جامعة الموصل

كلية الزراعة والغابات

تشخيص وغربلة بعض أنواع الفطر *Trichoderma* في حقول البطاطا وقدرتها التضادية إزاء الفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض تقرح ساق البطاطا

نور ماجد محمد سعيد آلشاهين

رسالة ماجستير

وقاية النبات

بإشراف

الدكتور بسام يحيى إبراهيم

استاذ مساعد

1446هـ

2024م

الخلاصة

بينت نتائج العزل والتشخيص من سيقان نباتات البطاطا التي ظهرت عليها أعراض مرض تقرح الساق عن وجود الفطر *Rhizoctonia solani* واظهر اختبار القدرة الإمراضية بعد ثمانية اسابيع من الزراعة وجود تقرحات بنية محمرة غائرة أحيانا في منطقة الساق من سطح التربة للنباتات مع اتساع بعض هذه البقع لتحدث تحلقاً بالساق تتسبب في قتل النبات.

وبينت نتائج العزل من التربة المحيطة بجذور البطاطا ظهور الأنواع الأتية من الفطر *Trichoderma longibrachiatum* Refai و *Trichoderma hamatum* Refai و *Trichoderma harzianum* Refai و *Trichoderma atroviride* Refai التي شُخِصت بناء على المفاتيح التصنيفية الخاصة من انواع الفطر *Trichoderma*

وبينت نتائج التشخيص الجزيئي للعزلات اعتماداً على تسلسل ITS1 و ITS4 أن جميعها تنتمي إلى الفطر *Trichoderma* وكشفت نتائج التسلسل أن هذه العزلات تنتمي الى الأنواع الآتية للفطر *Trichoderma* وهي *T. harzianum T.longibrachiatum T. atroviride T. hamatum* وتم الحصول على أرقام الانضمام لهذه الأنواع في المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية

National Center for Biotechnology Information (NCBI)

T.longibrachiatum BN1 تحت رقم انضمام PP799246.1:1-485

T. atroviride BN2 تحت رقم انضمام PP814628.1:1-469

T. harzianum BN3 تحت رقم انضمام PP848184.1:1-464

T. hamatum BN4 تحت رقم انضمام PP849384.1:1-464

T.longibrachiatum BN5تحت رقم انضمام PP849414.1:1-460

T.longibrachiatum BN6 تحت رقم انضمام467-PP849533.1:1

وبينت نتائج دراسة نمو فطر *Trichoderma* على اوساط PDA و Czapek – Dox Agar و YEA ففي وسط PDA سُجِلَ أعلى متوسط مساحة مستعمرة في الأنواع جميعها بعد سبعة أيام من الحضانة بواقع 47.61 سم2 وسجل أعلى متوسط للمساحة في النوع BN3 *T. harzianum* بعد سبعة أيام من الحضانة بواقع 53.89 سم^2 وفي وسط Czapek-Dox Agar لم تسجيل أية اختلافات

كبيرة بين انواع الفطر *Trichoderma* إذ سُجل أكبر متوسط لمساحة المستعمرة في مدة الحضانة في النوع *T. harzianum* BN3 بواقع 22.18 سم^2 وسُجِّل أكبر متوسط لمساحة المستعمرة في الأنواع جميعها بعد سبعة أيام من الحضانة بواقع 40.95 سم^2 بينما سُجِّل أكبر متوسط لمساحة المستعمرة في النوع *T. harzianum* BN3 بعد سبعة أيام من الحضانة بواقع 46.01 سم^2

وفي وسط YEA سُجِّل أكبر متوسط لمساحة المستعمرة في النوع *T. harzianum* BN3 بواقع 19.70 سم^2 لم تختلف بشكل كبير عن متوسط مساحة مستعمرة في النوع *T. longibrachiatum* BN6 بواقع 7.89 سم2 على التوالي. وقد سجلت أكبر مساحة مستعمرة متوسطة للأنواع جميعها بعد سبعة أيام من الحضانة بواقع 36.65 سم2 بينما سجلت أكبر مساحة مستعمرة متوسطة في النوع *T. harzianum* BN3 بعد سبعة أيام من الحضانة عند 40.93 سم^2

وكان لدرجات حرارة التحضين تأثيرٌ على نمو الفطر *Trichoderma* إذ سُجِّل أعلى متوسط لمساحة مستعمرة في النوع *T. harzianum* BN3 بواقع 48.85 سم^2 لم تختلف بشكل كبير عن متوسط مساحة المستعمرة في النوع *T.longibrachiatum* BN5 والعزلة *T. longibrachiatum* BN6 بواقع 43.29 و42.74 سم^2 على التتابع و سجل أعلى متوسط للمساحة في النوع *T. harzianum* BN3 عند الحضن عند درجة حرارة 25 سيليزية بعد سبعة أيام من الحضن بمقدار 53.89 سم^2.

