Al-imad Journal of Humanities and Applied Sciences (AJHAS)
مجلة العماد للعلوم الإنسانية والتطبيقية
ISSN: 3106-0323
Volume 2 – Issue 1 – 2026
Pages 81-86

In vitro Evaluation of *Trichoderma viride* Efficiency in Inhibiting the Growth of *Alternaria alternata*, the Causal Agent of Tomato Leaf Spot

Ghazala Saad Ahmed Abofana [1] *, Hamida Salem Ghawel [2]
[1] Department Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bani Waleed University, Libya
[2] Plant Protection Department, Agricultural Research Center, Ministry of Agriculture, Tripoli, Libya
*Corresponding: Ghazalaabofana@bwu.edu.ly

تقييم كفاءة الفطر المضاد *Trichoderma viride* في تثبيط نمو الفطر *Alternaria alternata* المسبب لمرض تبقع أوراق الطماطم مختبرياً

غزالة سعد احمد ابوفانة [1] *، حميدة سالم الغويل [2]
[1] قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بني وليد، ليبيا
[2] قسم وقاية النبات، مركز البحوث الزراعية، وزارة الزراعة، طرابلس، ليبيا

Received: 27-11-2025; Accepted: 08-01-2026; Published: 25-01-2026

Abstract:
This research was conducted to evaluate the biocontrol efficiency of the antagonistic fungus *Trichoderma viride*, which was obtained from the Agricultural Research Center in Tripoli, Libya. The study aimed to assess its ability to inhibit and suppress the pathogenic fungus *Alternaria alternata*, the causal agent of leaf spot disease on tomato plants. The pathogen was originally isolated from infected tomato leaves collected from Wadi Souf Al-Jein farm in the Bani Walid region during the year 2025. The experimental procedures involved the isolation, purification, and identification of the pathogen based on its morphological characteristics, such as dark olive-to-black colonies and specialized conidiophores with transverse and longitudinal septa. The antagonistic activity was tested using the Dual Culture Plate Test on Potato Dextrose Agar (PDA) medium. The results of the study demonstrated a significant high antifungal potential of *T. viride* against *A. alternata*, achieving an inhibition rate of 87%. While the pathogen covered 100% of the plate in the control treatment, it only managed 13% growth in the presence of the bio-agent. Microscopic examination revealed the primary mechanism of antagonism as direct mycoparasitism. The hyphae of *T. viride* were observed coiling around the mycelium of *A. alternata*, leading to the degradation and destruction of the pathogen's mycelium. These findings are attributed to the ability of *Trichoderma* species to produce inhibitory substances and lytic enzymes such as chitinase and protease. The study concludes that *T. viride* is a highly effective and environmentally safe alternative to chemical pesticides for managing tomato leaf spot disease.

Keywords: Alternaria alternata, Trichoderma spp, Tomato Plant, Biocontrol, Mycoparasitism.

الملخص
أُجري هذا البحث لتقييم كفاءة المكافحة الحيوية للفطر المضاد *Trichoderma viride*، الذي تم الحصول عليه من مركز البحوث الزراعية بطرابلس، ليبيا. هدفت الدراسة إلى تقدير قدرته على تثبيط وكبح الفطر الممرض *Alternaria alternata*، المسبب لمرض تبقع الأوراق على نبات الطماطم. تم عزل المسبب

 Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

الممرض أساساً من أوراق طماطم مصابة جُمعت من مزرعة وادي سوف الجين بمنطقة بني وليد خلال عام 2025. تضمنت الإجراءات التجريبية عزل وتنقية وتشخيص الممرض بناءً على صفاته المورفولوجية، مثل المستعمرات ذات اللون الزيتوني الداكن المائل للسواد وحوامل الأبواغ الكونيدية المقسمة بجدر مستعرضة وطولية. تم اختبار النشاط التضادي باستخدام طريقة اختبار المزرعة المزدوجة على وسط (*PDA*). أظهرت نتائج الدراسة قدرة تضادية عالية للفطر *T. viride* ضد الفطر *A. alternata*، حيث بلغت نسبة التثبيط 87%. وبينما غطى الممرض 100% من الطبق في معاملة الشاهد، فإنه لم يحقق سوى 13% من النمو في وجود عامل المكافحة الحيوية. كشفت الدراسة المجهرية أن الآلية الأساسية للتضاد هي التطفل الفطري المباشر. لوحظ التفاف ميسيليوم الفطر *T. viride* حول ميسيليوم الفطر *A. alternata*، مما أدى إلى تلف وتحلل ميسيليوم الممرض. تعزى هذه النتائج إلى قدرة أنواع *Trichoderma* على إنتاج مواد مثبطة وإنزيمات محللة مثل إنزيمي الكايتينيز والبروتيز. تخلص الدراسة إلى أن الفطر *T. viride* يعد بديلاً فعالاً للغاية وآمناً بيئياً للمبيدات الكيميائية لمكافحة مرض تبقع أوراق الطماطم.

الكلمات المفتاحية: *Alternaria alternata*، *Trichoderma spp*، نبات الطماطم، المكافحة الحيوية، التطفل الفطري.

المقدمة

يعد نبات الطماطم من المحاصيل الاستهلاكية على نطاق واسع عالمياً، وتتميز ثمارها بقيمة غذائية عالية نظراً لمحتواها الغني من العناصر الغذائية الأساسية مثل الكربوهيدرات، ومجموعة البروتينات والدهون، بالإضافة إلى العديد من المعادن المهمة كالصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم، والفيتامينات مثل (A) و (C) (Melfi et al., 2018; Perveen et al., 2015). ويتعرض نبات الطماطم للعديد من مسببات الأمراض سواء في البيوت البلاستيكية أو الأنظمة الزراعية المكشوفة، بما في ذلك الحشرات والديدان والفطريات التي تسبب أمراضاً خطيرة مثل تعفن الجذور والذبول وتبقع الأوراق .ويعد مرض تبقع الأوراق الألترناري المتسبب عن الفطر *Alternaria alternata* من أهم هذه الأمراض، حيث يسبب أعراضاً متنوعة تشمل التبقع الورقي والعفن الأسود على الساق.(Matrood et al., 2021)

وقد أدى الاستخدام المكثف للمبيدات الزراعية في مكافحة الأمراض النباتية إلى ظهور سلالات مقاومة من الفطريات الممرضة، فضلاً عن الآثار السلبية على تركيبة التربة (دربالة وآخرون، 2014) .وخلال العقود الأخيرة، تم إدخال طرق المكافحة الحيوية كبديل آمن للمكافحة الكيميائية على نطاق تجاري لمكافحة مسببات الأمراض النباتية في الوسط الذي تنمو فيه النباتات .(Elkot, 2008) وقد أشارت دراسات عديدة إلى كفاءة العزلات المحلية لفطر *Trichoderma spp* التي عُزلت من مناطق مختلفة في ليبيا في تثبيط نمو العديد من الفطريات الممرضة القاطنة في التربة والتي تصيب محاصيل ذات أهمية اقتصادية مثل *F. oxysporum* و*R. solani* (Ghazala, 2025).

وفي سياق متصل، تباينت نتائج تضاد عزلة محلية من *Trichoderma spp* وعزلة تجارية من *T. harzianum* ضد عزلات فطر *S. sclerotiorum* المسبب لمرض العفن القطني على ثمار الخضروات (كالباذنجان والجزر والخس والخيار واللفت والقرع الأبيض) التي جُمعت من أسواق طرابلس بليبيا؛ حيث بلغت نسبة التثبيط 50% في اختبار المزرعة المزدوجة .كما تباين تأثير راشح مزرعة الـ *Trichoderma* على أعداد وأوزان الأجسام الحجرية للفطر الممرض ومعدل تفتتها، وأكدت النتائج قدرة بعض عزلات الـ *Trichoderma* على التضاد الحيوي والتطفل الفطري المباشر (العربي وآخرون، 2013).

