

KAPITEL IV. ERGEBNIS UND DISKUSSION

4.1 Makroskopische und mikroskopische Morphologie des Pilzes *Trichoderma harzianum*

Makroskopische morphologische Beobachtungen von *T. harzianum* umfassten Koloniefarbe und Kolonieform. Basierend auf den Ergebnissen der Beobachtungen in der Studie gab es eine Entwicklung der unterschiedlichen Koloniefarbe von dem ersten Tag bis vierten Tag. Am 1. Tag begann die Kolonieentwicklung mit einer hyalinen Farbe, grünlich weiß, dann dunkelgrün, was am 4. Beobachtungstag auf einen Bereich mit vielen Konidien hindeutete. Hyaline Farbe ist eine Form der Myzelentwicklung des Pilzes *T. harzianum* auf PDA-Medien. Konidien sind rund und verteilen sich gleichmäßig auf der Oberfläche, die durch eine dunkelgrüne Farbe gekennzeichnet ist. Dies steht im Einklang mit der Meinung von Gusnawaty et al. (2014), die feststellten, dass die Entwicklung des *T. Harzianum*-Isolats zunächst weiß, dann grünlich-weiß war, bevor es schließlich dunkelgrün wurde.

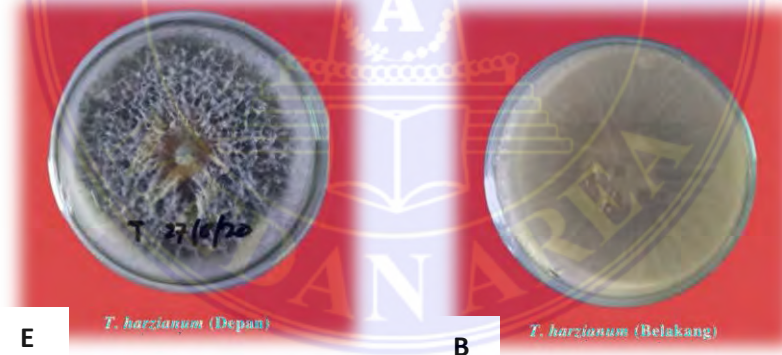


Bild 7. Makroskopische A) Vorderseite und B) Rückseite auf PDA 4 HSI-Medien

Mikroskopische Merkmale des Pilzes *T. harzianum* umfassen Konidiophoren, Phialiden und Konidienformen. Basierend auf Beobachtungen in der Studie waren die Konidiophoren von *T. harzianum*-Isolaten aufrecht und verzweigt, kurze und dicke Phialiden und Konidien waren oval. Dies steht im Einklang mit der Meinung von

Gusnawaty et al. (2014), die dies feststellten gaben an, dass die Isolate von *T. harzianum* aufrechte, verzweigte und vertikale Conidiophoren aufwiesen. Die Phialiden sind kurz und dick und die Konidien sind oval und grün gefärbt.

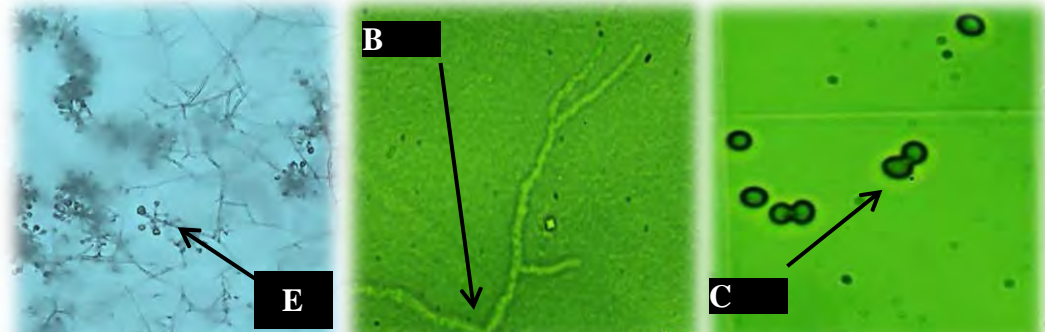


Bild 8. Mikroskopisches *T. harzianum* mit 400-facher Vergrößerung; A) Phialidenstruktur, B) Konidiophoren und C) Konidien

