاعليتها الا انها جميعا اثرت وبشكل معنوي في خفض معدلات نمو الفطر مقارنة مع ما سجلته معاملة السيطرة من معدل نمو متمثل باقطار المستعمرات الناتجة والبالغ 4.75 سم .

ومن الجدير بالذكر ان نسب الخلط كافة قد أظهرت فاعلية عالية وبفوارق معنوية في تثبيط نمو الفطر *H.toluroidea* بالمقارنة بمعاملة السيطرة .وقد يعود التأثير في نمو الفطر الممرض الى زيادة تركيز الهيدروكينون اذ وجد ان فطر *Trichoderma spp* ينتج مضاد اكسدة مركب هيدروكينون ايضا كما أشار اليه(9) إذ أشار الى وجود جين في فطر *Trichoderma spp* يصنع Tricholignan والذي يقوم باختزال ايونات الحديد الثلاثية الى الثنائية التي تلعب دورا مهما في نمو النبات وتحميه من اجهاد الاكسدة بسبب مركبات الحديد إذ ان أحد المنتجات النهائية لعمليات الاكسدة هو تصنيع Ortho–hydroquinone. وهنا تبدو الزيادة في تركيز الهيدروكينون Hydroquinone واضحة اذ تؤثر في نمو الفطر الممرض *Hendersonula spp* من خلال ارتباطه ببروتينات الخلايا الفطرية للفطر ومنع تكوين خلايا جديدة من خلال تدمير DNA وبالتالي يسيطر على نمو الفطر الممرض .*Hendersonula spp* .

جدول2 تاثير خلط مركب الهايدروكينون بتركيز 20 مايكروليتر ومستلخص المزارع السائلة لعزلة الفطر *Trichoderma SPP* بنسب مختلفة في نمو العزلة الفطرية *H.toluroidea* وبالتداخل مع مدد حضن مختلفة

نسب الخلط (مل)	مدة حضن الفطر *H.toruloidea* (ساعة)				معدل قطر المستعمرة
	24	48	72	96	(سم)
1	0.0 a	0.0 a	0.6 c	1.2 e	**0.4 B**
2	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	**0.0 A**
3	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	**0.0 A**
4	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	**0.0 A**
5	50. b	0.8 d	1.2 f	1.4 g	**0.9 C**
6	50. b	1.0 e	1.2 f	1.8 h	**1.1 D**

السيطرة	2.4	3.8	5.5	7.3	**4.75**
(بدون معاملة)	i	j	k	l	**E**
المعدل	0.4	0.8	1.2	1.6	**LSD 0.2**
	A	B	C	D	

الأرقام تمثل متوسطات ثلاثة مكررات (أقطار مقاسة بالسنتمتر).

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.

المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة افقيا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية0.05

المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية0.05

1=0.25 مل هايدركينون + 1.75 مل*Tricoderma* spp ، 2 = 0.5 مل هايدروكينون + 1.5 مل *Tricoderma* spp ، 3 =1.0 مل هايروكينون، + 1.0 *Tricoderma* spp 4 = 1.25 مل هايدركينون + *Tricoderma* spp 0.75 ، 5 = 1.5مل هايدروكينون + 0.5 مل *Tricoderma* spp ، 6 = 1.75 مل هايروكينون + 0.25 مل *Tricoderma* spp

اما فيما يخص تأثير مزج نسب مختلفة من فيتامين E ورواشح المزارع السائلة للفطر *Trichoderma spp* بعمر 20 يوم ، إذ يتضح من نتائج الجدول 3 ان تأثير نسب الخلط تعكس حالة تناسب عكسي مع انخفاض كمية رواشح الفطر *Trichoderma spp* وزيادة نسبة فيتامين E اذ سجلت نسبة الخلط 1 و2 و3 و 4 و 5 و 6 معدلات أقطار بلغت 1.4 سم و 1.5 سم و 1.6 سم و 1.7 سم و 1.9 و 2.0 سم على الترتيب مسجلة فوارق معنوية واضحة فيما بينها من جهة ومع معاملة السيطرة التي سجلت معدل نمو بلغ 4.75 من جهة أخرى، تداخل نسب الخلط مع مدد الحضن فقد سجلت معاملات نسب الخلط 1 لمدة الحضن 24 ساعة أعلى فاعلية تمثلت بمتوسط نمو بلغ 0.5 سم، أما اقل تأثير فقد أظهرته معاملة الخلط 6 ومدة الحضن 96 بمتوسط اقطار مستعمرات بلغ 3.8 سم ومن الجدير بالذكر ان نسب الخلط كافة قد أظهرت فاعلية عالية معنوية في تثبيط نمو الفطر *H.toluroidea* بالمقارنة بمعاملة السيطرة . وقد اتفقت النتائج مع ما اوجده الباحث (3) اذ أشاروا في دراستهم ان تأثير الفطر *Trichoderma spp.* كان بمعدل 92.5 % ضد الفطر *Alternaria spp* و فطر *Botrytis cinerrea* في حين قل التأثير إلى 66.6 % عند الخلط مع مضاد الأكسدة فيتامين E يعود السبب ان فيتامين E يلعب دورا مهما في حماية الخلايا وتحييدها من ضرر أكسدة الجزيئات الحيوية ومساعدة الخلايا في مواجهة التأثير التاكسدي الذي يحدثه رواشح الايض الثانوي لفطر *Trichoderma spp*.

