# USE OF BIOCHEMICAL METHODS TO STUDY THE TAXONOMIC RELATIONSHIPS OF *Trichoderma* spp. ISOLATED FROM COTTON ROOTS

**By**

**Marian Monir Habeb Yousef**
**B.Sc. Botany Department**
**Faculty of Science**
**Ain Shams University, 2001**

**Thesis**

**Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of**
**Master of Science in Botany**

**Department of Botany**
**Faculty of Science**
**Ain Shams University**

**2007**


كلية العلوم

# USE OF BIOCHEMICAL METHODS TO STUDY THE TAXONOMIC RELATIONSHIPS OF *Trichoderma* spp. ISOLATED FROM COTTON ROOTS

**Thesis Submitted for Master Degree of Science in Botany**

**By**

**Marian Monir Habeb Yousef**
**B.Sc. Botany Department, Faculty of Science**
**Ain Shams University, 2001**

## Supervisors

**Dr. Ahmed A. El-Awamri**
**Assist. Prof. of Botany**
**Botany Department, Faculty of Science**
**Ain Shams University**

**Prof. Dr. Aly A. Aly**
**Professor of Plant Pathology**
**Cotton Diseases Res. Department,**
**Plant Pathology Res. Instit.**
**Agric. Res. Center**

**Prof. Dr. Ezzat M. Hussein**
**Professor of Plant Pathology**
**Cotton Diseases Res. Department,**
**Plant Pathology Res. Instit.**
**Agric. Res. Center**

**2007**


كلية العلوم

# Master Thesis

**Name : Marian Monir Habeb Yousef**

**Title : USE OF BIOCHEMICAL METHODS TO STUDY THE TAXONOMIC RELATIONSHIPS OF *Trichoderma* spp. ISOLATED FROM COTTON ROOTS**

**Degree: Master in Botany**

**Supervisors:**

**Dr. Ahmed A. El-Awamri** .....
**Assist. Prof. of Botany**
**Botany Department, Faculty of Science**
**Ain Shams University**

**Prof. Dr. Aly A. Aly** .....
**Professor of Plant Pathology**
**Cotton Diseases Res. Department,**
**Plant Pathology Res. Instit.**
**Agric. Res. Center**

**Prof. Dr. Ezzat M. Hussein** .....
**Professor of Plant Pathology**
**Cotton Diseases Res. Department,**
**Plant Pathology Res. Instit.**
**Agric. Res. Center**

**Prof. Dr. Azza M. El-Shafey**

.....

**Head of Botany Department**
**Faculty of Science**
**Ain Shams University**


كلية العلوم

# Approval Sheet

**Title : USE OF BIOCHEMICAL METHODS TO STUDY THE TAXONOMIC RELATIONSHIPS OF *Trichoderma* spp. ISOLATED FROM COTTON ROOTS**

**Degree: Master in Botany**

**Name of Student: Marian Monir Habeb Yousef**

**This Thesis degree has been approved by:**

**Prof. Dr. A. M. Amein** .....
**Professor of Plant Pathology**
**Plant Pathol. Dept., Fac. of Agric.,**
**Assiut University**

**Prof. Dr. Mamdouh A. Tag El-Din** .....
**Professor of Biochemistry**
**Biochemistry Dept., Fac. of Agric.,**
**Ain Shams University**

**Prof. Dr. Aly A. Aly** .....
**Professor of Plant Pathology**
**Cotton Diseases Res. Department,**
**Plant Pathology Res. Inst.,**
**Agric. Res. Center**

**Dr. Ahmed A. El-Awamri** .....
**Assist. Prof. of Botany,**
**Botany Department, Fac. of Sci.,**
**Ain Shams University**

**Prof. Dr. Azza M. El-Shafey**

.....

