

TUPROQDAN AJRATIB OLINGAN *TRICHODERMA HARZIANUM*G YAQIN ZAMBURUG‘ IZOLYATINING MORFOLOGIK VA MIKROMORFOLOGIK TAVSIFI

Risbayev A.K., Raxmatova M.Q., Qo‘shiyev H.H.
Guliston davlat universiteti, Agrobiotexnologiyalar
va biokimyo ilmiy tadqiqot instituti

ANNOTATSIYA

Mazkur tadqiqotda Jizzax viloyati Zomin tumani tuproqlaridan ajratib olingan zamburug‘ izolyatining morfologik va mikromorfologik xususiyatlari kompleks tarzda baholandi. Klassik mikologik usullar asosida tuproq namunalaridan 7 ta zamburug‘ koloniyasi ajratib olinib, ular orasidan yuqori o‘shish tezligiga ega izolyat tanlab olindi va sof kulturaga o‘tkazildi. Olingan natijalar shuni ko‘rsatdiki, izolyat 25 ± 2 °C sharoitda 72 soatda 68.5 ± 1.5 mm diametrga yetib, o‘rtacha 0.95 mm/soat tezlikda radial o‘shish xususiyatini namoyon etdi. Koloniya dastlab oq rangli mitseliy hosil qilib, keyinchalik markaziy qismida yashil sporulyatsiya zonasi shakllantirdi. Mikroskopik tahlillar natijasida septali va kuchli tarmoqlangan gifalar (3.2 ± 0.4 mkm), murakkab shoxlangan konidioforlar hamda dumaloq/subgloboz konidiyalar (2.8–3.5 mkm) mavjudligi aniqlandi. Ushbu makro- va mikromorfologik belgilar *Trichoderma* jinsiga, xususan *Trichoderma harzianum* turiga xos diagnostik xususiyatlarga mos keladi. Muhokama natijalari izolyatning yuqori o‘shish tezligi va sporulyatsiya faolligi uning ekologik moslashuvchanligi hamda potensial biokontrol xususiyatlarini tasdiqlashini ko‘rsatdi. Shunday qilib, ajratib olingan izolyat mahalliy agroekotizimlar uchun istiqbolli biologik himoya agenti sifatida baholanadi, biroq tur darajasida aniq identifikatsiya qilish uchun ITS-rDNK va tef1 markerlari asosida molekulyar-genetik tadqiqotlar zarur.

Kalit so‘zlar: *Trichoderma harzianum*, tuproq zamburug‘i, izolyat, sof kultura, mikologiya, biokontrol, Zomin tuprog‘i

Kirish

Hozirgi vaqtda qishloq xo‘jaligida o‘simlik kasalliklariga qarshi ekologik xavfsiz, samarali va barqaror himoya vositalarini ishlab chiqish dolzarb ilmiy-amaliy masalalardan biri hisoblanadi. Kimyoviy pestitsidlarning keng qo‘llanilishi ekologik muvozanatning buzilishi, tuproq degradatsiyasi hamda inson salomatligiga salbiy ta’sirlar bilan bog‘liq bo‘lgani sababli biologik himoya vositalariga bo‘lgan ehtiyoj ortib bormoqda (Harman et al., 2004; Woo et al., 2014). Shu nuqtai nazardan tuproq mikroorganizmlari, ayniqsa *Trichoderma* jinsiga mansub zamburug‘lar, muhim ilmiy va amaliy ahamiyat kasb etadi.

Trichoderma jinsiga kiruvchi zamburug‘lar tuproqda keng tarqalgan bo‘lib, ular fitopatogenlarga qarshi antagonistik faolligi, o‘simlik o‘sishini rag‘batlantiruvchi xususiyatlari va stress omillariga chidamlilikni oshirish qobiliyati bilan ajralib turadi (Kubicek et al., 2001; Verma et al., 2007). Ushbu zamburug‘lar tomonidan ishlab chiqariladigan ikkilamchi metabolitlar, gidrolitik fermentlar (xitinaza, glukonaza) hamda signal molekulalari patogen mikroorganizmlarning rivojlanishini bostirishda muhim rol o‘ynaydi (Benítez et al., 2004).

