الفلورا الفطرية السائدة في محيط جذور نبات البندورة/الطماطم المحمية في الساحل السوري وتآثرها مع الممرض *Pyrenochaeta lycopersici*

قصي الرحية[1]، سمير قدسية[2]، محمد أبو شعر[2] ووطفة الإبراهيم[1]

(1) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث اللاذقية، سورية

(2) كلية الهندسة الزراعية، جامعة حلب، حلب، سورية draboushaar@hotmail.com

الملخص

الرحية، قصي، سمير قدسية، محمد أبو شعر ووطفة الإبراهيم. 2015. الفلورا الفطرية السائدة في محيط جذور نبات البندورة/الطماطم المحمية في الساحل السوري وتآثرها مع الممرض *Pyrenochaeta lycopersici*. مجلة وقاية النبات العربية، 33(3): 292–301.

يعد مرض تفلن الجذور الذي يسببه الفطر *Pyrenochaeta lycopersici* من أهم الأمراض التي تصيب البندورة/الطماطم المحمية في الساحل السوري. نفذت الدراسة في ثلاثة مواقع (رأس العين، الزهيريات، محطة الصنوبر)، خلال الموسمين 2008/2007 و 2009/2008، بهدف عزل وتعريف الفطور السائدة في تربة المحيط الجذري للبندورة/الطماطم، وتقدير كثافة مجتمعاتها وتقويم قدرتها التضادية إزاء الفطر الممرض مخبرياً. أظهرت النتائج تباين كثافة الفطور الكلية، وتوزعت 247 عزلة منها إلى 13 جنساً، وكان الفطران *Aspergillus* و *Penicillium* الأكثر سيادة. وارتبطت كثافة الفطور المضادة معنوياً ($r = 0.88$) مع النسبة المئوية للمادة العضوية. اختلفت العزلات بقدرتها على تثبيط نمو الفطر الممرض بنسب تراوحت ما بين 25.1 و88.8%، وأظهرت 139 عزلة منها كفاءة عالية في التثبيط. تفوقت عزلات الفطور *Trichoderma* و *Mucor* و*Rhizopus* وبعض عزلات الجنس *Aspergillus* بسرعة نموها على الفطر الممرض وسيطرت على المكان (منافسة على الغذاء)، وغطت مستعمرته (تطفل فطري)، في حين ثبّطت أغلب عزلات الفطر *Aspergillus* وبعض عزلات الفطر *Penicillium* نمو الفطر الممرض عن بعد بإنتاج مواد مضادة. وبذلك أمكن للمادة العضوية تشجيع نمو الفطور المضادة في تربة جذور البندورة/الطماطم وزادت من قدرتها على كبح المرض ومن الممكن أن تكون هذه التربة مصدراً لعزلات محلية مضادة تسهم بدور مهمفي الإدارة المتكاملة للمرض.

كلمات مفتاحية: بندورة/طماطم، تفلن الجذور، فلورا فطرية مضادة، مكافحة أحيائية.

المقدمة

تتأثر زراعة البندورة/الطماطم في الدفيئات البلاستيكية بمرض تفلّن الجذور المتسبب عن الفطر *Pyrenochaeta lycopersici* Schneider and Gerlach، الذي يعد نم أهم الأمراض وأخطرها وأكثرها انتشاراً على البندورة/الطماطم في الساحل السوري (1، 2). يصيب الممرض جذور النبات محدثاً تقرحات بنية على الجذور الكبيرة والصغيرة، وتعفناً للشعيرات الجذرية (33)، مؤدياً إلى تعطل امتصاص الماء والعناصر الغذائية في النباتات المصابة وظهور أعراض العوز الغذائي. يحدث المرض خسائر في الإنتاج تتراوح ما بين 60% في الساحل السوري (3)، و75% في بعض البيوت المحمية في أوروبا (33).

تُعد المكافحة الأحيائية باستخدام كائنات حية متخصصة إحدى الوسائل الفضلى والأكثر أماناً والأقل تلويثاً للبيئة، لكبح كثافة مجتمع الكائن الممرض أو التأثير فيه ليصبح أقل وفرة أو أقل ضرراً (12). ويمكن استغلال القدرة التنافسية الضعيفة التي يتميز بها الفطر الممرض (34) في كبح مرض تفلن الجذور بتشجيع نمو الأحياء الدقيقة الطبيعية المفيدة في التربة عن طريق إضافة الأسمدة العضوية إليها (45). تحتوي تربة الجذور تنوعاً كبيراً وهاماً من المواد العضوية التي تشكل عامل جذب لعدد كبير من الأحياء الدقيقة، وخصوصاً الفطور التي يتراوح عددها في التربة السطحية ما بين 5×10^4 و10^6 وحدة مولدة/غرام (40). يتأثر التنوع الحيوي لمجتمعات الفطور في التربة بمحتواها من المادة العضوية (5)، حيث يعد التسميد العضوي من الممارسات الزراعية الهامة التي قد تؤثر في هذا التنوع وتؤمن عملية مكافحة حيوية فاعلة ومستدامة لأمراض النبات المنقولة بالتربة (10). ومن جهة أخرى تتأثر التربة بمفرزات الجذور المكونة من تراكيز مرتفعة من السكريات والأحماض الأمينية ومواد كربونية أخرى تفتقر لها التربة البعيدة عن محيط الجذور (14، 18). وتتباين تلك المفرزات في تركيبها وكميتها تبعاً للنوع النباتي (19)، وتؤثر في كثافة وتنوع الكائنات الدقيقة في تربة المحيط الجذري (6، 16، 29، 30، 35، 43)، وتشكل مصدراً هاماً للطاقة الضرورية لتطور مجتمعاتها (42)، من بينها الفطور الممرضة للنبات التي تتسبب بظهور الأمراض على العائل القابل للإصابة (43).

تعد الفطور المضادة *Trichoderma* spp. و*Gliocladium* spp. من أهم تلك الكائنات التي تستوطن المحيط الجذري للعديد من النباتات (25). وقد درست آليات تأثرها في التربة وخصوصاً التضاد الحيوي

والمنافسة والتطفل وإحداث المقاومة (43). واعتبرت كفاءة هذه الكائنات على التكيف والاستيطان في المحيط الجذري بوجود الميكروفلورا الطبيعية المنافسة هي العامل المحدد لنجاحها في مكافحة الممرضات، ولا يمكن لعامل المكافحة الأحيائي أن ينافس على المكان والغذاء ما لم يكن قادراً على النمو في المحيط الجذري (25). وتتميز أنواع *Trichoderma* spp. بسرعة نموها ومرافقتها لجذور النباتات المعاملة أثناء نموها سواء أضيفت إلى التربة بشكل مباشر أو طبقت كمعاملات بذور (20، 24، 46).