**Head of Botany Department**
**Faculty of Science**
**Ain Shams University**

# إستعمال الطرق البيوكيميائية لدراسة العلاقات التقسيمية لأنواع التريكودرما المعزولة من جذور القطن


رسالة مقدمة من

**ماريان منير حبيب يوسف**

بكالوريوس علوم – قسم النبات

جامعة عين شمس – 2001


**للحصول على درجة**

**الماجستير فى العلوم – النبات**


قسم النبات

كلية العلوم

جامعة عين شمس


**2007**

# إستعمال الطرق البيوكيميائية لدراسة العلاقات التقسيمية لأنواع التريكودرما المعزولة من جذور القطن


رسالة مقدمة من

**ماريان منير حبيب يوسف**

بكالوريوس علوم – قسم النبات

جامعة عين شمس – 2001


## للحصول على درجة الماجستير فى العلوم – النبات

**المشرفون**


**د. أحمد عبد الرحمن العوامرى**

أستاذ مساعد الطحالب

قسم النبات – كلية العلوم

جامعة عين شمس

**أ.د. علـى عبـد الهـادى علـى**

أستاذ أمراض النبات

قسم بحوث أمراض القطن – معهد بحوث أمراض النباتات

مركز البحوث الزراعية

**أ.د. عـزت محمـد حسيـن**

أستاذ أمراض النبات

قسم بحوث أمراض القطن – معهد بحوث أمراض النباتات

مركز البحوث الزراعية


كلية العلوم

# شكـــــــــــر

***

أتوجه بالشكر والتقدير إلى الأستاذة الذين أشرفوا على هذه الرسالة وهم:

| | |
|---|---|
| د.أحمد عبد الرحمن العوامرى | أستاذ مساعد النبات<br>قسم النبات – كلية العلوم<br>جامعة عين شمس |
| أ.د. على عبد الهادى على | أستاذ أمراض النبات<br>قسم بحوث أمراض القطن<br>معهد بحوث أمراض النباتات<br>مركز البحوث الزراعية |
| أ.د. عزت محمد حسين | أستاذ أمراض النبات<br>قسم بحوث أمراض القطن<br>معهد بحوث أمراض النباتات<br>مركز البحوث الزراعية |

كما أتقدم بخالص الشكر لأسرة قسم بحوث أمراض القطن بمعهد بحوث أمراض النباتات – مركز البحوث الزراعية وخاصة الدكتور معوض رجب للمساعدة القيمة فى إنجاز هذا العمل.

ماريان منير حبيب يوسف


كلية العلوم

| | |
|---|---|
| أسـم الطالبـة | : ماريان منير حبيب يوسف |
| عنـوان الرسـالة | : إسـتعمال الطـرق البيوكيميائيـة لدراسـة العلاقـات التقسـيمية لأنواع التريكودرما المعزولة من جذور القطن |
| أســم الدرجــة | : ماجستير فى العلوم |
| القسم التابعة له | : النبـــات |
| أسـم الكليـة | : العلـــوم |
| أسـم الجامعـة | : جامعة عين شمس |
| سنـة المنـح | : 2007 |


كلية العلوم

# رسالة ماجستير

**أسـم الطالبـة : ماريان منير حبيب يوسف**

**عنـوان الرسـالة : إسـتعمال الطـرق البيوكيميائيـة لدراسـة العلاقـات التقسـيمية لأنواع التريكودرما المعزولة من جذور القطن**

**أســم الدرجــة : ماجستير فى العلوم**

## لجنة الإشراف

| | |
|---|---|
| **د.أحمد عبد الرحمن العوامرى** | **أستاذ مساعد النبات ـ قسم النبات – كلية العلوم جامعة عين شمس** |
| **أ.د. علـى عبـد الهـادى علـى** | **أستاذ أمراض النبات ـ قسم بحوث أمراض القطن معهد بحوث أمراض النباتات مركز البحوث الزراعية** |
| **أ.د. عــزت محمـد حسيــن** | **أستاذ أمراض النبات ـ قسم بحوث أمراض القطن معهد بحوث أمراض النباتات مركز البحوث الزراعية** |

