

اختبار تأثير عدة تركيبات سائلة لفطر *Trichoderma harzianum* على مدة

## صلاحية مستحضر مكافحة الحيوية

شادي محمد سليمان<sup>1\*</sup> وموسى السمارة<sup>1</sup> ومحمد أحمد<sup>2</sup> ونوال علي<sup>3</sup><sup>1</sup> قسم الوقاية البيئية، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سورية.<sup>2</sup> قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سورية.<sup>3</sup> قسم علم الحياة، كلية العلوم، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سورية.(\*للمراسلة: شادي سليمان، البريد الإلكتروني [shady-sm@outlook.com](mailto:shady-sm@outlook.com)، هاتف 0955186636)

تاريخ القبول: 2025 / 11 / 23

تاريخ الاستلام: 2025 / 03 / 16

## الملخص

يعد فطر *Trichoderma harzianum* أحد أهم عوامل مكافحة الحيوية ويتمتع بقدرة تطفلية عالية على مسببات الأمراض الفطرية الهامة اقتصادياً والتي تنتقل عن طريق التربة، كما يتميز بقدرته العالية على التكيف والتكاثر في ظروف بيئية متنوعة. نفذ البحث في مخبر دائرة مكافحة الحيوية بحماة عام 2021-2022. أظهرت نتائج دراسة الخصائص الشكلية والمجهورية للعزلة المدروسة تطابق التوصيف المورفولوجي لها مع التوصيف المورفولوجي للنوع *Trichoderma harzianum*. أعطت العزلة المدروسة أكبر عدد من الأبواغ الكونيدية  $109 \times 0.18 \pm 15.02$  بوغة / غرام عند درجة حرارة  $30^\circ\text{C}$ ، كما بلغ متوسط سرعة النمو الخطي أعلى مستوياتها  $0.27 \pm 22.53$  مم / يوم عند نفس درجة الحرارة، في حين أعطت العزلة المدروسة أعلى وزن جاف للكتلة الحيوية  $1.15 \pm 32$  ملغ/ غرام عند درجة الحرارة  $25^\circ\text{C}$ . لوحظ وجود زيادة معنوية في سرعة النمو و متوسط عدد الأبواغ و كذلك في النسبة المئوية للتثبيط مع ارتفاع رقم الحموضة حتى الرقم 5.5 حيث بلغت ذروتها  $24.4 \pm 0.06$  مم/ يوم ،  $109 \times 0.88 \pm 21.7$  بوغة / غ ،  $0.92 \pm 57.1$  % على التوالي وعادت هذه المؤشرات للانخفاض مع ارتفاع رقم الحموضة، تفوقت معاملة الفترة الضوئية 16:8 بشكل معنوي على باقي المعاملات بمتوسط عدد الأبواغ  $109 \times 0.17 \pm 10.33$  بوغة/ غرام. بلغ متوسط عدد الأبواغ عند 25% محتوى رطوبي  $109 \times 0.0 \pm 2$  بوغة / غرام مقابل  $109 \times 2.2 \pm 94.67$  بوغة / غرام عند المحتوى الرطوبي 55% أي بحوالي 47 ضعفاً.

الكلمات المفتاحية: *Trichoderma harzianum*، الأبواغ الكونيدية، سرعة النمو، المحتوى الرطوبي.

## المقدمة:

تواجه الزراعة تحديات كبيرة في توفير الغذاء الكافي بطريقة مستدامة لسكان العالم الذين تتزايد أعدادهم بشكل كبير بينما تتعامل بنفس الوقت مع التغيرات المناخية العالمية التي لا يمكن التنبؤ بها، نتيجة لذلك هناك طلب متزايد على الحلول الصديقة للبيئة و التي تساعد على الإنتاج الزراعي ضمن مدى واسع من الظروف البيئية المتغيرة . تشكل الأمراض النباتية تهديداً خطيراً يواجه الإنتاج النباتي و يؤدي إلى خسائر كبيرة في الإنتاج الزراعي . يعد استخدام المبيدات الكيميائية الطريقة الأكثر شيوعاً في مكافحتها على الرغم من المخاطر الكبيرة التي ترافق استخدامها كتلوث التربة و الغذاء و الأثر المتبقي للمواد الكيميائية داخل الثمار بالإضافة لتطوير المقاومة لمسببات الأمراض الفطرية لها و التكلفة العالية لاستخدامها (Tapwal and Kumar,2011). توفر مكافحة الحيوية بديلاً هاماً للمبيدات الكيميائية يمكن استخدامه في إدارة الأمراض الفطرية، و هي طريقة هامة لإدارة الأمراض النباتية، خصوصاً أنه لا يمكن استخدام المبيدات الكيميائية التقليدية في الزراعة العضوية. في السنوات الأخيرة كان هناك تحول عالمي نحو استخدام طرق صديقة للبيئة لحماية المحاصيل الزراعية من الأمراض (Rao et al, 1998). و في هذا السياق يعد فطر التريكوثيرما بمثابة حل عملي للحد من تأثيرات الأمراض الفطرية على الإنتاج الزراعي (Abdel-lateif, 2017; Verma et al, 2021). حيث أشارت العديد من الدراسات إلى أن المكافحة الحيوية باستخدام فطر التريكوثيرما أثبتت فعاليتها في مكافحة أمراض النبات الفطرية المنقولة عن طريق التربة بشكل فعال (Solanki et al, 2011; Kashyap et al, 2020). عند التخطيط لتطبيق برامج المكافحة الحيوية باستخدام فطر *Trichoderma spp* من المهم جداً مراعاة العوامل التي تؤثر على نمو و تكاثر الفطر ، و تعد دراسة تأثير العوامل البيئية على فطر *Trichoderma spp* ذات أهمية كبيرة حيث أن سلالات هذا الفطر المعتمدة يجب أن تتمتع بمستويات عالية من القدرة التكاثرية و سرعة النمو و تحمل الإجهاد البيئي لتتفوق على المسببات المرضية التي سيتم استخدامها ضدها كما أن الإنتاج الكمي للفطر يتطلب ضبط شروط التربية و الإكثار من حرارة و رطوبة و درجة حموضة و الإضاءة المثلى للحصول على أعلى إنتاج ممكن من الأبواغ الكونيدية في أقل فترة زمنية (Magan 1988; Eastburn and Butler 1991; Antal et al, 2000). يتم تطبيق المكافحة الحيوية باستخدام سلالات *Trichoderma* في مختلف أنواع التربة الزراعية و التي تتمتع بخصائص و درجات حموضة مختلفة. لذلك، من الأهمية بمكان دراسة تأثيرات رقم الحموضة على نمو الفطريات و النشاط التضادي مع مسببات الأمراض الفطرية المستهدفة في المكافحة (Kredics et al,2004). كما تعد الإضاءة أحد المحفزات الأساسية في تكوين الأبواغ الكونيدية (Horwitz et al., 1985; Casas-Flores et al., 2004; Steyaert et al,2010).