أظهرت بعض العزلات من الفطر *Trichoderma* تثبيطاً قوياً لنمو الفطر *P. lycopersici* تحت ظروف المختبر (32، 39، 44)، وتباينت كثيراً في تثبيط نمو هذا الفطر بنسب تراوحت ما بين 20 و100%، وكان من بينها عزلات من النوع *T. hamatum*، الذي تميز بقدرة جيدة على الانتشار في التربة والحفاظ على كثافة عالية خلال فترة الاختبار (39).

هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتعريف فطور التربة السائدة في تربة جذور البندورة/الطماطم المزروعة تحت ظروف الدفيئات البلاستيكية غير المدفأة في الساحل السوري وتقويم كفاءتها التضادية إزاء الفطر *P. lycopersici* مخبرياً.

مواد البحث وطرائقه

الكائن الممرض

استخدمت العزلة رقم 1 من الفطر *P. lycopercisi* المعزولة من جذور بندورة/طماطم تحمل أعراضاً نموذجية لمرض تفلن الجذور، والتي تميزت بقدرة إمراضية عالية لبادرات البندورة/الطماطم الفتية (3).

العينات الترابية

جمعت كميات كافية من ترب المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم المزروعة في الدفيئات البلاستيكية من ثلاثة مواقع (رأس العين والزهيريات ومحطة الصنوبر) في محافظة اللاذقية، سورية، مصابة طبيعياً بمرض تفلن الجذور، وذلك في نهاية الموسمين الزراعيين 2007/08 و09/ 2008. جففت العينات الترابية هوائياً ونخلت باستخدام منخل (1 مم)، وحفظت في عبوات بلاستيكية مستقلة ومعزولة عند حرارة 4 °س لحين الاستخدام. نفذت الدراسة في مختبرات الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث اللاذقية.

عزل الفلورا الفطرية السائدة في تربة المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم

اتبعت تقنية زراعة التخفيف في أطباق بتري على مستنبتات غذائية مناسبة لتقدير العدد الكلي المستزرع من الفطور (38). إذ حُضرت سلسلة التخفيفات (10^{-1}–10^{-6}) لكل معاملة انطلاقاً من المعلق الأساس ووضعه لمدة 30 دقيقة على هزاز كهربائي (180 دورة/د). حضر المعلق الأساس بوضع 10غ من العينة المختبرة (تربة الجذور) في زجاجة معيارية سعة 250 مل وإضافة الماء المقطر والمعقم ليصل حجم المعلق إلى 100 مل. استخدم مستنبت مستخلص المالت آغار Malt extract agar (MEA) لعزل الفطور الكلية بعد إضافة 100 مغ/ل من المضاد الحيوي Rifampicin بعد التعقيم. كما استخدم المستنبت الغذائي المخصص لعزل فطور الترايكوديرما *Trichoderma* Selective Medium (TSM) لتقدير العدد الكلي المستزرع من فطور *Trichoderma* spp. (4). زرعت في كل مرة من كل تخفيف كمية 10 ميكروليتر باتباع طريقة زراعة النقط (22)، ونشرها طولياً على سطح المستنبت الغذائي، وكررت الزراعة ثلاث مرات في كل طبق، وخصص لكل تخفيف ثلاثة أطباق. حُضنت الأطباق الملقحة في الظلام عند 25°س لمدة 7 أيام، وأحصي عدد الوحدات المشكلة للمستعمرة (Cfu)/غرام (وزن جاف) من الوسط المدروس، وتم التعبير عنه بالوحدة اللوغاريتمية.

تمت تنقية الفطور خلال فترة التحضين بأخذ خزعة من كل مستعمرة وزرعها على المستنبت الغذائي PDA للحصول على عزلات نقية. عرفت الفطور عند مستوى الجنس باستخدام المفاتيح التصنيفية المعدة لهذا الغرض (41)، وحسبت نسبة تردد الفطور (%) في العينات المختلفة باستخدام العلاقة التالية (31):

$$\text{تردد عزلات الجنس A\%} = \frac{\text{عدد مستعمرات الجنس الفطري A في العينة المدروسة}}{\text{العدد الكلي للمستعمرات الفطرية المعزولة من العينة المدروسة}} \times 100$$

اختبار كفاءة التضاد لعزلات الفطور الطبيعية إزاء الفطر *P. lycopersici*

اختبرت كفاءة التضاد لعزلات الفلورا الفطرية المعزولة من تربة المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم المزروعة تحت ظروف الدفيئة البلاستيكية، إزاء الفطر *P. lycopersici* بشكل فردي وباستخدام تقنية الزراعة المزدوجة. تم وضع قرص آجار بقطر (3 مم) يحمل نموات حديثة من الفطر الممرض وآخر من الفطور المختبرة يقابله في أطباق بتري على المستنبت الغذائي PDA بمسافة 2.5 سم فاصلة بينهما، ثم حضنت الأطباق عند حرارة المختبر. خصص ثلاثة أطباق لكل عزلة واحتوت أطباق الشاهد على الفطر *P. lycopersici* فقط. وعند وصول النمو الشعاعي للفطر الممرض إلى موقع زراعة الفطر المختبر في أطباق الشاهد، قيست منطقة التثبيط الخالية من النمو بين حواف مستعمرة الفطر الممرض وعزلة الفطر المختبر، ونصف قطر النمو الشعاعي لمستعمرة الفطر الممرض باتجاه عزلة الفطر المختبر. حسبت النسبة المئوية لتثبيط نمو مستعمرة الفطر الممرض (*I*%) باستخدام العلاقة التالية (13):

$I\% = R1-R2/R1 \times 100$

حيث أن: *I%* = النسبة المئوية لتثبيط نمو مستعمرة الفطر الممرض؛ R1= نصف قطر النمو لمستعمرة الفطر الممرض *P. lycopersici* (مم) في معاملة الشاهد؛ R2= نصف قطر النمو لمستعمرة الفطر الممرض *P. lycopersici* (مم) في معاملة اختبار الكائن المضاد.

واتبع التقويم الوصفي للكفاءة التضادية باستخدام سلم التقييس التالي (37): ++++= نشاط تضادي عالي جداً (I%: ≥75)؛ +++= نشاط تضادي عالـي (I%: 61–75)؛ ++= نشاط تضادي متوسط (I%: 51–60)؛ + = نشاط تضادي منخفض (I%: ≥50)؛ −= لا يوجد نشاط تضادي.