4.2 Durchmesser der *T. harzianum*

Basierend auf Tabelle 3. der Durchmesser der Pilze *T. harzianum* auf mehreren PDA-Medien, gemischt mit Palmschalen-Biokohlefiltrat, zeigt es, dass die BK4-Medienbehandlung 1 Tag nach der Inokulation (hsi) die kleinste Wachstumsrate im Vergleich zu anderen Medienbehandlungen ist mit einem Durchmesserwert, nämlich 1,8125 cm. Die höchste Durchmesser am ersten Tag der Inokulation zeigte dagegen die Behandlung von BK1-Medium mit einem Durchmesserwert von 3,1125 cm. Der Unterschied in der Durchmesser der *T. harzianum* am ersten Tag wurde durch die unterschiedliche Nährstoffzusammensetzung jedes Wachstumsmediums verursacht. Je höher die Filtratzugabe, desto höher der Kohlenstoffgehalt, so dass die Nährstoffaufnahme durch *T. harzianum* länger anhält. Dies entspricht der Meinung von Trizelia et al. dass das Wachstum von Pilzkolonien unter anderem durch die Wachstumsmedien beeinflusst wird, wobei auf verschiedenen Medien auch die Wachstumsgeschwindigkeit unterschiedlich ist.

Tabelle 3. Durchschnittlicher Koloniedurchmesser von *T. harzianum* auf PDA-Medium-Mischöl-Palmschalen-Biokohle-Filtrat

Noi n	Behandlung	Durchmesserrate (cm)			
		1 hsi *	2 hsi tn	3 hsi tn	4 hsi tn
1	BK0 (Steuerung)	2,7375 bcd	6,8375	7,9125	8
2	BK1 (PDA + 25 % Filtrat)	3.1125cd	6,6375	7.3375	7,7625
3	BK2 (PDA+ 50 % Filtrat)	2,5125abc	6.3375	6.9	7.25
4	BK3 (PDA+ Filtrat 75%)	2,0875ab	6.0375	7,9375	8
5	BK4 (PDA+ Filtrat 100%)	1.8125a	5,3125	7,5625	8

Hinweis: Die Zahlen, gefolgt von Kleinbuchstaben, die nicht gleich sind, unterscheiden sich laut DNMR-Test auf dem 5%-Niveau erheblich

Bei der Behandlung von BK4-Medien war der C-Organik-Gehalt sehr hoch, was dazu führte, dass der komplexe Substratumbauprozess länger dauerte, so dass die Durchmesserrate des Pilzes *T. harzianum* in der Anfangsphase gehemmt wurde. Die chemischen Eigenschaften von Ölpalmschalen haben einen Wert von Kohlenstoff 49,79 %, Wasserstoff 5,58 %, Sauerstoff 34,06 %, Stickstoff 0,72 %, Schwefel < 0,08 und die Struktur der Kohlenhydrate ist Hemicellulose 26,16 %, Cellulose 6,92 % und Lignin 53,85 % (Ndoke in Okroigwe et al., 2014). Nach der Meinung von Juliana et al. (2017) Kohlenhydrate und Proteine, einschließlich Makronährstoffe, die für den Pilzstoffwechsel durch Diffusion verwendet werden, werden mithilfe von Trägermolekülen in die Zellen transportiert.