وقد لوحظ مؤخراً في الدراسات الحديثة اتجاه متزايد نحو استخدام الكائنات الدقيقة لمكافحة أمراض النباتات، ومن أبرزها فطر *Trichoderma spp* لما له من قدرة عالية على الحد من نمو مسببات الأمراض . وأوضح (Asad et al., 2014) قدرة عزلات فطر المكافحة الحيوية *Trichoderma* على التطفل المباشر على العديد من الفطريات المصاحبة لها في الوسط البيئي وتثبيطها أو القضاء عليها .كما يتميز فطر الـ *Trichoderma* بخاصية تعزيز نمو النباتات من خلال تحسين وظائف التربة المحيطة بالمجموع الجذري، وزيادة نمو المجموع الخضري، ورفع كفاءة التمثيل الضوئي، وتسهيل امتصاص المغذيات المعدنية

 Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

ويمتلك فطر الـ *Trichoderma spp* آليات تثبيطية متنوعة تشمل التضاد الفطري (Ghazala, 2025). المباشر وغير المباشر (Verma et al., 2007). ونظراً لأهمية مرض التبقع الألترناري الذي يسببه الفطر *A. alternata* على نبات الطماطم، أجريت هذه الدراسة لإيجاد عوامل مكافحة حيوية آمنة بيئياً وصحياً للحد من هذا المسبب الممرض.

مواد وطرق البحث:

عزل وتشخيص المسبب الممرض *A. alternata*: أجريت هذه الدراسة في مركز البحوث بكلية الزراعة جامعة بني وليد لعام 2025، حيث جُمعت عينات من نباتات مصابة من مزرعة وادي سوف الجين بمنطقة بني وليد. غُسلت الأجزاء المصابة بالماء لإزالة الأتربة، ثم قُطعت إلى أجزاء صغيرة بحجم 1 سم وعُقمت بمحلول هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 2%، ثم غُسلت بالماء المقطر لإزالة بقايا محلول التعقيم، وجُففت على ورق ترشيح. نُقلت الأجزاء إلى أطباق بتري تحتوي على الوسط المغذي (PDA) بواقع 3 مكررات لكل عزلة، وحُضنت على درجة حرارة 28°م لمدة 7 أيام (مطرود، 2009).

تقييم قدرة المكافح الحيوي *T. viride* في الحد من نمو ميسيليوم الممرض *A. alternata*: أجريت الدراسة باستخدام طريقة المزارع المزدوجة (Dual Culture Plate Test) على بيئة (PDA). اشتملت المعاملات على عزلة *Trichoderma viride* التي تم استعارتها من قسم وقاية النبات بمركز البحوث الزراعية بطرابلس. وُضع قرص بحجم 5 ملم من العزلة النقية للفطر الممرض *A. alternata* على الوسط المغذي، وعلى بُعد 3 سم وُضع قرص من الفطر المضاد *T. viride* بواقع 3 مكررات لكل معاملة مع وجود معاملة الشاهد، وحُضنت الأطباق على درجة حرارة (25 - 28) °م لمدة 5 أيام. سُجلت نموات الفطر الممرض تزامناً مع وصول نمو معامل المكافحة الحيوية إلى حواف أطباق الشاهد (Asad et al., 2014). وحُسبت نسبة التثبيط وفق المعادلة:

$$\text{نسبة التثبيط \%} = [(R1 - R2) / R1] \times 100.$$

التحليل الإحصائي :

صُممت التجارب وفق التصميم العشوائي الكامل(CRD) ، وحُللت البيانات المتحصل عليها بواسطة تحليل التباين (ANOVA) باستخدام برنامج(Statistical Analysis System) ، كما استُخدم اختبار دانكن (Duncan)للمقارنة بين المتوسطات عند مستوى معنوية ($P \leq 0.05$) .