واعتبر في هذه الدراسة كل كائن يحقق نشاطاً تضادياً قيمته 60% أو أكثر، من الكائنات المضادة الواعدة في المكافحة الأحيائية (31).

تحليل البيانات

اتبعت العشوائية الكاملة في تصميم التجارب وحللت النتائج إحصائياً باستخدام طريقة تحليل التباين ANOVA لجميع العناصر المدروسة وقورنت الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمال 5%، ودرس الإرتباط بين محتوى التربة من المادة العضوية كنسبة مئوية في المواقع المختلفة والعدد الكلي للفطور وعدد الفطور المضادة الواعدة المعزولة من تربة الجذور.

النتائج والمناقشة

الخصائص الكيميائية للتربة

تشابهت درجة حموضة ترب الدفيئات في مواقع الدراسة (حامضية مائلة للقلوية)، غير أنها ظهرت متباينة في محتواها من العناصر الغذائية الرئيسة (NPK) وفي نسبة المادة العضوية. وجاءت نسبة المادة العضوية في موقع محطة الصنوبر النسبة الأعلى (9.31%) مقارنة مع موقعي رأس العين والزهيريات والتي كانت 3.33 و2.00%، على التوالي (جدول 1).

الفلورا الفطرية المعزولة من تربة المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم

أظهرت النتائج تبايناً معنوياً بين ترب مواقع الدراسة وذلك من حيث عدد الفطور الكلية. وتفوق موقع محطة الصنوبر معنوياً إذ بلغ عدد المستعمرات الفطرية المعزولة 5.76 وحدة لوغاريتمية/غ تربة جافة مقارنة مع 5.58 و5.07 وحدة لوغاريتمية/غ تربة جافة لكل من موقعي الزهيريات ورأس العين، على التوالي. كما تفوق موقع محطة الصنوبر معنوياً بعدد فطور التضاد الحيوي إذ بلغ 4.99 وحدة لوغاريتمية/غ تربة جافة مقارنة مع 4.75 و4.70 وحدة لوغاريتمية/غ تربة جافة لكل من الموقعين الأخرين، الزهيريات ورأس العين، على التوالي. وكانت مستويات فطور *Trichoderma* spp. منخفضة جداً وغير معنوية في ترب محطة الصنوبر والزهيريات (1.73 و1.69 وحدة لوغاريتمية/غ تربة جافة)، على التوالي، ولم يسجل ظهورها في موقع رأس العين (جدول 1). ومن المحتمل أن يؤثر هذا التباين في الخصائص الحيوية بين ترب المواقع بقدرة تلك الترب على كبح المرض. وبدراسة علاقة الارتباط تبين وجود ارتباط معنوي قوي بين نسبة المادة العضوية (%) وعدد فطور التضاد الحيوي (r=0.88)، وعلاقة ارتباط متوسطة مع العدد الكلي للفطور (r=0.56)، وضعيفاً مع عدد فطور *Trichoderma* sp. (r=0.36). ويشير هذا الارتباط إلى الدور الإيجابي للمادة العضوية في تعزيز تطور مجتمعات الفطور المضادة في التربة، وبالتالي زيادة كفاءة التربة في كبح المرض، إذ أدت إضافة الأسمدة العضوية إلى التربة إلى زيادة التنوع الحيوي للكائنات الحية الدقيقة ومعدل نشاطها في كبح الأمراض (5). كما أشارت النتائج إلى وجود عوامل أخرى يمكن أن تؤثر في أعداد الفطور المدروسة، لاسيما التباين في الخصائص الكيميائية. وقد يكون لممارسات الزراعة المكثفة للمحصول الواحد، المتبعة في الدفيئات البلاستيكية، واعتماد الأسلوب الكيميائي في كل من التسميد والمكافحة، دوراً كبيراً في هذا التباين وانخفاض توافر فطور *Trichoderma* spp. فيها. وأدى كل ذلك إلى تغير مستوى كبح المرض إذ كان مرض تفلن الجذور أقل شدة في أنظمة الزراعة العضوية مقارنة بممارسات الزراعة التقليدية للبندورة/الطماطم (45).

تردد أجناس الفلورا الفطرية في تربة المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم

من خلال عمليات العزل تم الحصول على 247 مستعمرة من الفطور السائدة في ترب المحيط الجذري لنباتات البندورة في مواقع الدراسة الثلاثة (جدول 2). وأظهرت النتائج تردد ظهور 13 جنساً فطرياً، إثنان منها *Mucor* و*Rhizopus* ينتميان لطائفة الفطور الزيجية Zygomycetes. كما ظهرت 10 أجناس: *Alternaria*، *Aspergillus*، *Botrytis*، *Cladosporium*، *Colletotrichum*، *Fusarium*، *Gliocladium*، *Penicillium*، *Phoma* و*Trichoderma* من الفطور الناقصة Deuteromycetes، وجنس واحد *Pythium* من الفطور البيضية Oomycetes (جدول 3). واحتل الصدارة الجنسان *Penicillium* و*Aspergillus* إذ استحوذا على التردد الأعظمي في عمليات العزل من جميع الترب، فبلغ عددها الكلي 95 و73 عزلة، على التوالي. وجاء بعدهما فطور *Trichoderma* و*Cladosporium* (35 و15 عزلة، على التوالي)، أما الفطور الأخرى فكانت أقل تردداً (جدول 3).

جدول 1. الخصائص الحيوية والكيميائية لتربة المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم في مواقع الدراسة المختلفة.

Table 1. Biological and chemical characteristics of tomato rhizosphere at different locations studied.