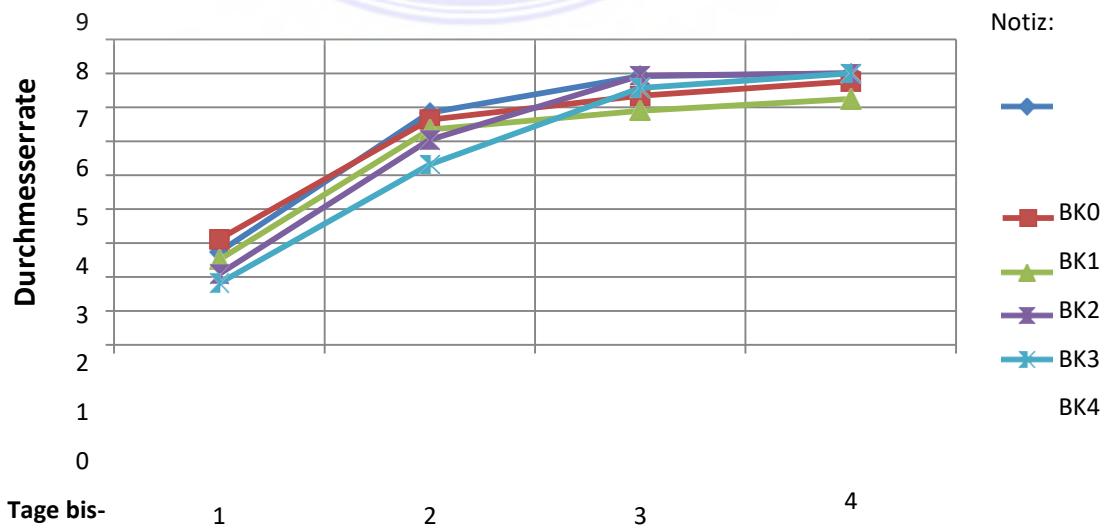


Bild 9. Diagramm des Durchmessers des Pilzes *T. harzianum* für 4 Tage

Basierend auf das Bild 9. zeigt das Diagramm des Durchmessers der *T. harzianum*-Pilzkolonie auf mehreren PDA-Medien, gemischt mit Biokohle-Filtrat, an den Tagen 2 bis 4 die Durchmesserrate, die sich bei allen Behandlungen mit Wachstumsmedien nicht signifikant unterschied. Dies wurde durch den Durchmesser von *T. harzianum* angezeigt, der am vierten Tag auf allen Behandlungsmedien einen Durchschnitt von 8 cm erreichte. Die Ergebnisse waren aufgrund der Anpassungsfähigkeit des Pilzes *T. harzianum* und der Verfügbarkeit ausreichender Nährstoffe, insbesondere Kohlenhydrate und Protein, nicht signifikant unterschiedlich, so dass das Wachstum des Pilzes *T. harzianum* optimal war. Dies entspricht der Meinung von Trizelia et al. (2013), die besagt, dass das Wachstum von Pilzen durch Nährstoffe, den Säuregrad des Substrats (pH) und chemische Verbindungen in der Umwelt beeinflusst wird. Protein hat eine Funktion bei der Stimulierung des Wachstums des Myzels von *Trichoderma sp.* (Kurnia et al., 2012), während Kohlenhydrate mit den drei Elementen C, H und O die Hauptfunktion als Energiequelle, zellbildendes Material und Elektronenakzeptor in Aktion zur Energieerzeugung haben (Marthin und Talahaturuson, 2014). Novianti (2018) hat festgestellt, dass das Wachstum von *Trichoderma sp.* stark von der Verfügbarkeit von Kohlenhydraten abhängig ist und wird als Energiequelle für das Wachstum genutzt.

Man gibt eine Mischung aus Palmschalen-Biokohle-Filtrat unter Verwendung eines Säuregrads mit einem pH-Wert von 6,2, wo die Bestimmung gut für das Wachstum des Pilzes *T. harzianum* ist. Dies entspricht der Meinung von Wahyudi et al. (2010), dass das Wachstum des Pilzes *T. harzianum* bei pH 6,2 besser war, weil die Bedingungen leicht sauer waren, während bei pH 4,5 das Wachstum des Pilzes *T. harzianum* nicht gut war, weil es zu sauer war. Nach der Meinung von Uruilal et al. (2012), der optimale pH-Wert für das Wachstum von *T. harzianum* rifai lag im Bereich von 3-7 und war verkümmert Wachstum bei pH über 8 (Elfina und Rianti, 2004).