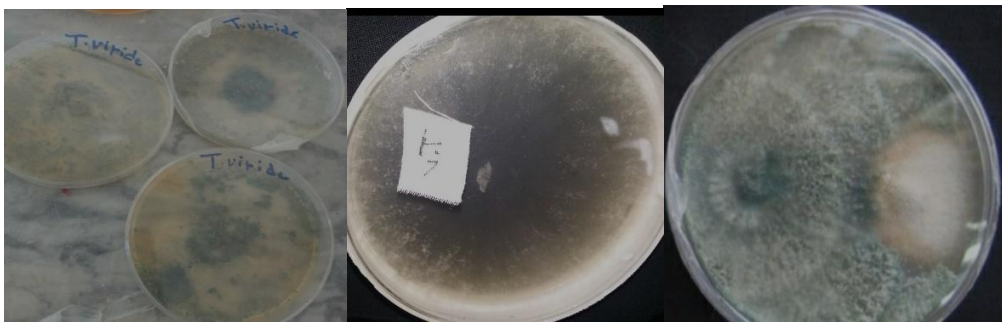
النتائج والمناقشة:

عزل وتنقية وتعريف المسبب الممرض *A. alternata* من أوراق نبات الطماطم المصابة: تم التعرف على عزلة الفطر الممرض، حيث تميزت المستعمرة بلون زيتوني داكن مائل إلى السواد وشكل غير منتظم. ومن خلال الفحص المجهري للعينات التي نُقلت إلى قسم الوقاية بمركز البحوث الزراعية بطرابلس، لُوحظت حوامل الأبواغ الكونيدية وهي مقسمة بجدر مستعرضة مع وجود حواجز طولية، وأكدت هذه الصفات المورفولوجية مطابقتها للمواصفات التصنيفية للفطر (العقبي، 2017)، كما هو موضح في الشكل (1).

الشكل (1): يوضح نمو مستعمرة الفطر *A. alternata* والتركيب المورفولوجي للممرض تحت المجهر.

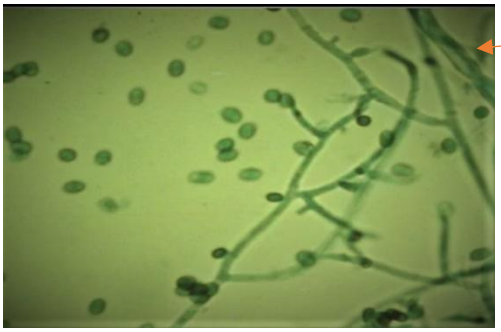
 Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

اختبار قدرة عامل المكافحة الحيوية *T. viride* في الحد من نمو ميسيليوم المسبب الممرض *A. alternata*: بعد الحصول على عزلة نقية من المسبب الممرض لمرض تبقع الأوراق الألترناري على نبات الطماطم، أظهرت نتائج التجربة قدرة عالية لعزلة الفطر المضاد *T. viride* على التطفل المباشر على الكائن الممرض *A. alternata* والحد من نموه الشعاعي في الأطباق، كما يتضح في الشكل (2).



الشكل (2): يوضح نمو مستعمرة الفطر المضاد *T. viride* وكبح نمو المسبب الممرض *A. alternata* في المزرعة المزدوجة.

بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في قدرة عزلة *T. viride* المختبرة على التضاد مع عزلة المسبب المرضي؛ حيث سجلت نسبة تثبيط لنمو الممرض بلغت 87%، في حين لم تتجاوز نسبة نمو الفطر الممرض 13% من مساحة الطبق في وجود الفطر المضاد. وبالمقارنة مع معاملة الشاهد، فقد غطى نمو الفطر الممرض كامل الطبق بنسبة نمو بلغت 100%، كما هو موضح في الشكل (3). وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Ghazala, 2025) الذي أوضح آلية التثبيط للفطريات المضادة *T. viride* و *T. longibrachiatum* على نمو الفطر الممرض *R. solani*.