الموقع	Location	القيمة اللوغاريتمية لعدد الوحدات المشكلة للمستعمرات /غ تربة (وزن جاف) Log (cfu/g soil)			المادة العضوية Organic matter (%)	درجة الحموضة (pH)	آزوت N (%)	فوسفور P (%)	بوتاس (%) K
		فطور كلية Total fungi	فطور تضاد حيوي Antagonistic fungi	ترايكوديرما *Trichoderma* sp.					
رأس العين	Ras Alaen	5.07 c	4.70 b	0.00 b	3.33	7.88	0.0047	0.0086	0.0365
الزهيريات	Al-Zheryat	5.58 b	4.75 b	1.69 a	2.00	7.55	0.0025	0.0031	0.0535
محطة الصنوبر	Snaober station	5.76 a	4.99 a	1.73 a	9.31	7.76	0.0040	0.0197	0.0690
أقل فرق معنوي (5%)	LSD at 5%	0.03	0.11	0.10					

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة في العامود نفسه لايوجد بينها اختلافات معنوية عند مستوى احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

يشير جدول 3 إلى اختلاف ترب المواقع المدروسة بنسب عزل الأجناس الفطرية حيث كان الفطر *Aspergillus* الأكثر تردداً في تربة محطة الصنوبر (52.6%)، بينما سادت فطور *Penicillium* في ترب موقعي الزهيريات ورأس العين (53.9 و48.7%، على التوالي)، وسجل ظهور فطور *Trichoderma* في تربة محطة الصنوبر فقط بنسبة تردد منخفضة (2.60%). وعند تقصي وجود فطور *Trichoderma* في ترب المواقع المدروسة باستخدام الوسط الإنتخابي لفطور *Trichoderma* (TSM) في العزل، أظهرت النتائج تردد هذه الفطور في موقعين فقط، الزهيريات ومحطة الصنوبر، بنسبة منخفضة جداً (0.0130 و0.0092%، على التوالي)، غير أنها لم تظهر في موقع رأس العين (جدول 3).

كفاءة التضاد لعزلات الفلورا الفطرية المعزولة إزاء الفطر *P. lycopersici* مخبرياً

تباينت الفطور المعزولة من تربة المحيط الجذري للبندورة/الطماطم في المواقع الثلاثة في قدرتها على تثبيط النمو الشعاعي للفطر الممرض *P. lycopersici* مخبرياً على مستنبت PDA، حيث تراوحت نسبة التثبيط ما بين 25.1 و88.8%. واعتبرت عزلات الفطور التي تحقق نسبة تثبيط للممرض يتجاوز60%، هي عزلات مضادة واعدة للاستخدام في المكافحة الأحيائية. وبذلك برهنت 139 عزلة من بين 247 مدروسة أنها مثبطة لهذا الممرض.

يظهر جدول 4 كفاءة التضاد للفطور المعزولة من تربة المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم في المواقع المدروسة إزاء الممرض *P. lycopersici*. وتوزعت الفطور تبعاً لكفاءتها التضادية إلى 25 مجموعة إحصائية، وتميزت المجاميع السبع الأولى بنشاط تضادي عالي جداً، وكانت المجاميع 1، 2 و3 الأكثر تثبيطاً للفطر الممرض حيث ثبطت 10، 3 و5 عزلات، على التوالي. ومن تلك الفطور الواعدة عزلات من الجنس *Trichoderma* إذ بلغت نسبة تثبيطها للنمو الشعاعي للفطر الممرض 88.80 و85.87 و85.07%، على التوالي. وتلتها المجموعة 4 التي تضمنت 4 عزلات من الجنس *Rhizopus* و7 عزلات من الجنس *Mucor* ثبطت نمو الفطر الممرض بنسبة بلغت 81.50 و81.33% على التوالي، ثم المجموعة 5 التي تضمنت 17 عزلة من *Trichoderma* ثبطت الفطر الممرض بنسبة 80.97%. أما المجموعتين 6 و7 فتضمنتا عزلات مختلفة (4 و11 عزلة، على التوالي) من الجنس *Aspergillus* تباينت بنسب تثبيطها للفطر الممرض إذ بلغت 78.35 و77.22%، على التوالي.

أما المجموعات التالية 8، 9، 10، 11، 12، 13، 14 و15 فتميزت بنشاط تضادي عالي، حيث تضمنت المجاميع 8، 9 و10 وعزلات مختلفة منها (31، 7 و1 عزلة على التوالي) من الجنس *Aspergillus* التي أظهرت تبايناً في نسب تثبيطها للفطر الممرض التي بلغت 72.52، 71.45 و69.61%، على التوالي. وتلتها المجموعة 11 التي تضمنت 9 عزلات من فطور الجنس *Penicillium* التي ثبطت نمو الفطر الممرض بنسبة 64.48%، والمجموعة 12 التي تضمنت 4 عزلات من *Aspergillus* وثبطت نمو الفطر الممرض بنسبة 63.83%. أما المجاميع 13، 14 و15 التي تضمنت عزلات مختلفة (5، 7 و21، على التوالي) من فطور *Penicillium*، فثبطت نمو الفطر الممرض بنسب بلغت 62.87، 62.52 و60.54%، على التوالي.

جدول 2. أجناس الفلورا الفطرية وعددها المعزولة من تربة المحيط الجذري لنباتات البندورة/الطماطم المزروعة في الدفيئات البلاستيكية في مواقع الدراسة (رأس العين، الزهيريات، محطة الصنوبر).

Table 2. Genera and number of fungal isolates from tomato rhizosphere samples collected from greenhouses at the locations studied (Ras Alain, Zheiriat and Sanawber Station).

الصف Class	الأجناس Genera	عدد العزلات Number of isolates
الفطور الزيجية	*Mucor*	7
	Rhizopus	4
الفطور الناقصة	*Alternaria*	3
	Aspergillus	73
	Botrytis	2
	Cladosporium	15
	Colletotrichum	3
	Fusarium	5
	Gliocladium	3
	Penicillium	95
	Phoma	1
	Trichoderma	53
الفطور البيضية	*Pythium*	1
المجموع الكلي		247

وتميزت المجاميع 16، 17، 18، 19 و20 بنشاط تضادي متوسط، إذ تضمنت المجموعة 16 ثلاث عزلات من الجنس *Gliocladium*، ثبطت نمو الفطر الممرض بنسبة 59.09%. وتضمنت بقيت المجاميع 2 و6 و2 و1 عزلة، على التوالي، كلها من فطر *Aspergillus* التي ثبطت نمو الفطر الممرض بنسبة 57.52 و55.83 و54.40 و51.27%، على التوالي.

أما المجاميع 21، 22، 23، 24 و25 فتميزت بنشاط تضادي منخفض إزاء الفطر الممرض، حيث تضمنت المجموعة 21 عزلة واحدة من *Aspergillus* و29 عزلة من *Penicillium*، التي ثبطت نمو الفطر الممرض بنسبة 48.93 و48.81%، على التوالي. وتضمنت المجموعة 22 عزلة من فطر *Penicillium*، ثبطت الممرض بنسبة 48.20%، وضمت المجموعتان 23 و24 عزلات مختلفة من فطر *Aspergillus* ثبطت نمو الممرض بنسبة 40.37 و39.63%، على التوالي. وكانت المجموعة الأخيرة 25 هي الأقل فاعلية، وضمت 15 عزلة من فطر *Cladosporium* التي ثبطت الممرض بنسبة 25.10%.

