



جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم وقاية النبات

فاعلية المكافحة المتكاملة في السيطرة على بعض مسببات
مرض تعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea*

رسالة مقدمة الى مجلس كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء
من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية / وقاية النبات

من قبل

صفا جميل شيحان

بإشراف

أ.د. رجاء غازي عبد المحسن


بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ
رَبِّ اَوْزَعْنِيْ اَنْ اَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي
اَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ وَاَنْ اَعْمَلَ
صَالِحًا تَرْضَاهُ وَاَدْخِلْنِيْ بِرَحْمَتِكَ فِي
عِبَادِكَ الصّٰلِحِيْنَ

صدق الله العلي العظيم

سورة الاحقاف الاية (15)

أقرار المشرف

أشهد أن أعداد الرسالة الموسومة بـ (التشخيص الجزيئي لبعض الفطريات المسببة لأمراض تعفن الجذور وقواعد سيقان نبات عرف الديك *Celosia argentea* في بعض مشاتل محافظات كربلاء وبابل ومكافحتها احيائيا وكيميائيا). جرت تحت اشرافي في قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية / وقاية النبات .

التوقيع :


اسم المشرف : أ.د. رجاء غازي عبد المحسن

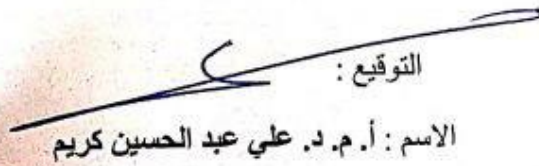
المرتبة العلمية : استاذ

العنوان : كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2022

توصية رئيس قسم وقاية النبات

بناءً على التوصية المقدمة من الاستاذ المشرف أرشح هذه الرسالة للمناقشة .

التوقيع :


الاسم : أ.م. د. علي عبد الحسين كريم

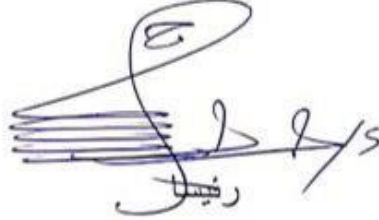
المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : كلية الزراعة / جامعة كربلاء

التاريخ : / / 2022

اقرار لجنة المناقشة

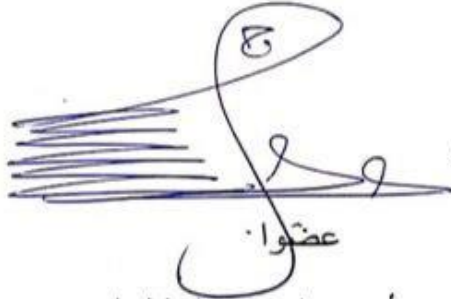
شهد بأننا اعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة (فاعلية المكافحة المتكاملة في السيطرة على بعض مسببات مرض تعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea*) وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدنا بانها جديرة بالقبول لنيل درجة ماجستير علوم في الزراعة/وقاية نبات



رضيلا

أ.د جمال حسين كاظم

كلية الزراعة /جامعة الكوفة



عضوا

أ.د عدنان عبد الجليل لهوف

كلية الزراعة / جامعة كربلاء



موا

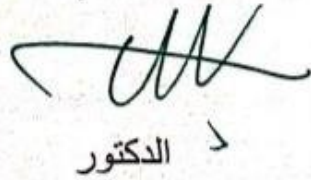
ياسر ناصر حسين

الزراعة /جامعة كربلاء



عضوا ومشرفا

أ.د رجاء غازي عبد المحسن



الدكتور

أ.د ثامر كريم خضير الجنابي

عميد كلية الزراعة / جامعة كربلاء

الأهداء

الى من قاد قلوب البشرية وعقولهم الى مرفأ الامان ,معلم البشرية الاول

محمد صلى الله عليه وآله وسلم

الى من علمني ان الدنيا كفاح ,وسلاحها العلم والمعرفة

الى الذي لم ييخل عني بأي شيء,الى من سعى لاجل راحتى ونجاحى

الى أعظم واعز رجل فى الكون: أبى الغالى.

الى من ساندتني فى صلاتها ودعائها, الى من سهرت الليالى لتتير دري

الى من تشاركني افراحي واسآتي الى نبع العطف والحنان الى اجمل ابتسامة فى حياتي,الى اروع

امراة فى الوجود: أمى الغالية.

الى المساند الداعم والحبيب الدائم,شريك الحياة والجذع الثابت الذى اتكىء عليه وافىء الى ظله

زوجي: كزار

الى بذرة الفؤاد وامل الغد.أبنائى الاحبة :حيدر وعباس

الى من هم لفؤادي مهجتي وحياتي خير أنس وبهاء: اخواتي الغاليات

الى الروح التي علمتني معنى الفقد,اذ ليس الوجد فى ايام الفقد الاولى,بل حين تأتي الايام

السعيدة عمتي رحمها الله: الدكتورة ايمان المشهداني

صفا

الشكر والتقدير

ان الحمد لله نحمده سبحانه وتعالى حمدا يليق بجلال وجهه وعظيم سلطانه، فقد سدد الخطى وشرح الصدر
ويسر الامر فله الحمد كله واليه يعود الفضل كله، والصلاة والسلام على اشرف المرسلين محمد صلى الله
عليه وآله وصحبه النبي الامين الذي بعث في الاميين رس

ولا يهديهم الى سبيل الرشاد والنور، لا يسعني بعد ان وفقني الله سبحانه وتعالى في إتمام هذا العمل
المتواضع إلا ان اخر ساجدة لله عز وجل، اعترافا بفضله عليّ، حامدة له نعمه عليّ، راجية عفوه ومغفرته
وهدايته وتوفيقه.

واعترافا بذوي الفضل عليّ، يسعدني بان اقدم شكري وتقديري وعرفاني بالجميل لاستاذتي المشرفة أ.د رجاء
غازي عبد المحسن، التي شملتني برعايتها ووجهتني إلى كل طرق العلم وابوابه في تواضع رفيع وأخلاق سامية
فجزاها الله خير الجزاء.

كما اتقدم بخالص شكري وتقديري الى عمادة كلية الزراعة ممثلة بالدكتور ثامر الجنابي وقسم وقاية النبات
وعلى رأسهم أ.م.د. علي عبد الحسين لتقديمهم جميع التسهيلات لي
كما اتقدم بوافر الشكر والامتنان ل أ.د. عدنان عبد الجليل لهوف لما قدمه لي من توجيهات علمية سديدة
كان لها الاثر الكبير لاظهار رسالتي بهذا الشكل
وشكري وامتناني لاعضاء الهيئة التدريسية كل من أ.د. عقيل نزال الكعبي، وأ.م.د مشتاق طالب، وأ.د.
ياسر الحميري. كما وأخص بالذكر الدكتور كاظم الفتلاوي، والدكتور زيد خليل، والدكتور محمد هادي.
ومن دواعي سروري ان اتقدم بالشكر الجزيل لرئيس واعضاء لجنة المناقشة المحترمين لتفضلهم بقبول
ومناقشة موضوع رسالتي.

وشكري وتقديري لجميع زملائي وزميلاتي في الدراسات العليا واخص بالذكر محمود وعلاء لتقديمهم جميع
سبل المساعدة لتوفير بذور نبات عرف الديك. كما لايسعني الا ان اتقدم بالشكر لكل من صديقاتي أماني
وعذراء لدعمهما لي طيلة فترة دراستي واتمام رسالتي.

وفي الختام الزاما عليّ بان اشكر عائلتي بجميع افرادها لتحملهم معي عبء دراستي ودعواتهم الصادقة
وتضحياتهم لي

صفا

الخلاصة :

أجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة – جامعة كربلاء بهدف عزل وتشخيص الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* في عدد من مشاتل محافظة كربلاء وبابل واختبار المدى العائلي للفطريات الأكثر امراضية والمعزولة في هذه الدراسة واختبار المقدرة التضادية لعدد من العوامل الاحيائية والمبيدات الكيميائية و حامض الساليسيك والكابتوسان والتكامل بينهما في مكافحة أكثر الفطريات إمراضية المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك مختبريا وتحت ظروف البيت البلاستيكي في الاصح البلاستيكية.

أظهرت نتائج العزل التشخيص المظهري الحصول على 20 عزلة تعود للفطر *Rhizoctonia* spp. و 22 عزلة للفطر *Fusarium* spp. و 3 عزلات للفطر *Ectophoma* spp. وبينت نتائج المقدرة الامراضية تفوق العزلات R16 و F3 معنويا في خفضها نسبة انبات بذور الفجل الاحمر الى 0.00 %، وكذلك تثبيطها التام لانبات بذور عرف الديك قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت النسبة المئوية للانبات فيها 100% لكلى النوعين من البذور.

اكدت نتائج التشخيص الجزيئي للعزلات R16, F3, E2 بتحليل تسلسلات القواعد النايتروجينية لنواتج الحامض النووي المضاعفة بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل للواسمات الجينية المختارة ومقارنتها مع السلالات والعزلات العالمية بإستعمال برنامج BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) ان هذه العزلات هي *Rhizoctonia solani* (R16) و *Ectophoma multirostrata* (E2)، *Fusarium solani* (F3) الذي تم تحديد تسلسلات ستة واسمات جينية مهمة في تشخيص الفطريات شملت (ITS) internal transcribed spacer و TEF-1 α translation elongation factor و (RPB 1) RNA polymerase I و (RPB 2) RNA polymerase II، و beta-tubulin 1 (β-tubulin)؛ فضلا عن mitochondrial small-subunit ribosomal RNA بالإضافة الى تحديد جينومه الكامل ولأول مرة في العراق وتبين ان الفطر العزول هو *F. solani* strain FSSC 5 الذي تم حفظ تسلسل هذا الجينوم الكامل ضمن قاعدة بيانات الجينومات التابعة للمركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية NCBI-genome تحت الرمز JAMJFY000000000.1 .

بينت نتائج اختبار المدى العائلي للعزلات الفطرية R16, F3, E2 انها ذات مدى عائلي واسع تمثل في تثبيط انبات بذور الخيار والرقي والبطيخ والبادنجان و الفلفل الحار و الطماطة وعين البزون وبنسب مختلفة.

اظهرت النتائج المختبرية للمقدرة التضادية للعامل الاحيائي *Trichoderma koningiopsis* قدرته التثبيطية العالية التي بلغت 100 % و 88.88% و 94.40% ضد الفطريات *Rhizoctonia solani* (R16) و *Fusarium solani* (F3) و *E.multirostrata* (E2) على التوالي. وايضا حققت البكتريا *Azotobacter chroococcum* نسبة تثبيط بلغت 100% ضد جميع الفطريات المختبرة.

كما حققت المبيدات الكيميائية Beltanol و Basten و Metehazole نسب تثبيط بلغت 100 % ضد الفطريات *R. solani* (R16) , *F. solani* (F3) و *E. multirostrata* (Ec2) المختبرة وبجميع التراكيز المستخدمة، في حين بلغت النسبة المئوية للتثبيط من المبيد الاحيائي Verox 16.66% , 72.22% , 77.77% على التوالي عند استخدام التركيز الموصى قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت النسبة المئوية للتثبيط فيها 0.00% لجميع الفطريات.

أظهرت نتائج اختبار فاعلية الكايتوسان بالتراكيز 0.5 و 1 و 2 % تفوق التركيز 2 % معنوياً ($P > 0.05$) و ذلك بتحقيقه نسبة تثبيط للفطريات *R. solani* (R16) و *F. solani* (F3) و *E.multirostrata* (E2) المختبرة بلغت 66.6 % و 88.8% و 75.5% على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت 0.00%، في حين اظهرت النتائج استعمال حامض الساليسليك بالتراكيز 0.5 و 1 و 1.5 غم / لتر تفوق التركيز 1.5 غم / لتر معنوياً ($P > 0.05$) في تثبيطه للفطريات الممرضة اعلاه، اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 72.2% و 88.8% و 72.2% على التوالي.

وتفوقت معاملة المبيد الكيميائي Beltanol معنوياً على المعاملات الاخرى في خفض النسبة المئوية للإصابة اذ بلغت 8.0% و 2.1% و 6.0% والنسبة المئوية لشدة الإصابة الى 2.0% و 0.0% و 0.0% على التوالي للفطريات *R. solani* و *F. solani* و *E. multirostrata* تليها معاملة التداخل بين العوامل الاحيائية Tr+Az والتي ادت الى خفض نسبة الإصابة بالفطريات الممرضة الى اذ بلغت على التوالي 20% و 11% و 18% وشدة الإصابة الى 9% و 15% و 6.66% قياسا بمعاملات الفطريات الممرضة بمفردها التي بلغت نسب الإصابة بها 100% و 100% و 100% على التوالي ونسب شدة الإصابة 87% و 80% و 62% في حين بلغت في معاملة المقارنة السليمة 0.0 % وتراوحت النسبة المئوية للإصابة في المعاملات الاخرى 15.33%-67.00% ونسب شدة الإصابة 7.00% -49.00%.

وتفوقت معاملة التداخل بين العوامل الاحيائية Tr+Az مع المسببات الممرضة للنبات في زيادة معايير النمو قياسا بمعاملات الفطريات الممرضة بمفردها ففي معاملة Tr+Az+Ec2 بلغ طول

النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري 22.50 سم و10.23 غم و2.36 غم
و1.04 غم و 0.131 غم على التوالي تلاها وبفارق معنوي معاملة Tr+Az+Fu3 التي بلغت فيها
معايير النمو 22.33 سم و 10.03 غم و 2.40 غم و 0.996 غم و 0.132 غم على التوالي اما في
معاملة Tr+Az+Rh16 فقد بلغت معايير النمو 20.00 سم و 9.30 غم و 2.03 غم و 0.775 غم
و 0.084 غم على التوالي ولم تختلف هذه المعاملة عن معاملة التداخل بين Tr+Sal و Az+Sal
وجود الفطريات الممرضة.

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع	التسلسل
1	المقدمة	1
4	مراجعة المصادر	2
4	نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i>	1-2
5	أمراض تعفن الجذور	2-2
6	الفطر الممرض <i>Fusarium.spp.</i>	1-2-2
8	الفطر الممرض <i>Rhizoctonia solani</i>	2-2-2
12	الفطر الممرض <i>Ectophoma multirostrata</i>	3-2-2
12	طرق تشخيص الفطريات	3-2
12	التشخيص المظهري للفطريات الممرضة	1-3-2
13	التشخيص الجزيئي للفطريات الممرضة	2-3-2
14	مكافحة الفطريات المسببة لأمراض تعفن الجذور	4-2
14	المكافحة الاحيائية Biological control	1-4-2
16	العامل الاحيائي <i>Trichoderma spp.</i>	1-1-4-2
19	العامل الاحيائي <i>Azotobacter</i>	2-1-4-2
21	المكافحة الكيميائية Chemical control	2-4-2
22	الكايتوسان Chitosan	1-2-4-2
24	السالسلك salicylic acid	2-2-4-2
26	المكافحة المتكاملة لمسببات امراض الجذور	2-5
29	المواد وطرائق العمل	3
29	الاجهزة والمواد المستخدمة في الدراسة	1-3
29	الاجهزة و الادوات المستخدمة في الدراسة	1-1-3
30	المواد المستعملة لإجراء التجارب في هذه الدراسة	2-1-3

31	الايوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة	3-1-3
31	وسط البطاطا دكستروز اكرالجاهز (P.D.A)	1-3-1-3
31	وسط الاكار المائي (WA)Water Agar	2-3-1-3
31	وسط المرق المغذي (NB) Nutrient Broth	3-3-1-3
31	وسط Nutrient Agar	4-3-1-3
31	عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> المصابة بتعفن الجذور	2-3
32	حفظ عزلات الفطريات قيد الدراسة	3-3
32	تحميل الفطريات المعزولة على بذور الدخن	4-3
32	اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة والمرافقة لتعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i>	5-3
32	اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة باستخدام بذور الفجل الاحمر على الوسط الزراعي Water Agar	1-5-3
36	اختبار المقدرة الامراضية للعزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> في الاصح البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي	2-5-3
36	التشخيص الجزيئي Molecular identification للفطريات الممرضة قيد الدراسة	6-3
38	التشخيص باستعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل ال-PCR وتحديد تسلسل القواعد النيتروجينية	1-6-3
39	التشخيص باستعمال تقنية الجيل التالي لتحديد التسلسل Next Generation sequencing (NGS) لعزلة الفطر <i>Fusarium sp.</i> (F3)	2-6-3
41	اختبار المدى العائلي للفطريات <i>Rhizoctonia sp.</i> (Rh16), <i>Fusarium sp.</i> (F3), و <i>Ectophoma sp.</i> (E2) والمسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك	7-3

	<i>Celosia argentea</i>	
42	مكافحة الفطريات المسببة لمرض تعفن جذور وموت بادرات عرف الديك <i>Celosia argentea</i>	8-3
42	اختبار المقطرة التضادية للعاملين الاحيائيين <i>Trichoderma koningiopsis</i> و <i>Azotobacter chroococcum</i> ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i>	1-8-3
42	العامل الاحيائي <i>Trichoderma koningiopsis</i>	1-1-8-3
43	العامل الاحيائي <i>Azotobacter chroococcum</i>	2-1-8-3
43	تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري للبكتريا <i>Azotobacter chroococcum</i> المثبط لنمو الفطريات الممرضة قيد الدراسة	1-2-1-8-3
44	حساب الكثافة العددية للبكتريا <i>A.chroococcum</i>	2-2-1-8-3
44	تقييم كفاءة المبيدات Metehazole, Basten , Verox،Beltanol ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزراعي P.D.A	2-8-3
45	تقييم كفاءة الكايتوسان وحامض السالسليك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> في الوسط الزراعي PDA	3-8-3
45	الكايتوسان	1-3-8-3
46	حامض السالسلك	2-3-8-3
45	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطريات <i>Rhizoctonia solani</i> و <i>Fusarium solani</i> و <i>Ectophoma multirostrata</i> المسببة لمرض تعفن جذور نبات	4-8-3

	عرف الديك <i>Celosia argentea</i> تحت ظروف البيت البلاستيكي	
48	التحليل الإحصائي	9-3
50	النتائج والمناقشة	4
50	عزل الفطريات المرافقة لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i>	1-4
50	التشخيص المظهري للفطريات المعزولة من نبات عرف الديك	2-4
53	اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة في هذه الدراسة	3-4
53	اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة بأستخدام بذور الفجل الحمر على الوسط الزراعي Water Agar	1-3-4
55	المقدرة الامراضية للعزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذور نبات عرف الديك في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي.	2-3-4
57	التشخيص الجزيئي Molecular identification	4-4
64	اختبار المدى العائلي للفطريات <i>Rhizoctonia solani</i> (Rh16) , <i>Fusarium slani</i> (F3) , <i>Ectophoma multirostrata</i> (E2) والمسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i>	5-4
65	مكافحة الفطريات <i>Rhizoctonia solani</i> (Rh16) , <i>Fusarium solani</i> (Fu3) , <i>Ectophoma multirostrata</i> (Ec2) المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia aragenta</i> على الوسط الزراعي PDA	6-4
65	اختبار المقدرة التضادية للعاملين الاحيائيين <i>Trichoderma koningiopsis</i> و <i>Azotobacter chroococcum</i> ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> على الوسط الزراعي PDA	1-6-4
65	العامل الاحيائي <i>T. koningiopsis</i>	1-1-6-4
68	العامل الاحيائي <i>Azotobacter chroococcum</i>	2-1-6-4
71	تقييم كفاءة المبيدات Verox, Metehazole, Basten ,Beltanol ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط	2-6-4

	الزرعي PDA.	
76	تقييم كفاءة الكايتوسان وحمض الساليسليك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزرعي PDA	3-6-4
76	الكايتوسان Chitosan	1-3-6-4
78	حامض الساليسليك Salicylic acid	2-3-6-4
80	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطريات <i>Fusarium solani</i> و <i>Rhizoctonia solani</i> و <i>Ectophoma multirostrata</i> المسببة لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> تحت ظروف البيت البلاستيكي.	7-4
90	الاستنتاجات والتوصيات	5
90	الاستنتاجات	1-5
91	التوصيات	2-5
92	المصادر	6
92	المصادر العربية	1-6
96	المصادر الأجنبية	2-6

قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	رقم الجدول
29	الاجهزة والادوات المستخدمة	1
30	المواد المستخدمة في الدراسة	2
30	المبيدات الكيميائية الفطرية المستعملة في هذه الدراسة	3
32	المناطق التي تقع فيها المشاتل التي جمعت منها نبات عرف الديك	4
35	العزلات الفطرية التي جمعت من جذور نبات عرف الديك المصابة بتعفن الجذور في محافظتي بابل و كربلاء والمناطق التي جمعت منها	5

38	البودائ المستخدمة في اختبارات تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction الـ PCR	6
43	تقييم الدرجة التضادية للعامل الاحيائي <i>T. koningiopsis</i> ضد الممرضات النباتية	7
45	تراكيز المبيدات المستخدمة في مكافحة الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك مختبريا	8
54	الكشف عن العزلات الممرضة باستخدام بذور الفجل الحمر على الوسط الزراعي Water Agar	9
56	الكشف عن العزلات الاكثر امراضية باستخدام بذور نبات عرف الديك في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي.	10
62	احصائيات عملية تجميع سلاسل المقروءات الخاصة بالفطر <i>F. solani</i>	11
64	اختبار المدى العائلي للفطريات <i>Rhizoctonia solani</i> (Rh16) , <i>Fusarium slani</i> (F3) , <i>Ectophoma multirostrata</i> (E2) والمسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك	12
67	اختبار المقدرة التضادية للعامل الاحيائي <i>T. koningiopsis</i> ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور عرف الديك على الوسط الزراعي PDA	13
71	اختبار المقدرة التضادية للبكتريا <i>A.chroococcum</i> ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط الزراعي PDA	14
73	اختبار المقدرة التضادية للمبيد الكيميائي Beltanol ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط PDA	15
74	اختبار المقدرة التضادية للمبيد الكيميائي Basten ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور وموت نبات عرف الديك على الوسط PDA	16
74	اختبار المقدرة التضادية للمبيد الكيميائي Metehazole ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط PDA	17
75	اختبار المقدرة التضادية للمبيد الاحيائي Verox ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط PDA	18
77	تقييم كفاءة الكايتوسان ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك	19

في الوسط الزرعي PDA		
79	تقييم كفاءة حامض السالسيك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزرعي PDA	20
82	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في النسبة المئوية للاصابة وشدتها وطول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري الناتجة عن الاصابة بالفطر <i>R. solani</i> المسبب لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> تحت ظروف البيت البلاستيكي	21
83	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في نسبة الاصابة وشدتها و طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري الناتجة عن الاصابة بالفطر <i>F. solani</i> المسبب لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> تحت ظروف البيت البلاستيكي	22
84	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في نسبة الاصابة وشدتها و طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري الناتجة عن الاصابة بالفطر <i>E. multirostrata</i> المسبب لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i> تحت ظروف البيت البلاستيكي	23