Trichoderma harzianum ushbu jinsning eng keng o‘rganilgan va amaliyotda samarali qo‘llanilayotgan turlaridan biri hisoblanadi. Ko‘plab tadqiqotlarda ushbu tur *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* kabi fitopatogenlarga nisbatan kuchli antagonistik ta’sir ko‘rsatishi aniqlangan (Harman, 2006). Bundan tashqari, *T. harzianum* o‘simlik ildiz tizimini rivojlantirish, oziqa moddalarning o‘zlashtirilishini yaxshilash hamda o‘simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini oshirishda muhim rol o‘ynashi isbotlangan (Shoresh et al., 2010).

Zamonaviy tadqiqotlar shuni ko‘rsatadiki, *Trichoderma* turlari o‘simliklar bilan o‘zaro murakkab signal almashinuvi orqali tizimli induksiyalangan rezistentlikni (ISR) faollashtiradi va bu jarayon o‘simlik immun tizimining mustahkamlanishiga olib keladi (Lorito et al., 2010). Shu sababli ushbu zamburug‘lar nafaqat biokontrol agenti, balki biostimulyator sifatida ham katta ahamiyatga ega.

Mahalliy agroekotizimlardan ajratib olingan *Trichoderma* izolyatlari ekologik sharoitga moslashganligi sababli, ularning biologik faolligi yuqori bo‘lishi mumkin. Shu bois hududiy tuproqlardan *T. harzianum* ga yaqin izolyatlarni ajratib olish, ularning morfologik va mikroskopik identifikatsiyasini amalga oshirish hamda keyinchalik molekulyar-genetik darajada tasdiqlash muhim ilmiy yo‘nalishlardan biri hisoblanadi.

Mazkur tadqiqotning maqsadi – Jizzax viloyati Zomin tumani tuprog‘idan *Trichoderma harzianum* ga yaqin izolyatni ajratib olish, uni sof kulturaga o‘tkazish va morfologik hamda mikroskopik belgilar asosida dastlabki identifikatsiyasini amalga oshirishdan iborat.

TADQIQOT MATERIALI VA USULLARI

Tadqiqot materiali sifatida Jizzax viloyati Zomin tumani hududidan olingan tuproq namunalari foydalanildi. Tuproq namunalari agroekologik jihatdan faol qatlamdan (0–20 sm chuqurlik) steril plastik idishlarga yig‘ilib, laboratoriyaga yetkazildi va tahlilga qadar +4 °C haroratda saqlandi (Watanabe, 2002).

Zamburug‘larni ajratib olish uchun klassik mikologik usullar, xususan tuproqni suyultirish va Petri kosachalarida oziqa muhitiga ekish usuli qo‘llanildi (Dhingra & Sinclair, 1995). Buning uchun 1 g tuproq 9 ml steril distillangan suvda aralashtirilib, 10^{-1} – 10^{-5} gacha ketma-ket suyultirishlar tayyorlandi. Har bir suyultirishdan 0.1 ml

hajmda suspenziya olinib, Potato Dextrose Agar (PDA) oziqa muhitiga sepma usulida ekildi.

Oziqa muhitlari oldindan 121°C da 15 daqiqa davomida avtoklavda sterilizatsiya qilindi. Ekilgan Petri kosachalari $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ haroratda termostatda 5–7 kun davomida inkubatsiya qilindi (Pitt & Hocking, 2009). Inkubatsiya davomida hosil bo'lgan koloniyalar muntazam kuzatilib, morfologik jihatdan *Trichoderma* jinsiga xos belgilar (tez o'sish, yashil sporulyatsiya, radial rivojlanish) asosida tanlab olindi.