هدف البحث إلى تحديد الظروف المثلى للإنتاج الكمي لفطر *Trichoderma harzianum* و ذلك عن طريق دراسة تأثير درجات الحرارة و رقم الحموضة و ساعات الإضاءة و رطوبة الوسط المغذي للحصول على أعلى عائد من الأبواغ الكونيدية و الكتلة الحيوية للفطر المعزول محلياً.

## مواد البحث و طرائقه:

نفذ البحث في مخابر دائرة المكافحة الحيوية بحماة خلال العام 2021 من خلال جمع عينات حقلية بشكل عشوائي من تربة المحيط الجذري و الملاصقة للجذور لنبات الباذنجان المزروع في حقل قريب من مدينة حماة و لم يسبق إضافة فطر التريكوثيرما لها . وضعت العينات في أكياس من البولي ايثيلين و كتب عليها المعلومات اللازمة ( تاريخ و مكان الجمع و النبات المزروع) و نقلت إلى المختبر و جففت في غرفة مظلمة و مهواة بشكل جيد و بعد تمام التجفيف، جرى تعقيم التربة الناتجة باستخدام الهاون و غربلتها و ترقيمها و حفظها في البراد،

عزل *Trichoderma*

- عزل *Trichoderma* من التربة المحيطة بالجذور Rhizosphere : أخذ 1 غ من كل عينة و وضعت داخل أنبوب بلاستيكي مدرج معقم و أكمل الحجم إلى 10 مل بواسطة الماء المقطر و المعقم المضاف له توين 80 تركيز 01% كمادة مشتتة و ذلك 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/لتر بثلاث مكررات و حركت بشكل جيد و حضنت عند درجة حرارة  $25 \pm 1$  و رطوبة نسبية  $70 \pm 5\%$  و إضاءة 12:12 لمدة 5 أيام (الموسوي، 2011) (Al-Zujaji, 2000)
  - الحصول على مزرعة وحيدة البوغه لفطر *Trichoderma* : تم تنقية الفطر *Trichoderma* على الوسط المغذي PDA ضمن أطباق بتري و حضنت عند درجة حرارة  $25 \pm 1$  و رطوبة نسبية  $70 \pm 5\%$  و إضاءة 12:12 لمدة 5 أيام و عند اكتمال نمو الفطر و تبوغه تم إضافة 5 مل من محلول مائي معقم 0.01% توين 80 إلى سطح الطبق و حرك الطبق بشكل رحوي و كشط 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 1 مل 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 لقت في طبق بتري على الوسط المغذي PDA و حضنت في الظلام عند درجة حرارة  $25 \pm 1$  و رطوبة نسبية  $70 \pm 5\%$  (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 المنتشرة المنفردة بواسطة شفرة مشرط معقمة بجزر و أعيد زرعها في طبق آخر.

التوصيف المورفولوجي للعزلة المدروسة من جنس *Trichoderma* على مستوى النوع:

أخذ جزء من الطرف الخارجي للمزرعة الفطرية كي يتم تعريفها و دراسة خصائصها المجهرية و المورفولوجية (Champion, 1997) ، و تم استخدام مفاتيح التعريف المعتمدة لجنس *Trichoderma* اعتماداً على الصفات المظهرية كسرعة النمو و مظهر الميسيليوم الفطري و لون المستعمرات من الوجه السفلي و العلوي للطبق و قوام المستعمرة و الفحص المجهرى للحوامل الكونيدية conidiophores و نمط تفرعها و زاوية المحور الرئيسي و عدد الفياليات و ترتيبها و شكل الأبواغ الكونيدية و قياساتها و وجود الأبواغ الكلاميدية و مكان تشكيلها (Rabbani, 2004).

تأثير درجة حرارة التحضين على نمو و تبوغ *Trichoderma harzianum*:

درس تأثير درجات حرارة التحضين على سرعة النمو الفطري و إنتاج الأبواغ الكونيدية لفطر *Trichoderma harzianum* مخبرياً عند زراعته على وسطين غذائيين: PDA و حبوب القمح .

أولاً: الزراعة على وسط PDA: أخذنا حلقة بقطر 0.5 سم من طرف مزرعة نقية و نشطة باستخدام حافر الفلين المعقم باللهب و زرعت ضمن طبق بتري يحتوي على 20 مل من وسط الزرع PDA المعقم بشكل مسبق في الاوتوغلاف على درجة حرارة  $121^\circ$

م لمدة 20 دقيقة و شملت معاملات درجات الحرارة التالية: 10, 15, 20, 25, 30, 35 °م و بثلاث تكرارات لكل معاملة في ظل ثبات باقي العوامل كالإضاءة 8:16 و الرطوبة 65%±5% وسجلت الملاحظات اليومية على النمو الفطري لـ *Trichoderma harzianum* حيث تم تسجيل سرعة النمو للمستعمرات يومياً باستخدام الفرجار في اتجاهين متعامدين و أخذ متوسطها حتى يتم استعمار الأطباق بالكامل (Srivastava et al, 2014)

و تم استخدام المعادلة التالية لحساب معدل النمو:

$$MGR = \frac{(G1 - G0) + (G2 - G1) + \dots + (Gn - Gn - 1)}{T1 + T2 + \dots + Tn}$$

(Bedine et al, 2022)

MGR معدل نمو الميسيليوم mm/h

G0 النمو القمي عند الساعة 0 تسير إلى 0mm

G1 النمو القمي بعد 24 ساعة

G2 النمو القمي بعد 48 ساعة

Gn النمو القمي بعد n ساعة

T زمن أخذ القراءة

ثانياً: الزراعة على وسط حبوب القمح:

- تقييم إنتاج الأبواغ : حضر المعلق البوغي لفطر التريكويديرما عن طريق حصاد الأبواغ الكونيدية لمستعمرة فطرية ضمن طبق بتري بعمر 7 أيام مكتملة النمو و التبوغ بإضافة 10 مل من الماء المقطر المعقم إلى سطح المستعمرة و كشط سطح المستعمرة باستخدام قضيب زجاجي معقم و ترشيحها عن طريق تمريرها بثلاث طبقات من القماش الناعم و ضبط التركيز باستخدام شريحة العد إلى  $1 \times 10^5$  كونيدية / مل و حضرت قوارير زجاجية سعة 1000 مل تحتوي على 100 غ وسط حبوب القمح المنقوعة بالماء بشكل مسبق لمدة 24 ساعة و المعقمة بالاتوغلاف على درجة حرارة 121°م و لمدة 45 دقيقة. و لقت القوارير ب 10 مل من المعلق البوغي و تم مجانسة القوارير عن طريق التحريك اللطيف و التحضين عند 15, 20, 25, 30, 35 °م درجة مئوية بثلاث تكرارات لكل درجة حرارة مع التحريك المنتظم . و بعد عشرون يوماً من الحضانة ، أخذنا 1 غرام من الوسط المتخمر و أضيفت إلى 50 مل من الماء المعقم المحتوي على 0.01 % (حجم / حجم) توين 80 ضمن دورق مخروطي و حرك الخليط على جهاز محرك دوار بسرعة 120 دورة / دقيقة لمدة ساعة و تم تصفية الناتج باستخدام ثلاث طبقات من القماش الناعم للحصول على المعلق البوغي وعدت الأبواغ باستخدام شريحة العد محسوبة على أساس بوغة/ غرام. (Niranjana et al , 2009)
- حساب الوزن الجاف : وزن 10 غرام من حبوب القمح المتخمر و أضيف لها 100 مل ماء مقطر في دورق مخروطي و حرك الخليط على ج, 2013)رك دوار بسرعة 120 دورة / دقيقة لمدة ساعة و تم فصل الكتلة الفطرية في كل دورق مخروطي بالترشيح باستخدام ورق Whatman رقم 1. تم التخلص من الراشح و تم تجفيف الكتلة الحيوية الفطرية على ورق الترشيح بالهواء عند درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة. ثم تم قياس الوزن الطازج بالميزان الإلكتروني الحساس. جففت الكتلة الحيوية الفطرية لجميع المعاملات بالفرن عند درجة حرارة 70 درجة مئوية حتى ثبات الوزن. ثم تم وزن الكتلة الحيوية الفطرية الجافة و تم التعبير عن النتائج (ملغ/ غرام مادة جافة من الوسط الغذائي)(Jahan et al, 2013)

تأثير درجة حموضة الوسط المغذي على نمو *Trichoderma harzianum*

عدلت قيم ال PH لوسط PDA بعد تعقيمه باستخدام (0.1 N HCL AND 0.1 N NAOH)

زرع قرص بقياس 0.5 سم من *Trichoderma harzianum* في وسط PDA عند قيم PH مختلفة (3, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 9) في ثلاث مكررات لكل قيمة و ذلك بأطباق بتري يحتوي كل طبق على 20 مل من الوسط المغذي، حضنت الأطباق على درجة حرارة 25°م و رطوبة نسبية 70±5% و فترة ضوئية 8:16. و سجلت سرعة النمو للمستعمرات يوميًا باستخدام الفرجار في اتجاهين متعامدين حتى يتم استعمار الأطباق بالكامل. (Prabhavathi et al, 2014)

كما تم اختبار تثبيط *Trichoderma harzianum* للعامل الممرض *Rhizoctonia solani* ضمن نفس قيم الحموضة السابقة كمعاملات بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة باعتماد تقنية الزرع المزدوج dual culture حيث تم صب 20 مل من بيئة PDA في كل طبق بتري بدون إضافة أي مضاد حيوي و ذلك في ظروف معقمة داخل غرفة الزرع الجرثومي ، حيث تم تلقيح 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 على درجة حرارة 25±1°س و رطوبة نسبية 70±5% و إضاءة 12:12 و استمر التحضين حتى تسجيل أو اتصال بين الفطر الممرض و فطر *Trichoderma* وتم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري ، بناءً على المعادلة التي اقترحها (Ezziymani et al. (2007

$$PICR \% = ((R2 - R1) / R2) \times 100$$

$$PICR \% = \text{النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري}$$

$$R1 = \text{نصف قطر النمو (مم) للفطر الممرض باتجاه } Trichoderma$$

$$R2 = \text{نصف قطر النمو (مم) للفطر الممرض في الشاهد (بدون } Trichoderma)$$

**تأثير الفترة الضوئية:** لقت أطباق بتري زجاجية قطر 9 سم حاوية على الوسط المغذي PDA بقرص قطر ½ سم مأخوذة من طرف مستعمرة نقية و نشطة لفطر *Trichoderma*، حضنت الأطباق على درجة حرارة 25°م 2± و رطوبة نسبية 65±5% و طبقت عليها فترات ضوئية مختلفة لمعرفة تأثير الإضاءة على إنتاج الأبواغ الكونيدية:

1- إضاءة دائمة

2- ظلام دائم

3- فترة ضوئية 12:12

4- فترة ضوئية 8:16

5- فترة ضوئية 24:24 بالتناوب

استمرت فترة الحضانة لمدة 6 أيام (حتى اكتمال النمو و التبوغ) و في نهاية اليوم السادس تم كشط سطح المستعمرات الفطرية و تحضير محلول الأبواغ لكامل الطبق رشح المحلول البوعي الناتج باستخدام طبقتين من قماش الموسلين (Singh & Nautiyal, 2012). تم حساب تركيز الأبواغ التي تم الحصول عليها في كل وسط باستخدام شريحة عد مالاسيه وتم التعبير عن النتائج بعدد الأبواغ لكل طبق من وسط PDA. حسب طريقة (Rayhane et al, 2019) المعدلة.