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
5	نبات عرف الديك <i>Celosia argentea</i>	1
22	التركيب الكيميائي للكيتين والكيوسان	2
25	التركيب الكيميائي لحامض السالسيك	3
51	الخصائص المظهرية والمجهريية للفطر (<i>Rhizoctona solani</i>)	4

	Rh16(المعزول من نباتات عرف الديك	
52	الخصائص المظهرية والمجهريية للفطر (<i>Fusarium solani</i>)Fu3 المعزول من نباتات عرف الديك	5
52	الخصائص المظهرية والمجهريية للفطر <i>Ectophoma sp.</i> المعزول من نباتات عرف الديك	6
55	اختبار المقدرة الامراضية لبعض الفطريات المعزولة بأستخدام بذور الفجل الاحمر على وسط الاكار المائي (WA)	7
57	الشجرة الوراثية التي توضح علاقة القرابة الوراثية بين <i>R. solani</i> المعزول في هذه الدراسة (معلم بمربع اسود) والعزلات العالمية لنفس نوع الفطر وأنواع أخرى تابعة لنفس الجنس	8
58	الشجرة الوراثية التي توضح علاقة القرابة الوراثية بين الفطر <i>E.multirostrata</i> المعزول في هذه الدراسة (معلم بمربع اسود) والعزلات العالمية لنفس نوع الفطر وأنواع أخرى تابعة لنفس الجنس	9
59	الشجرة الوراثية للفطر الممرض- <i>Fusarium solani</i> isolate C.arg safa1 (محددة بمربع ذي لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة (ITS) internal transcribed spacer فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining.	10
59	الشجرة الوراثية للفطر الممرض- <i>Fusarium solani</i> isolate C.arg safa1 (محددة بمربع ذي لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لجين-TEF translation elongation factor (1 α) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining	11
60	الشجرة الوراثية للفطر الممرض- <i>Fusarium solani</i> isolate C.arg	12

	<p>safa1 (محددة بمربع ذي لون اسود) والتي بنيت اعتمادا على تتابعات قواعدها النايتروجينية الخاصة بالجين RNA polymerase II (RPB 1) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining</p>	
60	<p>الشجرة الوراثية للفطر الممرض-<i>Fusarium solani</i> isolate C.arg- safa1 (محددة بمربع ذي لون اسود) والتي تم إنشأؤها بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية الخاصة بالجين RNA polymerase II (RPB2) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining</p>	13
61	<p>الشجرة الوراثية للفطر الممرض-<i>Fusarium solani</i> isolate C.arg- safa1 (محددة بمربع ذو لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لجين beta-tubulin 1 (β-tubulin) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining</p>	14
61	<p>الشجرة الوراثية للفطر الممرض-<i>Fusarium solani</i> isolate C.arg- safa1 (محددة بمربع ذي لون اسود) والتي بنيت اعتمادا على تتابعات قواعدها النايتروجينية الخاصة بالجين mitochondrial small-subunit ribosomal RNA؛ فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض التي تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank , ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining .</p>	15
63	<p>المعلومات الخاصة بتسجيل الفطر <i>F. solani</i> Karbala-1 في موقع NCBI-genome</p>	16
68	<p>المقدرة التضادية للعامل الاحيائي <i>T. koningiopsis</i> ضد الفطريات</p>	17

	المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط الزرعي PDA	
70	المقدرة التضادية للعامل الاحيائي <i>A.chroococcum</i> ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط الزرعي PDA	18
75	المقدرة التضادية للمبيد الكيميائي Beltanol ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور وموت بادرات عرف الديك على الوسط PDA	19
78	كفاءة الكايتوسان ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزرعي PDA	20
80	كفاءة حامض السالسيلك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزرعي PDA	21

1-المقدمة

تعد نباتات الزينة واحدة من المجاميع النباتية التي تمتاز بأشكالها والوانها الجميلة اذ تعمل على تجميل الأماكن وتستخدم في المنازل او المكاتب العامة لما تضيفه من بهجة وسرور على النفس وتبعث المتعة والارتياح. فضلا عن منافعها البيئية اذ تسهم في تقليل التلوث البيئي بامتصاص الغازات السامة (الجلي والخياط, 2013). واحد نباتات الزينة المعروفة نبات عرف الديك *Celosia argentea* الذي ينتمي الى عائلة *Amaranthaceae* وتكون ازهاره ذات الوان زاهية كالأحمر والاصفر والوردي والذهبي. ويستخدم في تنسيق الحدائق والمتنزهات في جميع انحاء العالم (Minfal, 2011; Koyama و Thiyajai; 2022). كذلك يمتاز بفوائده الطبية اذ يلعب دورا حيويا في برامج تطوير الادوية وتوفير العلاج للانسان في المناطق الريفية في البلدان النامية اذ تستعمل اوراقه في الطب البديل بسبب احتوائها على مركبات الفينولات والفلافونويد والسابونين والقلويدات والتانين، فضلا عن الكربوهيدرات والبروتينات والفيتامينات كما يؤكل هذا النبات كخضروات في دول غرب افريقيا وتستخدم لتخفيف اضطرابات الجهاز الهضمي وكخافض للحرارة ومضاد للاكسدة ولهذا النبات القدرة على تحمل مستويات عالية من العناصر الملوثة للتربة مثل الكاديوم (Neveux, 2007; Yu, 2007; و اخرين, 2020; Shoib; و اخرين, 2021)

تصاب النباتات بالعديد من الفطريات والتي من أهمها تلك الفطريات المسببه لاعفان الجذور مثل: *Sclerotinia sclerotiorum* , *Pythium aphanidermatum* , *Macrophomina phaseolina* , *Fusarium solani* , *Rhizoctonia solani* وكذلك الفطريات التي تصيب المجموع الخضري مثل *Alternaria alternate* و *Colletotrichum dematium* (Lodha و Mawar, 2019; و Abood, 2020).

تنتشر كثير من المشاتل في محافظة كربلاء وبابل والتي تهتم في اكثر نباتات الزينة ومنها نبات عرف الديك ولكن هذا النبات يتعرض للإصابة بالعديد من المسببات المرضية كبقية النباتات التابعة للمملكة النباتية الا ان معرفتنا بأنواع المسببات المرضية التي تصيبها في العراق بشكل عام وفي كربلاء وبابل بشكل خاص محدودة جداً. لذلك الخطوة الاولى هي تشخيص المسبب المرضي والذي على اساسه يتم اختيار الطريقة الصحيحة والفعالة من وسائل المكافحة وتعد عملية تشخيص هذه المسببات باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) وتحديد تتابع القواعد النيروجينية للواسمات الجينية الخاصة بالمسبب المرضي، فضلا عن تشخيص الجينوم الكامل ان امكن اهم وسائل التشخيص الحديثة وهذا بطبيعة الحال يمكن ان يزودنا برؤى جديدة حول تنوع هذه المسببات والتعرف على مداها العائلي من اجل اختيار الاسلوب الافضل في مكافحتها. وتستخدم في الوقت الحالي العديد من

وسائل مكافحة للتخلص من مسببات المرضية ومن اهمها المكافحة الكيميائية باستعمال المبيدات والتي تعتبر طريقة مهمة في مقاومة الممرضات على مختلف العوائل النباتية ولكن لكثرة وتكرار استخدامها ظهرت سلالات مرضية مقاومة لبعض المجاميع الكيميائية بالاضافة الى ان هذه المبيدات لها تأثير على الحشرات والكائنات المجهرية النافعة؛ فضلا عن خطورتها على صحة الانسان (Scott وآخرون, 2020, Ji وWang, 2021). ولغرض تقليل تأثير المسببات المرضية سعى العاملون والمختصون في مجال مكافحة الامراض النباتية الى البحث لإيجاد وسائل بديلة وطرق اخرى فعالة، ومنها استخدام المقاومة الأحيائية كاستخدام الفطر *Trichoderma spp.* والبكتريا *Azotobacter spp.* (Muslim وآخرون, 2021, Al-Abedy وآخرون, 2021) أذ يعد *Trichoderma spp.* من اكثر فطريات المقاومة الاحيائية تطبيقا وذلك بسبب سهولة عزله من التربة واكثاره وسرعة نموه؛ فضلا عن العلاقة التكافلية Symbiosis التي يكونها مع النباتات عن طريق استقراره في جذورها وبالمقابل يعمل على التطفل، والمنافسة، وافراز بعض الانزيمات والمضادات الاحيائية التي تؤثر بشكل مباشر على الفطريات، والنيماتودا، والبكتريا الممرضة للنبات ويعمل على تحفيزه للمقاومة الجهازية في النبات، لذلك يستخدم في الوقت الحاضر على هيئة مبيدات احيائية (Kumer وآخرون, 2021, Jiaqi وآخرون, 2022) وتعد بكتريا *Azotobacter spp.* من العوامل الاحيائية المستخدمة ايضا لكبح المسببات المرضية و هي من انواع السلالات البكتيرية المثبتة للنروجين في منطقة الرايزوسفير (العامري, 2021 ; Muslim وآخرون, 2021). كذلك من اهم الاستراتيجيات المستخدمة ضد المسببات المرضية هي: المقاومة المستحثة وذلك عن طريق التحكم في البروتينات المرتبطة بالامراضية (Prasannath, 2017), اذ تعد المستحاثات محفزات للمقاومة في بعض انواع النباتات ضد المسببات المرضية اذ اثبتت نجاحها مختبريا وحقليا فضلا عن كونها مواد غير سامة للانسان والحيوان ولايوجد لها اثار جانبية سلبية وذات تكلفة قليلة ومن اهمها حامض الساليسيلك والكايتوسان التي تعد ذات تأثير مثبت للفطريات والبكتريا وقابلة للتحلل (Intaparn وآخرون, 2020, Quaglia وآخرون, 2022). ولغرض مكافحة المسببات المرضية مع الحفاظ على البيئة وتقليل المخاطر الصحية لاستعمال المبيدات الكيميائية يعتمد على تطبيق برامج للمكافحة المتكاملة. لذلك هدفت هذه الدراسة الى تشخيص المسببات المرضية التي تصيب نباتات عرف الديك في عدد من مشاتل محافظتي كربلاء وبابل فضلا عن تقييم برنامج للمكافحة المتكاملة ضد المسببات الاكثر امراضية.

محاور البحث:

- 1- عزل مسبب مرض تعفن الجذور نبات عرف الديك في بعض مشاتل محافظتي كربلاء وبابل.
- 2- اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة على بذور الفجل الاحمر وعلى بذور نبات عرف الديك .

- ٣-التشخيص المظهري والجزئي للمسببات المعزولة الاكثر امراضية.
- ٤-اختبار المدى العائلي للمسببات الاكثر امراضية المعزولة على عدد من العوائل النباتية.
- ٥-اختبار كفاءة بعض العوامل الاحيائية ضد المسببات الاكثر امراضية مختبرياً .
- ٦-اختبار كفاءة بعض المبيدات الكيميائية ضد المسبب الاكثر امراضية مختبرياً .
- ٧-اختبار كفاءة تراكيز مختلفة من الكايتوسان وحامض السالسيلك في مكافحة المسببات الاكثر امراضية مختبرياً واختيار الافضل منها.
- ٨-المكافحة المتكاملة للمسببات الاكثر امراضية باستعمال العوامل الاحيائية والمبيدات الكيميائية الأكثر فاعلية مع الكايتوسان اوحامض السالسيلك تحت ظروف البيت البلاستيكي.

2- استعراض المراجع

1-2 نبات عرف الديك *Celosia argentea*

عرف الديك *Celosia argentea* نبات حولي صيفي ينتمي للعائلة القطفية *Amaranthaceae* (Rehman, 2015) وهو نبات زينة سريع النمو, يكوّن ازهار كثيفة (شكل 1) متفاوتة الحجم يصل عددها نحو العشرين زهرة في النبات الواحد, تتميز هذه الازهار بألوانها الجميلة فمنها الحمراء القانية والبنفسجية والصفراء والوردية والقرمزية والبرتقالية والارجوانية وتعد من اجمل ازهار القطف, ويعد اللون الاحمر اكثر الوان ازهار هذا النبات شيوعا, يصل ارتفاع النبات من 35- 60 سم او اكثر, الاسم العام لنبات عرف الديك مشتق من الكلمة اليونانية Kelos والتي تشير الى السنة الذهب الشبيهة بنهايات ازهار هذا النبات وله تسميات شائعة عديدة منها: الثعلب الاحمر, والسبانغ الحمراء, وعرف الديك؛ ومن اشكال ازهاره ما يشبه شكل الذهب, ومنها ما يشبه شكل المخ بتعرجاتها, ومنها ما يشبه ذنب القط بشكله الطولي والازهار مخملية الملمس (Divya واخرون, 2019).

ينتشر هذا النبات في جميع انحاء قارة افريقيا والهند ومناطق حوض البحر الابيض المتوسط وامريكا الشمالية, يتكاثر نبات عرف الديك بواسطة البذور التي تزرع في فصل الربيع, ويزهر النبات في حزيران وصولا الى اواخر ايلول, والزهرة الواحدة تنتج مئات البذور السوداء الصغيرة الحجم؛ وهذا النبات حساس للبرد والصقيع ولا يتحمل شدة الرياح والري الزائد (Giabimej واخرون, 2018; Kamoru واخرون, 2020).

يعد نبات عرف الديك من نباتات الزينة الصالحة للأكل؛ اذ تتميز اوراقه بنكهة شبيهة بنكهة السبانغ كذلك تعد السيقان والازهار مصدراً غنياً بالبروتين وفيتامين A و C وكذلك غني بالحديد والكالسيوم والفسفور, ويحظى هذا النبات بأهمية في الطب التقليدي بسبب خصائصه العلاجية لعدد من الامراض مثل: تقرحات الفم ويمتاز بكونه مضاد للبكتريا وللتهابات وقد تم عزل اكثر من مركب من هذا النبات منها Saponine, Polypeptide, Phenoles, Fatty acid و Amino acid واكثرها نشاطا من الناحية العلاجية هي ال Saponine, اذ تغلى الاوراق ويستخدم ماء الغلي في عمل كمادات ساخنة لعلاج الروماتزم في افريقيا واسيا والهند ويوجد هذا النبات المتعدد الاستخدامات في المتاجر المتخصصة في الاعشاب العلاجية في جميع انحاء العالم, كذلك تسحق الاوراق ويصنع منها كمادات ناجحة في علاج الجروح ولسعات الحشرات؛ فضلا

عن استخدامه في علاج الاورام وكمضاد للاسهال والسكري وارتفاع ضغط الدم (Tang وآخرون,2016; Sangekar وآخرون,2018 و Sun وآخرون,2022).

كذلك تستخدم ازهار النبات الحمراء في صناعة مستحضرات التجميل؛ كونها تحتوي على زيوت عطرية فواحة؛ فضلا عن ذلك فهي تعمل بمثابة قابض اومضيق للمسامات اضافة الى استخدامها في صناعة المستحضرات والكريمات المضادة لعلامات التقدم في السن(Tang وآخرون,2016).



شكل 1 : نبات عرف الديك *Celosia argentea* (اخذت هذه الصور اثناء هذه الدراسة)

2-2:امراض تعفن الجذور

تعد امراض الجذور واحدة من أهم مجاميع الأمراض النباتية في جميع أنحاء العالم؛ والتي تؤثر على العديد من العوائل النباتية (Nzungize وآخرون,2011; Gonzalez وآخرون,2011) وتمثل أعراض هذه الأمراض تهديدا كبيرا لأن الضرر يبدأ تحت الأرض اذ لا يمكن تمييز الأعراض وهي في مراحلها الأولية لذلك عندما تظهر الأعراض على الجزء العلوي من النبات فإن النبات يكون قد وصل إلى مراحل متقدمة من الضرر والتي لا يمكن السيطرة عليها في بعض الأحيان ,أن ابرز الأعراض المرضية المصاحبة لأمراض تعفنت الجذور بصورة عامة هي تحول لون الجذور إلى اللون البني مع تلين الأنسجة المصابة إذ تصبح غضة ومتحللة يرافقها تكون تسوسات او لطخات او تبقعات على الجذور تختلف في العدد والحجم واللون - من المحمر إلى البني والأسود مع تقصف الجذر يرافقها اصفرار الأوراق وذبولها و توقف نمو

النبات وقلة الغلة (Williamson-Benavides وDhingra, 2021; دخيل, 202; Lahlali وآخرون, 2022). يعتمد تقدم الإصابة بمسببات أمراض الجذور ونجاحها على توفر شروط هرم البوائية، الذي يشتمل على التفاعلات بين العائل والممرض والظروف البيئية إذ تتأثر أمراض الجذور بشدة بالبيئة وتفضل رطوبة التربة المعتدلة إلى العالية، ودرجة الحرارة المثلى لنمو العوامل الممرضة، ونسجة التربة، وسوء الصرف، وزراعة المحاصيل المستمرة أو المتكررة والعوامل الأخرى التي تسهم في إجهاد النبات تنتج هذه الأمراض عن العديد من مسببات الأمراض الكامنة في التربة، والتي يكون بعضها متخصص على العائل وبعض الآخر ذو نطاق أوسع من العوائل النباتية (Shah وآخرون, 2022)، تعود مسببات أمراض الجذور إلى مجاميع مختلفة من الكائنات الحية المجهرية؛ مثل: البكتيريا bacteria، و الطلائعيات البيضية Oomycetes، والفطريات Fungi (Karuri, 2022)؛ فضلا عن ذلك تلعب نيماتودا الجذور والحشرات والطفيليات الأخرى دورا مهما في تسهيل حدوث أمراض الجذور عن طريق عمل جروح على جذور النباتات تمكن المسببات المرضية من الدخول إلى أنسجة الجذور واحداث الإصابة، وتعد الفطريات Fungi من أكثر العوامل المسببة لتعفنات الجذور تعدادا إذ يمكن أن تبقى كامنة في الشتاء في بقايا العائل أو الادغال والتربة الموبوءة لسنوات عديدة (Arora وآخرون, 2021; دخيل, 2021) ومن أهم هذه الفطريات:

2-2-1: الفطر *Fusarium spp.*

تعد الانواع العائدة للفطر *Fusarium spp.* من الفطريات المستوطنة في التربة وذا توزيع جغرافي واسع؛ إذ تنتشر في جميع بقاع العالم في المناطق الاستوائية، وشبه الاستوائية، او المناطق الباردة او المناطق الدافئة والمعتدلة وبمختلف انواع الترب الا ان كثافتها تزداد في منطقة حول الجذور (Rhizosphere) لمختلف النباتات (Agrios, 2005) ولها قدرة عالية على مقاومة الظروف البيئية غير الملائمة فضلا عن احتواء هذا الجنس على انواع تصيب النبات في مراحل نموه المختلفة (Elewa وآخرون, 2011) توجد العديد من انواع الفطر *Fusarium spp.* في التربة على هيئة Chlamdospores او غزل فطري (mycelium) على مخلفات النبات والمواد العضوية (Anyanga, 2016) يكون الفطر *Fusarium spp.* ثلاثة انواع من الابواغ، ابواغ كونيدية صغيرة Microconidia اهليلجية الشكل؛ وقسم منها اسطوانية الى بيضوية مكونة من خلية او خليتين تنتج من ال Monophielides طويلة تحمل جانبيها على غزل فطري هوائي وابواغ كونيدية كبيرة Macroconidia مغزلية غير متماثلة متغايرة في ابعادها ومقسمة بحواجز عرضية الى عدد من الخلايا والنوع الثالث من الابواغ هي ال Chlamydospores التي تنتج مفردة او بشكل ازواج في فروع جانبية صغيرة، او وسط الغزل الفطري، يسبب هذا الفطر اعراض مختلفة منها:

تعفن البذور، وموت البادرات، وتعفن الجذور ومنطقة التاج (Leslie و Summerell، 2006). كذلك يسبب امراض الذبول وتعفن وموت البادرات لأكثر من 100 نوع من النباتات المهمة اقتصاديا ويعد من اكثر الفطريات المعزولة من التربة المزروعة بالمحاصيل الاقتصادية (Muthukumar وآخرون، 2018 ودخيل (2021،

يضم جنس *Fusarium* اكثر من 90 نوعا متغيرا اعتماداً على النظام التصنيفي المستعمل (Makun وآخرون، 2011؛ Fapohunda وآخرون، 2012) فتوضع افراده في قطاعات (Sections) اعتماداً على شكل الكونيديا الكبيرة *Macroconidia* وشكل الخلية القاعدية *cell basal* ووجود وعدم وجود الكونيديا الصغيرة *Microconidia* او وجود او عدم وجود الابواغ الكلاميدية *Chlamydospore* وموقعها (طرفي او بيني) من الغزل الفطري (Makun، 2011 و Li وآخرون، 2000 و Ponukumati وآخرون، 2019)

يعد الباحث Fires اول من سجل الجنس *Fusarium* في عام 1812 (Booth، 1971) وهو من الفطريات الكيسية *Ascomycota* ويتبع صف *Sordariomycetes* ويتبع رتبة *Hypocreales* وعائلة *Nectriaceae* و (Gupta، 2013) يسبب الفطر *Fusarium spp.* خسائر اقتصادية كبيرة وانخفاضا في الانتاج العالمي يصل الى حوالي % 40-30 وفي الظروف المناسبة قد يصل الى % 80 (Nirmaladevi وآخرون، 2016).

يعد الفطر *Fusarium spp.* من أهم فطريات التربة الاختيارية التطفل (Facultative Parasite) اذ يعيش مترمما على المواد العضوية في التربة وعند وجود عائله النباتي فإنه يتطفل عليه، ويميل الى التطفل على الانسجة الحية بدرجة أكبر من ميله الى المعيشة بصورة رمية على البقايا النباتية (Batson وآخرون، 2020). ويعدمرض تعفن الجذور المتسبب عن *Fusarium spp.* مرضا شائعا في العديد من المحاصيل الزراعية وتشمل الأعراض تكون تقرحات بنية فاتحة مستديرة أو غير منتظمة في البداية تتحول إلى سوداء اللون داكنة على الجذور والسيقان تحت الأرض وفي حالة الإصابة الشديدة يرافقها تقزم وموت لمعظم النباتات المصابة (Agrios، 2005). يوجد انواع مختلفة تعود الى الجنس *Fusarium spp.* تسبب هذه الأمراض على مدى واسع من العوائل النباتية، ويعد الفطر *F. solani* من اكثر المسببات المرضية التابعة لجنس *Fusarium* ضراا ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة للمحاصيل (Avery وآخرون، 2019 و Jiao وآخرون 2022) اذ يصيب الجذور ويسبب تعفنها خصوصا في المراحل الوسطى والمتأخرة من نمو النبات (Li و Li، 2022). ان الفطر *F. solani* هو اكثر الفطريات وجوداً عند عزله من التربة

والجذور (Saengchan وآخرون 2022)؛ إذ يعيش الفطر بصورة مترممة أو اختيارية التطفل على النباتات مسبباً مجموعة من الحالات المرضية، ويصيب جذور النباتات البالغة ويسبب تعفنها وكذلك يسبب موت البادرات (Mészárosné Poss وآخرون، 2021).