وسُجلت العزلة *T. harzianum* BN3 والعزلة *T. atroviride* BN2 أعلى نسبة مئوية للتضاد ضد الفطر *R.solani* مقارنة ببقية الأنواع إذ بلغت النسبة 96.2 و91.2

وسجلت العزلة *T. harzianum* BN3 والعزلة BN2 والعزلة *T. atroviride* BN2 أعلى نسبة للقدرة الضدية ضد الفطر *R.solani* مقارنة ببقية الأنواع إذ بلغت 96.2 و91.2 على التتابع

وبينت النتائج تباين متوسط الكتلة الحيوية لأنواع الفطر *Trichoderma* إذ بلغ أعلى متوسط للكتلة حيوية 0.62 غرام.100 مل−1 في النوع *T. harzianum* BN3 ولم يختلف هذا النوع بشكل كبير عن العزلة *T. longibrachiatum* BN6 والعزلة *T. atroviride* BN2 بواقع 0.54 و 0.49 غم. 100 مل$^{-1}$ على التتابع

وبينت النتائج أيضًا قدرة عالية للفطر *Trichoderma* على خفض الرقم الهيدروجيني ولاسيما العزلة *T. atroviride* BN2 و العزلة *T. harzianum* BN3 العزلة *T. hamatum* BN4 BN4 بواقع 5.14 و 5.34 و 5.23 على التتابع.

وتفوقت العزلة *T. harzianum* BN3 في عدد الأبواغ المنتجة إذ بلغ لوغاريتم عدد الأبواغ 7.81. وفي العزلتين *T. longibrachiatum* BN5 . و*T. longibrachiatum* BN6 بلغ متوسط لوغاريتم عدد الأبواغ 7.45 و7.52 سم2 على التتابع.

.وسجلت أعلى فعالية متوسط لنشاط إنزيمي *B-1,3-glucanase* و *Chitinase* في النوع *T. harzianum* بواقع 15.6 و 20.93 وحدة.مل$^{-1}$ على التتابع. كما سُجِّل أعلى متوسط لنشاط إنزيم Cellulase في النوع *T. atroviride* BN2 بواقع 18.21 وحدة.مل$^{-1}$

وبينت نتائج التجربة الحقلية تأثير المعاملة بأنواع الفطر *Trichoderm* في نسبة الإصابة وشدتها بتقرح ساق البطاطا الناجم عن الإصابة بالفطر *R. solani* إذ سجلت أدنى نسبة للإصابة 53.33.% في معاملة النوع *T. harzianum* BN3 والنوع *T. hamatum* BN4 وباختلاف معنوي عن معاملة المقارنة بنسبة إصابة 100%.وسجلت ادنى قيمة لشدة الإصابة في معاملة النوع. *T. harzianum* BN3\ 0.21 وباختلاف معنوي عن معاملة المقارنة 0.72 .

Summary

Isolation result showed that Colony characteristics match those of *Rhizoctonia solani.*

Isolation results from potato root rhizosphere showed the appearance of six isolates belonging to four species of *Trichoderma* based on the taxonomic keys prepared by Refai and on sequences of ITS1 and ITS4, molecular identification which are *T. hamatum, T. atroviride, T. harzianum,* and *T. longibrachiatum*. The species accession numbers were obtained from National Center for Biotechnology Information (NCBI). which are PP849533.1:1-467 *T.ibrachiatum* strain BN6, PP849414.1:1-460 *T.longibrachiatum* strain BN5, PP848184.1:1-464 *T. harzianum* strain BN3, PP814628.1:1-469 *T. atroviride* strain BN2 , PP799246.1:1-485 *T.longibrachiatum* strain BN1, PP849384.1:1-464 *T. hamatum* strain BN4.