**تأثير المحتوى الرطوبي للوسط الغذائي:** استخدم القمح كوسط مغذي لفطر التريكوثيرما و ذلك لاختبار تأثير درجة رطوبة هذا الوسط على إنتاج الأبواغ الكونيدية، و تم تعديل محتوى رطوبة الوسط المغذي إلى مستويات مختلفة بإضافة كميات محددة من الماء المقطر لكل معاملة و لفترات زمنية محددة (Cavalcante et al, 2008) مع مراعاة نسبة الرطوبة الابتدائية للقمح الجاف و التي بلغت 13% حيث أضيف الماء المقطر لكل معاملة حتى نصل إلى النسب التالية: 25%، 30%، 35%، 40%، 45%،

50%، 55%، 60%، نفذت التجربة بثمانية معاملات و كل معاملة بثلاث مكررات . قيست الرطوبة لكل معاملة باستخدام جهاز قياس الرطوبة المزود بلمبة هالوجين عند درجة حرارة 160°م حتى ثبات الوزن و وضع 100 غرام من القمح المرطب في دورق مخروطي سعة 1000 مل و أغلق بسدادة قطنية و عقم بالأوتوغلاف على درجة حرارة 121° م لمدة 45 دقيقة . و للقيام بعملية التلقيح تم حصاد الأبواغ الكونيدية لمستعمرة فطرية ضمن طبق بتري بعمر 5 أيام مكتملة النمو و التبوغ حيث تم إضافة 10 مل من الماء المقطر المعقم إلى سطح المستعمرة و كشط سطح المستعمرة باستخدام قضيب زجاجي معقم و ترشيحها عن طريق تمريرها بثلاث طبقات من القماش الناعم و ضبط التركيز باستخدام شريحة العد . و لقت الدوايق المحضرة مسبقاً ب 10 مل من المعلق البوغي الناتج بتركيز  $10^5 * 1$  وحضنت الدوايق على درجة حرارة  $25 \pm 2$ ° م و رطوبة نسبية  $65 \pm 5$ % و فترة ضوئية إضاءة: ظلام 12:12 لمدة عشرة أيام مع التحريك اليومي . (Niranjana et al,2009)

و بعد انقضاء فترة التحضين تم حساب تركيز الأبواغ الكونيدية في الوسط المغذي المتخمر ( القمح ) حيث أخذنا 1/ غرام من الوسط المتخمر و أضيف إلى 50 مل من الماء المعقم و المقطر ضمن دورق مخروطي و حرك الخليط على جهاز محرك دوار بسرعة 120 دورة / دقيقة لمدة ساعة و تم تصفية الناتج باستخدام ثلاث طبقات من القماش الناعم و قمنا بعد الأبواغ باستخدام شريحة العد محسوبة على أساس بوغة/ غرام (Pham et al, 2016) .

### النتائج و المناقشة:

#### التوصيف المورفولوجي:

- الوصف الشكلي للمستعمرة الفطرية: تميزت المستعمرة الفطرية النامية على الوسط المغذي PDA بنموها السريع ( 18 مم/ يوم على درجة الحرارة 25° م ) ، بدأ الميسيليوم الفطري في اليوم الأول للتحضين ناعماً مائياً اللون و متفرق و تحول في اليوم الثاني إلى نمو أبيض قطني ازدادت كثافته تدريجياً ثم تحول إلى نسيج أكثر تماسكاً ذات لون أخضر فاتح مصفر في اليوم الثالث ، و أصبح لون المستعمرة أخضر غامق في اليوم الرابع و تشكلت حلقات متحدة المركز (2 حلقة). و لوحظ تصبغ الأغار باللون الأصفر ثم اللون الأصفر الداكن في المستعمرات الناضجة بدون ظهور رائحة واضحة للمستعمرة.
- التوصيف المجهرى: بدت الحوامل الكونيدية تنتشر باتجاه الأعلى عمودية على المحور الرئيسي و تشكل بنية هرمية و تفرعت بشكل شديد .

الفياليدات على شكل قارورة قصيرة و عريضة في المنتصف و توضع ضمن مجموعات 2-4 فياليدات في المجموعة و غالباً تنتهي الفياليدات بعنق ضيق و بلغ قياس الفياليدات (3.6-2.6\*4-7) ميكرومتر

الأبواغ الكونيدية شبه كروية ذات لون أخضر فاتح تتحول لاحقاً إلى لون أخضر داكن عند النضج، تميزت بحواف ناعمة و بلغت قياساتها (2.5-2.2\*3.4-2.8) ميكرومتر .

تطابق التوصيف المورفولوجي للعزلة المدروسة مع التوصيف المورفولوجي للنوع *Trichoderma harzianum* حسب المراجع المعتمدة (Bissett,1991;Rifai,1969;Samuels,1996).

**تأثير درجة حرارة التحضين:** بينت نتائج الدراسة أن فطر *Trichoderma harzianum* نمت بسرعات متفاوتة و بمجال واسع من درجات الحرارة بين 10-35° م و أن درجة الحرارة المثالية لنموه بلغت 30° م بمقدار  $0.27 \pm 22.53$  مم/ يوم، بينما بدأ تبوغ الفطر عند الدرجة 15° م و كانت الدرجة المثلى لإنتاج أكبر محصول من الأبواغ الكونيدية 30° م بمقدار  $0.18 \pm 15.02$  \*  $10^8$  بوغة / غرام، و كانت الدرجة 25° م هي الدرجة المثلى لإنتاج أعلى وزن للكتلة الحيوية الجافة بمقدار  $0.88 \pm 40.33$  ملغ

غرام و من خلال الجدول (1) نلاحظ تشابه المتطلبات الحرارية للنمو و إنتاج الأبواغ بينما اختلفت المتطلبات الحرارية لإنتاج أفضل كتلة حيوية و بين إنتاج أفضل حاصل للأبواغ الكونيدية كما بينت النتائج أن المجال الحراري بين 25-30°م هو الأفضل للقيام بعمليات الإكثار الكمي، و هذا ما يتوافق مع العديد من الأبحاث التي بينت أن درجة الحرارة تلعب دوراً هاماً في نمو و تبوغ أنواع الجنس *Trichoderma* (Zehra et al,2017) ، كما بينت النتائج انخفاض في متوسط النمو الخطي و إنتاج الأبواغ الكونيدية عند ارتفاع درجة الحرارة إلى 35°م و قد يعود ذلك إلى انخفاض مستوى الرطوبة نتيجة فقدان الماء بالتبخر في درجة الحرارة العالية (Mamo & Alemu, 2012) كما أن ارتفاع درجات الحرارة يؤدي إلى تكتل محتويات الخلية مثل الكربوهيدرات والدهون والبروتينات مما يقلل النشاط الفسيولوجي للفطر يليه انخفاض في إنتاج الأبواغ (Daryaei et al,2016). و قد أفاد العديد من الباحثين أيضاً أن درجة الحرارة من 25 إلى 30 درجة مئوية كانت مناسبة لنمو وتكاثر التريكوثيرما (Kunming, 2011; Shahid et. al. 2009; Singh and Sudhir, 2004; 2004). أثبت الباحثون أن أنواع التريكوثيرما يمكن أن تتأثر بدرجة حرارة التربة من حيث توزيعها أنواعها. حيث عزلت أنواع *T. harzianum* بشكل عام من التربة الدافئة بينما توجد *T. viride* و *polysporum* في الغالب في المناطق المعتدلة الباردة (Klein & Eveleigh,1998)، وهذا ما يفسر النمو المثالي لعزلة فطر *T.harzianum* عند درجة حرارة 30°م في منطقة حماة ذات التربة الدافئة.