Dies gilt auch für *G. boninense*, wo der optimale pH-Bereich 3-8,5 bei einer optimalen Temperatur von 300 °C beträgt (Elfina et al., 2016). Außerdem füllte das Wachstum des Pilzes *T.harzianum* die Petrischale nur 4 Tage nach der Inokulation. Dies entspricht der Meinung von Afandi et al. (2017), die feststellten, dass das Wachstum des Pilzes *Trichoderma spp.* füllten eine Petrischale mit 9 cm Durchmesser in nur 4 Tagen auf PDA-Medien aufgrund von Platzkonkurrenz um Nährstoffe.

Tabelle 4. Konidiendichte des Pilzes *T. harzianum*

Ne in	Behandlung	Dichte (ml-1)
1	BK0 (Steuerung)	1,45 x 10 ⁵
2	BK1 (PDA + 25 % Filtrat)	2,72 x 10 ⁵
3	BK2 (PDA+ 50 % Filtrat)	3,3 x 10 ⁵
4	BK3 (PDA+ Filtrat 75%)	4,15 x 10 ⁵
5	BK4 (PDA+ Filtrat 100%)	5,95 x 10 ⁵

Basierend auf Tabelle 4. Konidiendichte des Pilzes *T. harzianum* zeigte sich, dass die Medienbehandlung mit Ölpalmenschalen-Pflanzenkohlefiltrat einen Einfluss auf die Anzahl der Konidien ml-1 hatte. Die Behandlung mit BK4-Medium ergab die höchste Gesamtdichte an Konidien, die 5,95 x 10⁵ ml-1 betrug, während die Behandlung mit BK0 die niedrigste Gesamtdichte ergab, die 1,45 x 10⁵ ml-1 betrug. Dies ist auf die Zugabe von Pflanzenkohlefiltrat zur Erhöhung der Kohlenstoffversorgung von *T. harzianum* zurückzuführen, die zur Anregung der Biomassebildung verwendet wird. Die hohe Biomasse fördert das Wachstum von Pilzen und produziert eine größere Anzahl von Konidien. Dies steht im Einklang mit der Meinung von Novianti (2018), die besagt, dass das Wachstum von *Trichoderma sp.* stark von der Verfügbarkeit von Kohlenhydraten abhängig und als Energiequelle für das Wachstum genutzt. Materialien, die hohe Konzentrationen an Kohlenhydraten enthalten, fördern das Wachstum von Pilzen.

Hohes Wachstum wird produzieren eine höhere Anzahl von Konidien, wohingegen ein Prozess mit niedrigem Wachstum eine geringere Anzahl von Konidien produziert.

4.3 Antagonistentest des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense*

Basierend auf Tabelle 5 zeigte der Prozentsatz der Hemmung des Antagonistentests von *T. harzianum* mit *G. boninense* 1-14 HSP, dass die Gabe einer Mischung aus Palmschalen-Biokohlefiltrat auf PDA-Medium keine signifikante Wirkung auf den Prozentsatz der Hemmung von *G. boninense* hatte 1-2 Tage nach dem Test (HSP). . Dann ein signifikanter Effekt auf 3 HSP und ein sehr signifikanter Effekt auf 4-14 HSP.

Tabelle 5. Prozentsatz des Antagonistentests von *T. harzianum* mit *G. boninense*

Behandlung	Prozentsatz der Barrieren (%)					
	1 HSPtn	2 HSPtn	3 HSP*	4 HSP**	5 HSP**	6 HSP**
BK0	4,35 Herr	6,73 Bio	16,53 ab	24,23 abc AB	30,28 v. Chr. AB	31,85 v. Chr. ABC
BK1	41,38 Bio	35,42 Bio	33,47 b	36,54 c B	37,69 c B	39,13 °C
BK2	-12,16 Bio	-3,41 Bio	4,00 ein	13,84 ein EIN	18,75 ein A	22,22 ein A
BK3	-8,06 Bio	-2,03 Bio	6,98 ab	19,50 ab AB	26,79 ab AB	25,89 ab AB
BK4	21,00 Uhr	17,59 Billionen	23,75 b	29,62 v. Chr. AB	35,56 v. Chr. B	36,64 v. Chr.