أشار (Munkvold, 2017 و Podgórska-Kryszczuk وآخرون، 2022) إلى أن الأعراض التي تظهر على النبات نتيجة إصابته بالفطر *F. solani* تعود إلى إفراز الفطر سموم تنتقل إلى المجموع الجذري، ومن هذه السموم Fusaric acid, Javanicin, Polpeptide toxin, Zearalenone, Nivalenol, Deoxynivalenol، وأن الإصابة الناجمة عن اللقاح الفطري المكون من الأبواغ الكلاميكية تكون أشد، مقارنةً بالأبواغ الكونيدية الصغيرة، كما أن أنابيب إنباتها تمتلك مخزوناً غذائياً عالياً له القدرة على إختراق الجذور وإنتاجها للمواد الايضية السامة (Nelson وآخرون، 1986).

إن أعراض الإصابة بالفطر *F. solani* تبدأ بتعفن تدريجي للجذر حتى يشمل كامل الجذر مع تلون أحمر في الجهاز الوعائي للجذر، تتقدم الإصابة إلى قاعدة الساق وتصبح الأنسجة المصابة ذات لون بني يتخلله مناطق حمراء، كما يظهر تلون للجذر الرئيس والجذيرات الفرعية بلون بني أو بني مسود، أو بشكل بقع بنية غامقة؛ وقد تظهر أعراض الاصفرار والجفاف على الأوراق أو المجموع الخضري، ولكن من دون تلون للأوعية الخشبية (Li و Li، 2022 و Saengchan وآخرون، 2022).

***Rhizoctonia solani* 2-2-2**

يعود الفطر *R. solani* إلى صف الفطريات البازيدية Basidiomycota وإلى صف Agaricomycetes وتحت قسم Agaricomycotina ورتبة Cantharellales وعائلة Ceratobasidiaceae ويتميز النوع *Rhizoctonia solani* بأن غزله الفطري متعدد الانوية Multinucleate وله طور جنسي بازيدي هو *Thanatephorus cucumeris* أما الأنواع التي يكون غزلها الفطري احادي الانوية Uninucleate، ينمو هذا الفطر بشكل رقيق مشابه لنمو الاعفان الفطرية سواء على اجزاء النبات المصاب أو التربة ما ان تتوفر الرطوبة العالية (Whitney و Paramete، 1970 و Alexopoulos وآخرون، 1996).

سجل الجنس *Rhizoctonia sp.* ووصف لأول مرة من قبل العالم Decandolle في عام 1815 وسجل النوع *solani* لأول مرة وشخص مظهرها من قبل العالم الألماني Julius kuan في عام 1858 من خلال عزلة من درنات البطاطا (El-kazzaz وآخرون، 2022).

يتميز الغزل الفطري للفطر *Rhizoctonia solani* بتكوين خلايا طويلة متفرعة وتشكل على الخيط الفطري الرئيس زوايا قائمة؛ فضلا عن تكوينها تخرصات عند مناطق الاتصال والتي تعد اهم صفة من الصفات التشخيصية لهذا الفطر, تمتاز خلايا هذا الفطر بكون الحواجز الموجودة بينها مزدوجة الثقوب (Dolipore septum)؛ والتي تسمح بحركة الانوية والساييتوبلازم والميتوكوندريا بين الخلايا المجاورة (Ajayi-oyetunde وBradley, 2018) يتصف الغزل الفطري بانعدام لونه في بداية النمو ثم ما يلبث ان يتغير الى اللون البني مع تقدمه بالعمر وبعدها يصبح سميكاً, ويمتاز الغزل الفطري بكثرة تفرعاته كما ان له امكانية في تكوين اجسام حجرية Sclerotia سوداء اللون حرشفية برملية الشكل يحيط بها غلاف بني مسود وتكون مملوءة بالغذاء ولها القدرة على مقاومة الظروف البيئية المتطرفة (Alexopoulos وآخرون, 1996). بهدف التفريق بين *R. solani* وبين بقية الانواع يستعمل الباحثون الحالة التشريحية للحايز وكذلك عدد الانوية (Vilgalys وCubeta, 1997).

تعد الظروف البيئية عاملا مهما في انتشار ونمو الفطر *R. solani*؛ فهو ينمو بشكل مثالي عند درجة حرارة 25-30°م ورطوبة نسبية اكثر من 60% (ديوان, 1994 وSharma وآخرون, 2013 وAbdelghany وآخرون, 2022).

بين فالح (2020) وSenapati وآخرون (2022) وCunha وآخرون (2022) بان للفطر *R. solani* القابلية على التواجد في الطبيعة بهيأة اجسام حجرية وله القدرة على البقاء في التربة لمدة طويلة او على شكل غزل فطري ويمتاز الاخير بسرعة نموه في التربة وله القابلية على البقاء بشكل مترمم على المواد العضوية في التربة لمدة تزيد عن سنة .

ينتج الفطر *R. solani* العديد من الانزيمات مثل: pectinase وpectinmethylhydrase التي تساعد على تفكيك جدران الخلايا النباتية (Majumdar وآخرون, 2022 وSun, 2022) فضلا عن افراز الفطر للمواد السامة (Toxins) وبعض منها ذو طبيعة كلايكوسيدية وفينولية , ويفرز مواد اخرى مثل حامض Phenylacetic acid وp- and m- hydroxy derivatires (Bertagnolli وآخرون, 1996 وZiedan, 2022).

يعد الفطر *R. solani* من الفطريات الاختيارية التطفل فمن الممكن ان يبقى في التربة لفترة طويلة على شكل خيوط فطرية سميقة الجدران (Risting mycelia) او على شكل تراكيب صلبة ذي جدران سميقة تعرف بالاجسام الحجرية (Sclerotia) معتمدا بذلك على المادة العضوية وبقايا النباتات (جعفر, 2012)

وPrabhukarthikeyan وآخرون, 2022) وهو احد اهم المسببات المرضية لتعفن البذور وموت البادرات ويتواجد في جميع انحاء العالم وبمدى عائلي واسع يصل الى اكثر من 500 نوع نباتي و125 جنس تنتمي لعوائل نباتية عديدة منها العائلة البقولية (Fabaceae) والعائلة الباذنجانية (Solanaceae) والعائلة النجيلية(Poaceae) والعائلة المركبة(Asteraceae) وايضا بعض الاشجار ونباتات الزينة وتعد الاعلاف والخضر والحبوب من العوائل المفضلة للفطر (Farr وآخرون, 1995, Ogoshi و1996, Kareem وHassan, 2013 وAnderson وآخرون, 2016), اذ تصاب العوائل النباتية بالفطر *R. solani* في جميع مراحل نموها فيصيب البادرات والنباتات الكبيرة ويؤدي الى تعفن الجذور والبذور وتقرح السيقان ويحدث خسائر اقتصادية كبيرة مسببا موت البادرات قبل وبعد البزوغ(Abdoulaye وآخرون, 2019 وPrabhukarthikeyan وآخرون, 2022).

وجد ان الفطر *Rhizoctonia sp.* هو احد المسببات المرضية للعديد من النباتات مثل: الطماطة، واللهاية، والخيار، والباميا، والباقلاء، والباذنجان، والبنجر السكري، والحنطة، والذرة، والفجل؛ مسببا لها موت البادرات وتعفن البذور(حسون, 2005 و فالح, 2020) كما يصيب بذور نباتات اخرى تابعة للعائلة النجيلية كالشعير، والحنطة، والذرة الصفراء، والشوفان، والرز، ويصيب ايضا نباتات العائلة البقولية مثل: الباقلاء، وفول الصويا، والعدس، وكذلك نباتات تابعة للعائلة الباذنجانية كالبطاطا، والطماطة، والتبغ؛ فضلا عن اصابته للعائلة التوتية (Moraceae) والعائلة الخبازية (Malvaceae) كالقطن وعائلة الكاردينيا(Rubiaceae) كنبات القهوة العربية والعائلة الصليبية (Barassicaceae) كالشلغم والعائلة الكتانية (Linaceae) كنبات الكتان والعائلة المركبة(Asteraceae) كنبات الخس وعائلة الفلقاس(Araceae) كنبات البوتس ونبات البنجر السكري التابع للعائلة القطيفية (Amranthaceae)(Wilson وآخرون, 2008, Ajaya- Oyetunde, 2018).

يهاجم الفطر الاجزاء النباتية النامية فوق وتحت سطح التربة مثل: البادرات، والسيقان، والاوراق، والبراعم، والبذور، والجذور، والثمار(العبيدي, 2019) و من اهم الاعراض المرضية هي ظاهرة عدم انبات البذور المصابة كما ويسبب الفطر ظهور تقرحات على البادرات المصابة غير الميته وتكون بشكل تقرحات غائرة بنية محمرة على منطقة الساق القريبة من سطح التربة (Ogoshi, 1996 وفالح, 2020), وتعد الغزل الفطري والاجسام الحجرية للفطر المتواجدة في المخلفات النباتية المصابة هي المصدر في معظم الامراض ويعتقد ان السبورات البازيدية لا يكون لها تأثير في حدوث مرض التعفن الجذري وموت البادرات المتسببة عن الفطر عند موسم النمو (Cubeta وVilgaly, 1997).

يبدأ الفطر *Rhizoctonia sp.* و العديد من فطريات التربة باصابة الشعيرات الجذرية وتمتد فيما بعد الى الجذور الرئيسية والثانوية؛ فضلا عن اصابتها منطقة التاج والاعراض تظهر بهيأة تقرحات و تؤدي الى اصفرار وضعف الاجزاء الهوائية، وقد يتطور الامر الى موت البادرات (2005, Agrios و 2014, Kapadiya و Prabhukarthikeyan وآخرون, 2022)

يبقى الفطر *R. solani* في التربة او على النباتات المصابة بمختلف اجزائها سواء في بذورها او اجزائها التكاثرية وغيرها على شكل خيوط فطرية (Hyphae) او اجسام حجرية (Sclerotia) صغيرة الحجم ذات لون بني؛ وعند ملائمة الظروف من درجة حرارة ورطوبة سرعان ما تنبت هذه التراكيب وتتطور لتكون الغزل الفطري والذي يكون مسؤولا عن حدوث الاصابة؛ اذ يهاجم الفطر اجزاء النبات مخترق الانسجة؛ وبالتالي موت وتهتك الانسجة عند وصول الاصابة الى قاعدة الساق عند منطقة الاتصال بالجذور؛ مما يؤدي الى ضعف انسياب الماء والمواد الغذائية لأجزاء النبات (Feng وآخرون, 2017 و Majumdar وآخرون, 2022) تكون الاصابة بالفطر *R. solani* اكثر ضراوة في الترب ذات الرطوبة المعتدلة مقارنة بتلك الغدقة والجافة، كما ان اصابة الفطر للنباتات الحديثة تكون اشد واسرع مقارنة بتلك المتقدمة بالعمر والتي تكون اكثر مقاومة بفعل بنائها النسيجي والكيميائي ضد الفطر الممرض (الطائي, 2017 و Abdelghany وآخرون, 2022)، كما ان النبات عند تعرضه لإجهادات غير حيوية ايضا من العوامل المشجعة لحدوث الاصابة بالفطريات الممرضة ومنها الفطر *R. solani* (جبر وآخرون, 2002).

3-2-2 الفطر *Ectophoma multirostrata*

يعود الفطر *E. multirostrata* الى مملكة الفطريات الحقيقية True fungi والى قسم الفطريات الكيسية Ascomycota؛ اذ تمتاز فطريات هذا القسم باهميتها البيئية والاقتصادية؛ فهي تسبب الاضرار للانسان والحيوان والنبات؛ ويعود الى صف ال Dothideomycetes فطريات هذا الصف كانت تسمى سابقا بالفطريات المسكنية Loculoascomycetes؛ وسميت بهذا الاسم لكون الاجسام الثمرية التابعة لها تتكون داخل فراغات تسمى مسكن ويتبع رتبة Pleosporales وعائلة Didymellaceae (Alexopollus) (آخرون, 1996).

يكون الفطر *E. multirostrata* مستعمرات فطرية زيتونية الى بنية اللون ويمتاز بوجود غزل فطري مقسم؛ فضلا عن وجود كونيديا بيضوية احادية الخلية؛ وبكونيديا دورقية الشكل داكنة اللون، والكونيدات الوحيدة الخلية بابعاد 7.38- 8.30 مايكرون في الطول و3.44-3.85 مايكرون في العرض وبكونيديا عرضها

60.83-74.11 مايكرون وطولها 97.56-112.66 (Kashyap وآخرون، 2022). اذ عزل هذا الفطر لأول مرة في الهند وسجل كمسبب لتعفن جذور وموت بادرات الحمص وقد تؤدي الإصابة بهذا الفطر الى ظهور تعفن جاف على الجذور الجانبية للنباتات المصابة مع تنخر الجذر الرئيس للنبات المصاب (Chobe وآخرون، 2020).

3-2 طرق تشخيص الفطريات

1-3-2 التشخيص المظهري للفطريات الممرضة

تعد عملية تشخيص مسببات أمراض النبات و منها الفطريات من الحاجات الملحة بهدف إيجاد طريقة العلاج الكفوءة للمرض و السيطرة عليه , وتوجد العديد من الصفات المظهرية التي يعتمد عليها الباحثون في تشخيص الفطريات؛ وذلك بالاعتماد على مفاتيح تصنيفية (Leslie و Burgess و Summerell, 2006 و وآخرون، 2008). للتشخيص المظهري فائدة كبيرة في حصر الفطريات المعزولة في مجاميع اصغر بالاعتماد على صفاتها إلا إن هناك العديد من المشاكل التي ترافق التشخيص المظهري و منها الحاجة إلى وقت و جهد كبيرين؛ فضلا عن حاجة القائم بعملية التشخيص إلى خبرة عالية و خصوصا مع الأنواع القريبة التشابه فيما بينها كأنواع الفطر *Fusarium* و الفطر *Aspergillus* (Wang وآخرون، 2016 و Raja وآخرون، 2017 و Tilahun وآخرون، 2022 و Suwannarach وآخرون، 2022). تبين عن طريق نتائج أبحاث سابقة أن التشخيص المعتمد على الصفات المظهرية، لا يخلو من الأخطاء، فمثلا وجد Yang و آخرون (2007) و Hsuan و آخرون (2011) خطأ في التشخيص المظهري لأنواع تابعة للفطر *Fusarium spp.* عند إعادة تشخيصها مرة أخرى بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR). كما أن هناك عوامل معروفة بمسؤوليتها عن تغير الصفات المظهرية؛ ومنها: الرطوبة والإضاءة التي من الممكن أن تؤثر على لون و أشكال و أحجام الأبواغ و المستعمرات الفطرية النامية؛ فضلا عن نوع و طبيعة وسط التنمية. (Calhim وآخرون، 2018)

2-3-2 التشخيص الجزيئي للفطريات الممرضة

نظرا للحاجة إلى التشخيص الدقيق للفطريات، كان لابد من التفكير بإيجاد نظام تشخيص دقيق أو شفرة وراثية (Barcoding DNA) و التي تمثل طريقة تصنيفية سهلة و سريعة تستخدم فيها واسمات جينية قصيرة (Marker genetic short) ضمن جينوم الكائن الحي (Chu و آخرون، 2006). واحدة من التقانات الجزيئية المستخدمة في تشخيص الكائنات الحية و منها الفطريات هي تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل

PCR (Polymerase chain reaction) التي تعتمد على إنتخاب و تضخيم منطقة محددة من جينوم الكائن الحي و الكشف عن التغيرات أو التشابهات في تسلسلات نواتج الحامض النووي (PCR-amplified products) لتلك المناطق الجينية المضاعفة من تلك الأنواع الفطرية؛ و التي ستؤكد التشخيص المظهري للفطريات المدروسة، استخدمت هذه التقنية لأول مرة عام 1985 من قبل الباحث Kary الذي حصل على جائزة نوبل عام 1993 (Chandra) و آخرون ، 2008 و Al-Sanae و آخرون، 2016 و Frisvad و آخرون، 2019).

إن معرفة درجة التشابه و الاختلاف الوراثي على مستويات تصنيفية وراثية بين أفراد النوع الواحد أو السلالات التابعة لنوع معين أو أنواع و أجناس مختلفة و بالاعتماد على نواتج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR products) يعرف بالتنميط الوراثي (Genotyping)، وان للاختلافات الموجودة في المنطقة الجينية المعروفة بـ ITS (Intragenic transcriptional spacer) و تحديدا على الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (rDNA) في الكائنات الحية الحقيقية النواة أهمية كبيرة في تشخيص تلك الكائنات الحية؛ و منها: الفطريات مثل *F. proliferatum* و *Pythium spp.* و *Cladosporium spp.* و *Aspergillus niger* و *F. verticillioides* (Al-Sharmani) و آخرون، 2019، و AL-Abedy و آخرون، 2020). اسهم التعرف على هذه المنطقة الجينية (ITS) وبشكل واضح في تحديد طريقة دقيقة في تشخيص الفطريات على مستوى الأنواع أو السلالات التابعة لنوع الواحد أو أنواع مختلفة و كذلك إعطاء صورة واضحة عن العلاقات الوراثية (Phylogeny) بين تلك الأنواع أو السلالات (Conrad) و آخرون ، 2012 و Fiorenza، 2022)، اذ صممت بادئات ترتبط بهذه الواسمات من اجل تضاعفها باستعمال طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) ومن ثم تحديد تسلسل القواعد النايتروجينية لها (DNA sequencing) للكشف عن التغيرات أو التشابهات في تسلسلات نواتج الحامض النووي (PCR-amplified products) لتلك المناطق الجينية المضاعفة ومقارنتها مع تسلسلات القواعد النايتروجينية للسلالات و الأنواع الفطرية المخزنة ضمن مستوعبات خاصة في بنك الجينات (GenBank) التابع للمركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية (NCBI) National Center for Biotechnology Information باستعمال برنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Raja) و آخرون، 2017 و Paudel و آخرون، 2020، و Azizi و آخرون، 2022)؛ اذ امتازت هذه التقنية بدقتها وسرعتها في إعطاء النتائج وسهولة تطبيقها علما أنها لا تتطلب وجود تراكيز عالية من الحامض النووي للفطر DNA ولا تستدعي توافر معلومات مسبقة عن التركيب الوراثي له وكذلك يمكن استخدامها لدراسة عدد كبير من العزلات في وقت واحد، علماً ان نتائج هذه

العملية التشخيصية ستؤكد التشخيص المظهري للفطريات المدروسة (Shinohara وآخرون، 2021 و Dolatabadian و fernando، 2022).

4-2 مكافحة الفطريات المسببة لأمراض تعفن الجذور

1-4-2 المكافحة الاحيائية Biological control

المكافحة الاحيائية Biological Control هي احد الاجراءات الوقائية لاختزال شدة المرض باليات مختلفة عن طريق خفض كثافة لقاح المسبب المرضي عن طريق اضافة الكائنات الحية الدقيقة المضادة وتنشيطها في البيئة لمكافحة المسبب المرضي (ابو عرقوب، 2000 و Abdel-Kader وآخرون، 2021) ، تعد مكافحة الاحيائية من اقدم الطرائق المستعملة في مكافحة الافات ونالت حيزا كبير من اهتمام الباحثين على وفق الجوانب الايجابية لها في البيئة مقارنة مع المبيدات الكيميائية المستعملة لنفس الغرض (Manganiello، 2018) ، وتعد الكائنات الدقيقة الموجودة في منطقة الجذور من الوسائل الاحيائية التي استعملت لمكافحة الممرضات النباتية وذلك عن طريق استغلال نشاطاتها ضد مسببات الامراض المخلفة ، اذ تعد منطقة الرايزوسفير المنطقة الاكثر فعالية في تحديد الاحتياجات الغذائية بسبب النشاط العالي لحياء التربة المجهرية ، لذا فان رفع كفاءة النبات لامتصاص العناصر المغذية يعتمد بدرجة كبيرة على تواجد احياء التربة المجهرية الحرة التكافلية المعيشة في هذه المنطقة (Ozdemir وآخرون، 2020) .

تعيش اعداد كثيرة من الاحياء المجهرية في التربة ومنها اجناس فطرية ، مثل الجنس *Trichoderma* و *Aspergillus spp.* و *Paecilomyces spp.* و *Penicillium spp.* لها قدرة تضادية ضد الفطريات الممرضة للنبات، كما تعد البكتريا المشجعة لنمو النبات *Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)* من العوامل الاكثر نجاحا في برامج مكافحة الاحيائية ، و احيانا تعد طريقة بديلة عن استعمال المبيدات الكيميائية (Vocciante وآخرون 2022 و Massa وآخرون، 2022)، و تشمل انواعا منها: *Azospirillum spp.* و *Azotobacter spp.* و *Bacillus spp.* و *Pseudomonas spp.* وغيرها ، اذ تعمل هذه البكتريا على استعمار جذور النباتات ومنطقة الجذور وكذلك اعداد قليلة منها لها القدرة على الاختراق الى داخل انسجة الجذور عن طريق الجروح والخدوش وبذلك تكون اكثر تخصصا ، فهي تعزز نمو النبات وتحميه من الامراض عن طريق آليات مختلفة ، مثل قدرة هذه الانواع من البكتريا على التنافس على الاوساط الغنية بالمواد الاولية (Silva وآخرون ، 2021) ، وتحفيز المقاومة الجهازية في النبات ضد العديد من المسببات المرضية و انتاج مضادات حيوية (Ghadamgahi وآخرون، 2022)، وتخليق الهرمونات النباتية والنتروجين كذلك مقدرتها على اذابة الفوسفات غير القابلة للذوبان وتزيد من

جاهزية العناصر الغذائية المهمة للنبات مثل: Mg , Cu , N, P , K, Fe, M ، فضلا عن قدرتها على انتاج منظمات نمو النبات Indole acetic acid (IAA) ولها القابلية على تثبيت النتروجين في التربة ، وتعمل على زيادة المساحة السطحية للجذر عن طريق تحفيز النبات على تكوين شعيرات جذرية جديدة ، كما وجد ان بكتريا *Pseudomonas fluorescens* عند اضافتها الى التربة او تغطيس بذور النباتات في معلق المزرعة البكتيرية الى تحفيز المقاومة الجهازية ضد كثير من مسببات المرضية (Sharma وآخرون 2022, Khalifa وآخرون 2022).

1-1-4-2 الفطر الاحيائي *Trichoderma* spp.

ينتمي الفطر *Trichoderma* sp. إلى قسم الفطريات الكيسية Ascomycota وصف Ordariomycetes ورتبة Hypocreales وعائلة Hypocreaceae (Alexopoulos, 1996 والتميمي، 2019) . يعود تاريخ اول اكتشاف ووصف لجنس الفطر *Trichoderma* الي العام (1794) في المانيا من قبل العالم (Person) وفي العام 1865 اكتشف ووصف الجنس *Hypocrea* الذي يعد الطور الجنسي للجنس *Trichoderma* ولكن لم تكن هذه الحقيقه معروفه في ذلك الوقت, وبعد حصول تطور كبير في مفاهيم تصنيف الفطريات تم اكتشاف العديد من الانواع الجديدة التابعة الى جنس *spp. Trichoderma* والتي تستعمل حالياً بشكل واسع في المقاومة الاحيائية للعديد من الفطريات الممرضة للنبات, اذ تمتاز اكثر هذه الانواع بسرعة النمو على الأوساط الغذائية الصناعية منتجة أعداد هائلة من جراثيم كونيدية ذات أحجام صغيرة خضراء أو بيضاء اللون واقعة في نهاية التفرعات المتعددة للحوامل الكونيدية, فضلا عن قابلية النمو و التكاثر و الانتشار في مختلف البيئات عن طريق نموه في الترب كافة تقريبا بوصفه من الفطريات الكامنة في التربة وعلى النباتات المتحللة مع ندرة تطفله على النباتات (Kumar و Khurana, 2021 و Metz و Hausladen, 2022).