Tanlab olingan koloniyalar sof kulturaga o'tkazish uchun bir necha bosqichli subkultivatsiya usuli qo'llanildi. Bunda steril inokulyatsiya ignasi yordamida koloniya markazidan olinib, yangi PDA muhitiga ko'chirildi va bu jarayon kamida 2–3 marotaba takrorlandi (Samuels et al., 2012).

Koloniyalarning morfologik xususiyatlari makroskopik darajada baholandi. Jumladan, koloniya o'sish tezligi (mm/kun), koloniya rangi (yosh va yetilgan bosqichda), koloniya chetlarining tuzilishi, sporulyatsiya intensivligi va zonalligi kabi ko'rsatkichlar aniqlashtirildi.

Mikroskopik tahlil uchun zamburug' preparatlari laktofenol-ko'k (lactophenol cotton blue) bo'yoqi yordamida tayyorlandi (Watanabe, 2002). Preparatlar biologik mikroskop ($100\times$ va $400\times$ kattalashtirish) ostida kuzatildi va gifalarning tuzilishi va septalarning mavjudligi, konidioforlarning shoxlanish darajasi va morfologiyasi, konidiyalarning shakli (dumaloq, ellipsoid), o'lchami va joylashuvi kabi mikromorfologik belgilar baholandi:

Ajratib olingan izolyatlarning dastlabki identifikatsiyasi morfologik va mikroskopik belgilar asosida amalga oshirildi hamda mavjud taksonomik kalitlar bilan solishtirildi (Bissett, 1991; Samuels et al., 2012).

TADQIQOT NATIJALARI

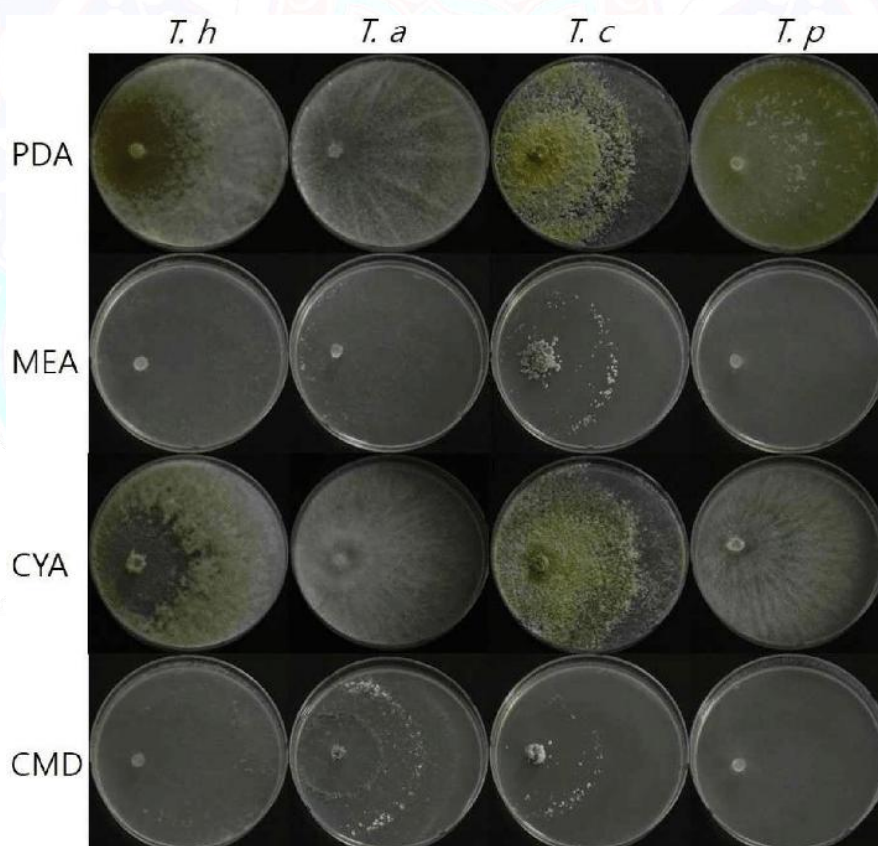
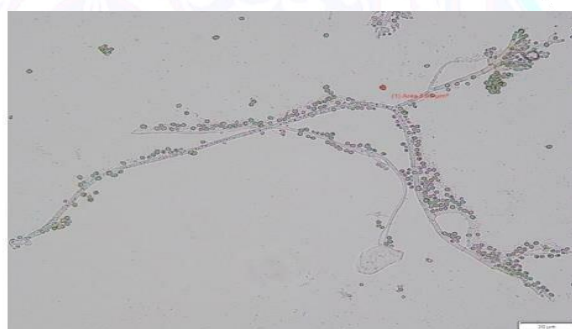
Tadqiqot natijasida Jizzax viloyati Zomin tumani tuproq namunalaridan jami 7 ta turli morfologik tipdagi zamburug' koloniyalari ajratib olindi. Ularning ichidan tez o'sish xususiyatiga ega, dastlab oq rangli mitseliy hosil qiluvchi va 72 soat ichida markaziy qismida yashil sporulyatsiya zonasi shakllantiruvchi izolyat tanlab olindi. Ushbu izolyatning o'sish dinamikasi o'rganilganda, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sharoitda PDA muhitida koloniya diametri 24 soatda o'rtacha 18.6 ± 0.8 mm, 48 soatda 42.3 ± 1.2 mm va 72 soatda 68.5 ± 1.5 mm ga yetgani aniqlandi (1-jadval). Koloniyaning radial o'sish tezligi o'rtacha 0.95 mm/soatni tashkil etdi, bu esa *Trichoderma* jinsiga xos yuqori o'sish tezligini tasdiqlaydi.