Behandlung	Prozentsatz der Barrieren (%)					
	7 HSP**	8 HSP**	9 HSP**	10 HSP**	11 HSP**	12 HSP**
BK0	34,21 abcAB	38,41 b AB	42,61 ab AB	44,29 bAB	47,70 b AB	49,51 v. Chr. AB
BK1	40,49 c B	42,67 b B	45,00 bB	45,12 bB	45,54 ab AB	46,26 ab AB
BK2	27,57 Uhr EIN	31,16 ein A	36,39 ein A	38,55 ein A	42,42 ein A	45,26 ein EIN
BK3	31,45 ab AB	36,40 ab AB	41,55 ab AB	44,23 b AB	48,82 bB	51,39 c B
BK4	38,82 v. Chr. B	40,00 b AB	42,86 b AB	43,90 b AB	46,70 ab AB	48,95 abc AB

Behandlung	Prozentsatz der Barrieren (%)	
	13 HSP**	14 HSP**
BK0	51,87 v. Chr	54,42 cd BC
BK1	46,63 ein A	45,83 ein A
BK2	48,00 ab AB	50,47 bB
BK3	54,17 °C	56,62 °C
BK4	50,76 v. Chr. ABC	52,21 v. Chr.

Hinweis: Die Zahlen, gefolgt von unterschiedlichen Buchstabennotationen in einer Spalte, zeigen einen signifikanten Unterschied auf dem 0,05-Niveau (Kleinbuchstaben) und einen sehr signifikanten Unterschied auf dem 0,01-Niveau (Großbuchstaben).

In Tabelle 5 zeigt der Prozentsatz der Hemmung des Antagonisten des Pilzes *T. harzianum* mit dem Pilz *G. boninense* 1–14 DSP, dass der Prozentsatz der Hemmung bei 1–2 DAP zeigt, dass die Hyphenspitzen des Pilzes *T. harzianum* haben sich nicht mit den Hyphenspitzen des pathogenen Pilzes *G. boninense* getroffen, so dass der Mechanismus der Hemmung nicht aufgetreten ist. Der Durchschnittswert des Prozentsatzes der Hemmung, der eine negative Zahl zeigte, wurde durch das Wachstum des Pilzes *G. boninense* in Kontrollkulturen verursacht, war niedriger als der Wachstumswert des Pilzes *G. boninense* in Kulturen, die mit Antagonisten getestet wurden. Der Prozentsatz der Hemmung des pathogenen Pilzes *G. boninense* durch *T. harzianum* begann bei 3–14 DAP zu sehen, wo der Gesamtprozentsatz der Hemmung einen positiven Wert zeigte, wie in der Grafik gezeigt.