الشكل (3): يوضح التفاف وتضاد ميسيليوم *T. viride* حول ميسيليوم *A. alternata* أثناء الفحص المجهري.

أظهرت الدراسة المجهرية وجود تضاد مباشر (الشكل 3) في المعاملات مقارنة بالشاهد، حيث كشف الفحص الدقيق عن تفاعل تضادي قوي يرتكز على قدرة عزلة *T. viride* الفائقة في إنتاج ترسانة من المواد المثبطة والمضادات الحيوية (Antibiotics) التي أدت إلى تقويض النشاط الحيوي والحد من النمو الشعاعي لعزلة الفطر الممرض. وتتفق هذه الملاحظات الجوهرية مع ما أوردته دراسة (عربي وآخرون، 2021)، والتي أكدت أن التضاد الفطري لعزلات *Trichoderma* لا يقتصر على التنافس فحسب، بل يمتد ليشمل "التطفل الفطري المباشر (Mycoparasitism)"؛ إذ تهاجم خيوط الفطر المضاد ميسيليوم الفطر

 Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

الممرض وتلتف حوله بشكل حلزوني، مما يؤدي إلى تحلله وتفتته. وقد شملت هذه الظاهرة أنواعاً متعددة مثل *T. viride* و*T. longibrachiatum* و*T. koningii*.
وفي سياق متصل، أشار (Subash, 2013) في نتائجه إلى الكفاءة العالية للفطر المضاد *T. harzianum* في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani*، مما يعزز فرضية القوة التضادية الواسعة لهذا الجنس. وأكدت دراسات رصينة أخرى، منها (Gajera et al., 2017) و(Nusibah et al., 2017)، أن أنواع فطر الـ *Trichoderma* تتبوأ مكانة متقدمة كأفضل الكائنات الحيوية في برامج المكافحة المتكاملة؛ وذلك لامتلاكها آليات هجومية ودفاعية متعددة المستويات. فهي تعمل من خلال التنافس الشرس على المغذيات والمكان (Competition)، وزيادة جاهزية العناصر الغذائية للنبات مما يعزز مناعته، والأهم من ذلك هو إفرازها المكثف للأنزيمات الهاضمة للجدر الخلوية (Cell wall degrading enzymes) مثل الكايتينيز (Chitinase) الذي يحلل مادة الكايتين الأساسية في جدار الفطريات الممرضة، والبروتيز (Protease) الذي يفكك البروتينات الهيكلية، مما يحول الممرض إلى مصدر غذائي للفطر المضاد ويؤدي في النهاية إلى القضاء التام على المستعمرات الفطرية الضارة.

الاستنتاجات: تؤكد الدراسة الكفاءة العالية لفطر الترايكوديرما (*T. viride*) في تثبيط نمو الفطر الممرض *A. alternata* مخبرياً باستخدام تقنية المزرعة المزدوجة. وتكمن قدرته في كبح والحد من انتشار ميسيليوم المسبب الممرض من خلال آليات التضاد الحيوي المباشر وإفراز الإنزيمات المحللة، مما يجعله خياراً واعداً في برامج المكافحة المتكاملة لأمراض الطماطم.

المراجع

المراجع العربية:

[1] دربالة، ع. س. (2014). *تحليل متبقيات المبيدات: أسسه وتطبيقاته*. الدار العربية للنشر والتوزيع.

[2] العربي، خ. ف.، نورية، ع. ا.، والصقر، ر. م. (2013). اختبار تأثيرات عزلتين من فطر *Trichoderma spp* على نمو وتطور عزلات محلية للكائن المسبب لمرض العفن القطني *Sclerotinia sclerotiorum*. *المؤتمر الوطني السادس للتقنيات الحيوية*، جامعة مصراتة، ليبيا، 158-173.