1-jadval. Ajratib olingan izolyatning asosiy morfologik va o'sish ko'rsatkichlari

Ko'rsatkich	Qiymat
Koloniya diametri (24 soat)	18.6 ± 0.8 mm
Koloniya diametri (48 soat)	42.3 ± 1.2 mm

Koloniya diametri (72 soat)	68.5±1.5 mm
Maksimal diametr (5-kun)	85–90 mm
O'sish tezligi	0.95 mm/soat
Mitseliy rangi (boshlang'ich)	Oq
Sporulyatsiya rangi	Yashil
Gifa diametri	3.2±0.4 mkm
Konidiyalarning shakli	Dumaloq/subgloboz
Konidiyalarning o'lchami	2.8–3.5 mkm

Koloniyaning makroskopik morfologiyasi kuzatilganda, dastlab oq rangli, paxtasimon va yumshoq mitseliy shakllangani aniqlandi.

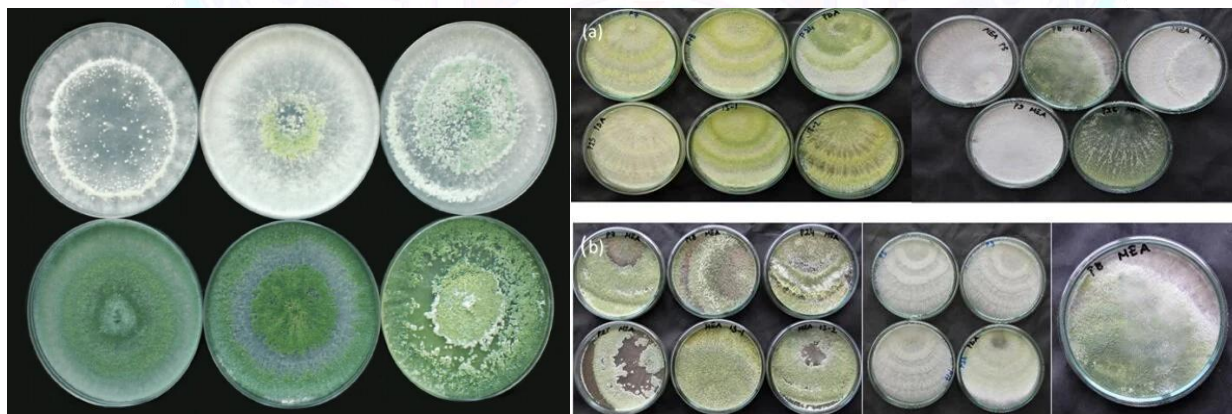


1-rasm. *Trichoderma* izolyatining dastlabki (24 soat) oq rangli mitseliy bosqichi (T. h – *Trichoderma harzianum*, T. a – *Trichoderma asperellum*, T. c – *Trichoderma*