تفوقت الأنشطة التضادية لفطور المجاميع الخمسة الأولى معنوياً على بقية المجاميع المدروسة، إذ تميزت بمعدل نموها السريع وهذا مكنها من السيطرة على مصادر الغذاء في المستنبت الغذائي ومنافسة نمو الفطر الممرض عليها، كما نمت لتك الفطور فوق مستعمرة الكائن الممرض وغطتها بالكامل.

جدول 3. تردد أجناس الفطور المعزولة من ترب المحيط الجذري للبندورة/الطماطم المزروعة تحت ظروف الدفيئات البلاستيكية في المواقع الثلاث المدروسة (رأس العين، الزهيريات، محطة الصنوبر).

Tabel 3. The fungal genera frequency isolated from the rhizosphere of tomato grown under protected conditions at the three locations studied (Ras Alain, Zheiriat and Sanawber Station).

التردد% Frequency% (TSM)*	التردد% Frequency% (MEA)*	الأجناس Genera
	Ras Alain	**رأس العين**
-	48.7	*Penicillium*
-	30.8	*Aspergillus*
-	10.3	*Cladosporium*
-	6.0	*Mucor*
-	2.6	*Colletotrichum*
-	1.7	*Botrytis*
0.0000	-	*Trichoderma*
	Zheiriat	**الزهيريات**
-	53.9	*Penicillium*
-	18.0	*Aspergillus*
-	12.8	*Fusarium*
-	7.7	*Cladosporium*
-	7.7	*Alternaria*
0.0130	-	*Trichoderma*
	Sanawber Station	**محطة الصنوبر**
-	52.6	*Aspergillus*
-	29.8	*Penicillium*
-	7.0	*Rhizopus*
-	5.3	*Gliocladium*
-	1.8	*Pythium*
	1.8	*Phoma*
0.0092	1.8	*Trichoderma*

*MEA: Malt Extract Agar. TSM: Trichoderma Selective Medium

وتميزت أغلب فطور الجنس *Aspergillus* بإنتاج مضادات حيوية تمثلت بمنع نمو الفطر الممرض وتشكيل منطقة تثبيط خالية من النموات الفطرية، ماعدا عزلات بعض المجاميع (7، 19، 20، 23 و24)، حيث حققت المجموعة 12 أكبر منطقة تثبيط بلغت 5.74 مم تلتها المجاميع 10، 6 و9 وحققت مناطق تثبيط بلغت 4.00، 3.40 و2.17 مم، على التوالي. كما أحدثت المجموعتان 8 و17 مناطق تثبيط بلغت 2.00 و1.93 مم، على التوالي، وحققت المجموعة 21 أقل منطقة تثبيط (1.37 مم).

وكانت فطور الجنس *Penicillium* هي الأقل فاعلية حيث أنتجت عزلات المجموعة 21 فقط مضادات حيوية ثبطت الفطر الممرض تمثلت بمناطق تثبيط بلغت 1.93 مم.

جدول 4. عزلات الفطور المضادة الواعدة وكفاءتها التضادية إزاء الفطر *P. lycopersici*.

Table 4. Promising antagonistic fungal isolates and its inhibitory activity against *P. lycopersici*.

كفاءة التضاد Antagonistic activity	منطقة منع النمو (مم) Clear zone of inhibition (mm)	تثبيط النمو الشعاعي (%) Inhibition of radial growth (%)	عدد العزلات Number of isolates	Genera	الأجناس
++++	0.00 g	88.80 a	10	*Trichoderma*	
++++	0.00 g	85.87 b	3	*Trichoderma*	
++++	0.00 g	85.07 c	5	*Trichoderma*	
++++	0.00 g	81.50 d	4	*Rhizopus*	
++++	0.00 g	81.33 d	7	*Mucor*	
++++	0.00 g	80.97 e	17	*Trichoderma*	
++++	3.40 c	78.35 f	4	*Aspergillus*	
++++	0.00 g	77.22 g	11	*Aspergillus*	
+++	2.00 e	72.52 h	31	*Aspergillus*	
+++	2.17 d	71.45 i	7	*Aspergillus*	
+++	4.00 b	69.61 j	1	*Aspergillus*	
+++	0.00 g	64.48 k	9	*Penicilium*	
+++	5.74 a	63.82 l	4	*Aspergillus*	
+++	0.00 g	62.87 m	5	*Penicillium*	
+++	0.00 g	62.52 n	7	*Penicillium*	
+++	0.00 g	60.54 o	21	*Penicillium*	
++	0.00 g	59.09 p	3	*Gliocladium*	
++	1.93 e	57.52 q	2	*Aspergillus*	
++	1.33 f	55.83 r	6	*Aspergillus*	
++	0.00 g	54.40 s	2	*Aspergillus*	
++	0.00 g	51.27 t	1	*Aspergillus*	
+	1.37 f	48.93 u	1	*Aspergillus*	
+	1.93 e	48.81 u	29	*Penicillium*	
+	0.00 g	48.20 v	24	*Penicillium*	
+	0.00 g	40.37 w	2	*Aspergillus*	
+	0.00 g	39.63 x	1	*Aspergillus*	
+	0.00 g	25.10 y	15	*Cladosporium*	
-	0.00 g	00.00 z	-	*P. lycopersici*	
	0.09	00.33		LSD at 5%	

كفاءة التضاد: ++++ = نشاط تضادي عالي جداً (*I* %: ≤ 75)، +++ = نشاط تضادي عالي (*I* %: 61 – 75)، ++ = نشاط تضادي متوسط (*I* %: 51 – 60)، + = نشاط تضادي منخفض (*I* %: ≥ 50)، - = لا يوجد نشاط تضادي.

Antagonistic efficiency: ++++=very high (over 75%), +++=high (61-75%), ++=medium (51-60%), += low (less than 50%), - = no antagonistic effect.