## لجنة التحكيم

| | |
|---|---|
| **أ.د. عبد المنعم محمود أمين** | **أستاذ أمراض النبات – قسم أمراض النبات كلية الزراعة- جامعة أسيوط** |
| **أ.د. ممدوح أبومسلم تاج الدين** | **أستاذ الكيمياء الحيوية – قسم الكيمياء الحيوية كلية الزراعة – جامعة عين شمس** |
| **أ.د. علـى عبـد الهـادى علـى** | **أستاذ أمراض النبات ـ قسم بحوث أمراض القطن معهد بحوث أمراض النباتات مركز البحوث الزراعية (مشرف)** |
| **د.أحمد عبد الرحمن العوامرى** | **أستاذ مساعد النبات ـ قسم النبات – كلية العلوم جامعة عين شمس (مشرف)** |

**تاريخ البحث : / / . ختم الإجازة :**

**أجيزت الرسالة بتاريخ : / / . الدراسات**

**موافقة مجلس الكلية موافقة مجلس الجامعة**

**/ / / /**

# ACKNOWLEDGEMENT

The present work has been accomplished under the supervision of **Dr. A.A. El-Awamri**, Assist. Prof. of Botany, Botany Department, Faculty of Science, Ain Shams University, **Dr. Aly A. Aly**, Professor of Plant Pathology, Cotton Diseases Res. Department, Plant Pathology Res. Instit., Agric. Res. Center, and **Dr. E.M. Hussein**, Professor of Plant Pathology, Cotton Diseases Res. Department, Plant Pathology Res. Instit., Agric. Res. Center. To all of them, I wish to express my thankfulness and appreciation for their help, advice, and criticism.

Thanks are also due to my mother and my husband as well as all the staff members of Cotton Diseases Res. Department in particular **Dr. M.R. Omar** for their help and cooperation throughout this work.

Finally, I would like to thank **Dr. I.H. El-Abbasi**, Senior Researcher at Seed Pathology Res. Department, Plant Pathology Res. Instit., Agric. Res. Center, who expertly prepared the manuscript.

# ABSTRACT

*Trichoderma* spp. were isolated from roots of cotton plants showing the typical symptoms of seedling damping-off or root rot of adult plants. Identification of 15 randomly selected isolates of *Trichoderma* to species level revealed that 8 isolates (53.3%) were belonging to *T. longibrachiatum*, while 7 isolates (46.7%) were belonging to *T. harzianum*. The beneficial and deleterious effects of *Trichoderma* isolates on growth of cotton seedlings were evaluated by planting cotton seeds in autoclaved soil infested with *Trichoderma* isolates. The deleterious isolates were pathogenic during the postemergence stage, while the beneficial isolates significantly promoted seedling height. Biocontrol capacity of *Trichoderma* spp. against soilborne fungi involved in cotton seedling damping-off was evaluated by planting cotton seeds in autoclaved soil infested with a mixture of the soilborne fungi commonly involved in the disease. Before planting, seeds were treated with a fine powder consisted of a mixture of sorghum and *Trichoderma* spp. The tested isolates of *Trichoderma* spp. could be classified into 3 distinct groups based on their biocontrol capacity. The first group included the isolates, which were effective biocontrol agents. Isolates of this group significantly increased the percentage of the surviving seedlings. Some isolates of this group also significantly increased dry weight of the surviving seedlings. The second group included the isolates, which significantly reduced seedling height. Some isolates of this group also reduced the percentage of the surviving seedlings. The third group included the isolates, which were neither biocontrol agents nor pathogens. Double diffusion, immunoelectrophoresis, polyacrylamid gel electrophoresis (PAGE) of proteins, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of proteins, and PAGE of isozymes (esterase and peroxidase) were employed as biochemical methods to study the taxonomic relationships of *Trichoderma* spp. Of these methods, PAGE, and SDS-PAGE of proteins and esterase isozymes were reliable for grouping isolates of *T. longibrachiatum* and *T. harzianum*.



**Keywords: *Trichoderma*, cotton, pathogenicity, biocontrol capacity, serology, electrophoresis of proteins and isozymes.**

# CONTENTS

# LIST OF TABLES

**Page**