Result showed that antagonistic activity species against *R.solani* mycelium growth where *T. harzianum* strain BN3 and *T. atroviride* strain BN2 record the higher significant antagonism percentage against *R.solani* mycelium growth over the rest of the species, reaching 96.2 and 91.2 for each, followed by the rest of *Trichoderma*

The results show the variation effect of PDA, Czapek – Dox Agar,YEA medium on the colonies area of *Trichoderma* In PDA the highest average colony area was recorded in all species after seven days of incubation at 47.61 cm^2 While the highest average colony area was recorded in *T. harzianum* strain BN3 after seven days of incubation at 53.89 cm^2 ..In Czapek – Dox Agar no significant differences were recorded between Trichoderma The largest average colony area over the incubation period was recorded in *T. harzianum* strain BN3 at 22.18 cm^2 The largest average colony area was recorded for all species after seven days of incubation at 40.95 cm^2, while the largest average colony area was recorded in *T. harzianum* strain BN3 after

seven days of incubation at 46.01 cm^2 In YEA medium The largest average colony area was recorded in T. harzianum strain BN3 at 19.70 cm2, which did not differ significantly from the average colony area of the species T. longibrachiatum strain BN6 at 7.89 cm2, respectively. The largest average colony area was recorded for all species after seven days of incubation at 36.65 cm2, while the largest average colony area was recorded in the fungus T. harzianum strain BN3 after seven days of incubation at 40.93 cm^2

The incubation temperature had an effect on the growth of *Trichoderma* where the highest average of colony area was recorded in *T. harzianum* strain BN3 at 48.85 cm^2, which did not differ significantly from the average colony area in the *T. longibrachiatum* strain BN5 and *T. longibrachiatum* strain BN6 at 43.29 and 42.74 cm2, respectively. The highest average area was recorded in in *T. harzianum* strain BN3 when incubated at 25 °C after seven days of incubation at 53.89 cm^2.

Result of *Trichoderma* antagonistic activity species against *R.solani* mycelium growth. antagonism percentage ranged between 81.7 – 96.2.*T. harzianum* strain BN3 and *T. atroviride* strain BN2 record the higher significant antagonism percentage against *R.solani* mycelium growth over the rest of the species, reaching 96.2 and 91.2 for each, followed by the rest of *Trichoderma* Results also showed the ability of *Trichoderma* species culture filtrates to inhibit radial growth of *R.solani* Inhibition percentage ranged between 53.7% to 67.4%, the highest significance percentage of inhibition recorded was recorded in *T. harzianum* Strain BN3 at 64.7 and the lowest in the T. hamatum strain BN4 at 53.7%. followed by the rest of *Trichoderma*

Result showed the variation of biomass of *Trichoderma* species .The highest average biomass was 0.62 g. 100 ml^{-1} in *T. harzianum* strain BN3 and

this species did not differ significantly from *T. longibrachiatum* strain BN6 and *T. atroviride* strain BN62 0.54 and 0.49 g. 100 ml^{-1} respectively.

The results also show the high ability of *Trichoderma* to reduce pH, especially the species *T. atroviride* strain BN62, *T. harzianum* strain BN3 and T. hamatum strain BN4 with rates of 5.14, 5.34 and 5.23 respectively.

The results also show the number of spores produced by *Trichoderma* .The species *T. harzianum* strain BN3 outperformed in the number of spores produced, as the logarithm of spores reached 7.81. cm^2.it was followed by *T. longibrachiatum* strain BN5 and *T. longibrachiatum* strain BN6, where the logarithm of spores reached 7.45 and 7.52. cm^2 . respectively.

The results showed the variation in B-1,3-glucanase, Chitinase, and Cellulase activity in Trichoderma species. Where the maximum average of B-1,3-glucanase and Chitinase enzyme activity recorded in *T. harzianum* strain BN3 with 15.6 and 20.93 $U.ml^{-1}$, respectively, and the highest average activity of Cellulase enzyme was recorded in strain *T.atroviride* BN2 with 18.21 $U.ml^{-1}$, with a significant difference from the rest of the *Trichoderma* species

The results of the field experiment showed the effect of treatment with *Trichoderma* on the disease infection percentage and severity with potato stem canker caused by *R. solani*, where the lowest infection percentage of 53.33% was recorded in the treatment of *T. harzianum* BN3 and *T. hamatum* BN4, with a significant difference from the control treatment with an infection percentage of 100%. The lowest value for infection severity was recorded in the treatment of *T. harzianum* BN3, 0.21, with a significant difference from the control treatment, 0.72.

University of Mosul

College of Agriculture

and Forestry

Identification and Screening of Certain *Trichoderma* Species in Potato Fields and Their Antagonistic Potential Against *Rhizoctonia solani* The Causal Agent of Potato Stem Canker Disease

Noor Majid Mohammad Saeed Alshaheen

M. Sc. Thesis

Plant Protection

Supervised by

Bassam Yahya Ibrahim

Assistant Professor

2024 AD **1446 AH**