الجدول(1): تأثير درجات الحرارة على سرعة النمو وعدد الأبواغ المنتجة والوزن الجاف لفطر *Trichoderma harzianum*

درجة الحرارة	متوسط سرعة النمو الخطي /م/ يوم ± الخطأ القياس	متوسط عدد الأبواغ في 1 غ * 10 <sup>9</sup> ± الخطأ القياسي	الوزن الجاف ملغ/غرام
10	3.13 ± 0.09	0.00 ± 0.00	0.33 ± 4.33
15	10.17 ± 0.03	5.51 ± 0.21	0.67 ± 9.33
20	15.23 ± 0.09	10.16 ± 0.06	1.15 ± 24.00
25	18.73 ± 0.12	12.49 ± 0.08	0.88 ± 40.33
30	22.53 ± 0.27	15.02 ± 0.18	1.15 ± 32.00
35	15.97 ± 0.07	10.64 ± 0.04	1.20 ± 21.33
LSD	1.079	0.96	3.23

#### تأثير درجة حموضة الوسط المغذي على نمو *Trichoderma harzianum*

بينت النتائج أن العزلة الفطرية المختبرة نمت و تبوغت في مجال واسع من درجات الحموضة من 3- 8 و كانت درجة الحموضة 5,5 هي المثلى لإنتاج الأبواغ و سرعة النمو الخطي و كذلك بالقدرة التثبيطية ضد الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*، حيث لوحظ وجود زيادة معنوية في سرعة النمو و متوسط عدد الأبواغ و كذلك في النسبة المئوية للتثبيط مع ارتفاع رقم الحموضة حتى الرقم 5.5 حيث بلغت ذروتها على التوالي 24.4 ± 0.06 م/يوم ، 0.88±21.7 \* 10<sup>9</sup> بوغة / غ ، 0.92±57.1 % و عادت هذه المؤشرات للانخفاض التدريجي لتبلغ أقل قيمها عند الدرجة 8 كما هو موضح بالجدول(2) و بالمقارنة مع نتائج الأبحاث السابقة فقد و جد (Mamo and alemu,2012) أن رقم الحموضة الأمثل لإنتاج الأبواغ الكونيدية بين 4.5-5.5 و هو ما يتوافق مع ما وجدناه ، كما لاحظ (Jayaswal et al(2003) أن معدل سرعة النمو يزداد في ظل الظروف الحامضية و يتناقض كلما ارتفع رقم الحموضة ، في حين وجد (Ali et al (2012) أن نسبة تثبيط الفطر *Trichoderma harzianum* للفطر الممرض *R. solani* بلغت 43.8 ± 0.4 % عند درجة الحرارة 25°م و رقم حموضة 5.5 . و خلافا لما وجدنا فقد بين (Pradesh(2016) أنه تم تسجيل أعلى وزن جاف للكتلة الحيوية عند درجة الحموضة 7، كما تم تسجيل الحد الأدنى للوزن الجاف عند درجة حموضة 3.0، وتم تسجيل تبوغ ممتاز عند درجة الحموضة 6.5 - 7.0 ، كما لاحظ أيضاً أن و إنتاجلقولية أو

الحمضية ليست مناسبة لنمو و تبوغ العامل الحيوي و من المرجح أن يعود ذلك إلى اختلاف الظروف المثالية لدرجات الحموضة حسب السلالات المختبرة.

الجدول(2): تأثير حموضة الوسط المغذي على سرعة النمو الخطي و نسبة التثبيط و إنتاج فطر *Trichoderma harzianum*

نسبة التثبيط % لفطر <i>R. solani</i>		متوسط عدد الأبواغ في 1 غ* $10^9 \pm$ الخطأ القياسي			متوسط سرعة النمو الخطي م/م يوم $\pm$ الخطأ القياس			درجة الحموضة PH	
1.30	$\pm$	20.6	0.33	$\pm$	4.3	0.10	$\pm$	14.9	3
0.46	$\pm$	37.3	0.33	$\pm$	5.7	0.19	$\pm$	15.4	3.5
2.12	$\pm$	45.0	0.58	$\pm$	9.0	0.13	$\pm$	17.5	4
0.94	$\pm$	42.8	0.58	$\pm$	12.0	0.09	$\pm$	18.3	4.5
0.79	$\pm$	47.1	0.58	$\pm$	16.0	0.13	$\pm$	19.3	5
0.92	$\pm$	57.1	0.88	$\pm$	21.7	0.06	$\pm$	24.4	5.5
0.48	$\pm$	52.7	0.33	$\pm$	18.7	0.15	$\pm$	20.1	6
0.32	$\pm$	51.2	0.58	$\pm$	16.0	0.12	$\pm$	18.1	6.5
1.90	$\pm$	46.4	0.58	$\pm$	14.0	0.15	$\pm$	15.3	7
0.29	$\pm$	39.2	0.33	$\pm$	8.3	0.15	$\pm$	11.7	7.5
0.94	$\pm$	36.9	0.00	$\pm$	3.0	0.12	$\pm$	6.1	8
3.27					1.5			0.37	LSD

#### تأثير الفترة الضوئية على نمو *Trichoderma harzianum*

بينت النتائج تأثير معنوي للفترة الضوئية على نمو و تبوغ فطر التريكوثيرما ، فقد أظهرت الاختبارات نمو و تبوغ السلالة المدروسة بمختلف الفترات الضوئية المدروسة بما فيها الظلام الكامل و قد تفوقت معاملة الفترة الضوئية 16:8 بشكل معنوي على باقي المعاملات بمتوسط عدد الأبواغ  $10^{9.33} \pm 0.17$  \*  $10^9$  بوغة/ غرام ، في حين بلغ متوسط عدد الأبواغ في معاملة الظلام الكامل  $10^{9.25} \pm 0.0$  \*  $10^9$  بوغة/ غرام. كما اختلف الوزن الجاف للكتلة الحيوية باختلاف الفترة الضوئية فقد بلغ أقصاه بمعاملة الإضاءة الدائمة  $151 \pm 1.00$  ملغ / غرام في حين كان الوزن الجاف بمعاملة الظلام الكامل في أدنى مستوى و بلغ  $2.03 \pm 103$  ملغ/ غرام.