citrinoviride, **T. p** – *Trichoderma parareesei* (yoki ba'zi manbalarda *T. reesei* bilan bog'liq tur). **PDA** (Potato Dextrose Agar) – Kartoshka dekstroza agari, zamburug'larni o'stirish uchun eng keng qo'llaniladigan universal oziqa muhit. **MEA** (Malt Extract Agar) – Malt ekstrakti asosidagi muhit, zamburug'larning sporulyatsiyasi va pigmentatsiyasini baholashda muhim. **CYA** (Czapek Yeast Agar) – Czapek va xamirturush ekstrakti asosidagi selektiv muhit, morfologik differensiasiya uchun ishlatiladi. **CMD** (Corn Meal Dextrose Agar) – Makkajo'xori uni va dekstroza asosidagi muhit, sporulyatsiya va konidiofor tuzilishini aniqlashda qo'llaniladi.

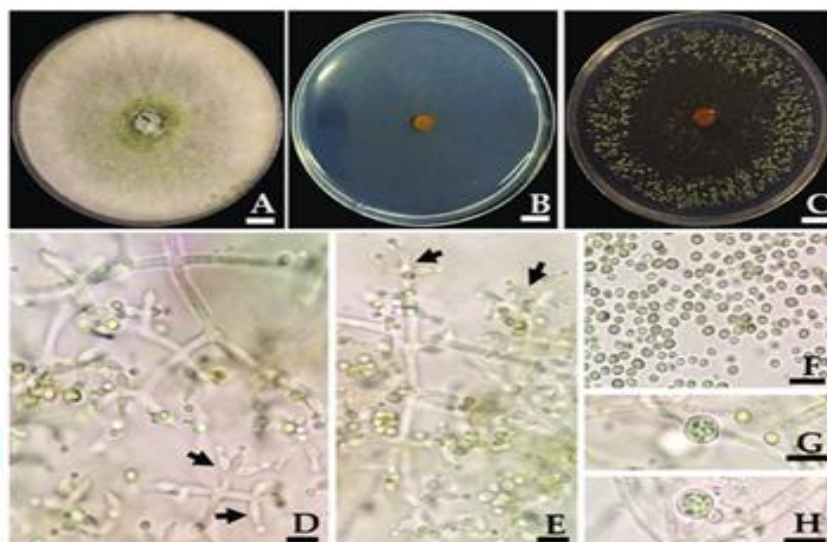
Ushbu bosqichda koloniya hali sporulyatsiyaga o'tmagan bo'lib, faol vegetativ o'sish jarayoni kuzatiladi. Mitseliy zich va paxtasimon tuzilishga ega bo'lib, bu *Trichoderma* jinsiga xos boshlang'ich rivojlanish belgisidir.

Keyingi bosqichda koloniya markazida yashil sporulyatsiya zonasi shakllanishi kuzatildi.



2-rasm. Koloniyada yashil sporulyatsiya zonasining hosil bo'lishi (48–72 soat).
(a) — standart oziqa muhitida (PDA) makromorfologik taqqoslashni bildiradi. (b) — turli muhitlarda fenotipik (morfologik) farqlanishni ko'rsatadi.