وضح Sood وآخرون(2020) إن نجاح استخدام أنواع من الجنس *Trichoderma* كمقاوم احيائي هو نتيجة لامتلاكه مختلف الاليات التضادية التي اثبتت فعالية ضد طيف واسع من مسببات المرضية يمكن اجمالها الى الخصائص والاليات المباشرة وغير المباشرة:

A- الخصائص والاليات المباشرة

1-انتاج الانزيمات:

تنتج انواع الفطر *Trichoderma spp.* طيفا واسعا من الانزيمات المحللة مثل β -Chitinases, Glucanase و glucanases, Cellulases التي تحلل جدران خلايا المسببات المرضية كونها تحتوي على المواد Chitine و Glucane و Protein ؛ مما يسمح باختراقها والبدء بفعالية الاستعمار والتطفل عليها (Hermosa و اخرون, 2012 و Tyskiewicz و آخرون 2022) كما ينتج انزيمات Proteases و Srineprotase التي تعمل على تثبيط عمل بعض انزيمات المسبب المرضي التي يستخدمها في تحليل جدران خلايا النباتات التي يصيبها، وهذا بالنتيجة سوف يعمل على إيقاف دورة المرض في بدايتها (Haggag, 2006 و Harman, 2006)

2- إنتاج المضادات الحيوية:

للفطر *Trichoderma spp.* القابلية على إنتاج بعض المضادات الحيوية، و التي لها تأثير مباشر في قتل او تثبيط الكائن المنافس من الكائنات الحية الأخرى (Zin و Badaluddin, 2020). من بين تلك المضادات الحيوية Peptaibols و Polyketides و Steroids و Trichorizianines و Alamethicine و Trichodermin و Suzukacillin التي تعمل على منع تنشيط نمو الخيط الفطري للمسبب المرضي المنافس و تثبيط إنتاجه للابواغ وان إنتاج مثل هذه المركبات يعتمد بشكل اساس على وفرة العناصر الغذائية مثل: افرازات الجذور؛ و وجود العناصر المعدنية في التربة و كذلك الظروف البيئية الملائمة (Harman, 2006 و شمران, 2017).

3- التنافس:

تمتاز بعض انواع الفطر *Trichoderma spp.* مثل الفطر *T. harzianum* بسرعة نموه العالية وطاقته التكاثرية الكبيرة والتي تمكنه من التنافس والتغلب على الفطريات الممرضة في اشغال الحيز البيئي المحيط بجذور النباتات عن طريق اقامة علاقة تكافلية معها ومن ثم توفير الحماية لها من الإصابة بمسببات امراض النبات الكامنة في التربة؛ وهذا بدوره سوف ينعكس إيجاباً على حيوية النباتات (Benitez و اخرون, 2004 و التميمي, 2019).

4- التطفل:

تتطفل بعض انواع الفطر *Trichoderma spp.* على العديد من الفطريات الممرضة بسبب صغر اقطار خيوطه الفطرية (1.5- 3 مايكرون) مقارنة بأقطار خيوط الفطريات الممرضة (5- 7 مايكرون) مما يجعله اكثر قابلية على التطفل (Benítez و اخرون 2004 و Vinale و اخرون، 2008 و Lahlali و آخرون

(2022, ان آليات التطفل لانواع الفطر *Trichoderma spp.* يمكن تلخيصها بعدة مراحل ابتداء بالتحفيز ويتم فيها اقتراب الفطر *Trichoderma spp.* من الفطر الممرض؛ الذي يفرز مركبات تحث على تجاوب فطر المقاومة الاحيائية عن طريق *Chimiotropisme* في حين تتجه هايفات عائله مباشرة نحوه, مع العلم أن طبيعة هذا التحفيز لم تعرف إلى الآن ثم مرحلة التعارف و فيها يتم تعرف الفطر الممرض على فطر *Trichoderma spp.* بسبب وجود *Lectines* اذ يتم الالتصاق عن طريق ارتباط *Agglutinine* للفطر الممرض مع بعض السكريات الموجودة في الجدار الخلوي للفطر *Trichoderma spp.* واخيرا مرحلة الالتفاف و فيها يحدث التفاف بين خيوط الفطر الممرض و فطر *Trichoderma spp.* اذ تلتف خيوطه على طول خيوط العائل أو تلتف حول خيوط العائل مكونة نهايات تعرف بأعضاء الالتصاق و التي تخترق جدار خلية العائل بمساعدة بعض الإنزيمات المحللة مثل إنزيمات *Cellulase* و *Chutinase* و *Pectinase* و *Glucanase* و β -(1,6)-glucanases و *Proteases* فضلا عن بعض المضادات الحيوية مثل *Gliotassine* الذي يشترك في آلية التطفل الفطري (Harman، 2006، وأبو عرقوب، 2002 و Santos وآخرون، 2019 و Hidayah وآخرون، 2022). إن التفاف خيوط الفطر *Trichoderma spp.* حول خيوط العائل يتطلب التعرف المسبق على *D-glucose* و *D-manose*. التي هي عبارة عن سكريات تتواجد في الجدار الخلوي للفطر *Trichoderma spp.* (Harman، 2006 و Lahlali وآخرون، 2022).

B - الخصائص والاليات غير المباشرة:

1- تعزيز نمو النبات:

وجد ان انواع من الفطر *Trichoderma spp.* تنتج مركبات مختلفة مثل: الببتيدات غير الريبوسومية (*Non-ribosomal peptides*) و التربينات (*Terpenoids*) و البيرونات (*Pyrones*) والمركبات المشتقة من الإندوليك (*Indolic*) في منطقة الجذور, اذ تحفز تلك المركبات النباتات في زيادة تفرع الجذر و الكتلة الحيوية للنبات نتيجة لانقسام الخلايا و تمايزها واستطالتها (Lahlali وآخرون، 2022). كما تبين ايضا إن وجود الفطر *Trichoderma spp.* على جذور النبات يشجع على زيادة امتصاص الماء و بعض العناصر الغذائية مثل: المنغنيز, الفسفور, المغنسيوم, الكالسيوم, الفسفور, النيتروجين, الصوديوم, النحاس و الحديد و انعكاس ذلك ايجابيا على نمو النبات و زيادة مقاومته ضد المسببات الممرضة من جهة و زيادة مؤشرات النمو الخضري و الزهري و الانتاج كماً و نوعاً (Khurana و Kumar، 2021). كما أن بعض عزلات الفطر *Trichoderma spp.* تعمل على تعزيز نمو النبات عن طريق افرازها لمنظمات نمو نباتية مثل: هرمون الين الذي يسرع انبات البذور ويعزز نمو بادراتها (حميد، 2002 و Pandit و، 2022).

2-استحثاث المقاومة الجهازية:

ينتج الفطر *Trichoderma spp.* بعض البيبتيدات، و البروتينات، و الانزيمات كانزيم Peroxidase و كذلك بعض المركبات الواطنة الوزن الجزيئي التي تسهم في تحفيز الآليات الدفاعية في النباتات؛ مما ينتج عنها زيادة في انتاج بعض المركبات الفينولية و الكحولية ذات التأثير التثبيطي للمسببات المرضية (Reino و اخرون، 2007 و Bisen و اخرون، 2016 و العامري، 2021). فضلا عن زيادة انتاج المواد Lignin و Suberin على جدران الخلايا والتي بدورها تعزز من درجة المقاومة للمسببات المرضية (Benitez و اخرون، 2004 و Lahlali و اخرون، 2022).

3- زيادة جاهزية العناصر الغذائية:

وجد ان انواع الفطر *Trichoderma spp.* قادرة على افراز بعض الانزيمات المحللة للمواد العضوية الموجودة او المضافة للتربة؛ وهذا بدوره يعمل على زيادة جاهزية العديد من العناصر المهمة لنمو النباتات مثل النتروجين والفسفور والبوتاسيوم والنحاس والزنك والحديد التي تسبب بطبيعة الحال تحسن في صحة النباتات ومقاومتها الطبيعية للممرضات النباتية (Akrami و Zohreh ، 2015 و Lahlali و اخرون، 2022)

2-1-4-2 البكتريا الاحيائية *Azotobacter sp.*

يعود الجنس *Azotobacter* الى العائلة *Azotobacteriaceae* التي تضم أجناساً أخرى تشمل *Beijerinckia* ، *Derxia* ، *Azomonas* و يعد جنس *Azotobacter* من الاجناس البكتيرية الواسعة الانتشار، اذ يضم أنواع عديدة تختلف فيما بينها في كلا الصفات الكيميائية و الحيوية ، و من أهمها: *armeriacus* ، *chroococcum* ، *vinelandii* ، *salinestrus* ، *paspali* ، *nigricans* ، *beijerinckii*، و يعد اول تسجيل لجنس *Azotobacter* في عام 1901 من قبل عالم الأحياء الدقيقة وعالم النبات الهولندي ومؤسس علم الأحياء الدقيقة البيئية Beijerinck كأول مثبت نيتروجين هوائي يعيش بصورة حرة ، وهي بكتريا سالبة لصبغة كرام، هوائية اجبارية ، حرة المعيشة ، متباينة التغذية مصدر الطاقة لها تحليل المواد العضوية كمصدر للكربون والطاقة وهي صفة مهمة مميزة لها إذ أن لها قدرة على الاعتماد على مصادر كربوهيدراتية عديدة (Khosravi و Dolatabad ، 2020) تتواجد البكتريا

A. chroococcum في منطقة نطاق الجذور (Rhizosphere) وعلى اسطح جذور النباتات وقسم منها يدخل في النظام الجذري للنباتات مكون علاقة تعايشية معها وقسم آخر يعيش بصورة حرة في منطقة الرايزوسفير , وتسهم بكتيريا *A. chroococcum* وعن طريق وجودها في التربة ومنطقة حول الجذور بتوفير حماية للنبات من الإصابة بالعديد من المسببات المرضية الموجودة في التربة Soil-borne pathogens عن طريق تأثيراتها المباشرة وغير المباشرة في مجتمعات الإحياء الممرضة بواسطة منافستها على المكان والمواد الغذائية ومنع وصول المسبب المرضي لمناطق الإصابة (Hillel ، 2005 و Aydi- Ben-Abdallah وآخرون, 2020 و Jensen وآخرون، 2021). الظروف المثلى لنموها وتطورها هي عند درجة حرارة 28-31 م° و pH 6.5-7.5 (Mahdi وآخرون، 2018 و Jensen وآخرون، 2021). خلاياها كبيرة ، قطرها 2 µm وطولها 5 - 10 µm ، متعددة الأشكال ففي المزارع القديمة قد تكون عصوية قصيرة أو بيضوية، بهيأة سلاسل أو تجمعات ، ولا تكون ابواغ لكنها تكون حويصلات أو كبسولة أو غلاف خارجي سميك يدعى Slime وعند توفر الظروف المؤاتية تنبت الكبسولة ، وتعطي خلايا خضرية . يعد النوع *A. chroococcum* من أكثر الأنواع التابعة للجنس *Azotobacter* انتشاراً في الترب العراقية (Mahdi وآخرون ، 2018 و Muslim وآخرون، 2021) , يعود التأثير النافع لهذه البكتريا إلى إنتاجها للمضادات الحيوية ، و منظمات النمو وهي مواد ذات تأثيرات محفزة أو مثبطة لعمليات فسلجية كيميوية معينة في النبات والكانتات الحية الدقيقة مثل: Gibberellins ، Cytokinins و Auxins ؛ مما يعكس على تحسين بيئة نمو الجذور، كما اثبتت قدرتها على تحسين نمو النبات ونسجة التربة (Khosravi وآخرون 2020) .

أظهرت الأبحاث التي أجريت على البكتريا *A. chroococcum* في إنتاج المحاصيل أهميتها في تحسين تغذية النبات وتزيد من تحمله للجهادات الحيوية وغير الحيوية وتحسين خصوبة التربة, كذلك تعد *A. chroococcum* من الأحياء الدقيقة المنتجة لمثبطات الأمراض النباتية عن طريق افراز انزيمات خاصة مضادة للمسببات المرضية مثل الفطريات، والبكتريا مما يوفر حماية للنبات من المسببات المرضية مثل انزيم ACC deaminase الذي ينظم عمل منظمات النمو ومنها الانزيمات المحللة لجدران خلايا المسببات الممرضة للنبات والحاوية على الكايتين مثل Endochitinase و Chitobiosidase (Pandey وآخرون ، 2019 و Aasfar وآخرون، 2021 و Riaz وآخرون، 2022) , كما وجد ان هذا العامل الاحيائي يمكن ان يؤدي دوراً مزدوجاً في خفض الأمراض عن طريق حرمان الممرضات من عنصر الحديد عن طريق تكوين مركبات ال- Siderophores والتنافس مع المسببات الممرضة على الحديد المتوفر في التربة وتعد هذه الآلية

أحدى الوسائل المهمة في التضاد مع المسببات المرضية الكامنة في التربة علاوة على ذلك فان مركبات Siderophores تعد مقداح استحثاث المقاومة الجهازية في النبات (Colombowala و Aruna، 2020، و Osei وآخرون، 2021).

استخدمت هذه البكتريا في مقاومة المسببات المرضية خصوصا الكامنة في التربة والمسببة امراض تعفنات الجذور وموت البادرات ؛ اذ وجد دخيل (2021) أن للبكتريا *A.chroococcum* فاعلية كبيرة في تثبيط نمو مسببات تعفن جذور عدد من نباتات الزينة على الوسط الزراعي PDA ؛ اذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات *Trichocladium griseum* ، *Fusarium oxysporum* ، *Curvularia lunata* والمسببة لتعفن جذور نبات اصابع العروس 87.45% ، 76.08% ، 96.08% على التوالي ، في حين بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات *Fusarium equiseti* ، *Fusarium oxysporum* والمسببة لتعفن نبات تراجي العروس 62.75% ، 87.84% على التوالي ، وبلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات *Trichocladium griseum* *Marcelleina personai* ، *Fusarium oxysporum* المسببة لتعفن جذور الكزانيا 72.55% ، 72.55% ، 96.08% على التوالي ، وبلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات *Lasiodiplodia theobromae* ، *Fusarium oxysporum* المسببة لتعفن جذور نبات دم العاشق 75.29% ، 79.61% على التوالي .

2-4-2 المكافحة الكيميائية :Chemical control

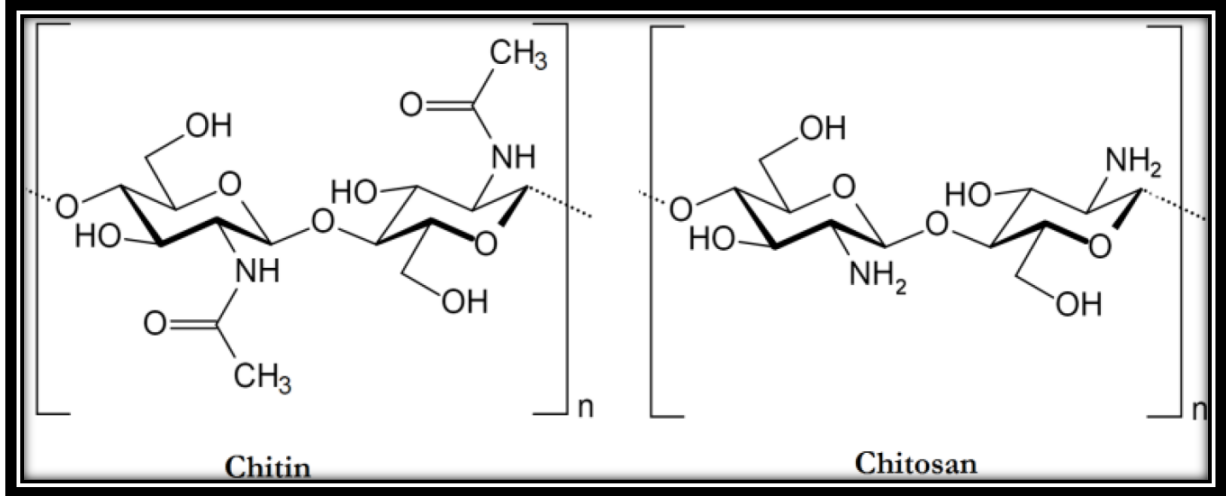
تعد المكافحة الكيميائية (Chemical control) باستخدام المبيدات الوسيلة الأكثر استخداما" في العالم على الرغم من الاضرار التي تسببها للبيئة والكائنات الحية غير المستهدفة و ذلك لكونها سهلة التطبيق و تعطي نتائج واضحة و سريعة و يمكن تطبيقها في مختلف البيئات (Panth وآخرون، 2020). ففي الولايات المتحدة الاميركية شكلت المكافحة الكيميائية نسبة 70% من طرائق المكافحة الاخرى المستخدمة في مكافحة المسببات المرضية الفطرية، و يُقصد بالمكافحة الكيميائية استخدام مجموعة المواد الكيميائية التي تعمل على قتل الآفات او تثبيط نموها أو منعها من التكاثر بما يؤدي في النهاية إلى خفض أعدادها (Fredricks وآخرون، 2019). ويعد المبيد الكيميائي Beltanol المصنع من قبل الشركة Probelte الاسبانية (<https://www.probelte.es/en>) والمستعمل في هذه الدراسة من المبيدات الجهازية العائدة لمجموعة

الكواينولين (Quinoline) ذي المادة الفعالة 37.5 8-Hydroxiquinoleine (Sulfate) % تمتاز الية تأثيره على الفطريات عن طريق تكوين مركبات مذبذبة مع النحاس في أنسجة العائل مما يسهل مروره إلى داخل خلايا الممرض و بعدها يتحرر ليقتل المسبب المرضي (جابر ، 2020). أثبت في دراسات سابقة كفاءة المبيد Beltanol العالية في السيطرة على العديد من الامراض الفطرية ومنها أمراض تعفن وموت البادرات المتسببة عن الفطريات *Fusarium spp.* و *R. solani* و *Pythium spp.* (Mannai) واخرون ، 2018 ودخيل، 2021).

تمكن (2012, Al-Khafagi) من السيطرة على المسببات المرضية *R. solani* و *F. solani* و *Microphomina phaseolina* المسببة لموت بادرات اللوبيا (*Vigna unguiculata*) عن طريق استعمال المبيد الكيميائي Beltanol اذ ثبت المبيد الغزل الفطري للمسببات المرضية الثلاثة بنسبة 100%. ذكر Abood واخرون (2020) ان استعمال المبيد Beltanol ادى الى تثبيط بنسبة 90% لنمو الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور فول الصويا. ووجد Al-Abedy وآخرون (2021) فاعلية مبيد Beltanol و عدد من عزلات الفطر *Trichoderma spp.* واوكسيد المغنيسيوم النانوي في السيطرة على الفطر *F. brachygibbosum* المسبب لتعفن وموت بادرات الطماطة مختبريا وحقليا.

1-2-4-2 الكايتوسان:

يعد الكايتوسان من المركبات الطبيعية؛ اذ يشتق من الكايتين بعد ازالة مجموعة الاستيل منه وتبقى مجموعة الأمين حرة فيتحول الكايتين الى مادة قابلة للذوبان في الأحماض الضعيفة المخففة مثل حامض الخليك تدعى هذه المادة بالكايتوسان (Wick and Bade، 1988)، يتكون الكايتوسان من المركبين D-glucosamine و N-acetyl-D-glucosamine (شكل 2) .



شكل 2: التركيب الكيميائي للكاييتوسان والكاييتين (Kumar وآخرون 2021)

ويعد من عوامل المكافحة المعروفة بخصائصها غير السامة والقابلة للتحلل والمتوافقة حيويًا، وهو من أكثر البوليمرات الطبيعية وفرة مع تأثير مزدوج فهو يتحكم في الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض عن طريق منع النمو والإنبات للفطري وتعطيل الخلية وإحداث استجابات دفاعية مختلفة في النبات المضيف (Kheiri وآخرون 2017 والرماحي, 2021).

يُستخرج الكاييتوسان من الهيكل الخارجي للأصداف والمحار والقشريات والحشرات والجدران الخلوية لبعض الفطريات مثل : *Mucor* و *Aspergillus*، إذ تطحن وتمزج مع بعضها ثم تخضع لعملية *deacetylation* لإزالة الأسيتيل كولين (Bistgani وآخرون, 2017). يحمل الكاييتوسان شحنة موجبة من الأمونيوم ، ويعمل كمغناطيس يجتذب له أي شحنة سالبة (أمين, 2013)، كما انه قابل للتحلل البيولوجي وصديق للبيئة الزراعية وغير سام للإنسان أو الكائنات الحية الأخرى وهو من المركبات الطبيعية المتوفرة بكثرة وغير مكلفة وغير سامة وقابليتها على الامصاص عالية وعلى العكس من السكريات المتعددة الأخرى *Polysaccharides* مثل السيليلوز والدكسترات التي تكون حامضية أو متعادلة في الطبيعة فان الكاييتوسان يمتلك المقدرة على تشكيل أغشية خالصة للأيونات المعدنية (عملية إزالة معدن ثقيل *chelation*)، ونظرا لعدم سمية الكاييتوسان فانه يستعمل في صناعة وحفظ الاغذية والادوية وعدد من الاستعمالات الطبية، واشير الى انه يمتلك فعالية ضد عدد من الاحياء المجهرية البكتيرية والفطرية؛ إذ أدى استعماله الى منع اختزال معدل نمو الميكروبات والتقليل من مدة بقائها حية (El Hadrami وآخرون, 2010 وأمين, 2013، وAbd-Alrahman وآخرون, 2021)، وذو فعالية في حماية النباتات بسبب قدرته المزدوجة ، إذ

ان له تأثير مثبت لمسببات الأمراض النباتية ومنها الفطريات؛ اذ يعمل على ايقاف النمو Fungiststic او القتل Fungicidal ويعزى هذا التأثير للكاييتوسان لما يملكه من خصائص فهو يعمل على حدوث تغيرات مظهرية في الخلية ، بما في ذلك تضخم الخيوط الفطرية ، والتغيرات في غشاء البلازما ، وتجميع السايتوبلازم وزيادة الفجوات وحدث ترسبات غير طبيعية في جدار الخلية ، ويعمل كمضاد للبكتريا ايضا والفايروسات (Benhamou واخرون,1994).

يحفز الكاييتوسان المقاومة الجهازية المكتسبة والاستجابات الدفاعية لدى العائل النباتي عند الاصابة بالمسببات المرضية (Palma-Guerrero واخرون, 2008, Ali واخرون, 2011). استخدام الكاييتوسان على نطاق واسع كعامل طلاء لمختلف أنواع المكسرات والحبوب والفواكه والخضروات للحماية من خسائر ما بعد الحصاد ، وزيادة مدة التخزين والحفظ (Sun واخرون , 2010 وRahman واخرون, 2018).