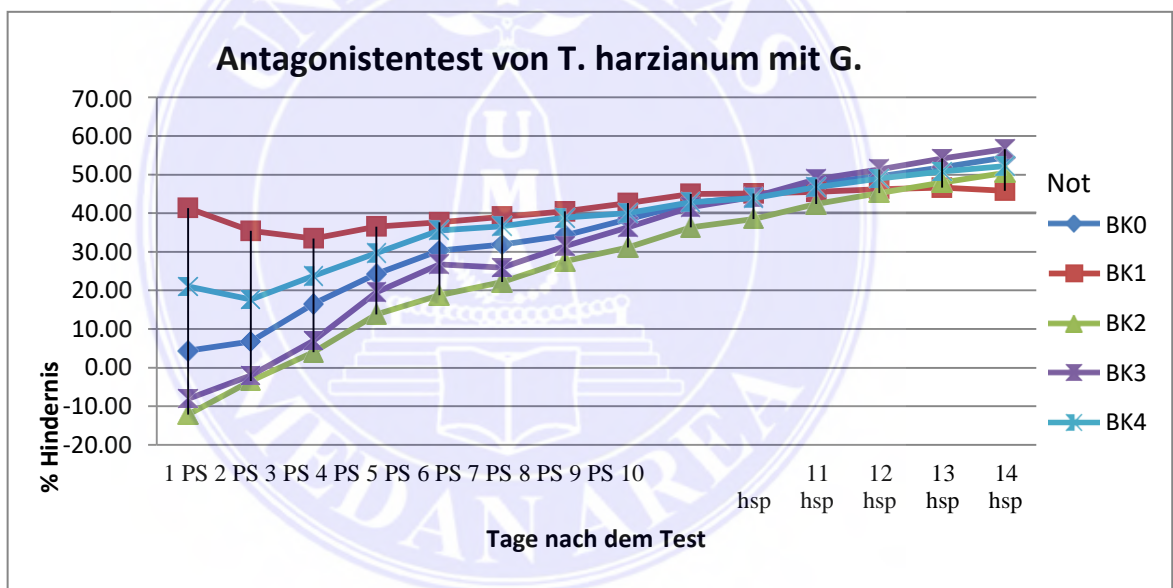


Bild 10. Diagramm des Antagonistentests des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense* für 14 Tage

Bei 3 HSP unterschieden sich die BK1- und BK4-Behandlungen nicht signifikant von den BK3- und BK0-Behandlungen und waren sehr signifikant unterschiedlich von den BK2-Behandlungen. Wobei BK1 die beste Behandlung in 3 HSP mit einem Prozentwert von 33,47 % und BK2 die niedrigste Behandlung mit einem Wert von ist Widerstandsprozentsatz 4%. Der hohe Widerstandswert wird durch BK1-Medien (PDA + 25 % Filtratkonzentration) ist ein Medium, das durch den Pilz *T. harzianum* schneller auf mehrere Verbindungen wie Hemicellulose, Cellulose und Lignin katalysiert wird, die in Ölpalmenschalen

hoch sind. Damit Nährstoffe schnell verfügbar sind und für das Wachstum des Pilzes *T. harzianum* genutzt werden können. Dies entspricht der Meinung von Okroigwe et. al., (2014), die besagt, dass die chemischen Eigenschaften von Ölpalmenschalen einen Wert von C 49,79 %, H 5,58 %, O 34,06 %, N 0,72 %, S < 0,08 und Kohlenhydratstruktur von Hemicellulose 26,16 %, Cellulose 6,92 % und Lignin 53,85. *Trichoderma harzianum* wird als cellulolytischer Mikroorganismus klassifiziert, der Cellulase-Enzyme produziert, die Rohfaser reduzieren und komplexe Moleküle in einfache Moleküle zerlegen können (Rihadini et al., 2017).

Je schneller die Durchmesserrate des Antagonistenpilzes *T. harzianum*, desto mehr wurde das Hyphenwachstum des pathogenen Pilzes *G. boninense* gehemmt. Das Zusammentreffen der beiden Enden der Hyphen führt zu einer Lyse, bei der die Hyphen des antagonistischen Pilzes *T. harzianum* einen sekundären Metaboliten freisetzen, der das Wachstum der Hyphen des pathogenen Pilzes *G. boninense* hemmt, so dass sie nicht nachwachsen können. Dies entspricht der Meinung von Yurnaliza et al. (2008), die besagt, dass das Wachstum des pathogenen Pilzes *G. boninense* gehemmt wird, insbesondere im Myzel, das zum endophytischen Pilz führt, wird eine klare Zone und dünner werdende Hyphen gesehen, wo dieses Ereignis als enzymatischer Mechanismus bezeichnet wird.



Bild 11. Antagonistentest des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense* Behandlung BK0 14 HSI



Bild 12. Antagonistentest des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense* Behandlung BK1 14 DAI



Bild 13. Antagonistentest des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense* Behandlung BK2 14 DAI



Bild 14. Antagonistentest des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense* Behandlung BK3 14 DAI



Bild 15. Antagonistentest des Pilzes *T. harzianum* mit *G. boninense* Behandlung BK4 14 DAI