آليات الفاعلية عند الفطور المضادة إزاء الفطر *P. lycopersici*

يمكن أن تحدث تفاعلات التضاد بين الفطور إما بالتماس المباشر أو عن بُعد، حيث يتطلب الأول تماساً فيزيائياً مباشراً للكائنين، في حين يتطلب الأخير إنتاج مضادات حيوية أو أنزيمات حالة في وسط النمو من قبل أحد الفطور محدثة تأثيرات سلبية في نمو الفطر الآخر (37). ومن المحتمل أن تكون قدرة عزلات الفطور *Trichoderma*، *Mucor*، *Rhizopus* و *Aspergillus* على النمو السريع هي إحدى آليات الفاعلية لتلك الكائنات في تثبيط نمو الفطر الممرض *P. lycopersici*، حيث تميزت هذه الكائنات بمعدلات نمو سريعة جداً تفوقت كثيراً على معدل نمو الكائن الممرض. وغطى معظمها بنموه مستعمرة الكائن الممرض بعد 14 يوماً من التفاعل. ونتيجة لتفاعلها قد يكون تثبيط نمو الفطر الممرض بفعل المنافسة على المواد الغذائية المتوافرة في وسط النمو (15). وعند فحص ميسيليوم الكائن الممرض في منطقة التماس باستخدام المجهر ومقارنته مع نمو الشاهد لوحظت نموات شاذة للميسيليوم في منطقة التفاعل (التفاف الميسيليوم وقصره وزيادة تفرعاته وتقطع وانحلال في بعض أجزائه). كما ظهر تصبغ أسود داكن للوسط في منطقة انتشار ميسيليوم الفطر الممرض الخاضعة لتأثير بعض عزلات الفطور المضادة. ويُعد التطفل الفطري (27)، والتضاد الحيوي (15) من الآليات المحتملة في المكافحة الأحيائية، حيث أظهرت دراسات سابقة باستخدام المجهر الإلكتروني التفاف ميسيليوم كل من الفطور *Trichoderma*، *Gliocladium* و *Mucor* حول ميسيليوم الفطر الممرض *Phytophthora*

capsici، تبعه لاحقاً اختراق لهيفا الكائن الممرض بوساطة أعضاء الإلتصاق والامتصاص Haustoria (31).

وفي دراسة أخرى للخصائص التضادية عند الفطر *T. harzianum*، لوحظ إلتفاف لهيفاته وغزوها لهيفات العديد من الفطور، كما وُجد لبعض عزلاته قدرة تضادية إزاء الفطور *Candida albicans*، *R. solani*، *Armillaria mellea* و*Lentinus edodes* (11). ووضحت عملية التطفل بالتفاف هيفا الفطر *T. harzianum* حول هيفا الفطر الممرض *R. solani* وتشويهها وظهور قطع متحللة وأخرى متضخمة (9). يُنتج الكائن المضاد أنزيمات حالة تقوم بتحطيم الجدر الخلوية لهيفا الكائن الممرض وتتسبب لاحقاً في انحلال خلاياه (8). وكثيراً ما ورد في المراجع أن تحلل الهيفا أو الأبواغ الفطرية يمثل إحدى أليات التضاد المستخدمة من قبل الفطور إزاء ممرضات من قاطنات التربة وبخاصة في الترب عالية المحتوى من المادة العضوية. تنتج فطور *Trichoderma* مجموعة معقدة من الأنزيمات الحالة كالكيتيناز والغلوكوناز التي قد تسهم بدور في فاعلية التطفل الفطري (21). ومن جهة أخرى تعد المركبات *2-phenyl-ethanol* و*tyrosol* و*6-n-pentyl-α -pyrone* و*sorbicillin* من المركبات المضادة للفطور المنتجة من قبل *T. harzianum* و*T. longibrachiatum* (37). وأظهرت هذه الدراسة توقف نمو هيفا الفطر *P. lycopercici* عند نقاط التماس مع هيفا عزلات من فطور الجنس *Aspergillus*. ومن المتوقع أن تكون هذه العزلات قد أنتجت بعض المواد (كالمضادات الحيوية) التي ثبطت نمو الكائن الممرض، تمثلت بظهور منطقة خالية من النمو بين الكائنين وظهور نموات شاذة في هيفا الكائن الممرض (التفاف الميسيليوم وازدياد ثخانته وتضخم بعض الخلايا وانحلال بعضها الآخر). وقد أظهرت الدراسات دور فطور الجنس *Aspergillus* في إنتاج مواد استقلابية عديدة مضادة للفطور كالنومينين *nominine* والأفلافينينات *aflavinines* والباسبالينين *paspalinine* والأسبيرنومين *aspernomine* (17)، وكان للفطر *Aspergillus erythrocephalus* نشاطاً مضاداً إزاء الفطر *Pythium irregular* (11). كما أنتج الفطر *Mucor racemosus* مادة ذات فاعلية مضادة للعديد من الأنواع البكتيرية، ووجد للرشاحة المزرعية للفطر *Penicillium cenescns* تأثيراً مثبطاً لأنواع بكتيرية وفطرية مختلفة، واعتبر الفطر *P. janthinellum* كائناً مضاداً للعديد من الأنواع البكتيرية وبعض الفطور *R. solani*، *Gaeumannomyces* و *Pythium ultimum* (11).

تعد المكافحة الأحيائية للمرض باستخدام فطور *Trichoderma* عملية طويلة الأمد، ورغم ذلك يلقى استخدام فطور التضاد الحيوي وخصوصاً فطور الجنس *Trichoderma* صدىً بيئياً، ويعتبر مكوناً طبيعياً للفلورا الفطرية في التربة ذات المحتوى العالي من المادة العضوية (7). وتميزت عزلات فطور *Trichoderma* بتأثير مثبط واضح ومستقر إزاء ممرضات من قاطنات التربة مقارنة مع عزلات الفطور *Mucor* sp.، *Penicillium* spp. و*Fusarium equiseti* (26). غير أنها اختلفت كثيراً فيما بينها في تثبيط نمو الفطر الممرض بنسب تراوحت ما بين 20–100%، وكان من بينها عزلات من النوع *T. hamatum*، الذي اعتبر أحد أهم الأنواع التي تستوطن الأسمدة العضوية، وتميز بقدرة جيدة على الإنتشار في التربة (39). وتنتج العزلات المضادة من الجنس *Trichoderma* نواتج استقلابية غير طيارة وأنزيمات خارجية محللة للجدر الخلوية الفطرية، يمكنها أن تثبط بقوة نمو الفطر *P. lycopersici* (32، 39، 44)، والتي يمكن أن تؤثر بشكل مختلف في الكائن الممرض ذاته أثناء نشاطها في المكافحة الأحيائية (32).