للكاييتوسان ثلاث آليات للسيطرة على مسببات امراض النبات الفطرية أولها تأثيره على الغشاء البلازمي؛ اذ ترتبط الشحنة الموجبة من الكاييتوسان مع الشحنة السالبة في مكونات الفسفوليبيد في الغشاء الفطري؛ مما يؤدي إلى زيادة نفاذية الغشاء وتسرب محتويات الخلية مما يؤدي إلى موت الخلايا (Garcia – Rincon واخرون, 2010) وثانيا الكاييتوسان كعامل مخلبي اذ يرتبط مع العناصر الاساسية مما يقلل من توافر المواد اللازمة للنمو الطبيعي للفطريات (1999,Borkowski) اما الآلية الثالثة يعمل الكاييتوسان على اختراق الخلايا الفطرية والارتباط مع حامضها النووي؛ومن ثمَّ يمنع تخليق mRNA ويؤثر على انتاج البروتينات والإنزيمات الاساسية (Kong واخرون,2010)

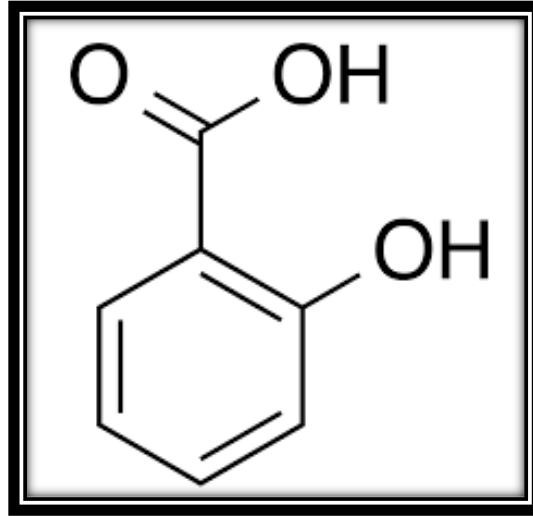
أظهرت عدد من الدراسات على محاصيل مختلفة منها العنب، والمشمش، وزهرة الشمس، والبابايا، والسبانخ، والريحان، وفول الصويا أن الرش الورقي للكاييتوسان يحسن نمو النبات والحاصل ويحث على تخليق المستقبلات الثانوية؛ مثل: البوليفينولات والفلافونويد واللجنين والفايتواليكسين في النباتات كما انه يؤثر على نفاذية غشاء بلازما البذور ، ويعزز تركيز السكر والبرولين ، ويعزز أنشطة البيروكسيداز (POD) ، وأمونيا-لياز فينيل ألانين (PAL) ، وتيروسين أمونيايز (TAL) ، وأنشطة الكاتليز (CAT) (Bestigani واخرون, 2017)

ووجد Faqir واخرون(2021) ان استعمال الكاييتوسان بتركيز مختلفة 1,0.5، 3، 5، ملغم/ل كان له تاثير واضح في تثبيط نمو الفطريات الممرضة للطماطة *Fusarium oxysporum* و *Sclerotinia sclerotiorum* و *Phytophthora capsici*؛ اذ بلغت نسبة التثبيط 60-90-100 % على التوالي عند

التركيز 5 ملغم/مل, وذكر Tuan وآخرون(2019) ان رش ثمار اشجار التين بالكايتوسان كان فعالا في تقليل نسبة و شدة الإصابة بالفطر *Neoscytalidium dimidiatum* المسبب لذبول الافرع والاعصان على عدد من العوائل النباتية.

2-2-4-2 حامض الساليسيك

عزل حامض الساليسيك لأول مرة عام 1828 في مدينة ميونخ الالمانية من لحاء شجرة الصفصاف، واطلق عليه اسم Salicin، وأول من اطلق عليه اسم حامض الساليسك هو العالم Raffaele piria وهي مشتقة من الكلمة اللاتينية salix التي تعني شجرة الصفصاف (Raskin, 1992). وكان اول انتاج له في المانيا في عام(1874)، وهو يعد نظيرا للاسبرين الذي يحضر كمستحضر علاجي في جميع انحاء العالم واسمه التجاري Acetyl salicylic acid والاسم الكيميائي 2-hydroxy benzoic acid والصيغة الكيميائية له هي $C_7H_6O_3$ (شكل 3). يعد حامض الساليسك مستحث طبيعي لمقاومة امراض النبات وخصوصا في



شكل 3: التركيب الكيميائي لحامض للساليسك (Shields وآخرون, 2022)

المقاومة الجهازية المكتسبة (Benjamin وآخرون, 2022 و Quaglia وآخرون, 2022). ولحامض الساليسيك دور كبير في تنظيم معظم الفعاليات الحيوية عن طريق تحفيز النبات على زيادة انتاج المركبات الفينولية التي تؤدي دورا مهما في تنظيم عملية التزهير والبناء الضوئي اي تكون اساسية لنمو النبات (Popova وآخرون, 1997 و Kusajima وآخرون, 2022). يعد Malamy وآخرون(1990) اول من

اشاروا الى دور حامض السالسيك في استحثاث المقاومة اذ لاحظوا ان نباتات التبغ التي عوملت بهذا الحامض ولقحت بفايروس موزائيك التبغ لم تحدث فيها اصابة مقارنة بتلك التي لم تعامل بالسالسيك وان نسبة حامض السالسيك كانت مرتفعة في الاجزاء غير المصابة وقد فسروا ذلك بكون حامض السالسيك قد حفز الجينات على انتاج البروتينات المرتبطة بالامراضية.

اشارت العديد من الدراسات حول آلية تأثير حامض السالسيك في تحفيز دفاعات العائل النباتي فقد ذكر Vanloon و Antniw (1982) ان حامض السالسيك يستخدم اما في معاملة التربة فيمتص من قبل جذور النبات وينتقل الى باقي الاجزاء الاخرى للنبات ويحدث فيها تحفيزا للمقاومة الجهازية او قد يستخدم رشا على الاوراق وهنا يحفز المقاومة الموضوعية , وذكر Matheron (2001) ان حامض السالسيك يؤدي الى تجميع بيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ وانزيم Peroxidase والذي له تأثير كبير في تحلل جدران الخلية الفطرية كما يعمل على زيادة سمك جدران خلايا النبات العائل عن طريق زيادة مادة اللكنين , وكذلك يعمل على تحفيز الجينات المسؤولة عن المقاومة في النبات ضد العديد من المسببات المرضية النباتية اضافة الى زيادة تحمل النبات للإجهادات غير الحياتية المختلفة (Uquillus واخرون , 2004 و Nascimento واخرون, 2022 و Shields واخرون, 2022).

يزداد تركيز الانزيمات في النبات مثل انزيمات الاكسدة عند تحفيز السالسيك للمقاومة في النباتات (Dempsey, 1999, Hillel, 2005), اوضحت الدراسة التي قام بها حسون (2005) ان معاملة حامض السالسيك بتركيز 1.0 مل رشا تحت ظروف الحقل قد احدث خفضا معنويا في نسبة الاصابة وشدتها لسنة من عزلات الفطر *R. solani* المسبب لمرض تقرح الساق والقشرة السوداء على البطاطا , ووجد الخرجي (2007) ان لحامض السالسيك فاعلية عالية في خفض معدل نمو الفطر *Pythium aphanidermatum* وزيادة التنشيط وبنسبة بلغت 100% على الوسط الزراعي PSA كما وجد ان اضافة الحامض بتركيز 100 ملغم \ كغم تربة ملوثة بالفطر الممرض ادى الى خفض النسبة المئوية لاصابة بادرات الخيار بهذا الفطر, واطهرت نتائج اضافة حامض السالسيك رشا على نبات اللوبياء وبتركيز 1.0 مل / لتر زيادة معنوية في معايير النمو المدروسة كما وخفض شدة الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور اللوبياء بنسبة 33.33% مقارنة بنسبة الاصابة بالفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 69.44% (جعفر , 2011).

5-2-2 مكافحة المتكاملة لمسببات امراض الجذور

ظهر مفهوم أكثر شمولية وكفاءة في مكافحة الآفات مع تحقيق المنافع الاقتصادية والحفاظ على البيئة والتي تشمل الانسان وحيواناته الاقتصادية, وسمي هذا المفهوم بالمكافحة او الإدارة المتكاملة للآفات *Integrated Pest Management / Control* ويستند هذا المفهوم الى ان الافة جزء من البيئة الطبيعية وان القضاء عليها هو امر غير محبذ وغير مفيد على المدى البعيد لذلك الحل الأمثل في مكافحتها هو التقليل من كثافتها الى مستوى لا يسبب خسائر اقتصادية للحاصل وذلك بالاستخدام التكاملي والامثل لأكثر من وسيلة من وسائل المكافحة المتوفرة (Lahuf, 2020). أن تاريخ مكافحة الامراض النباتية في القرن العشرين يشير الى حدوث قفزة نوعية في الإنتاج الزراعي العالمي كنتيجة للاستخدام المكثف للمبيدات الكيميائية والتي أعطت نتائجها السريعة مع سهولة تطبيقها مما تسبب بتكون التصور الخاطئ لدى معظم المختصين في مجال وقاية النبات وكذلك مجتمع المزارعين في العالم بانها هي الحل الامثل والوحيد لمكافحة جميع أنواع الآفات ولكن أدى استخدامها المتكرر وغير الصحيح في ظهور العديد من المشاكل مثل ظهور الآفات المقاومة لفعل المبيدات و تلويثها للبيئة والقضاء على الأعداء الحيوية للآفات بوصف ان اكثر المبيدات المستخدمة كانت واسعة الطيف بتأثيرها على الكائنات الحية الضارة والنافعة وهذا بالنتيجة سبب احداث خلل في التوازن الطبيعي نتج عنه ظهور آفات مؤثرة جديدة وكذلك الاثار المتبقية السامة للمبيدات في الهواء والماء والتربة والمنتجات النباتية سببت في حصول حالات التسمم المزمن او الحاد للعديد من الكائنات الحية غير المستهدفة مثل النحل والحيوانات الاقتصادية والانسان (Agrios, 2005), أن هذه الأسباب وأسباب أخرى نتج عنها انحسار في التصور العام المتعلق باستخدام المبيدات ؛لذلك تتطلب الادارة المتكاملة الفعالة للامراض النباتية اتباع أربعة استراتيجيات رئيسة تشمل معاملة البذور لتحسين انباتها وتقوية البادرات، زراعة الأصناف المقاومة او المتحملة للمرض، اتباع أفضل الممارسات الزراعية معاملة النبات بالوقت المناسب بالمبيدات الكيميائية التقليدية فضلا عن العوامل الاحيائية او المبيدات الاحيائية, علماً ان تطبيق هذه الاستراتيجيات بشكل مفرد قد تكون غير فعالة في السيطرة على مسببات الامراض النباتية لذلك يتطلب الامر تطبيق هذه الاستراتيجيات سوية او بعض منها (Ons واخرون, 2020).

أكدت العديد من الدراسات وبشكل واضح كفاءة طريقة الادارة/المكافحة المتكاملة لأمراض النبات المختلفة فمثلاً شملت احدى الدراسات استعمال مبيدات الفطريات الكيميائية في الوقت المناسب ، وتناوب المحاصيل او تطبيق الدورة الزراعية والاهتمام بمستويات رطوبة التربة ، جنباً إلى جنب مع استعمال العوامل الحيوية مثل البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات مثل: *Bacillus pumilus* و *Pseudomonas putida*، وكذلك الفطريات المضادة مثل: *Aspergillus awamori* و *Aspergillus niger* و

Foroud) *Trichoderma harzianum* في السيطرة على تعفن الجذور الفيوزاريوم لمحصول البازلاء (واخرون، 2014). وجد ان تحسين خصائص التربة ومعاملة البذور بالفطر الاحيائي *Trichoderma spp.* أدت الى مقاومة فعالة لمرض تعفن الجذور الرطب المتسبب عن الفطر *R. solani* على محصول الماش (Gardiner واخرون، 2013). كما حقق التكامل بين المبيد الكيميائي Topsin واحد أنواع العامل الاحيائي *Trichoderma* خفض معنوي في كثافة الفطر *R. solani* المسبب لمرض تعفن الجذور على بادرات البازلاء وأيضا خفضت شدة الإصابة بمرض تعفن جذور البازلاء المتسبب عن الفطر *Pythium sp.* بواسطة استعمال المبيدات الكيميائية Apron وMaxim وCruiser لوحدها او بالتكامل مع البكتريا *Rhizobium sp.* (Bodah، 2017) ، كذلك ادى التكامل بين الفطر *T.koningiopsis* و البكتريا *A.chroococcum* والمبيد الكيميائي Beltanol الى خفض نسبة وشدة الاصابة بالفطريات الممرضة *Curvularia.lunata* و *F.equiseti* و *F.oxysporum* المسببة لتعفن جذور نبات اصابع العروس وتراجي العروس والكزانيا ودم العاشق اذ بلغت 1.6, 10.2, 3.4, 17.3 و 0.13, 11.7 و 0.12, 12.3 % على التوالي قياسا بمعاملة الفطريات الممرضة بمفردها والتي بلغت 85.3%, 100% و 79.8%, 100% و 77.4%, 100% على التوالي (دخيل, 2021) , ووجد العامري (2021) ان التكامل بين اوكسيد الزنك النانوي والمبيد الكيميائي Beltanol و Goldstone والفطر *T.harzianum* ادى الى خفض النسبة المئوية للإصابة بمرض التعفن الطري على البطاطا المتسبب عن البكتريا *Pectobacterum carotovorum carotovorum* اذ بلغت 0.00% قياسا بمعاملة البكتريا الممرضة بمفردها والتي بلغت 100% فضلا عن زيادة في تركيز انزيم البيروكسديز والفينولات الكلية والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري وعدد ووزن الدرناات القابلة للتسويق.

3 - المواد و طرائق العمل (Materials and Methods)

1-3 الأجهزة والمواد المستخدمة في الدراسة

1-1-3 الأجهزة والأدوات المستخدمة في الدراسة

جدول (1) الاجهزة والادوات المستخدمة في الدراسة

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
١	جهاز التعقيم البخاري (Autoclave)	LabTech	South Korea
٢	الحاضنة (Incubator)	Memmert	Germany
٣	ميزان حساس (Analytical balance)	Denver Instrument	USA
٤	اطباق بتري (Petri-Dishes)	Guangzhou A&J Automatinon Equipment	China
٥	ثلاجة (Refrigerator)	Concord	Lebanon
٦	دوارق زجاجية مختلفة الاحجام (Flasks)	Unisonic LTD	Chine
٧	مجهر ضوئي مركب (Compound light Microscope)	Olympus	Japan
٨	انابيب اختبار (Test tubes)	Sigma	Germany
٩	جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل (Thermal cycler) و ملحقاته	MWG Biotch	Germany
١٠	محقنة طبية (Medical Syringe)	-	England
١١	شرائح زجاجية و اغطيتها (Slides and cover slide)	Whatman 4	England
١٢	اوراق ترشيح دقيقة (Filter Papers)	Whatman	England
١٣	فرن كهربائي (Microwave oven)	Memmert	Germany
١٤	جهاز الترحيل الكهربائي (Gel Electrophoresis apparatus)	-	China
١٥	غرفة العزل (Laminar flow hood)	Lab Tech	South korea
١٦	ماصات دقيقة (Micropipetes)	Gilson	Germany
١٧	جهاز المطياف الضوئي (spectrophotometry)	-	UK
١٨	جهاز قياس درجة الاس الهيدروجيني (pH-meter)	-	France
١٩			

2-1-3 المواد المستعملة لأجراء التجارب في هذه الدراسة.

جدول (2) المواد المستخدمة في الدراسة.

التسلسل	اسم المادة	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
١	وسط البطاطا دكستروز الجاهز (PDA)	Himedia	India
٢	وسط المرق المغذي (Nutrient Broth (NB	BD Difco	USA
٣	مسحوق الاكار (Agar powder)	Himedia	India
٤	هايبوكلورات الصوديوم (Sodium Hypochlorate)	تجاري	Iraq
٥	ماء مقطر Distilled water		Iraq
٦	كليسروول (Glycerol)	BDA	England
٧	كحول ايثيلي (Ethanol)	الجود	Iraq
٨	القطن (Cotton)	BDA	England
٩	حامض Hcl	-	-
١٠	كلوريد الصوديوم (NaOH)	-	-
١١	كيتوسان Chitosan	Himedia	India
١٢	حامض سالسيلك Salicylic Acid	-	-
١٣	مضاد حيوي Chloramphincol	Samera	Iraq
١٤	حامض الخليك Acetic acid	-	Iraq

جدول (3): المبيدات الكيميائية الفطرية المستعملة في هذه الدراسة

ت	اسم المبيد	المادة الفعالة	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
١	Beltanol	8- Hydroxyquinoline 37.5%	Probelte	Spain
٢	Verox	Rhizobacter	Marvel agro sciences	
٣	Basten	Carbendazim	JK	China

China	Dragon	Hymenozol	Metchazole	٤
-------	--------	-----------	------------	---

3-1-3 الأوساط الزراعية المستخدمة في الدراسة:

1-3-1-3 وسط البطاطا دكستروز اكرالجاهز (P.D.A):

تم تحضير هذا الوسط بإذابة 39غم من الوسط الجاهز في واحد لتر من الماء المقطر رجّ الخليط جيدا، ثم وزع في دوارق زجاجية حجم كل منها 500مل سدت فوهاتها بسدادات من القطن و ورق الألمنيوم (Aluminum foil) عقت بعدها في جهاز الاوتوكليف بدرجة حرارة 121م و ضغط 15 باوند/ انج² لمدة 20دقيقة. بعد انتهاء مدة التعقيم و قبل مرحلة تصلب الوسط أضيف المضاد الحيوي Chloramphenicol بمعدل 125 ملغم/ لتر و صب الوسط في أطباق بتري معقمة (Collee وآخرون، 1996).

2-3-1-3 وسط الآكار المائي (Water Agar):

حضر وسط الآكار المائي (Water Agar (WA) في دورق زجاجي و ذلك بإضافة 17غم من الآكار الى واحد لتر من الماء المقطر و عقم تحت نفس الظروف المذكورة في الفقرة 1-3-1-3. بعد انتهاء عملية التعقيم و قبل تصلب الوسط ، أضيف المضاد الحيوي Chloramphenicol بنسبة (125 ملغم/ لتر) و صب في أطباق بتري معقمة.

3-3-1-3 وسط المغذي السائل (Nutrient Broth (NB):

حضر الوسط NB وفق لتعليمات الشركة المجهزة BD Difco الامريكية بإذابة 13غم من الوسط في 1000مل ماء مقطر ثم عقم بالظروف نفسها المذكورة في الفقرة 1-3-1-3.

4-3-1-3 وسط المغذي الصلب (Nutrient Agar (NA):

حضر الوسط NA على وفق تعليمات الشركة المجهزة BD Difco الامريكية بإذابة 28غم من الوسط في 1000مل ماء مقطر، ثم عقم بنفس الظروف المذكورة في الفقرة 1-3-1-3.

2-3 عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نبات عرف الديك *Celosia argentea*

تم عزل الفطريات المرافقة لجذور نبات عرف الديك *C. argentea* التي لوحظ عليها اعراض الاصابة المتمثلة بضعف النمو، واصفرار المجموع الخضري، و تعفن المجموع الجذري، اذ جمعت العينات المصابة من بعض مشاتل الزينة الواقعة في محافظتي كربلاء و بابل (جدول 4) وجلبت الى مختبر الدراسات العليا في كلية الزراعة/ جامعه كربلاء لإجراء عملية عزل الفطريات، غسلت الجذور جيدا بماء الحنفية لإزالة الأتربة و الشوائب منها، و بعدها قطعت الى قطع صغيرة (0.5-1 سم) و عقت بمحلول هايوكلوريت الصوديوم تركيز 1 % NaOCl لمدة دقيقتين، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم و جففت باستعمال ورق ترشيح معقم. نقلت كل اربعة قطع الى طبق من أطباق بتري الحاوية على وسط البطاطا دكستروز اكر (PDA) و حضنت في درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة ثلاثة أيام. نقيت الفطريات بنقل جزء من طرف مستعمرة الفطر إلى طبق آخر حاوي الوسط الغذائي البطاطا دكستروز اكر (PDA) وحضنت تحت نفس الظروف. شخست الفطريات المعزولة مبدئياً من قبل أ.د. رجا غازي عبد المحسن مبدئياً بالاعتماد على الصفات المظهرية و باستخدام المفاتيح التصنيفية الموصوفة من قبل Parameter و Whitney (1970) و Leslie و Summerell (2006) و Watanabe (2018)

جدول (4) المناطق التي تقع فيها المشاتل التي جمعت منها نبات عرف الديك *Celosia argentea*

المحافظة	مكان الجمع	عدد المشاتل
كربلاء	الحسينية	3
	الابراهيمية	2
	العطيشي	5
	الحر	2
	المركز	3
	الهندية	3
	مشاتل العتبة العباسية	1
	مشاتل العتبة الحسينية	1
	الحافظ	2
بابل	المسيب	4

2	المحاويل	
2	سدة الهندية	
4	مركز بابل	

3-3 حفظ عزلات الفطريات قيد الدراسة

حفظت العزلات الفطرية التي تم الحصول عليها من عملية العزل والتنقية في أنابيب اختبار حاوية على وسط البطاطا دكستروز اكر (PDA) المائل (Agar slants)؛ اذ حضر وسط البطاطا دكستروز اكر (PDA) كما في الفقرة 1-3-1-3، ووزع في أنابيب اختبار بحجم 5 مل/ انبوبة و من ثم وضعت بشكل مائل لحين التصلب. لُقحت الأنابيب بالعزلات الفطرية، وذلك بأخذ قرص قطره 0.5 سم من مستعمرة كل فطر ووضعها على الوسط الزراعي في الانابيب و كلا على انفراد، وحضنت في درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ، لحين نمو الفطريات بعدها حفظت جميع الأنابيب في الثلاجة (4°C).