يتأثر سلوك الكائنات الحية بأشعة الشمس كواحد من العوامل البيئية الرئيسية و يعمل الضوء على التأثير بالعديد من العمليات الحيوية التي بدورها تؤثر بالنمو و الاستقلاب و التكاثر (Castellanos et al,2010). و قد وجد (Mamo et al (2012 أن إنتاج الأبواغ الكونيدية من عزلات التريكوثيرما بلغت الحد الأقصى في وجود الضوء و كانت جميع العزلات المختبرة أفضل بوجود الضوء الدائم مقارنة بالشاهد، حيث بلغ إنتاج الأبواغ الكونيدية بوجود الضوء  $222 \pm 2 \times 10^8$  conidia/g مقابل  $137 \pm 2.25 \times 10^8$  conidia/g في الظلام. و بين (Li et al (2022 أن الضوء شجع تكوين الأبواغ و حوامل الأبواغ الكونيدية للفطر *Trichoderma guizhouense* و بلغ عدد الأبواغ المنتجة بوجود الضوء الأبيض  $3.2 \times 10^9$  بوغة/ طبق بالمقارنة بعدد الأبواغ المنتجة في الظلام  $0.3 \times 10^9$  بوغة / طبق  $10^7$  مع تفوق التعرض للضوء الأزرق في إنتاج الأبواغ الذي بلغ  $4.3 \times 10^9$  بوغة / طبق. و هذا ما يقارب النتائج التي حصلنا عليها. تعد الإضاءة أحد المحفزات الأساسية في تكوين الأبواغ الكونيدية (Horwitz et al., 1985; Casas-Flores et al., 2004; Steyaert et al,2010).

أظهرت العديد من الأبحاث أهمية الضوء في تكوين الأبواغ الكونيدية و نضجها بالإضافة إلى ملاحظة زيادة في ترسيب شوارد الكالسيوم على جدران الأبواغ الفطرية و الميسيليوم، و أدى ذلك إلى زيادة العائد من إنتاج الأبواغ الكونيدية و مقاومة الإجهاد و زيادة في عمر الأبواغ المنتجة لفطر التريكوثيرما (Li et al,2022; Kantar et al,2018). و تشير هذه الأبحاث إلى أن جدار

الخلية يخضع لتغيرات هيكلية أثناء التطور و زيادة العمر ، تتميز بقدرة مختلفة على ربط أيونات الكالسيوم بالتزامن مع تكوين الأبواغ الكونيدية و بالتالي فهي مشارك نشط في عملية تكوين الأبواغ، و أن التعرض للضوء كان مصحوباً بتغيير خصائص الارتباط بين جدار الخلية و أيونات الكالسيوم و الترسيب الكبير لها في الأبواغ الكونيدية.

الجدول(3): تأثير الفترة الضوئية على إنتاجية فطر *T. harzianum* من الأبواغ و الوزن الجاف للكتلة الحيوية

الفترة الضوئية		متوسط عدد الأبواغ في 1 غ × 10 <sup>9</sup> ± ح.ق		الوزن الجاف ملغ/غرام	
ظلام كامل	0.25	±	0.00	±	103
إضاءة كاملة	9.67	±	0.44	±	151
12:12	9.27	±	0.12	±	137
8:16	10.33	±	0.17	±	123
24:24	7.00	±	0.29	±	139
LSD	0.67				6.3

#### تأثير المحتوى الرطوبي للوسط الغذائي:

تبين النتائج الواردة في الجدول(4) تأثير المحتوى الرطوبة لوسط النمو على إنتاج الأبواغ و الوزن الجاف للكتلة الحيوية لفطر التريكوثيرما ، وقد لعب مستوى المحتوى الرطوبي دوراً حاسماً في الإنتاج ، حيث بلغ متوسط عدد الأبواغ عند 25% محتوى رطوبي 0.0±2 \* 10<sup>9</sup> بوغة / غرام مقابل 2.2±94.67 \* 10<sup>9</sup> بوغة / غرام عند المحتوى الرطوبي 55% أي بحوالي 47 ضعفاً ، و نلاحظ الزيادة التدريجية لعدد الأبواغ المرافقة لزيادة المحتوى الرطوبي حتى بلغت ذروتها عند 55% و عادت للانخفاض المفاجئ عند زيادة المحتوى الرطوبي إلى 60% . كما ارتبطت زيادة الوزن الجاف للكتلة الحيوية ارتباطاً طردياً مع زيادة الرطوبة حتى مستوى 50 % و 55% مع عدم وجود فرق معنوي بين هذين النسبتين و عادت للانخفاض عند النسبة 60% للمحتوى الرطوبي. كما تشير النتائج إلى الارتباط المعنوي عند مستوى ثقة 0.01 بين عدد الابواغ و الوزن الجاف عند مستويات الرطوبة المدروسة ، فقد بلغ معامل الارتباط البسيط 0.891

الجدول(4): تأثير مستويات مختلفة من المحتوى الرطوبي للوسط الغذائي على إنتاجية فطر *Trichoderma harzianum* من الأبواغ و الوزن الجاف للكتلة الحيوية.

المحتوى الرطوبي %		متوسط عدد الأبواغ في 1 غ * 10 <sup>8</sup> ± الخطأ القياسي		الوزن الجاف ملغ/غرام	
25%	2.00	±	0.0	±	11.7
30%	9.00	±	0.6	±	19.3
35%	25.00	±	1.7	±	24.7
40%	30.67	±	2.4	±	33.7
45%	35.33	±	2.9	±	42.7
50%	67.00	±	1.5	±	53.7
55%	94.67	±	2.2	±	51.5
60%	32.67	±	1.5	±	23.3
LSD			4.5		2.67

#### الاستنتاجات:

بينت دراسة التوصيف المورفولوجي للعزلة المدروسة أنها تعود للنوع *Trichoderma harzianum* المعزولة من تربة محافظة حماة، إن المجال الحراري بين 25-30° م هو الأفضل لعمليات الإكثار الكمي للعزلة المدروسة، حيث أدى انخفاضها أو ارتفاعها عن هذا المجال إلى انخفاض في النمو و إنتاج الأبواغ الكونيدية، كما نمت في مجال واسع من درجات الحموضة بين 3-8 PH= إلا أن النمو الأمثل و القدرة التثبيطية الأعلى للفطر *R.Solani* توافقت مع PH=5.5. لعبت تغيرات الفترة الضوئية دوراً أساسياً في نمو و تبوغ فطر *Trichoderma harzianum* ، و قد تفوقت معاملة الفترة الضوئية 16:8 بشكل معنوي على باقي

المعاملات المختبرة، كما لعب مستوى المحتوى الرطوبي للوسط المغذي دوراً حاسماً في الإنتاج و كانت نسبة الرطوبة المثلى للوسط المغذي 55%.