وبناءً على نتائج هذه الدراسة التي أظهرت أهمية الفطور المضادة المتواجدة طبيعياً في ترب المحيط الجذري للبندورة/الطماطم، لاسيما الجنس *Trichoderma* فإنه يُنصح باستغلال هذه المصادر الطبيعية وإعادة توطينها في ترب الدفيئات البلاستيكية المستخدمة في إنتاج البندورة/الطماطم عن طريق إدخالها إلى أوساط زراعة البذور بتراكيز مناسبة من وحدات تكاثرها. وقد أمكن إنتاج الفطر *T. harzianum* في أوساط وكبسولات عالية التبوغ لاستخدامها في برامج المكافحة الأحيائية للممرضات المنقولة بالتربة (28)، وطرحت في الأسواق العالمية كمبيدات أحيائية منها المبيد الفطري الحيوي Binab TF WP® الذي يتكون من النوعين *Trichoderma polysporum Bisset* و *T. harzianum Bisset* الذي استخدم على نطاق تجاري في البيوت المحمية لمكافحة الأمراض الفطرية قاطنات التربة التي تصيب البندورة والخيار والأزهار. كما يُنصح بإضافة الكومبوست إلى التربة كمصدر للمادة العضوية لتشجيع نمو الفطور المضادة التي تسهم بدور مهم في المكافحة الأحيائية وتخفيض مجتمعات الفطر الممرض *P. lycopersici*، عبر أربع آليات رئيسة متكاملة، المنافسة على المكان والغذاء، وإنتاج المضادات الحيوية، والتطفل على الكائنات الممرضة، وتنشيط مورثات مقاومة الأمراض عند النبات (المقاومة الجهازية المستحثة) (23).

Abstract

El-Rahyeh, K., S. Kodsiyeh, M. Abou Shaar and W. El-Ibrahim. 2015. Prevalent soil mycoflora at protected tomato rhizosphere and their *in vitro* antagonism against *Pyrenochaeta lycopersici* along the Syrian coast. Arab Journal of Plant Protection, 33(3): 292-301.

Corky root caused by *Pyrenochaeta lycopersici* is one of the most important diseases of tomatoes in greenhouses along the Syrian cost. The study was carried out in three locations (Ras Alain, Zheiriat and Sanawber Station) during 2007/08 and 2008/09, to isolate and identify the prevalent fungi from the tomato rhizosphere, estimate their abundance, and evaluate the *in vitro* antagonism against the pathogen. Results showed differences in the total abundance of fungi in these locations, with 247 dominant isolates belonging to 13 fungal genera; among which *Aspergillus* and *Penicillium* were the most dominant. Soil organic matter content significantly correlated with the abundance of antagonistic fungi (r = 0.88). Fungal isolates differed in their ability to inhibit the pathogen growth by 25.1- 88.8%. A total of 139 isolates showed high antagonistic potential (≥ 60% inhibition). *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus* and some of *Aspergillus* isolates overgrew the pathogen and dominated the space (competition for nutrient), and covered the pathogen colony (mycoparasitism). Most of *Aspergillus* isolates and some *Penicillium* isolates inhibited the pathogen growth by producing antifungal metabolites. Thus, soil organic matter can contribute to developing antagonistic mycoflora in the soil, increasing its ability to suppress the disease, and the tomato rhizosphere can be a source of native fungal antagonists, which can play a vital role in biocontrol of corky root.

Keywords: tomato, corky root, antagonistic mycoflora, biological control.

Corresponding author: M. Abou Shaar, Faculty of Agriculture, Aleppo University, Syria, email: draboushaar@hotmail.com

References

10. **Dissanayake, N. and J.W. Hoy.** 1999. Organic material soil amendment effects on root rot and sugarcane growth and characterization of the materials. Plant Disease, 83:1039-1046.
11. **Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson**. 1980. Compendium of soil fungi. Volume 1. Academic Press, London. 859 pp.
12. **Eilenberg, J., A. Hajek and C. Lomer.** 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. Bio Control, 46: 387-400.
13. **Fokkema, N.J.** 1976. Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. Pages 487-506. In: Microbiology of aerial plant surfaces. C.H. Dkkinson and T.F. Preece (eds.). Academic Press. London.
14. **Foster, R.C.** 1993. The plant root environment. Pages 673-684 (Chapter 41). In: Soils: an Australian point of view. CSIRO, Melbourne, Academic Press, London, UK.
15. **Fravel, D.R. and A.P. Keinath.** 1991. Bio control of soil borne plant pathogen with fungi. Pages 237-243. In: The Rhizosphere and Plant Growth. D.L. Keister and P.B. Cregan (eds.). Kluwer Academic Publisher, Netherlands.
16. **Germida, J.J., S.D. Siciliano, J. Renato de Frietas and A.M. Seib.** 1998. Diversity of root associated bacteria associated with field-grown canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). FEMS Microbiology Ecology, 26: 43-50.
17. **Gloer, J.B.** 1995. The chemistry of fungal antagonism and defense. Canadian Journal of Botany, 73: S1265-S1274.
18. **Grayston, S.J., D. Vaughan and D. Jones.** 1996. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: The importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. Applied Soil Ecology, 5: 29-56.

المراجع

1. **أبو شعر، محمد ووطفة الابراهيم.** 2000. الوضع الراهن لمرض تقلن جذور البندورة في الساحل السوري. مجلة بحوث جامعة حلب، العدد الخامس والثلاثون.
2. **الرحية، قصي.** 1999. مرض تقلن جذور البندورة. دراسة أعدت لنيل دبلوم الدراسات العليا في وقاية النبات، جامعة تشرين، 43 صفحة.
3. **الرحية، قصي.** 2005. مرض تقلّن جذور البندورة، المتسبّب عن الفطر *Pyrenochaeta lycopersici* SHNEIDER et GERLACH ومكافحته. دراسة أعدت لنيل درجة الماجستير في وقاية النبات، جامعة حلب، 148 صفحة.
4. **Askew, D.J. and M.D. Laing.** 1993. An adapted selective medium for the quantitative isolation of *Trichoderma* species. Plant Pathology, 42: 686-690.
5. **Bailey, K.L. and G. Lazarovits.** 2003. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. Soil & Tillage Research, 72: 169-180.
6. **Berg, G., N. Roskot, A. Steidle, L. Eberl, A. Zockand and K. Smalla**. 2002. Plant-dependent-genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different Verticillium host plants. Applied and Environmental Microbiology, 68: 3328-3338.
7. **Cuevas, V.C., A.M. Sinohin and E.A. Arro.** 2001. Efficacy of *Trichoderma* spp. As biological control agent of *Sclerotium rolfsii* Sacc. The Philippine Agricultural Scientist, 84: 35-42.
8. **Cuevas, V.C., J.M. Soriano, L.G. Bagunu, J.A. Soniega and A.L. Alfonso.** 2001. Control of damping off diseases of vegetables by *Trichoderma* species. The Philippine Agriculturist, 78: 255-276.
9. **Cumagum, C.J.R and L.L. Ilag.** 1997. Enhancing the efficacy of *Trichoderma harzianum* Rifai against sheath blight of rice by chitin amendment. Philippine Phytopatholgy, 33: 72-86.

fungal cell wall hydrolytic enzymes in different *Trichoderma harzianum* isolates correlates with their ability to control *Pyrenochaeta lycopersici*. Biological Research, 35: 401-410.