4-3 اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة

اختبرت المقدرة الامراضية لـ 20 عزلة تعود للفطر *Rhizoctonia sp.* و22 عزلة للفطر *Fusarium spp.* و3 عزلات للفطر *Ectophoma sp.* (جدول 5) والمعزولة من جذور نباتات عرف الديك المصابة وذلك باستعمال طريقة الاطباق المتبعة من قبل Christensen وآخرون (1988) اذ أخذ قرص قطره 0.5 سم من حافة المستعمرات الفطرية النقية بعمر 7 أيام النامية على وسط PDA ووضع في وسط طبق بتري بلاستيكي يحوي على وسط الاكار المائي WA المحضّر في الفقرة 3-1-3-2؛ ثم حضنت الاطباق الملقحة لمدة 3 أيام في حرارة 25 ± 2 م°، زرعت بعدها بذور الفجل الاحمر المعقمة سطحياً بمحلول هايوكلورات الصوديوم بتركيز 1 % كما في الفقرة 3-2 على أطراف المستعمرات الفطرية النامية في الطبق وبواقع 10 بذرة في كل طبق علماً؛ ان كل عزلة فطرية كررت ثلاث مرات فضلاً عن معاملة المقارنة وذلك بزراعة بذور الفجل الاحمر المعقمة بدون فطر وبعدد المكررات نفسها، ثم حضنت جميع الاطباق بدرجة حرارة 25 ± 2 م° لحين انبات جميع البذور في معاملة المقارنة؛ وحسبت بعدها النسبة المئوية للإنبات وكالاتي:

$$\% \text{ لإنبات البذور} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100\%$$

وكذلك استعملت معادلة Abboutt (1925) في احتساب النسبة المئوية للتثبيط وكالاتي:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{عدد البذور النابتة في المقارنة} - \text{عدد البذور النابتة في المعاملة}}{\text{عدد البذور النابتة في المقارنة}} \times 100$$

جدول (5) العزلات الفطرية من جذور نباتات عرف الديك *Celosia argentea* المصابة بتعفن الجذور والمناطق التي جمعت منها في محافظتي بابل و كربلاء

ت	منطقة الجمع	رمز العزلة	ت	منطقة الجمع	رمز العزلة
1	بابل-المسيب	R1	24	بابل-سدة الهندية	R14
2	بابل-المسيب	R2	25	بابل-سدة الهندية	R15
3	بابل-المحاويل	R3	26	بابل-المحاويل	F11

R16	بابل- المسيب	27	F1	بابل-المسيب	4
R17	كربلاء- الهندية	28	R4	بابل-المحاويل	5
R18	كربلاء- المركز	29	R5	بابل-سدة الهندية	6
E1	كربلاء-الحسينية	30	R6	بابل- المسيب	7
F12	كربلاء-الابراهيمية	31	R7	بابل- الحلة	8
F13	كربلاء- الهندية	32	R8	بابل- سدة الهندية	9
E2	كربلاء-الحر	33	R9	بابل- المحاويل	10
R19	كربلاء-الابراهيمية	34	F2	بابل- الحلة	11
F14	كربلاء- الحر	35	R10	بابل-المسيب	12
F15	كربلاء-الحافظ	36	R11	بابل- المحاويل	13
R20	كربلاء-الحافظ	37	R12	بابل- المسيب	14
F16	كربلاء-الابراهيمية	38	F3	بابل-المسيب	15
F17	كربلاء-الحر	39	R13	بابل-المسيب	16
F18	كربلاء-المركز	40	F4	بابل-المسيب	17
E3	كربلاء-الابراهيمية	41	F5	بابل-الحلة	18
F19	كربلاء-مشتل العتبة العباسية	42	F6	بابل-الحلة	19
F20	كربلاء-المركز	43	F7	بابل- الحلة	20
F21	كربلاء- مشتل العتبة الحسينية	44	F8	بابل-سدة الهندية	21
F22	كربلاء-العطيشي	45	F9	بابل-سدة الهندية	22
			F10	بابل- المحاويل	23

E=Ectophoma sp., R=Rhizoctonia sp. , *F=Fusarium spp.

3-4-1 تحميل الفطريات المعزولة على بذور الدخن

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Dewan (1989) لغرض تحميل الفطريات الممرضة اذ استعملت بذور الدخن المحلي (*Panicum miliacem*) لغرض تحميل هذه الفطريات اذ غسلت بذور الدخن بالماء بعد وضعها في منخل سلكي للتخلص من الأتربة و الشوائب العالقة بها , ونقعت بالماء لمدة ست ساعات ، ثم وضعت على قطعة من الشاش للتخلص من الماء الزائد، ووزعت بأوزان متساوية في دوارق زجاجية حجم كل منها 250 مل، و من ثم سدت فوهاتنا جيدا بالقطن وورق الالمنيوم ,تم التعقيم تحت نفس الظروف المذكورة مسبقا في

الفقرة 3-1-3-1, بعد اكمال عملية التعقيم. لقت الدوارق كلا على حدة و بخمسة أقراص (0.5 سم) مأخوذة من وسط البطاطا دكستروز اكر (PDA) النامي عليه الفطر بعمر سبعة ايام. حضنت جميع الدوارق في درجة حرارة 25 ± 2 م° لمدة 14 يوما مع الاخذ بنظر الاعتبار رج الدوارق كل ثلاثة ايام و ذلك لضمان توزيع اللقاح الفطري على جميع البذور.

2-4-3 اختبار المقدره الامراضية لعدد من العزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذور نبات عرف الديك C. *argentea* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي:

تم تنفيذ هذه التجربة و ذلك بخلط تربة مزيجية وسماد بتموس (1:2) و تعقيمها بواسطة جهاز الاوتوكليف بدرجة حرارة 121 م°، و ضغط 15 باوند/ انج² لمدة 60 دقيقة, و في اليوم الثاني اعيدت عملية التعقيم مرة أخرى تحت نفس الظروف المذكورة مسبقا. بعدها لقت التربة بالفطر المحمل على بذور الدخن بنسبة (1%) و المحضر في الفقرة 3-4 بعد خلط اللقاح بأكياس بلاستيك؛ لكي يتجانس اللقاح مع التربة و البتموس؛ ثم وضعت في اصص بلاستيكية سعة اكغم رطبت التربة بأضافة الماء لها ثم غطيت بأكياس بولي اثلين مثقبة (للمحافظة على الرطوبة) لمدة 48 ساعة , بعدها زرعت ببذور عرف الديك و بواقع 10 بذور/ اصيص و سقيت باحتراس كلما دعت الحاجة. بعد مرور 30 يوما من الزراعة, حسبت النسبة المئوية للإنبات على وفق المعادلة المذكورة في الفقرة 3-5-1

و بناء" على ما توصلت اليه نتائج هذه التجربة ، فقد تم اختيار عزلتين لغرض تشخيصها جزيئيا و لاستخدامها في التجارب اللاحقة كونها الأكثر أمراضية لنبات عرف الديك من بين العزلات الفطرية الأخرى فضلا عن اختيار عذلة الفطر *Ectophoma sp.* (E2) لتأكيد تشخيصه وكونه يسجل لأول مرة في العراق.

3-5 Molecular identification للتشخيص الجزيئي للفطريات الممرضة قيد الدراسة

تم اجراء التشخيص الجزيئي لثلاث عزلات فطرية في هذه الدراسة باستعمال طريقتين هما:

أولا: التشخيص الجزيئي باستعمال الواسم الجينية ITS (Internal transcribed spacer) و استخدم لعزلة

الفطر *Rhizoctonia sp.* (R16) و عزلة الفطر *Ectophoma sp.* (E2)

ثانيا: التشخيص الجزيئي بتحديد الجينوم الكامل لعزلة الفطر *Fusarium sp.* (F3) باستعمال تقنية الجيل

التالي Next Generation Sequencing

3-5-1: استخلاص الحامض النووي الـDNA من عينات الفطريات

استعملت العدة AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit في استخلاص الـDNA من عينات الفطريات وذلك باتباع تعليمات الشركة الموضحة في ادناه بالخطوات التالية:

(١) سحقت عينة الفطريات (100-200 ملغم) الماخوذة من المستعمرة النقية بعمر أسبوع في انبوبة Eppendorf tube معقمه سعة 1.5 مليلتر مع 300 ميكروولتر من المحلول الدارئ PL باستعمال مدقة بلاستيكية معقمة واضيف الى الخليط 20 مايكروولتر من انزيم Proteinase K و 10 مايكوليتتر من انزيم RNase A ومزج الخليط بصورة جيدة باستعمال الهزاز الكهربائي.

(٢) حضنت الانبوبة الحاوية على الخليط في حمام مائي بدرجة 60 درجة مئوية لمدة عشرة دقائق مع الحرص على رج الانبوبة يدوياً مرتان الى ثلاث مرات في أثناء فترة التحضين

(٣) اضيف 100 مايكروولتر من المحلول الدارئ PC الى الانبوبة ثم مزجت محتوياتها جيداً باستعمال الهزاز الكهربائي وحضنت بعدها لمدة خمسة دقائق في الثلج ، ان هذه الخطوة مهمة لترسيب البروتينات والسكريات المتعددة والمنظفات .

(٤) اجريت عملية الطرد المركزي للانبوبة بسرعة 13000 دوره /دقيقة لمدة خمس دقائق؛ ثم نقل المحلول الطافي الى انبوبة جديدة؛ واضيف اليه المحلول الدارئ WA1 بمقدار مرة ونصف من حجمه ، وخلطت المحتويات بصورة جيدة باستعمال جهاز الهزاز الكهربائي وأجريت عملية الطرد المركزي لمدة عشر ثواني بالسرعة أعلاه نفسها.

(٥) نقل الخليط بحذر الى انبوبة ذات فلتر وأجريت عملية الطرد المركزي بسرعة 8000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة واحدة، تم بعدها التخلص من المحلول النازل، واعد استعمال الانبوبة ذات الفلتر مرة اخرى.

(٦) اضيف 500 ميكروولتر من المحلول الدارئ W2 وأجريت عملية طرد مركزي بسرعة 8000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة، تم التخلص من المحلول النازل واعد استعمال الانبوبة ذات الفلتر علماً ان هذه الخطوة اعيدت مرة أخرى.

(٧) أجريت عملية الطرد المركزي اخر بسرعة 13000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة واحدة لغرض إزالة بقايا كحول الايثانول واي قطرة معلقة على الفلتر.

(٨) نقلت انبوبة الفلتر الى انبوبة Eppendorf tube معقمه سعة 1.5 مليلتر جديدة واضيف على منتصف الفلتر 50 ميكروولتر من المحلول الدارئ EA وتركت لمدة دقيقة واحدة ثم أجريت عملية الطرد المركزي

بسرعة 8000 دورة/دقيقة لمدة دقيقة واحدة للحصول على الـDNA الذي حفظ تحت درجة حرارة 20- م°
لحين الاستعمال.

3-5-2 التشخيص باستعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل الـPCR وتحديد تسلسل القواعد النيتروجينية:

تم اجراء فحص (PCR) لغرض تأكيد التشخيص المظهري لعزلة الفطر *Rhizoctonia sp.* (R16) وعزلة الفطر *Ectophoma sp.* (E2). والمعزولة من جذور نبات عرف الديك المصاب بمرض تعفن الجذور وموت البادرات اذ استخدم الـDNA الكلي، الذي تم استخلاصه من الفطريات المعزولة من النباتات المصابة كقالب في تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) القياسي الخاص بالكشف عن الفطريات باستخدام العدة -Ready To-Go PCR Beads المجهاز من شركة/ GE Healthcare البريطانية. كان الحجم النهائي للتفاعل 25 مايكرو ليتر ويحتوي على المكونات الأساسية المتمثلة بـ 1 مايكرو ليتر من كل من البادئات ITS1 و ITS4 الموضحة أدناه (جدول 6)، والتي تستهدف مضاعفة منطقة Internal transcribed spacer (ITS) التي تقع ضمن جينات الوحدة الصغيرة والوحدة الكبيرة المكونة للرايبوسومات في الكروموسومات الفطرية (White وآخرون، 1990) كما أضيف للتفاعل 2 مايكرو ليتر من الـDNA الكلي المعزول من الفطريات أعلاه.

جدول 6 : البودئ المستخدمة في اختبارات تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction الـ PCR

اسم الواسم	اسماء البودئ	3-تواليات البودئ-5
ITS	ITS1-F	TCCGTAGGTGAA CCT GCG G
	ITS4-R	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC
TEF-1 α	EF1-728 F	CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG
	EF1-986R	TAC TTG AAG GAA CCC TTA CC
RPB 1	lecRPB1-F	GARACNGTYTGYCAYAAAYTGYGGCAAG
	ecRPB1-R	CRAAYTCRTTNACNACRTGNGCNGG '
RPB 2	RPB2-5f2	GGGGWGAYCAGAAGAAGGC
	fRPB2-7cR	CCCATRGCTTGTYRCCCAT
β -tubulin	BT1F	TAGCTTTTCTCCTGACTGGC
	BT1R	AATCGGCAGAATGAGTTGAC
mitochondrial small-subunit ribosomal RNA	BMS1F	CCATTCCGCCTTGTGAGTAC
	BMS63R	CTTACCGAGTCTTCTGGCAC

بعد اجراء عملية التضاعف الـ PCR أرسلت النواتج إلى شركة Macrogen في كوريا الجنوبية لغرض تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية لكل عينة فطرية، تم تقييم وتحليل البيانات المستلمة من الشركة بالاستعانة ببرنامج Chromas، ولغرض معرفة التشابه بين الفطريات قيد الدراسة والفطريات المسجلة عالميا؛ تم الاستعانة ببرنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) التابع لموقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية National Center for Biotechnology Information بعد ذلك تم تسجيل العزلات المشخصة في بنك الجينات التابع لنفس الموقع أعلاه.

3-5-3 التشخيص باستعمال تقنية الجيل التالي لتحديد التسلسل Next Generation sequencing (NGS) لعزلة الفطر *Fusarium sp.* (F3)

• عداد المكتبات الجينومية وتحديد التسلسل عالي الإنتاجية:

تم إعداد مكتبات التسلسل (Sequencing libraries) وتحديد تسلسل القواعد النايتروجينية لعينة الفطر باستعمال طريقة الجينوم الكامل (Whole genome sequencing) الخاص بالحامض النووي الـ DNA في شركة Macrogen في كوريا الجنوبية؛ إذ حدد تسلسل القواعد النايتروجينية على منصة Illumina التي تستعمل جهاز Next Seq 1000 & 2000 لمعرفة تسلسل الجينوم الكامل للكائنات الحية؛ إذ تنتج قراءات باطوال محددة مقدارها 150 قاعدة نايتروجينية وكذلك تحديد تسلسل التعبير الجيني مع طول قراءات مقدارها 100 قاعدة نايتروجينية. لاحقاً تم إيداع بيانات التسلسل الأولية في موقع أرشيف قراءة التسلسل Sequence Read Archive (SRA) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>) التابع للمركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI) إذ تم تحديد أرقام خاصة لبيانات مشروع الدراسة هذه.

• تشذيب قراءات تسلسلات القواعد النايتروجينية:

في أثناء عمليات تحضير المكتبات الجينومية، تم إدخال البادئات المتخصصة (Specific Primers) والمحولات (Adapters) في شظايا الحامض النووي ليتم تحديد تسلسلها بنجاح. وبطبيعة الحال فإن هذه التسلسلات الاصطناعية المضافة لديها القدرة على التداخل السلبي في نتائج تحليلات المعلوماتية الحيوية اللاحقة، لذلك يتوجب إزالتها من مجموعة البيانات فضلاً عن إزالة المقروءات ذات النوعية المنخفضة (أقل من Q30) باستعمال البرامج المتخصصة ومنها برنامج Trimmomatic (Bolger وآخرون، 2014). لقد تم تنفيذ هذه الخطوات على البيانات من قبل الشركة نفسها ولغرض التأكد من جودة المقروءات بعد إجراء عملية التشذيب استعمل برنامج آخر وهو FastQC (Andrews، 2010) الذي يعطينا تقريراً مفصلاً عن جودة البيانات وذلك من أجل تحديد مدى جودتها من أجل استعمالها في التحليلات النهائية.

• تجميع قراءات تسلسلات القواعد النايتروجينية بطريقة *De novo*:

بهدف تجميع المقروءات المتسلسلة (Raw reads) في تسلسلات المتجاورات المتداخلة أو المقروءات المتجمعة (Contigs)؛ تم استعمال برامج متخصصة لتحقيق هذا الهدف شملت برنامج SPAdes (Bankevich وآخرون، 2012) المتخصص بالمقروءات من نوع الحامض النووي الـ DNA، وقد استعملت المعايير

الافتراضية المتفق عليها في هذه البرامج. وتم حفظ نتائج عمل هذين البرنامجين بما يخص المقروءات المتسلسلة الأطول في ملفات من نوع FASTA لغرض استعمالها في خطوات التحليل اللاحقة.

- **مقارنة تسلسلات القواعد النايروجينية المتجمعة او المتجاورات المتداخلة (Contigs) مع التسلسلات العالمية :**

لغرض إيجاد مناطق التشابه والاختلاف بين تسلسلات القواعد النايروجينية استعمل برنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Camacho وآخرون، 2009)؛ الذي يقارن بين تسلسلات القواعد النايروجينية أو البروتينات المحلية مع جميع التسلسلات المحفوظة في قواعد البيانات وحساب الدلالة الإحصائية لها. ولجعل عملية المقارنة أسرع وأدق وأكثر تخصصية استعمل هذا البرنامج في مقارنة التسلسلات الأطول التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة مع قاعدة بيانات تسلسلات جميع الفطريات المعروفة والمحفوظة في NCBI-Genbank التي تم الحصول عليها من الموقع <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> في تاريخ 2022-4-25. حفظت مخرجات هذه العملية في ملف اكسل وتمت مراجعتها وتنظيمها يدوياً؛ وذلك من أجل التخلص من نسب المقروءات ذات نسب التشابه المنخفضة.

- **مقارنة تسلسلات القواعد النايروجينية المتجمعة او المتجاورات المتداخلة (Contigs) مع التسلسلات العالمية :**

لغرض إيجاد مناطق التشابه والاختلاف بين تسلسلات القواعد النايروجينية والبروتينات استعمل برنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Camacho وآخرون، 2009) الذي يقارن بين تسلسلات القواعد النايروجينية أو البروتينات المحلية مع جميع التسلسلات المحفوظة في قواعد البيانات وحساب الدلالة الإحصائية لها. ولجعل عملية المقارنة أسرع وأدق وأكثر تخصصية استعمل هذا البرنامج في مقارنة التسلسلات الأطول التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة مع قاعدة بيانات تسلسلات جميع الفطريات المعروفة والمحفوظة في NCBI-Genbank. حفظت مخرجات هذه العملية في ملف اكسل وتمت مراجعتها وتنظيمها يدوياً؛ وذلك من أجل التخلص من نسب المقروءات ذات نسب التشابه المنخفضة (أقل من 50 قاعدة نايروجينية).

- **محاذاة المقروءات مع الجينوم المرجعي للفطريات:**

بعد تحديد الفطر المشخص تمّ الحصول على الجينوم المرجعي لها من قاعدة بيانات متخصصة تسمى RefSeq: NCBI Reference Sequence Database والتي تحتوي على مجموعة التسلسلات المرجعية الشاملة والمتكاملة وغير المكررة والمعرفة بشكل جيد لجميع جينومات وبروتينات الكائنات الحية المعروفة. استعمل برنامج Bowtie2 (Salzberg و Langmead، 2012) في إجراء المحاذاة (Alignment) بين المقروءات

المتسلسلة (Raw reads) والجينومات المرجعية للفطريات المشخصة، من اجل تعيين المقروءات المتسلسلة وتجميعها بهدف انشاء او توليد أطول تسلسلات متفق عليها (Consensus sequence) مشابه لتسلسل الجينوم المرجعي.

● تحليل النشوء والتطور:

استعملت مجموعة التسلسلات المتفق عليها (Consensus sequences) المشابه لتسلسلات الجينومات المرجعية في برنامج BLAST من اجل تحديد نسبة التشابه مع تسلسلات الفطريات العالمية وأيضا لتحديد العلاقة الوراثية بينهما؛ اذ تم تنزيل التسلسلات المماثلة، واجريت عملية المقارنة بينهما باستعمال برنامج ClustalW الموجود ضمن برامج منصة MEGA (الإصدار العاشر)؛ اذ تم تشغيلها من اجل بناء أشجار النشوء والتطور التي تطبق نهج او طريقة الانضمام إلى الجوار (neighbor-joining) (Kumar و اخرون، 2016).

6-3 اختبار المدى العائلي للفطريات *R. solani* (R16) و *F. solani* (F3) و *E. multirostrata* (E2) المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك *C. argentea*

نفذت هذه التجربة و ذلك بخلط تربة مزيجية وسماد بتموس (1:2) و تعقيمها بواسطة جهاز الاوتوكليف بنفس الظروف المذكورة في الفقرة 3-5-2. بعدها لقت التربة بالفطر المحمل على بذور الدخن (بنسبة 1%) والمحضر في الفقرة 3-4 بعد خلط اللقاح بأكياس بلاستيك؛ لكي يتجانس اللقاح مع التربة والبتموس، ثم وضعت في اصص بلاستيكية سعة اكغم رطبت التربة بإضافة الماء لها؛ ثم غطيت بأكياس بولي اثلين مثقبة (للمحافظة على الرطوبة) لمدة 48 ساعة، بعدها زرعت ببذور الخيار والرقي و الفلفل الحار والطماطة والبطيخ وعين البزون بصورة مستقلة و بواقع 10 بذور/ اصيص و سقيت باحتراس كلما دعت الحاجة. بعد مرور 30 يوما من الزراعة، حسبت النسبة المئوية للإنبات وتعفن البذور على وفق المعادلة المذكورة في الفقرة 3-5-1.