#### التوصيات:

يتأثر الإنتاج الكمي لفطر *Trichoderma harzianum* بتداخل عدد من العوامل الفيزيائية و الحيوية و من الضروري التوسع في دراسة هذه العوامل و آثارها المحتملة على فعالية المنتج النهائي و كمية الإنتاج و نوصي بدراسة تأثير أوساط نمو مختلفة مع الإضافات اللازمة لها على كمية و نوعية الإنتاج.

**الشكر:** أتوجه بالشكر للمهندس سامر اسماعيل و المهندسة رشا حيدر من مركز مكافحة الحيوية بحماة للمساعدة التي قدموها في الأعمال المخبرية.

#### المراجع:

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

- Abdel-lateif, K. S. (2017). *Trichoderma* as biological control weapon against soil borne plant pathogens. Afr. J. Biotechnology. 16, 2299–2306. doi: 10.5897/ ajb2017.16270
- Ali, M. I., Yasser, M. M., Mousa, A. S., & Khalek, M. A. (2012). Optimization of factors affecting proliferation and flourishment of *Trichoderma harzianum* in Egyptian soil.
- Al-zujaji, R.N. (2000). Study Of Fungal Community to the Soil Alhagi Graecorum and Phonix Dactylifera in Kerbala and Babylon Province M.Sc. Thesis Coll.Sci. Univ. Babylon.
- Antal, Z., Manczinger, L., Szaka'cs, G., Tengerdy, R.P. and Ferenczy, L. (2000) Colony growth, in vitro antagonism and secretion of extracellular enzymes in cold-tolerant strains of *Trichoderma* species. Mycological Research 104, 545–549.
- Bedine, M. A. B., Taïeb, N., Agriopoulou, S., Miché, L., Moussango, D., Sameza, M. L., ... & Fekam Boyom, F. (2022). 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, 55(15), 1766-1794
- Bissett, j. (1991) a revision of the genus *Trichoderma*.. Section Pachybasium. Canadian journal of botany 69.11: 2373-2417.
- Casas-Flores, S., Rios-Momberg, M., Bibbins, M., Ponce-Noyola, P. & Herrera-Estrella, A. (2004). BLR-1 and BLR-2, key regulatory elements of photoconidiation and mycelial growth in *Trichoderma atroviride*. Microbiology 150, 3561–3569.
- Castellanos, F.; Schmoll, M.; Martínez, P.; Tisch, D.; Kubicek, C.P.; Herrera-Estrella, A.; Esquivel-Naranjo, E.U. (2010) Crucial factors of the light perception machinery and their impact on growth and cellulase gene transcription in *Trichoderma reesei*. Fungal Genet. Biol.47, 468–476. [CrossRef] [PubMed]
- Cavalcante RS, Lima HLS, Pinto GAS, Gava CAT, Rodrigues S, (2008). Effect of Moisture on *Trichoderma* Conidia Production on Corn and Wheat Bran by Solid State Fermentation. Food Bioprocess Technol. 1: 100–104.
- Choi, Y.W., Hyde, K.D. and Ho, W.H. Single spore isolation of fungi. Fungal Diversity, (1999), 3, 29-38.
- Daryaei, A., Jones, E. E., Ghazalibiglar, H., Glare, T. R., & Falloon, R. E. (2016). Effects of temperature, light and incubation period on production, germination and bioactivity of *Trichoderma atroviride*. Journal of Applied Microbiology, 120(4), 999-1009

- Eastburn, D.M. and Butler, E.E. (1991) Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum*. *Mycologia* 83, 257–263.
- Ezziyyani, M.; Requena M. E.; Egea-Gilabert C. and Candela M. E. (2007) *Biological Control of Phytophthora Root Rot of Pepper Using Trichoderma harzianum and Streptomyces rochei in Combination*. *Journal of Phytopathology*, 155(6):342-349.
- Horwitz, B. A., Gressel, J. & Malkin, S. (1985). Photoperception mutants in *Trichoderma*: mutants that sporulate in response to stress but not light. *Curr Genet* 9, 605–613.
- Jahan, N., Sultana, S., Adhikary, S. K., Rahman, S., & Yasmin, S. (2013). Evaluation of the growth performance of *Trichoderma harzianum* (Rifai.) on different culture media. *J. Agri. Vet. Sci*, 3, 44-50.
- Jayaswal RK, Singh R, Lee YS, (2003). Influence of Physiological and Environmental Factors on Growth and Sporulation of an Antagonistic Strain of *Trichoderma viride* RSR 7. *Mycobiol.* 31(1): 36-41.
- Kantar, S., Varečka, L. U., Híreš, M., Kryštofová, S., & Šimkovič, M. (2018). Light-induced conidiation of *Trichoderma* spp. strains is accompanied by development-dependent changes in the Ca<sup>2+</sup> binding to cell walls. *Canadian journal of microbiology*, 64(11), 856-864.
- Kashyap, P. L., Solanki, M. K., Kushwaha, P., Kumar, S., and Srivastava, A. K. (2020). Biocontrol potential of salt-tolerant *Trichoderma* and *Hypocrea* isolates for the management of tomato root rot under saline environment. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 20, 160–176. doi: 10.1007/s42729-019-00114-y
- Klein, D. & Eveleigh, E. (1998). Ecology of *Trichoderma*. In *Trichoderma and Gliocladium*, pp. 57-69. Edited by C. P. Kubicek & G. E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor & Francis.
- Klein, D. & Eveleigh, E. (1998). Ecology of *Trichoderma*. In *Trichoderma and Gliocladium*, pp. 57-69. Edited by C. P. Kubicek & G. E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor & Francis.
- Kredics, L., Manczinger, L., Antal, Z., Péntzes, Z., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2004). In vitro water activity and pH dependence of mycelial growth and extracellular enzyme activities of *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), 491-498.
- Kunming (2004). Mycelium growth of the *Trichoderma harzianum* strain Th-B under different conditions. *Journal of Yunnan Agricultural University*. 19: 677-680.
- Li, Y., Meng, X., Guo, D., Gao, J., Huang, Q., Zhang, J., ... & Yu, Z. (2022). A Simple and low-cost strategy to improve conidial yield and stress resistance of *Trichoderma guizhouense* through optimizing illumination conditions. *Journal of Fungi*, 8(1), 50.
- Magan, N. (1988) Effects of water potential and temperature on spore germination and germ-tube growth in vitro and on straw leaf sheaths. *Transactions of the British Mycological Society* 90, 97–107.
- Mamo, Z., & Alemu, T. (2012). Evaluation and optimization of agro-industrial wastes for conidial production of *Trichoderma* isolates under solid state fermentation. *J. Appl. Biosci*, 54, 3870-3879.
- Niranjana SR, Lalitha S, Hariprasad P (2009). Mass multiplication and formulations of biocontrol agents for use against *Fusarium* wilt of pigeon pea through seed treatment. *Intern. J. Pest Manag.* 55(4): 317–324.
- Prabhavathi, N; Amaresh, Y; Naik, M; Mallesh, S; Kuchanur, P (2014). Study of different temperature levels on radial growth and dry mycelial weight of *Trichoderma* spp. isolated from red gram based conservation agriculture ecosystem. *international journal of plant protection*. V 7, issue 2. October, 2014. P 424-428