33. **Pohronezny, K.L. and R.B. Volin.** 1991. Corky root rot. Pages 12-13. In: Compendium of Tomato Diseases. J.B. Jones, J.P. Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter (eds.). St Paul, MN, USA: APS Press.
34. **Shishkoff, N. and R.N. Campbell.** 1990. Survival of *Pyrenochaeta lycopersici* and the influence of temperature and cultivar resistance on the development of corky root of tomato. Plant Disease, 74: 889-894.
35. **Smalla, K., G. Wieland, A. Buchner, A. Zock, J. Parzy, S. Kaiser, N. Roscot, H. Heuer and G. Berg. 2001.** Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturating gradient gel electrophoresis: Plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. Applied and Environmental Microbiology, 67: 4742-4751.
36. **Soytong, K.** 1988. Identification of species of Chaetomium in the Philippines and screening for their bio control properties against seed borne fungi of rice. Ph.D. Thesis. Dept. Plant Pathology, ULPB, College, Laguna, Philippines.
37. **Tarus, P.K., C.C. Lang, At-Thoruwa, A.W. Wanyonyi and S.C. Chhabra.** 2003. Bioactive metabolites from *Trichoderma harzianun* and *Trichoderma longibrachiatum*. Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia, 17: 185-190.
38. **Termorshuizen, A.J., E. Van Rijn, D.J. Van Der Gagg, C. Alabouvette, Y. Chen, J. Lagerlöf, A.A. Maladrakis, E.J. Paplomatas, B. Ramert, J. Ryckeboer, C. Steinberg and S. Zmora-Nahum.** 2006. Suppressiveness of 18 composts against 7 pathosystems: variability in pathogen response. Soil Biology & Biochemistry, 38: 2461–2477.
39. **Vanachter, A., E. Van Wambeke and C. Van Assche.** 1988. *In vitro* evaluations of the antagonistic properties of *Trichoderma* spp. against *Pyrenochaeta lycopersici* and *Phomopsis sclerotiodes*. Bulletin OEPP/EPPO, 18: 1-7.
40. **Wahid, O.A.A., A.F. Moustafa and M.E. Ibrahim.** 1997. Soil mycoflora in tomato fields. Mycoscience, 38: 237-241.
41. **Watanabe, T.** 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi, morphologies of cultured fungi and key to species, second edition. CRC PRESS. 486 pp.
42. **Welbaum, G., A.V. Sturz, Z. Dong and J. Nowak.** 2004. Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agro ecosystems. Critical Reviews in Plant Sciences, 23: 175-193.
43. **Whipps, J.M.** 2001. Microbial interactions and bio control in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany, 52: 487-511.
44. **Whipps, J.M.** 1987. Effect of media on growth and interaction between a range of soil borne glasshouse pathogens and antagonistic fungi. New Phytologist, 107: 127-142.
19. **Hale, M.G., L.D. Moore and G.J. Griffin**. 1978. Root exudates and exudation. Pages 163-203 (Chapter 5). In: Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Dommergues & Krupta (Eds.). Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
20. **Harman, G.E.** 2000. Myths and dogmas of bio control: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum T22*. Plant Disease, 84: 377-393.
21. **Harman, G.E., C.K. Hayes, M. Lorito, R.M. Broadway, A. Di Pietro, C. Peterbauer and A. Tronsmo.** 1993. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: Purification of chitobiosidase and endochitinase. Phytopathology, 83: 313-318.
22. **Hoben, H.J. and P. Somasegaran.** 1982. Comparison of the pour, spread, and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from presterilized peat. Applied and Environmental Microbiology, 44: 1246-1247.
23. **Hoitink, H.A.J and M.J. Boehm.** 1999. Bio control within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. Annual Review of Phytopathology, 37: 427-446.
24. **Howell, C.R., L.E. Hanson, R.D. Stipanovic and L.S. Puckhaber.** 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. Phytopathology, 90: 248-252.
25. **Howell, C.R**. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the Biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease, 87: 4-10.
26. **Hyakumachi, M.** 2000. Studies on biological control of soil borne plant pathogens. Journal of General Plant Pathology, 66: 272-274.
27. **Jeffries, P.** 1995. Biology and ecology of mycoparasitism. Canadian Journal of Botany, 73:S1284-S1290.
28. **Manohara, D., K. Mulya, D. Wahyuno and R. Noveriaza.** 2003. Viabilitas *Trichoderma harzianum* pada Berbagai Formula dan Efikasinya terhadap *Phytophthora capsici.* Risalah Simposium Nasional Penelitian PHT Perkebunan Rakyat. Bogor, 17-18 September 2002. Bagian Proyek PHT Tanaman Perkebunan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Bogor. hlm. 199-206.
29. **Marschner, P., C.H. Yang, R. Lieberei and D.E. Crowley.** 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. Soil biology and biochemistry, 33: 1437–1445.
30. **Miethling, R., G. Wieland, H. Backhaus and C.C. Tebbe.** 2000. Variation of microbial communities in response to crop species, soil origin, and inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L 33. Microbial Ecology, 41: 43-56.
31. **Noveriza, R. and T.H. Quimio.** 2004. Soil mycoflora of black pepper rhizosphere in the Philippines and their in vitro antagonism against *Phytophthora capsici* L. Indonesian Journal Agricultural Science, 5: 1-10.
32. **Pérez, L.M., X. Besoain, M. Reys, G. Pardo and J. Montelegre.** 2002. The expression of extra cellular

46. Zhang, J., C.R. Howell and J.L. Starr. 1996. Suppression of *Fusarium* colonization of cotton roots and *Fusarium* wilt by seed treatments with *Gliocladium virens* and *Bacillus subtilis*. Biocontrol Science and Technology, 6: 175- 187.

45. Workneh, F. and A. Van Bruggen. 1994. Suppression of corky root of tomatoes in soils from organic farms associated with soil microbial activity and nitrogen status of soil and tomato tissue. Phytopathology, 84: 688-694.

Received: January 15, 2015; Accepted: April 27, 2015

تاريخ الاستلام: 2015/1/15؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2015/4/27