[3] العقبي، ز. ع. ل. ج. (2017). *تقييم كفاءة المستحضر الأحيائي للفطر T. viride والأسمدة العضوية في مكافحة الذبول الفيوزارمي وتبقع أوراق الطماطم* [رسالة ماجستير غير منشورة]. جامعة البصرة.

[4] مطرود، ع. ع. أ. (2009). *تأثير بعض المبيدات الحشرية في إصابة نبات الطماطم بمرض تبقع الأوراق المتسبب عن الفطر Alternaria alternata (Fr) Keissler* [رسالة ماجستير غير منشورة]. كلية الزراعة، جامعة البصرة.

المراجع الأجنبية:(English References)

[5] Asad, S. A., Ali, N., Hameed, A., Khan, S. A., Ahmad, R., Bilal, M., Shahzad, M., & Tabassum, A. (2014). Biocontrol efficacy of different isolates of *Trichoderma* against soil borne pathogen *Rhizoctonia solani*. *Polish Journal of Microbiology*, *63*(1), 95–103.

[6] El Kot, G. A. N. (2008). Biological control of black scurf and dry rot of potato, Egypt. *Egyptian Journal of Phytopathology*, *36*(1-2), 45–56.

[7] Gajera, H. P., Bambharolia, R. P., Patel, S. V., Khatrani, T. J., & Goalkiya, B. A. (2012). Antagonism of *Trichoderma* spp. against *Macrophomina phaseolina*: Evaluation of coiling and cell wall degrading enzymatic activities. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, *3*(7), 1–7.

[8] Ghazala, S. A. (2020). In vitro assessment of biological control agents in inhibition *G. boninense* growth. *Bani Walid University Journal of Science and Humanities*, *16*, 1–10.

[9] Ghazala, S. A., Fanten, A. K., & Abdlaqleq, M. G. (2025). Evaluation of the efficacy of *Trichoderma longibrachiatum* in the biocontrol of *Fusarium* wilt in tomato plants in the

 Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Bani Walid region, Libya. *Science Journal for Publishing in Health Research and Technology*, 322–333.
[10] Matrood, A. A. A., Rhouma, A., & Okon, G. O. (2021). Evaluation of the biological control agent's efficiency against the causal agent of early blight of *Solanum melongena*. *Arab Journal of Plant Protection*, *39*(3), 204–209. https://doi.org/10.22268/AJPP-039.3.204209
[11] Melfi, M. T., Nardiello, D., Cicco, N., Candido, V., & Centonze, D. (2018). Simultaneous determination of water- and fat-soluble vitamins, lycopene and beta-carotene in tomato samples and pharmaceutical formulations: Double injection single run by reverse-phase liquid chromatography with UV detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, *70*, 9–17.
[12] Nusibah, S. A., Ghazala, S. A., & Tan, G. H. (2017). Antagonistic efficacy of *Trichoderma harzianum* and *B. cereus* against Ganoderma disease of oil palm via Dip, Place and Drench (DPD) artificial inoculation technique. *Journal of Agriculture & Biology*, *19*(2), 299–306.
[13] Perveen, R., Suleria, H. A. R., Anjum, F. M., Butt, M. S., Pasha, I., & Ahmad, S. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum*) carotenoids and lycopenes chemistry; metabolism, absorption, nutrition, and allied health claims—A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *55*(7), 919–929.
[14] Subash, N., Meenakshisundaram, M., & Sasikumar, C. (2013). In vitro evaluation of different strains of *Trichoderma harzianum* as biocontrol agents of Chilli. *International Journal of Biology, Pharmacy and Applied Sciences*, *2*(2), 495–500.
[15] Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Valero, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, *37*(1), 1–20.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions, and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of **AJHAS** and/or the editor(s). **AJHAS** and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred to in the content.

 Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).