Basierend auf Tabelle 5. zeigte der prozentuale Resistenztest des Antagonisten des Pilzes *T. harzianum* mit dem Pilz *G. boninense* 1–14 HSP, dass BK2 die Behandlung mit dem niedrigsten Prozentsatz an Hemmung bei 3–12 DAP mit Werten von 4 war %, 13,84 %, 18,75 %, 22,22 %, 27,57 %, 31,16 %, 36,39 %, 38,55 %, 42,42 % und 45,26 %. Mittlerweile hat BK1 den höchsten Prozentsatz an Hindernissen bei 3-10 HSP mit Werten von 4 %, 33,47 %, 36,54 %, 37,69 %, 39,13 %, 40,49 %, 42,67 %, 45,00 % und 45,12 %. BK1 war jedoch die Behandlung mit dem niedrigsten Prozentsatz an Hemmung bei 13–14 HSP mit Werten von 46,63 % bzw. 45,83 %. Inzwischen ist BK3 die Behandlung mit dem höchsten Prozentsatz an Hemmung in 13-14 HSP mit einem Wert von 54,17 %

und 56,62 %. Dies stand im Einklang mit der Abnahme der verfügbaren Kohlenstoffmenge in den Nährmedien BK1, so dass der Antagonistenpilz *T.harzianum* seine Fähigkeit zur Raumkonkurrenz mit dem pathogenen Pilz *G. boninense* reduzierte.

Nach Uruilalal et al. (2012) wird das Wachstum und die Entwicklung von *T. harzianum* von einer Reihe von Faktoren beeinflusst, darunter Temperatur, Licht, Luft, pH-Wert und Nährstoffe wie Kohlenstoff, Stickstoff und einfache Kohlenhydrate. Hemicellulose, Cellulose und Lignin sind die höchsten Kohlenstoffbestandteile in Ölpalmenschalen-Biokohle (Yulianti et al., 2010), die eine Substratquelle für *T. harzianum* sein kann, sodass die BK3-Behandlung als angemessen erklärt wurde, da sie den größten Prozentsatz an Hemmung lieferte bei 14 DAP, nämlich 56, 62%. Kohlenstoffelemente sind für Pilze sehr wichtig, da Pilze größere Mengen an Kohlenstoffelementen als andere essentielle Elemente benötigen und Kohlenstoff der wichtigste und wichtigste Nährstoff für Pilze ist (Moore 1972 in Alviodyasari et al., 2015). Es ist in der Zugabe von Palmkernschalen-Biokohlefiltrat zum PDA-Medium erhältlich. Darüber hinaus wird laut Novianti (2018) das Vorhandensein von Kohlenhydraten das Wachstum von Pilzen stimulieren, sodass sie mehr Konidien produzieren.

Der hohe Prozentsatz der Hemmung stimmte mit der langsamen Rate des Koloniedurchmessers des *G. boninense*-Pilzes in der Antagonisten-Testbehandlung überein. Der langsame Durchmesser der Kolonien des Pilzes *G. boninense* wurde durch Lyseereignisse und Schäden an den Zellwänden der Wirtshyphen aufgrund der Hyphenbindung des Antagonistenpilzes *T. harzianum* verursacht. Howell (2003) stellte den molekularen Mechanismus lytischer Enzyme fest, die an der Aktivität des biologischen Agens *T. harzianum* beteiligt sind, und erklärte dies, der Zellwandabbau durch Pilze ist hauptsächlich auf Chitinase, Glucanase und Proteasen zurückzuführen. Chitin und -Glucane (Polysaccharide) sind einer der größten Bestandteile von Ganoderma-Zellwänden

und die Bildung einer klaren Zone wird durch die Spaltung des -1,4-*Homopolymers N-Acetylglucosamin in Chitin in N-Acetylglucosamin-Monomere* und das β -*Glucan* verursacht wird durch Cellulase-Enzyme abgebaut, indem die -1,4-glykosidische Bindung aufgebrochen wird (Rupaedah et al., 2018). Neben Enzymen spielen auch sekundäre Stoffwechselprodukte eine Rolle bei der Hemmung des Wachstums des pathogenen Pilzes *G. boninense*. Die Verbindungen von *Harzianolid* sind Sekundärmetabolite, die vom Antagonistenpilz *T. harzianum* produziert werden (Afandi et al., 2017). Von *T. harzianum* produziertes *Harzianolid* kann die Keimung von Konidien und Chlamydosporen von *F. oxysporum* hemmen (Sharma, 2011).