7-3 اختبار المقدرة التضادية للعاملين الاحيائين *Trichoderma koningiopsis* و *Azotobacter chroococcum* ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك

1-7-3 العامل الاحيائي *T. koningiopsis*

تم الحصول على عزلة المقاوم الاحيائي من مختبر الدراسات العليا علما انه شخص جزئيا في دراسة سابقة (دخيل، 2021) واختبرت المقدرة التضادية للفطر *T. koningiopsis* ضد العزلات الفطرية E2,F3,Rh16 الممرضة والمسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك و حسب طريقة الزرع المزدوج (Dual)

(Cook و Baker، 1974)؛ إذ تمّ تقسيم أطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي (PDA) بخط وهمي على قسمين متساويين، لفتح مركز القسم الأول بقرص قطره 0.5 سم مأخوذ من حافة المستعمرات النقية بعمر سبعة أيام الخاصة بالفطريات الممرضة في حين لفتح مركز القسم الثاني بقرص بحجم مماثل مأخوذ من مستعمرة نقية للفطر *T. koningiopsis* بعمر سبعة أيام و بواقع ثلاثة مكررات لكل عزلة، كما نفذت معاملة مقارنة بتلقيح القسم الأول بقرص من الفطر الممرض مع ترك القسم الآخر بدون تلقيح. وايضا نفذت معاملة مقارنة اخرى بتلقيح القسم الثاني بقرص من الفطر *T. koningiopsis* مع ترك القسم الآخر بدون تلقيح وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ± 2 °م وبعد وصول نمو الفطر الممرض إلى حافة الطبق تم قياس النمو القطري للفطر بواسطة مسطرة شفافة بأخذ قطرين متعامدين وتم حساب الكفاءة التثبيطية للعامل الاحيائي بالاعتماد على مقياس Bell واخرون (1982) والذي يتكون من 5 درجات وهي:

- (1) العامل الاحيائي يغطي نموه كل مساحة الطبق، ويمنع نمو الفطر الممرض.
 - (2) العامل الاحيائي ينمو في ثلثي الطبق، بينما ينمو الفطر الممرض في الثلث الاخير.
 - (3) العامل الاحيائي يغطي نموه نصف الطبق، بينما ينمو في النصف الاخر الفطر الممرض .
 - (4) الفطر الممرض ينمو في ثلثي الطبق، بينما ينمو العامل الاحيائي في الثلث الاخير.
 - (5) الفطر الممرض يغطي كل مساحة الطبق، ويمنع نمو العامل الاحيائي.
- علما ان العامل الأحيائي يعد فعّالاً اذا كانت درجة التضاد 1 او 2؛ فضلا عن هذه الطريقة فقد استعملت طريقة تحديد النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري (Gwa و Nwankiti، 2018) ذلك باتباع المعادلة التالية الموصوفة من قبل Abbott (1925) :

$$\% \text{التثبيط} = \frac{\text{معدل نمو الفطر الممرض في المقارنة} - \text{معدل نمو الفطر الممرض في المعاملة}}{100} \times 100$$

ولقد تم تحديد الفعالية التضادية للعامل الاحيائي بالاعتماد على النسبة المئوية للتثبيط وباستعمال مقياس Sangoyomi (2004) (جدول 7)

جدول (7) تقييم الدرجة التضادية للعامل الاحيائي ضد الممرضات النباتية

درجة الفعالية	النسبة المئوية للتثبيط
ليس فعالاً	0 %
قليل الفعالية	اكثر من 0 الى 20%
متوسط الفعالية	اكثر من 20 الى 50%
فعال	اكثر من 50 و اقل من 70%
فعال جداً	اكثر من 70 و اقل من 90%
فائق الفعالية	اكثر من 90 و اقل من 100%

2-7-3 العامل الاحيائي *Azotobacter chroococcum*

تم الحصول على عزلة البكتريا *A. chroococcum* من مختبر الدراسات العليا - قسم وقاية النبات - كلية الزراعة- جامعة كربلاء من أ.د رجاء غازي عبد المحسن وجرى تنميتها واثارها على الوسط الزراعي Nutrient agar ثم على الوسط السائل Nutrient broth

1-2-7-3 تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري للبكتريا *A. chroococcum* المثبط لنمو الفطريات الممرضة قيد الدراسة:

حضرت سلسلة من تخافيف عالق البكتريا *A.chroococcum* بأخذ 1مل من الوسط السائل Nutrient Broth النامية فيه البكتريا بواسطة محقنة طبية واضيف الى انبوبة اختبار تحتوي على 9مل ماء مقطر معقم لينقل واحد مل من تخفيف 10^{-1} الى الانبوب الثاني ، ونقل واحد مل من الانبوبة الثانية الى الانبوبة الثالثة ، وهكذا كررت العملية على باقي الانابيب للحصول على سلسلة من التخافيف 10^{-1} 10^{-8} بعدها اضيف 1مل/ طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري وصب فوقه الوسط الزراعي PDA، وحرك الطبق حركة رحوية لتوزيع اللقاح البكتيري ، بعدها لقم بأخذ قرص من حافة المستعمرة الفطرية بقطر 0.5 سم من مستعمرات عزلات الفطريات *Rhizoctonia sp.* (R16) و *Ectophoma sp.* (E2) و *Fusarium sp.* (F3) والمنماة على الوسط PDA بعمر سبعة ايام، ووضع في منتصف كل طبق كل على انفراد وبمعدل ثلاثة اطباق لكل تخفيف وتركت ثلاثة اطباق لكل فطر للمقارنة من دون تلقيح بالبكتريا وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 28 ± 1 م° بعد

ذلك تم حساب مقدار التثبيط بعد وصول معاملة المقارنة لحافة الطبق وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر النامي ومنها حسبت النسبة المئوية للتثبيط على وفق معادلة Montealeger واخرون (2003) .

$$\% \text{ لتثبيط النمو الفطري} = 1 - \left[\frac{\text{النمو الفطري في معاملة البكتريا}}{\text{النمو الفطري في معاملة المقارنة}} \right] \times 100$$

2-2-7-3 حساب الكثافة العددية للبكتريا *A.chroococcum*:

اتبعت الخطوات في الفقرة السابقة (3-8-1-2-1) P إذ تمّ تحضير ثلاثة اطباق بتري بقطر تسعة سم حاوية على الوسط PDA المعقم ، لقتحت الاطباق بعالق البكتريا بتخفيف 10^{-2} بمعدل 0.1 مل/ طبق من التخفيف؛ حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25 ± 1 م° لمدة 48 ساعة ، بعدها حسبت عدد المستعمرات في كل طبق وضرب معدل المستعمرات البكتيرية في مقلوب التخفيف الفعال (Clark، 1965).

8-3 تقييم كفاءة المبيدات Metchazole, Basten , Verox ، Beltanol ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور عرف الديك *Celosia argentea* في الوسط الزراعي PDA:

استخدم في هذه الدراسة ثلاثة تراكيز لكل مبيد؛ إذ استخدم التركيز الموصى به من قبل الشركة المصنعة ونصف وثلاثة ارباع التركيز الموصى به وكما موضح في الجدول 8 في ادناه:

جدول (8) تراكيز المبيدات المستخدمة في مكافحة الفطريات المسببة لتعفن جذور وموت بادرات نبات عرف الديك مختبريا

اسم المبيد	التركيز الموصى به/لتر	التراكيز المستخدمة/لتر
Beltanol	1مل	0.5 , 0.75 , 1 مل
Verox	2غم	1 , 1.5 , 2 غم
Basten	2غم	1 , 1.5 , 2 غم
Metchazole	1مل	0.5 , 0.75 , 1 مل

حضرت دوارق زجاجية يحوي كل منها 250 مل من الوسط الزراعي PDA المعقم. بعد انخفاض درجة حرارة الوسط الى ما يقارب 45 درجة مئوية، أضيفت المبيدات Metchazole, Basten , Verox، Beltanol إلى

الدوارق بالتراكيز المبينة في الجدول 8 لكل مبيد كل على انفراد، ثم رجت الدوارق جيدا، وصبت الاوساط المضاف لها المبيدات في اطباق بتري معقمة بعد تصلب الوسط لفتح بأخذ قرص قطره 0.5 سم من حافة مستعمرة كل فطر نامي على الوسط الزراعي PDA بعمر 7 ايام اذ وضع القرص في منتصف الطبق نفذت التجربة على وفق التصميم العشوائي الكامل CRD وبثلاثة مكررات لكل معاملة مع معاملة المقارنة للفطريات بدون استخدام مبيد و بعدد المكررات نفسها ، بعدها حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 ± 2 درجة مئوية سجلت النتائج بعد 7 ايام بقياس الاقطار المتعامدة للنمو الشعاعي للفطريات من ظهر الطبق في المكررات كافة باستخدام مسطرة مدرجة ومنها استخرجت النسبة المئوية للتثبيط على وفق المعادلة الواردة في الفقرة 3-8-1-1

9-3 تقييم كفاءة الكايتوسان وحامض السالسيليك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذورنبات عرف الديك C. *argentea* في الوسط الزراعي PDA

1-9-3 الكايتوسان:

استخدم الكايتوسان المصنع من قبل الشركة الهندية Himedia، وقد اجريت التجارب حسب طريقة عبود (1998) مع بعض التعديلات وتتضمن اذابة 4 غرام من الكايتوسان في 40 مل ماء مقطر، واضيف 0.4 مل من حامض الخليك الى الخليط وضع الخليط عند درجة حرارة الغرفة الى اليوم التالي عدلت قيمة pH الى 6 بإضافة هيدروكسيد الصوديوم وحضرت منها التراكيز 0.5 ، 1 ، 2 % وذلك بأضافتها الى الوسط الزراعي (PDA) ورج جيدا لتأكيد خلط المواد مع الوسط الزراعي ثم صب الوسط الذي يحوي على الكايتوسان في اطباق بتري بقطر 9 سم وبثلاثة مكررات لكل تركيز ولكل فطر فضلا عن معاملة المقارنة بدون اضافة ، لقحت الاطباق بقرص قطرة 0.5 سم من المستعمرة النقية بعمر 7 أيام من الفطريات الممرضة *Rhizoctonia solani* (R16) و *Ectophoma multirostrata* (E2) و *Fusarium solani* (F3) كل على انفراد ، حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25 ± 2 م° وتركت لحين اكتمال نمو الفطر في المقارنة وحسبت النسبة المئوية للتثبيط وفقا للمعادلة الواردة في الفقرة 3-8-1-1 .

2-9-3 حامض السالسيليك

تم تقييم الكفاءة عن طريق اختبار تراكيز عديدة من حامض السالسيليك (0.5 ، 1.0 ، 1.5) غم\لتر ، وقد اضيفت هذه التراكيز الى الوسط الزراعي (PDA) في دوارق زجاجية عند انخفاض درجة حرارته قبل التصلب، ثم صب الوسط الذي يحوي على حامض السالسيليك في اطباق بتري وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز فضلا عن معاملة المقارنة من دون اضافة حامض السالسيليك وبعد تصلب الاطباق لقحت بقرص قطرة 0.5 سم من

المستعمرة النقية وبعمر سبعة أيام من الفطريات الممرضة كل على انفراد ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25 ± 2 م° وتركت لحين اكتمال نمو الفطريات في المقارنة وتم حساب النسبة المئوية للتنشيط على وفق المعادلة المذكورة في الفقرة 3-8-1-1 .

10-3 تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطريات *F. solani* و *R. solani* و *E. multirostrata* المسببه لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك *C. argentea* تحت ظروف البيت البلاستيكي

نفذت هذه التجربة في احد البيوت البلاستيكية التابعة لقسم وقاية النبات في كلية الزراعة – جامعة كربلاء بتاريخ 6-3-2022, اذ عقت تربة مزيجية كما في الفقرة 3-5 وضعت بعدها في اصص بلاستيكية سعة 1 كغم. اضيف لقاح الفطريات الممرضة *F. solani* (F3) و *R. solani* (R16) و *E. multirostrata* (E2) وكذلك العامل الاحيائي الفطري *T. koningiopsis* المحملة على بذور الدخن كما في الفقرة 3-4 الى الاصص البلاستيكية وبنسبة 1 % لكل اصيص وبثلاثة مكررات لكل معاملة , في حين اضيف العامل الاحيائي البكتيري *A. chroococcum* الى الاصص بواقع 3×10^4 مل / اصيص , اما المبيد الكيميائي Beltanol فتمت اضافته سقيا الى المعاملات فضلا عن معاملة مقارنة زرعت فيها البذور واضيف لها بذور الدخن المعقمة فقط وبعدها المكررات نفسها، وبعدها غطيت الاصص بأكياس البولي اثلين المثقبة وبعد 48 ساعة تم زراعة البذور في التربة , أما الكايتوسان وحمض السالسليك، فقد تمت اضافتها بعد 10 ايام من ظهور البادرات رشاً على المجموع الخضري .وقد تم تنفيذ المعاملات في ادناه :

1. زراعة بذور عرف الديك فقط .
2. الفطر *R. solani* فقط.
3. الفطر *F. solani* فقط.
4. الفطر *E. multirostrata* فقط
5. العامل الاحيائي *T. koningiopsis* فقط
6. العامل الاحيائي *A. chroococcum* فقط
7. كايتوسان فقط
8. حمض السالسليك فقط
9. مبيد Beltanol فقط

- .١٠ *A. chroococcum* + *T. koningiopsis*
- .١١ حامض السالسيك + الكايتوسان
- .١٢ *T. koningiopsis* + كايتوسان
- .١٣ *T. koningiopsis* + حامض السالسيك
- .١٤ *A. chroococcum* + كايتوسان
- .١٥ *A. chroococcum* + حامض السالسيك
- .١٦ *T. koningiopsis* + *R. solani*
- .١٧ *A. chroococcum* + *R. solani*
- .١٨ *R. solani* + الكايتوسان
- .١٩ *R. solani* + حامض السالسيك
- .٢٠ *R. solani* + Beltanol
- .٢١ *T. koningiopsis* + *F. solani*
- .٢٢ *A. chroococcum* + *F. solani*
- .٢٣ *F. solani* + الكايتوسان
- .٢٤ *F. solani* + حامض السالسيك
- .٢٥ *F. solani* + Beltanol
- .٢٦ *T. koningiopsis* + *E. multirostrata*
- .٢٧ *A. chroococcum* + *E. multirostrata*
- .٢٨ *E. multirostrata* + الكايتوسان
- .٢٩ *E. multirostrata* + حامض السالسيك
- .٣٠ *E. multirostrata* + Beltanol
- .٣١ *A. chroococcum* + *T. koningiopsis* + *R. solani*
- .٣٢ *R. solani* + *A. chroococcum* + الكايتوسان
- .٣٣ *R. solani* + *A. chroococcum* + حامض السالسيك
- .٣٤ *R. solani* + *T. koningiopsis* + الكايتوسان
- .٣٥ *R. solani* + *T. koningiopsis* + حامض السالسيك
- .٣٦ *R. solani* + الكايتوسان + حامض السالسيك .

٣٧. *A. chroococcum* + *T. koningiopsis* + *F. solani*
٣٨. الكايتوسان + *A. chroococcum* + *F. solani*
٣٩. حامض السالسيك + *A. chroococcum* + *F. solani*
٤٠. الكايتوسان + *T. koningiopsis* + *F. solani*
٤١. حامض السالسيك + *T. koningiopsis* + *F. solani*
٤٢. الكايتوسان + حامض السالسيك + *F. solani*
٤٣. *A. chroococcum* + *T. koningiopsis* + *E. multirostrata*
٤٤. الكايتوسان + *A. chroococcum* + *E. multirostrata*
٤٥. حامض السالسيك + *A. chroococcum* + *E. multirostrata*
٤٦. حامض السالسيك + *T. koningiopsis* + *E. multirostrata*
٤٧. الكايتوسان + حامض السالسيك + *E. multirostrata*
٤٨. الكايتوسان + *T. koningiopsis* + *E. multirostrata*
- وبعد مرور 90 يوم على تنفيذ التجربة تم حساب نسبة الاصابة وفق المعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للاصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات المدروسة}} \times 100$$

وتم الاعتماد على المفتاح المرضي لتقييم شدة الاصابة بمرض تعفن الجذور كما ورد في العامري (2018) و دخيل (2021) كما يلي :

٠ = جذور سليمة.

١ = تلون (تعفن) الجذور الثانوية .

٢ = تلون الجذور الثانوية وجزء من الجذور الرئيسية .

٣ = تلون الجذر الرئيس دون تعفن قاعدة الساق .

٤ = تلون الجذر الرئيس وتحلل وتعفن قاعدة الساق.

٥ = موت النبات .

وتم اجراء حساب النسبة المئوية لشده الاصابة على وفق معادلة Mckinney (1923) التي وردت في جابر (2020) ودخيل (2021) وكالاتي :

مجموع (عدد النباتات في الدرجة x رقم الدرجة)

$$\% \text{ شدة الإصابة} = \frac{100x}{\text{العدد الكلي للنباتات x اعلى درجة}}$$

العدد الكلي للنباتات x اعلى درجة

ومن ثم تم احتساب طول النبات بعد قلعه باحتراس لضمان عدم تقطع الشعيرات الجذرية ، وغسل الجذور تحت ماء الحنفية للتخلص من الاتربة العالقة بالجذور ثم فصل الجذر عن المجموع الخضري، وسجل الوزن الطري لكل منهما ووضعت في اكياس ورقية، لغرض تجفيفها في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 60 م° لحين ثبات الوزن الجاف , ذلك لغرض احتساب الوزن الجاف للمجموع الخضري و الجذري .

11-3 التحليل الإحصائي

اعتمد التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) لجميع التجارب العاملية أو ذات العامل الواحد وباستخدام اختبار اقل فرقا معنويا Least Significant Difference (L.S.D) وذلك باستعمال برنامج GenStat الاصدار العاشر.

4-النتائج والمناقشة

4-1 عزل الفطريات المرافقة لجذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* المصابة بمرض تعفن الجذور

اظهرت نتائج عملية المسح ان مرض تعفن الجذور متواجد في جميع المشاتل المشمولة بالدراسة في محافظتي كربلاء وبابل خلال موسم النمو للعام 2021 , وتمثلت الاعراض المرضية التي ظهرت على نباتات عرف الديك باصفرار المجموع الخضري وانكماشه يرافقه التلون البني الشديد على قاعدة الساق كما ظهرت بقع بنية داكنة مختلفة الاحجام على المجموع الجذري اتحدت مع بعضها بعض، وامتدت الى منطقة التاج، ونتاج عنه لاحقا تعفن، وانسلاخ الجذور، و ذبول النبات بأكمله وموته, واظهرت نتائج عملية العزل والتشخيص وجود فطريات مختلفة تعود الى اجناس عديدة مصاحبة لمرض تعفن الجذور وموت بادرات نبات عرف الديك المشمولة بالدراسة.

4-2 التشخيص المظهري للفطريات المعزولة من نباتات عرف الديك المصابة بمرض تعفن الجذور:

بينت نتائج عملية التشخيص المظهري للفطريات المعزولة بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية الموصوفة من قبل Parameter وWhitney (1970) و Summerell و Leslie (2006) و Watanabe (2018) ان 20 عزلة من العزلات الفطرية المرافقة لمرض تعفن الجذور وموت البادرات تعود الى الجنس *Rhizoctonia sp.* و 22 عزلة تعود الى جنس الفطر *Fusarium spp.* وثلاث عزلات تعود للفطر *Ectophoma spp.* وذلك استنادا الى الصفات المظهرية والمجهريه للمستعمرات الفطرية النامية اذ لوحظ ان الفطر *Rhizoctonia spp.* يكون غزلا فطريا مقسما بحواجز ذي لون ابيض عند بداية نموه، ويتحول الى اللون البني الفاتح؛ ثم الى الداكن في مراحل المتأخرة؛ وتتكون افرع جانبية مشكلة زوايا قائمة مع الافرع الرئيسية للغزل الفطري مع تشكل تخرصر عند نقطة التفرع (شكل 4 أ، ب)؛ وهذه الخاصية تعد اهم صفة مظهرية يتم من خلالها التعرف على هذا الفطر وقابليتها على تكوين اجسام حجرية بأحجام مختلفة وبألوان تدرجت من البني الى الاسود عند تقدم المستعمرة الفطرية بالعمر.

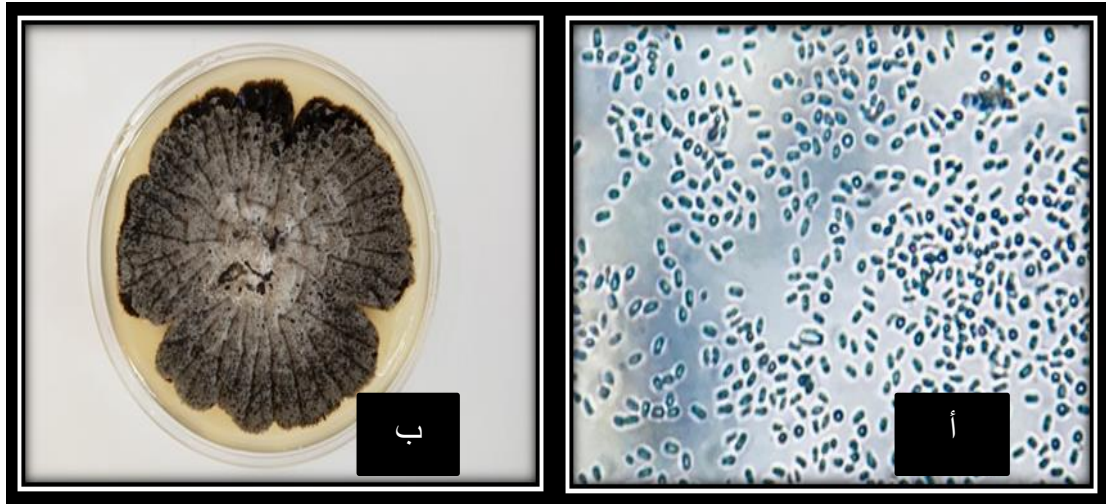


شكل (4) الخصائص المظهرية والمجهريّة للفطر *Rhizoctonia solani* (R16) المعزول من نباتات عرف الديك (أ) مزرعة نقية للفطر *R. solani* على الوسط PDA، (ب) صورة مجهرية للغزل الفطري للفطر *R. solani*

اما الفطر *Fusarium spp.* فقد كانت المستعمرات النقية للعزلات الفطرية المرافقة للنباتات المريضة متشابهة ذات نمو غزير سميك يشبه القطن بلون ابيض مصفر (شكل 5 أ). حوامل الابواغ (Conidiophores) اما تكون بسيطة او متفرعة تحمل ذنبيات منفردة (monophialide) ذات مظهر اسطواني ناعم وشفاف, الابواغ الكبير (Macroconidia) شفافة ، سمكة الجدران ، وشبيه بالمنجل مع واحد إلى ثلاثة حواجز بينما الابواغ الصغيرة (Microconidia) بيضوية الشكل وجدرانها ناعمة وبدون حواجز (شكل 5 ب). بالاعتماد على هذه الصفات المظهرية المذكورة مسبقا Leslie Summerell (2006) وتواجد نادر للابواغ الكلاميدية (Chlamyospore) وقد تتواجد جميعها او السيادة لاحدها وكذلك الاختلاف بشكل وحجم البوغ الواحد بين الانواع , قد يكون البوغ الكونيدي طويل ، او قصير، او نحيف، او مدبب، او غير ذلك , تتفق هذه النتائج مع جابر (2020) كذلك عزلت ثلاث عزلات من الفطر *Ectophoma spp.* اذ تميزت بتكوينها مستعمرات فطرية زيتونية الى بنية اللون (شكل 6 أ) واطهر الفحص المجهري وجود غزل فطري مقسم فضلا عن وجود كونيديا بيضوية احادية الخلية (شكل 6 ب)؛ وبكونيديا دورقية الشكل داكنة اللون , تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Chobe وآخرون (2020) و Kashyap وآخرون (2022) اذ سجلو هذا الفطر لأول مرة بلدانهم، وسجل كمسبب لتعفن جذور وموت بادرات الحمص.



شكل 5: الخصائص المظهرية والمجهرية للفطر *Fusarium* spp. (F3) المعزول من نباتات عرف الديك (أ) مزرعة نقية للفطر *Fusarium* spp. على الوسط PDA، (ب) صورة مجهرية لابواغ الفطر *Fusarium* spp.



شكل (6): الخصائص المظهرية والمجهرية للفطر *Ectophoma* sp. (E2) المعزول من نباتات عرف الديك (أ) مزرعة نقية للفطر *Ectophoma* sp. على الوسط PDA، (ب) صورة مجهرية لابواغ الفطر *Ectophoma* sp.