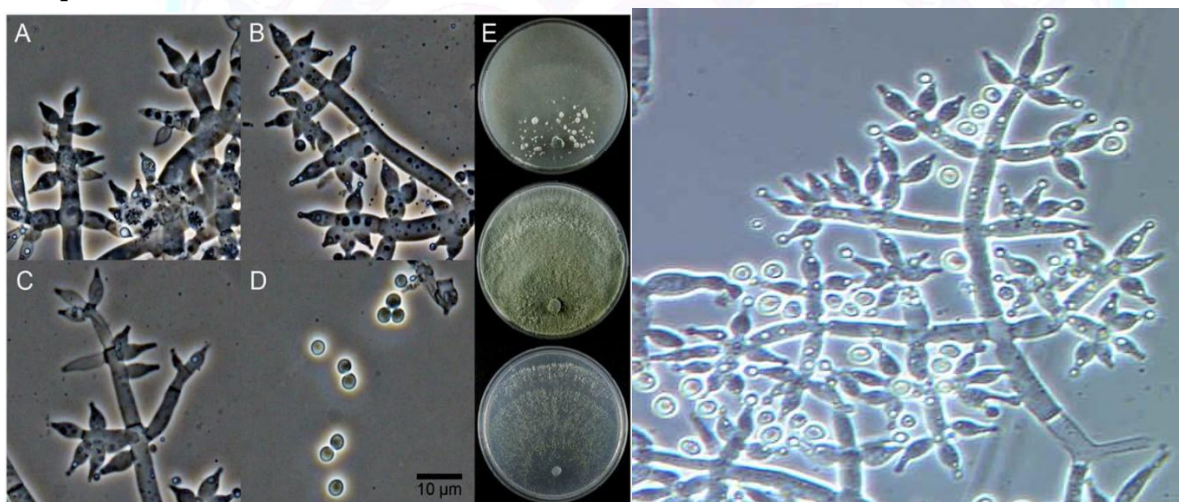
Rasmda koloniya markazida konidiyalar hosil bo'lishi natijasida yashil rang paydo bo'lgani ko'rinadi. Bu sporulyatsiya jarayonining faol bosqichga o'tganligini bildiradi va *Trichoderma harzianum* uchun xos muhim diagnostik belgidir. 5-kun davomida koloniya maksimal rivojlanish bosqichiga yetdi.



3-rasm. 5-kunlik to‘liq rivojlangan koloniya (85–90 mm). **A-***Trichoderma* izolyatining PDA muhitidagi umumiy koloniya ko‘rinishi. **B-**Zamburug‘ning boshlang‘ich o‘sinh bosqichi (inokulyatsiyadan keyingi dastlabki kun). **C-**Rivojlangan koloniya va faol sporulyatsiya bosqichi. **D-**Gifalarning umumiy tuzilishi va konidioforlarning boshlang‘ich shakllanishi. **E-**Shoxlangan konidioforlar va konidiyalarning hosil bo‘lish jarayoni. **F-**Erkin joylashgan konidiyalalar (sporalar). **G-**Yakka konidiya (yoki yangi shakllanayotgan spora). **H-**Yetilgan konidiyalalar guruhi yoki zich sporalar to‘plami.

Ushbu bosqichda koloniya Petri kosachasini deyarli to‘liq qoplagan bo‘lib, radial o‘sinh juda yuqori ekanligi kuzatiladi. Koloniya markazi to‘liq yashil sporulyatsiya bilan qoplangan, periferik qismi esa oq mitseliydan iborat.

Mikroskopik kuzatuvlar natijasida izolyatning tuzilish xususiyatlari aniqlashtirildi.



4-rasm. *Trichoderma* izolyatining mikroskopik tuzilishi (gifalar, konidioforlar va konidiyalalar). **A-**Konidioforlarning yuqori darajada shoxlangan (piramidasimon) tuzilishi. **B-**Rivojlangan konidioforlar va faol konidiya hosil bo‘lish jarayoni. **C-**

Konidioforlarning nisbatan sodda (kam shoxlangan) shakli. **D**-Erkin konidiyalar (sporalar). **E**-Turli rivojlanish bosqichidagi koloniya ko‘rinishlari (Petri kosachada).