- Pradesh, S. I. F. U. (2016). Effect of temperature, pH and various media on growth and sporulation of *Trichoderma* spp. isolates from Uttar Pradesh. *Journal of Plant Development Sciences* Vol, 8(12), 615-618.
- Rabbani, G.M. (2004) Fungal Bonsai. *Mycologia*, 55(1), 1-5.
- Rao MS, Reddy PP, Nagesh M (1998) Evaluation of plant based formulations on *Trichoderma harzianum* for the management of *Meloidogyn incognita* on eggplant. *Nematologia Mediterranea* 26, 59-62
- Rayhane, H., Josiane, M., Gregoria, M., Yiannis, K., Nathalie, D., Ahmed, M., & Sevastianos, R. (2019). 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*, 252, 109496.
- Rifai, Mien A. (1969) A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Prpers*, 116: 1-56.
- Samuels, Gary J. (1996) *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological research*, 100.8: 923-935.
- Shahid, Mohd. Singh Anuradha, Srivastava Mukesh, Mishra, R.P. and Biswas, S.K. (2011) Effect of temperature, pH and media for growth and sporulation of *Trichoderma longibrachiatum* and self-life study in carrier based formulations. *Ann. Pl. Protec., Sci.*, 19: 147-149.
- Singh, O.P. and Kumar, Sudhir (2009). *Trichoderma* spp. Growth as influenced by temperatures *Ann. Pl. Protec. Sci.* 17:225-274
- SINGH, p.c., Nautiyal, C.S. (2012) *novel method to prepare concentrated conidialbiomass formulation of Trichoderma harzianum for seed application*. *J. Appl.Microbiol*113, 1442–1450.
- Srivastava, M., Singh, V., Shahid, M., Singh, A., & Kumar, V. (2014). Determination of biochemical and physiological aspects of a biocontrol agent *Trichoderma harzianum* Th azad. *International Journal of Advanced Research*, 2(3), 841-849.
- Steyaert, J. M., Weld, R. J., Mendoza-Mendoza, A. & Stewart, A. (2010). Reproduction without sex: conidiation in the filamentous fungus *Trichoderma*. *Microbiology* 156, 2887–2900.
- Tapwal, A., & Kumar, A. (2011). Chemical pesticides and their environmental impact: A review. In *Sustainable agriculture reviews* (Vol. 8, pp. 115-137). Springer, Dordrecht.
- Verma, R., & Singh, S. (2021). Advances in understanding the mode of action of *Trichoderma* strains for practical applications in agriculture. *African Journal of Microbiology Research*, 15(2), 114-123.
- Zehra, A., (2017) *et al.* Effect of different environmental conditions on growth and sporulation of some *Trichoderma* species. *Journal of Environmental Biology*, 38.2: 197.

## Testing the effect of several liquid formulations of the fungus *Trichoderma harzianum* on the shelf life of biological control preparation

Shady Soliman \*<sup>1</sup>, Moussa AlSamara<sup>1</sup>, Mohamed Ahmed<sup>2</sup> and Nawal Ali<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Protection, Higher Institute for Environmental Research, Latakia University, Latakia, Syria.

<sup>2</sup> Plant Protection Department, Faculty of Agricultural Engineering, Latakia University, Latakia, Syria.

<sup>3</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Latakia University, Latakia, Syria.

(\*Corresponding author: Shady Soliman. E-Mail [shady-sm@outlook.com](mailto:shady-sm@outlook.com))



Received: 16/ 03/ 2025

Accepted: 23/ 11/ 2025

### Abstract

*Trichoderma harzianum* is one of the most important biological control agents. It has a high parasitic capacity against economically important soil-borne fungal pathogens. It is also characterized by its high adaptability and ability to reproduce in diverse environmental conditions. The aim of this research was to study the effects of temperature, moisture, pH, and photoperiod on conidia production and biomass of *Trichoderma harzianum*. The results of the morphological and microscopic characterization of the isolate studied showed that its morphological description matched that of *Trichoderma harzianum*. The studied isolate gave the highest number of conidia  $15.02 \pm 0.18 * 10^9$  spores/g at 30°C, and the average linear growth rate reached its highest levels  $22.53 \pm 0.27$  mm/day at the same temperature, while the studied isolate gave the highest dry weight of biomass  $32 \pm 1.15$  mg/g at 25°C. When testing the optimum pH, a significant increase was observed in the growth rate, average spore number, and percentage of inhibition with increasing pH up to 5.5, where it reached its peak of  $24.4 \pm 0.06$  mm/day,  $21.7 \pm 0.88 * 10^9$  spores/g,  $57.1 \pm 0.92\%$ , respectively. These indicators decreased again with increasing pH. The 16:8 photoperiod treatment significantly outperformed the other treatments with an average spore number of  $10.33 \pm 0.17 * 10^9$  spores/g. The average spore number at 25% moisture content was  $2 \pm 0.0 * 10^9$  spores/g compared to  $94.67 \pm 2.2 * 10^9$  spores/g at 55% moisture content, i.e., about 47 times.

**Keywords:** *Trichoderma harzianum*, conidial spores, growth rate, moisture content.