جدول 3 تأثير خلط فيتامين E بتركيز 6 ملي مول ومنتجات المزارع السائلة لعزلة الفطر *Trichoderma SPP* بنسب مختلفة في نمو العزلة الفطرية*H. toruloidea* وبالتداخل مع مدد حضن مختلفة .

نسب الخلط (مل)	مدة حضن الفطر *H.toruloidea* (ساعة)				معدل قطر المستعمرة (سم)
	24	48	72	96	
1	0.5 ab	1.2 ef	1.7 gh	2.0 l	**1.4 A**
2	0.7 c	1.1 de	1.8 h	2.3 km	**1.5 B**
3	0.7 c	1.2 e	2.0 i	2.7 n	**1.6 C**
4	0.6 bc	1.2 ef	2.2 jk	2.9 p	**1.7 D**
5	0.7c	1.3 f	2.3 k	3.4 q	**1.9 E**
6	0.7 c	1.2 f	2.5 l	3.8 r	**2.0 F**
السيطرة (بدون معاملة)	2.4 m	3.8 r	5.5 s	7.3 t	**4.75 G**
معدل الوقت	0.9 A	1.60 B	2.59 C	3.51 D	**LSD 0.3**

الأرقام تمثل متوسطات ثلاثة مكررات (أقطار مقاسة بالسنتمتر).

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.
المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة افقيا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية0.05
المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية0.05
1=0.25 مل فيتامين E+ 1.75 مل *Tricoderma spp* ، 2 = 0.5 مل فيتامين E + 1.5 مل *Tricoderma* spp ، 3 =1.0 مل فيتامين E +، 1.0مل *Tricoderma* spp 4 = 1.75 مل فيتامين E + 0.25 مل *Tricoderma* spp ، 5 = 1.5مل فيتامين E + 0.5 مل *Tricoderma* spp ، 6 = 1.75 مل فيتامين E + 0.25 مل *Tricoderma* spp

كما أعطت النتائج المعروضة في الجدول 4 مزج نسب مختلفة من امونيوم تارتريت ورواشح المزارع السائلة للفطر *Trichoderma spp* بعمر 20 يوم ، إذ يتضح من النتائج ان أعلى فاعلية تثبط سجلت عند نسبة الخلط 1 بمعدل نمو للفطر *H.toluroidea* بلغت 1.3سم لتبدأ بالتناقص مع زيادة نسبة الأمونيوم تارتريت ونقصان نسبة رواشح الفطر *Trichoderma spp* اذ سجلت نسب الخلط 2 و3 معدلات نموبلغت 1.6 سم و 2.9سم على الترتيب لتعود للأرتفاع تارة عند نسبة الخلط 4 بدلالة انخفاض معدل نمو الفطر مسجلا قطر مستعمرة بلغ 2.5سم وينخفض تارة أخرى عند الخلطة 5 بمعدل نمو بلغ 2.8 سم ليعاود التأثير بالأرتفاع مرة أخرى عند الخلطة 6 بمعدل نمو بلغ 1.9 سم عاكسا حالة من التذبذب في التأثير مع عدم وجود علاقة ثابتة . ومن الجدير بالملاحظة ان المعاملات جميعا أبدت تأثيرا تثبيطيا معنويا لنمو الفطر *H.toluroidea* بالمقارنة بمعاملة السيطرة التي سجلت معدل نمو بلغ 4.75 من جهة أخرى

ان نسب الخلط كافة قد أظهرت فاعلية عالية وبفوارق معنوية في تثبيط نمو الفطر *H.toluroidea* بالمقارنة بمعاملة السيطرة .ومن النتائج يفسر ان تأثر النمو بمقادير الخلط الاولى كان لرواشح الفطر *Trichoderma spp* وان الامونيوم ترتريت بسبب كميته قليلة مقارنة بالرواشح اذ لم يؤثر على عمل الإنزيمات المتوفرة في الرواشح في حين عند زيادة كمية الامونيوم ترتريت في مقادير الخلط المتبقية اثر على عمل إنزيمات رواشح الفطر *Trichoderma spp* إذ أشار الباحث (11) ان مركبات الامونيوم تعطل عمل بعض الإنزيمات المفروزة من قبل الفطر *Trichoderma spp* بالتراكيز العالية في حين نتائج معاملة 1.75 :0.25 مل من الامونيوم ورواشح *Trichoderma spp* كان التأثير لمضاد الأكسدة في التأثير على نمو الفطر الممرض.

جدول 4 تأثير الخلط بين مضاد الاكسدة الامونيوم ترتريت ورواشح الايض الثانوي للفطر *Trichoderma spp* والمعزول بعد 20 يوم من اللقاح على العزلة الفطرية *H. toruloidea* وعلى مدد زمنية مختلفة .