Mikroskop ostida septali va kuchli tarmoqlangan gifalar aniq kuzatildi. Konidioforlar ko‘p marotaba shoxlangan bo‘lib, uchki qismida dumaloq yoki subgloboz konidiyalar joylashgani aniqlandi. Gifa diametri o‘rtacha 3.2 ± 0.4 mkm, konidiyalar o‘lchami esa 2.8–3.5 mkm diapazonda bo‘lib, bu ko‘rsatkichlar *Trichoderma* jinsining tipik mikromorfologik belgilariga mos keladi.

Yuqorida qayd etilgan makro- va mikromorfologik belgilar, xususan koloniya rangining oqdan yashilga o‘tishi, yuqori o‘sish tezligi, konidioforlarning murakkab shoxlanishi va konidiyalarning shakli ajratib olingan izolyatni *Trichoderma harzianum* turiga yaqin deb baholash imkonini beradi. Shu bilan birga, zamonaviy taksonomik talablar asosida tur darajasida aniq identifikatsiya qilish uchun molekulyar-genetik tahlillar, xususan ITS-rDNK va tef1 gen markerlari bo‘yicha sekvenslash ishlari olib borilishi zarur.

MUHOKAMA

Ushbu tadqiqotda Jizzax viloyati Zomin tumani tuprog‘idan ajratib olingan zamburug‘ izolyatining morfologik va mikromorfologik xususiyatlari batafsil tahlil qilindi. Olingan natijalar shuni ko‘rsatdiki, izolyat tez o‘sovchi, oq rangli mitseliydan yashil sporulyatsiya bosqichiga o‘tuvchi koloniya hosil qiladi. Bunday rivojlanish dinamikasi *Trichoderma harzianum* uchun xos bo‘lib, ushbu turda konidiyalarning intensiv hosil bo‘lishi bilan bog‘liq ekanligi ko‘plab tadqiqotlarda qayd etilgan (Harman, 2006; Samuels et al., 2012).

Koloniya o‘sish tezligining yuqori bo‘lishi (0.95 mm/soat) *Trichoderma* jinsining ekologik moslashuvchanligini va raqobatbardoshligini aks ettiradi. Ma’lumki, ushbu jins vakillari tuproqda tez kolonizatsiya qilish xususiyatiga ega bo‘lib, bu ularning fitopatogen mikroorganizmlarni bostirishda ustunlikka ega bo‘lishini ta’minlaydi (Benítez et al., 2004). Tadqiqotda kuzatilgan radial o‘sish tezligi va qisqa muddatda sporulyatsiyaga o‘tish jarayoni ham izolyatning yuqori biologik faolligini ko‘rsatadi.

Mikroskopik kuzatuvlar natijasida aniqlangan septali gifalar, kuchli tarmoqlangan konidioforlar va dumaloq konidiyalar *Trichoderma harzianum* uchun xos diagnostik belgilar bilan to‘liq mos keladi (Bissett, 1991). Ayniqsa konidioforlarning piramidasimon shoxlanishi va konidiyalarning uchki qismda joylashuvi ushbu turning muhim taksonomik ko‘rsatkichlaridan biri hisoblanadi. Shu bilan birga, gifa diametri va konidiyalar o‘lchamining adabiyotlarda keltirilgan diapazon bilan mos kelishi izolyatning sistematik jihatdan to‘g‘ri aniqlanganligini tasdiqlaydi.

Adabiyotlarda *Trichoderma harzianum* ning nafaqat morfologik, balki funksional jihatdan ham yuqori ahamiyatga ega ekanligi ta'kidlangan. Ushbu zamburug' fitopatogenlarga qarshi antagonistik ta'sirni bir necha mexanizmlar orqali amalga oshiradi, jumladan mikoparazitizm, antibiotik moddalarning sintezi va gidrolitik fermentlar (xitinaza, β -1,3-glukanaza) ishlab chiqarish orqali patogen hujayra devorini parchalaydi (Kubicek et al., 2001; Lorito et al., 2010). Shu nuqtai nazardan, tadqiqotda ajratib olingan izolyatning tez o'sish xususiyati va faol sporulyatsiyasi uning potensial biokontrol agent sifatidagi istiqbolini yanada kuchaytiradi.

Bundan tashqari, zamonaviy tadqiqotlar *Trichoderma* turlarining o'simliklar bilan o'zaro aloqasi faqat patogenlarni bostirish bilan cheklanmasdan, balki o'simlik o'sishini rag'batlantirish, oziqa moddalarning o'zlashtirilishini yaxshilash va abiotik stresslarga chidamlilikni oshirish bilan ham bog'liqligini ko'rsatmoqda (Shores et al., 2010; Woo et al., 2014). Demak, ushbu tadqiqotda aniqlangan izolyat nafaqat biologik himoya vositasi, balki biostimulyator sifatida ham muhim ahamiyat kasb etishi mumkin.

Shu bilan birga, faqat morfologik va mikroskopik belgilar asosida yakuniy taksonomik xulosa chiqarish cheklangan bo'lib, hozirgi zamon talablariga ko'ra molekulyar-genetik identifikatsiya usullaridan foydalanish zarur. Xususan, ITS-rDNK va tef1 gen markerlari asosida sekvenslash orqali izolyatning filogenetik o'rni aniqlanishi mumkin (Samuels et al., 2012). Bu esa tadqiqot natijalarining ishonchliligini yanada oshiradi va kelgusida amaliy qo'llash imkoniyatlarini kengaytiradi.

Umuman olganda, olingan natijalar Zomin tumani tuproqlari *Trichoderma harzianum* ga yaqin, yuqori biologik faollikka ega izolyatlar uchun muhim tabiiy manba ekanligini ko'rsatadi. Bu esa mahalliy agroekotizimlarda biologik himoya va regenerativ qishloq xo'jaligi texnologiyalarini rivojlantirish uchun ilmiy asos yaratadi.

XULOSA

Jizzax viloyati Zomin tumani tuproqlaridan ajratib olingan zamburug' izolyati tez o'suvchi, dastlab oq rangli, keyinchalik yashil sporulyatsiya hosil qiluvchi koloniya shakllantirishi, shuningdek septali va kuchli tarmoqlangan gifalar, rivojlangan konidioforlar hamda dumaloq konidiyalar mavjudligi bilan tavsiflandi va ushbu belgilar asosida *Trichoderma harzianum* turiga yaqin deb baholandi. Olingan natijalar izolyatning yuqori o'sish tezligi va tipik morfologik xususiyatlari uning potensial biologik faol organizm ekanligini ko'rsatib, uni fitopatogenlarga qarshi biokontrol agent hamda o'simlik o'sishini rag'batlantiruvchi biostimulyator sifatida qo'llash istiqbollari mavjudligini asoslaydi; shu bilan birga, izolyatning taksonomik maqomini aniq tasdiqlash uchun ITS-rDNK va tef1 markerlari asosida molekulyar-genetik tadqiqotlar o'tkazish zarurligi ta'kidlanadi.

Foydalanilgan adabiyotlar

- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260.
- Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. *Canadian Journal of Botany*, 69(11), 2357–2372.
- Dhingra, O. D., & Sinclair, J. B. (1995). *Basic plant pathology methods* (2nd ed.). CRC Press.
- Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190–194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Kubicek, C. P., Mach, R. L., Peterbauer, C. K., & Lorito, M. (2001). *Trichoderma*: From genes to biocontrol. *Journal of Plant Pathology*, 83(2), 11–23.
- Kubicek, C. P., & Harman, G. E. (Eds.). (2002). *Trichoderma and Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Taylor & Francis.
- Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: From omics to the field. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 395–417. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314>
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food spoilage* (3rd ed.). Springer.
- Samuels, G. J., Chaverri, P., Farr, D. F., & McCray, E. B. (2012). *Trichoderma online, systematic mycology and microbiology laboratory*. USDA Agricultural Research Service.
- Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 21–43. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114450>
- Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Valéro, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.05.012>
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species* (2nd ed.). CRC Press.
- Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., ... & Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycology Journal*, 8(1), 71–126.