نسب الخلط (مل)	مدة حضن الفطر *H.toruloidea* (ساعة)				المعدل
	24	48	72	96	
1	0.5 ab	0.8 c	1.5 fg	2.3 k	**1.3 A**
2	0.6 b	1.1 de	1.8 hi	2.8 m	**1.6 B**
3	0.8 c	1.6 g	2.4 l	2.8 m	**2.9 F**
4	1.2 e	1.9 i	3.2 no	4.2 r	**2.5 D**
5	1.1 de	2.2 jk	3.4 p	4.4 s	**2.8 E**
6	0.8 c	2.4 l	3.3 op	4.7 t	**1.9 C**
السيطرة (بدون معاملة)	2.4 l	3.8 q	5.5 u	7.3 v	**4.7 G**
معدل الوقت	1.0 A	1.9 B	3.0 C	4.0 D	

الأرقام تمثل متوسطات ثلاثة مكررات (أقطار مقاسة بالسنتمتر).
المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.
المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة افقيا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.0
المتوسطات متشابهة الاحرف الكبيرة عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية10.05=0.25 مل امونيوم تارتريت + 1.75 مل *Tricoderma* spp ، 2 = 0.5 مل امونيوم تارتريت + 1.5 مل *Tricoderma* spp ،
3 =1.0 مل امونيوم تارتريت + 1.0مل *Tricoderma* spp، 4 = 1.25 مل امونيوم تارتريت + 0.75 مل *Tricoderma* spp ،
5 = 1.5مل امونيوم تارتريت + 0.5 مل *Tricoderma* spp ، 6 = 1.75 مل امونيوم تارتريت + 0.25 مل *Tricoderma* **spp**

المصادر

1. Abeyratne G. D., and Deshappriya,N .,(2018). The effect of pH on the biological control activities of a Trichoderma sp. against Fusarium sp. isolated from the commercial onion fields in Sri Lanka. Society for Tropical Plant Research 5(2).121-128
2. DePasquale, D. A., & Montville, T. J. (1990). Mechanism by which ammonium bicarbonate and ammonium sulfate inhibit mycotoxigenic fungi. Applied and environmental microbiology, 56(12): 3711-3717.

3. El-Mougy, N. S., & Abdel-Kader, M. M. (2018). 'Trichoderma harzianum'and some antioxidants for suppressing faba bean chocolate spot incidence under natural field infection. Australian Journal of Crop Science, 12(5): 794-799.
4. Elwakil, . M. A., and . El-Metwally Mohamed A.(2000). Hydroquinone, A Promising Antioxidant for Managing Seed-Borne Pathogenic Fungi of Peanut. Pakistan Journal of Biological Sciences, 3(3):374–75.
5. Fritsche, S., Wang, X., & Jung, C. (2017). Recent advances in our understanding of tocopherol biosynthesis in plants: an overview of key genes, functions, and breeding of vitamin E improved crops. Antioxidants, 6(4): 99.
6. Herrera-Estrella, A., & Chet, I. (2003). The biological control agent Trichoderma: from fundamentals to applications. Handbook of Fungal Biotechnology, 2, 147-156.
7. Kibemo, B. (2017). Isolation, Identification, and Characterization of Some Fungal Infectious Agents of Cassava in South West Ethiopia. Adv in Life Sci Technol, 54, 16-28.
8. Moslem, M. N., Lakeh, M. T., Lozoumi, Z., Issapour, F., & Irani, M. (2014). Isolation, identification of probiotic Lactobacilli from traditional yogurts produced in rural areas of Mazandaran province (Northern Iran). Asian Journal of Biological and Life Sciences, 3(2): 133-136.
9. Chen, M., Liu, Q., Gao, S. S., Young, A. E., Jacobsen, S. E., & Tang, Y. (2019). Genome mining and biosynthesis of a polyketide from a biofertilizer fungus that can facilitate reductive iron assimilation in plant. Proceedings of the National Academy of Sciences, 116(12): 5499-5504.
10. Shekhar, M., Singh, N., Dutta, R., Kumar, S., & Mahajan, V. (2017). Comparative study of qualitative and quantitative methods to determine toxicity level of Aspergillus flavus isolates in maize. PLoS One, 12(12): e0189760.
11. Shuib, S., Wan Nawi, W. N. N., Taha, E. M., Omar, O., Abdul Kader, A. J., Kalil, M. S., & Abdul Hamid, A. (2014). Strategic feeding of ammonium and metal ions for enhanced GLA-rich lipid accumulation in Cunninghamella bainieri 2A1. The Scientific World Journal, 2014.

12. Sivan, A., & Chet, I. (1989). The possible role of competition between Trichoderma harzianum and Fusarium oxysporum on rhizosphere colonization. Phytopathology, 79(2): 198-203.
13. Sutton, B. C., & Dyko, B. J. (1989). Revision of Hendersonula. Mycological Research, 93(4), 466-488.
14. Prisa, D. (2020). Water structuring device for the quality improvement of aromatic plants. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 12(3): 017-023.
15. Wilson, E. E. (1947). The branch wilt of Persian Walnut trees and its cause. Hilgardia, 17(12):413–430.