3-4 اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة في هذه الدراسة:

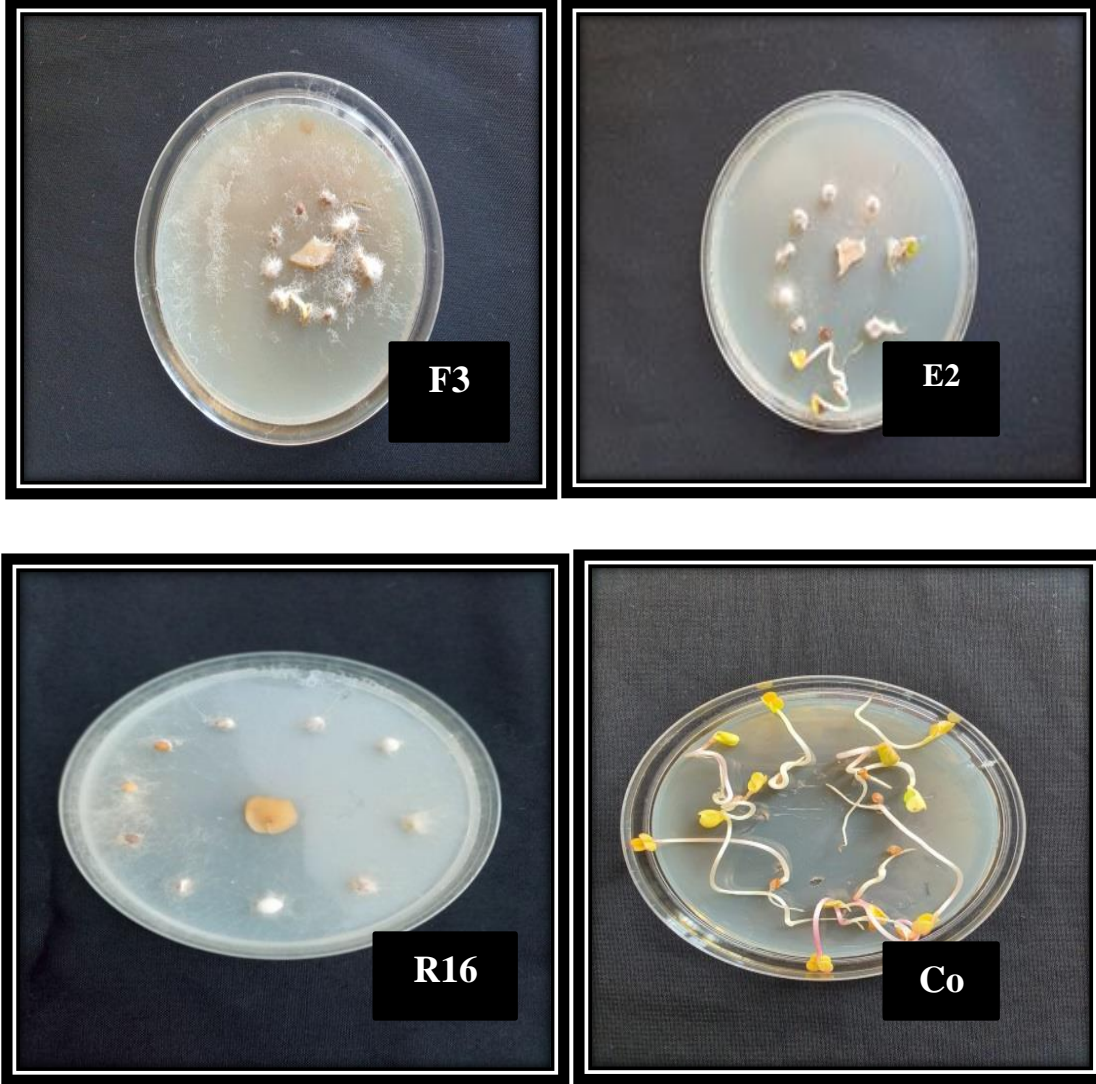
1-3-4 اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة بأستخدام بذور الفجل الحمر على الوسط الزراعي :Water Agar

اظهرت النتائج (جدول 9 وشكل 7) ان جميع عزلات الفطريات المختبرة ادت الى خفض معنوي في النسبة المئوية للانبات ، قياسا بمعاملة المقارنة، التي بلغت النسبة المئوية لانبات البذور فيها 100% ، وتفوقت عزلة الفطر *F.solani* (F3) و *Rhizoctonia solani* (R16) في خفض النسبة المئوية لانبات عن باقي العزلات ؛ اذ بلغ معدل النسبة المئوية لانبات فيهما 0.0% تلتها عزلة الفطر *Rhizoctonia solani* (R11) والتي بلغت نسبة الانبات فيها 3.33% في حين تراوحت النسبة المئوية لانبات لباقي العزلات ما بين 6.66- 86.66% ، والذي قد يعزى الى الاختلاف الوراثي بين عزلات الفطريات المختلفة، فضلا عن عزلات النوع الواحد والتي جمعت من مناطق مختلفة ، او يعود الى اختلاف العزلات في مقدرتها على افراز الانزيمات المحللة للبروتين والسيليلوز؛ ومنها : Pectinase Phosphatase , Cellulase , Methylesterase, pectinase , pectinmethylhydrase والتي لها الاثر الكبير في امراضية الفطر فضلا عن قابلية هذه الفطريات على انتاج بعض السموم ذات الطبيعة الفينولية والكلايكوسيدية. تتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات منها دخيل(2021) و Kashyab (اخرون,2022). بناء على نتائج هذه التجربة اختيرت العزلات R16,R11 ,R10 ,R8,R6 ,5R,R2 و F2,F1 ,F4,F3 ,F9,F10 ,F22, E2 لاجراء تجربة الامراضية في البيت البلاستيكي .

جدول (9)الكشف عن العزلات الممرضة باستخدام بذور الفجل الاحمر

ت	رمز العزلة	% للإنبات	% للتشبيط	ت	رمز العزلة	% للإنبات	% للتشبيط
1	Control	100	0.0	24	F10	26.66	73.34
2	R1	56.66	43.34	25	R14	53.33	46.67
3	R2	6.66	93.33	26	R15	60.00	40.00
4	R3	56.66	43.34	27	F11	66.66	33.34
5	F1	6.66	93.33	28	R16	0.00	100.0
6	R4	53.33	46.67	29	R17	86.66	13.34
7	R5	16.66	83.34	30	R18	76.66	23.34
8	R6	6.66	93.34	31	E1	53.33	46.67
9	R7	26.66	73.34	32	F12	56.66	43.34
10	R8	23.33	76.67	33	F13	66.66	33.34
11	R9	46.66	53.34	34	E2	16.66	83.34
12	F2	30.00	70.00	35	R19	53.33	46.67
13	R10	23.33	76.67	36	F14	36.66	63.34
14	R11	3.33	96.66	37	F15	53.33	46.67
15	R12	60.00	40.00	38	R20	63.33	36.67
16	F3	0.00	100.00	39	F16	70.00	30.00
17	R13	26.66	73.34	40	F17	70.00	30.00
18	F4	6.66	93.34	41	F18	63.33	36.67
19	F5	33.33	66.67	42	Ec3	60.00	40.00
20	F6	43.33	56.34	43	F19	53.33	46.67
21	F7	66.66	33.34	44	F20	46.66	53.34
22	F8	60.00	40.00	45	F21	53.33	46.67
23	F9	26.66	76.66	46	F22	20.00	80.00
	LSD0.05	2.478	2.609		LSD0.05	2.478	2.609

* كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات , * F=*Fusarium* sp. , * E=*Ectophoma* sp., R=*Rhizoctonia* sp. ,



شكل (7) اختبار المقدرة الامراضية لبعض الفطريات المعزولة باستخدام بذور الفجل الاحمر على وسط الاكار المائي (WA)

Co=Control , E2=*Ectophoma sp.*, R16=*Rhizoctonia sp.*, F3=*Fusarium sp.*

2-3-4 المقدرة الامراضية للعزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي:

اشارت النتائج (جدول 10) ان المعاملة بالعزلات الفطرية قيد الدراسة ادت الى خفض في انبات بذور عرف الديك قياسا مع معاملة المقارنة ، اذ بينت النتائج ان عزلة الفطر *F.solani* (F3) وعزلة

الفطر *R.solani* (R16) المختبرة سببت خفصاً معنوياً بنسبة انبات البذور اذ بلغت نسبة الانبات فيهما 0.00% والتي اختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة من دون اضافة والتي كانت نسبة الانبات فيها 100.00% تلتها وبفارق معنوي العزلتان F9 وF10 والتي بلغت نسبة تثبيطها لإنبات البذور 90% في حين تراوحت النسبة المئوية للتثبيط في العزلات الأخرى قيد الدراسة ما بين 50.0-84.0% قد يعزى اختلاف العزلات الفطرية في مقدرتها الامراضية وتثبيطها لانبات بذور نبات عرف الديك الى الاختلاف الوراثي بين عزلات الفطريات المختلفة؛ فضلا عن عزلات النوع الواحد والتي جمعت من مناطق مختلفة ، او يعود الى اختلاف العزلات في مقدرتها على افراز الانزيمات المحللة للبروتين والسيليلوز في المراحل الاولى من الاصابة وهذه الانزيمات تؤدي دورا في اختراق العائل؛ ومنها: Pectinase , Phosphatase , Cellulase , Methylesterase , pectinmethylhydrazase , Protase والتي لها الاثر الكبير في امراضية الفطر فضلا عن قابلية هذه الفطريات على انتاج بعض السموم ذات الطبيعة الفينولية والكلايكوسيدية . تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه التميمي (2019) وشنور (2021) و ودخيل(2021) Kashyab واخرون(2022) Meszarosne واخرون(2021) بناء على هذه النتائج اختيرت العزلات E2 ,F3,R16 لتخليصها جزئيا واستخدامها في التجارب اللاحقة اذ بالرغم من امراضية الفطر *Ectophoma spp.* (E2) اقل من عزلات اخرى الا انه يعد التسجيل الاول لهذا الفطر في كربلاء والعراق وسجل فقط في الهند واستراليا كمسبب لتعفن جذور وموت بادرات الحمص Kashyab واخرون(2022) جدول(10)الكشف عن العزلات الاكثر امراضية باستخدام بذور نبات عرف الديك في الاصل البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملة	% للإنبات	% للتثبيط	ت	المعاملة	% للإنبات	% للتثبيط
1	Control	100.0	0.00	9	F1	40.00	60.00
2	R2	50.00	50.00	10	F2	36.66	63.34
3	R5	40.00	60.00	11	F3	0.00	100.0
4	R6	20.00	80.00	12	F4	40.00	60.00
5	R8	30.00	70.00	13	F9	10.00	90.00
6	R10	16.66	83.34	14	F10	10.00	90.00
7	R11	20.00	80.00	15	F22	33.33	66.67
8	R16	0.00	100.0	16	E2	16.00	84.00

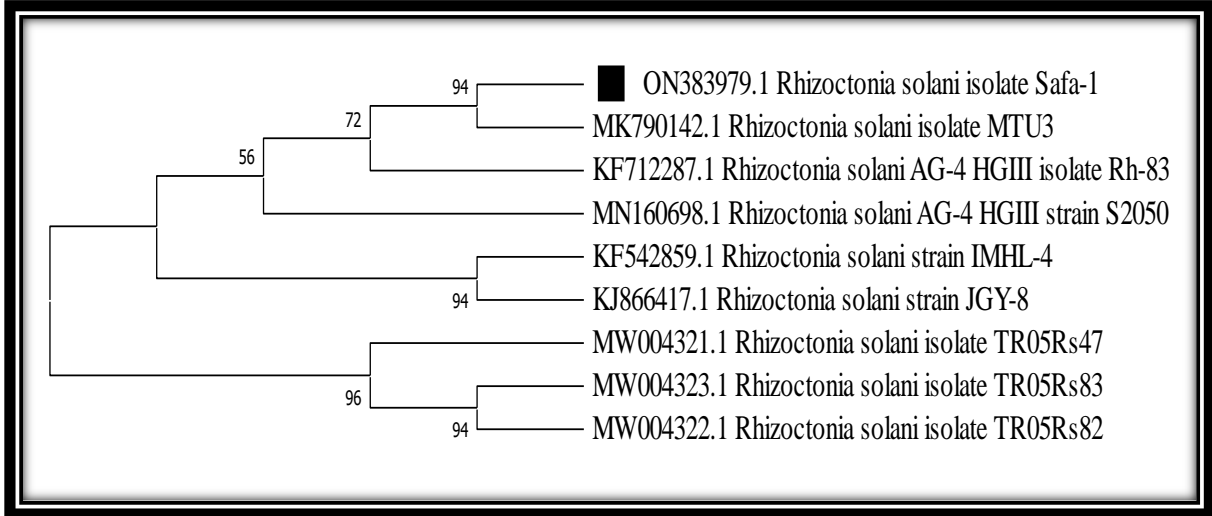
1.3055	1.3055	LSD0.05	1.3055	1.3055	LSD0.05
--------	--------	---------	--------	--------	---------

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات, *F=*Fusarium sp.*, *R=*Rhizoctonia sp.*,

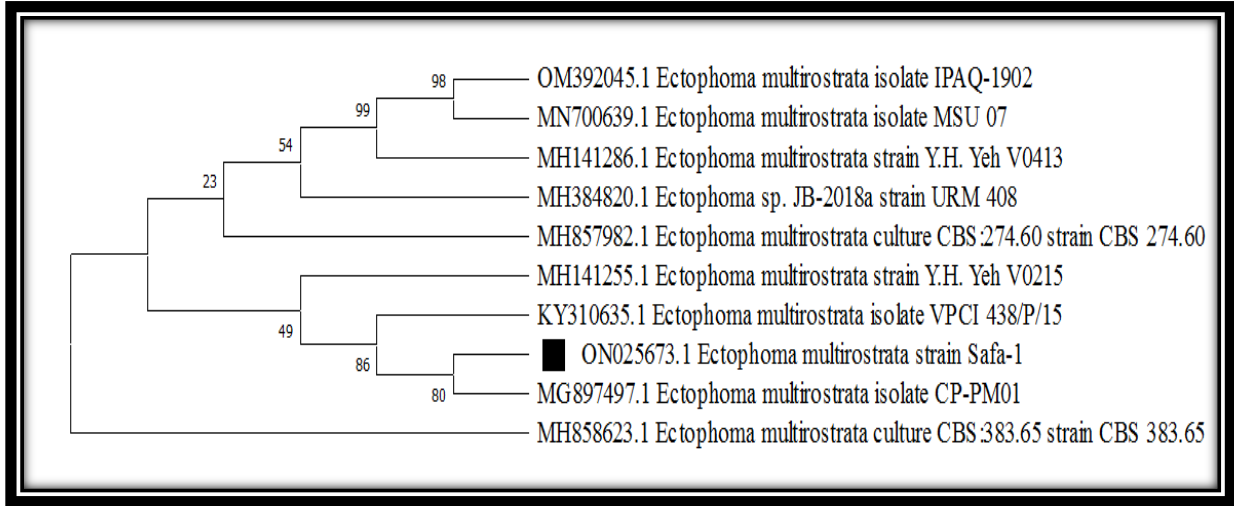
E=*Ectophoma sp.*,

4-4 التشخيص الجزيئي Molecular identification :

تم تضخيم وبنجاح كل من منطقة rDNA-ITS باستعمال البادئات ITS1-ITS4 ومنطقة SSU rRNA مع البادئات NS8-NS1، اذ انتجت سلاسل مضاعفة مفردة بطول من 500 الى 1000 قاعدة نايتروجينية وأكدت نتائج التحليل المعلوماتية الحيوية لتسلسل القواعد النايتروجينية الخاصة بمنطقة ITS أو/ و SSU باستعمال برنامج BLAST التشخيص المظهري المبدئي المعتمد على الخصائص المظهرية فضلاً عن ذلك اكدت نتائج تحليل النشوء والتطور الوراثي Phylogenetic analysis نتائج التشخيص المظهري والجزيئي عن طريق القرابة الوراثية بين سلالات الانواع المشخصة في هذه الدراسة مع العديد من السلالات الانواع الفطرية العالمية التابعة لنفس الجنس والنوع (شكل 9و8).



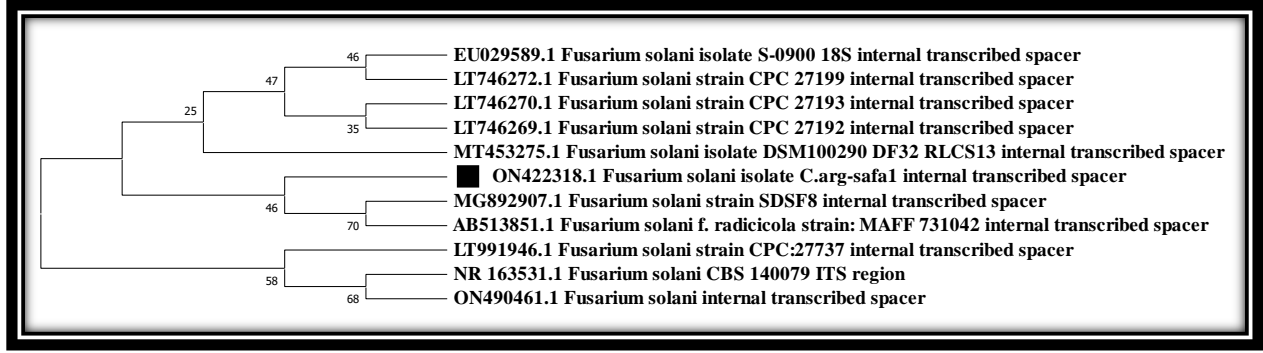
شكل (8): الشجرة الوراثية التي توضح علاقة القرابة الوراثية بين *R. solani* المعزول في هذه الدراسة (معلم بمربع اسود) والعزلات العالمية تابعة لنفس الجنس .



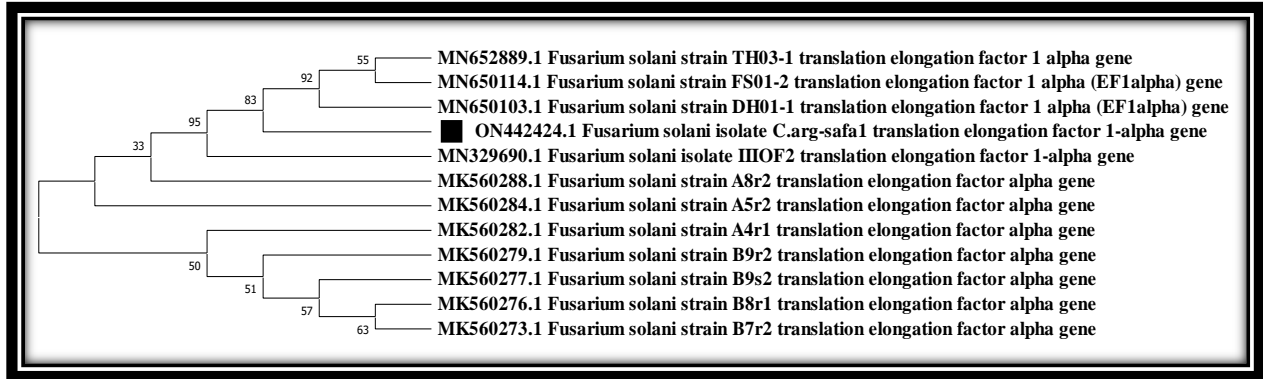
شكل (9): الشجرة الوراثية التي توضح علاقة القرابة الوراثية بين الفطر *E.multirostrata* المعزول في هذه الدراسة (معلم بمربع اسود) والعزلات العالمية لنفس نوع الفطر تابعة لنفس الجنس

● التشخيص الجزيئي وتحديد تسلسل الجينوم الكامل للفطر *F. solani*

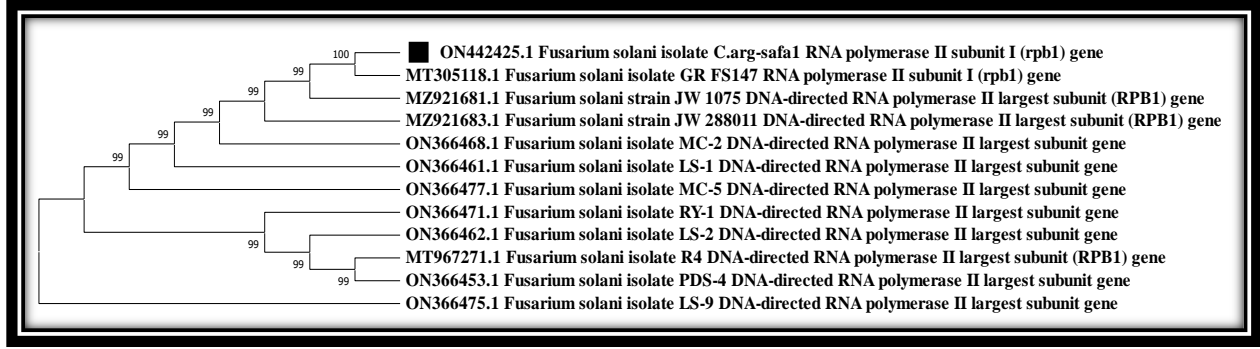
لغرض تأكيد هذا التشخيص تم تحديد تسلسلات ست واسمات جينية مهمة في تشخيص الفطريات شملت RNA و (TEF-1 α) translation elongation factor و (ITS) internal transcribed spacer و (RPB 1) polymerase II و (RPB 2) RNA polymerase II و (beta-tubulin) beta-tubulin 1 فضلا عن mitochondrial small-subunit ribosomal RNA (Narayanasamy, 2011). لقد تم ايداع تسلسلات هذه الجينات في بنك الجينات (GenBank) التابع الى المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (National Center for Biotechnology Information) تحت الأرقام (accession numbers) ON422318.1 و ON442424.1 و ON442425.1 و ON442426.1 و ON442423.1 و ON453888.1 على التوالي. لقد اظهرت نتائج تحليل نسبة التشابه (BLASTn analysis) بين تسلسلات الواسمات الجينية المستعملة في هذه الدراسة ونظائرها العالمية ان هنالك تشابه كبير نسبته بين 99.84 الى 100% مع العديد من التسلسلات العالمية التي تعود جميعها للفطر *F. solani*. فضلا عن ذلك فقد أظهرت نتائج تحليل القرابة الوراثية (Phylogenetic analysis) ان تسلسلات الفطر دائما تتجمع مع شبيهاتها من السلالات العالمية القريبة وراثيا عند بناء الاشجار الوراثية (شكل 10 و 11 و 12 و 13 و 14 و 15).



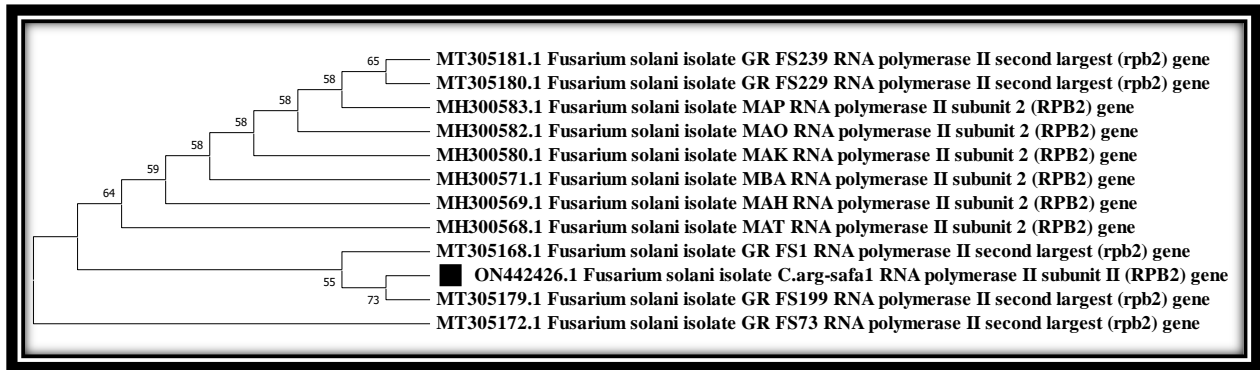
شكل (10): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium solani* isolate C.arg-safa1 (محددة بمربع ذو لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة internal transcribed spacer (ITS) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining .



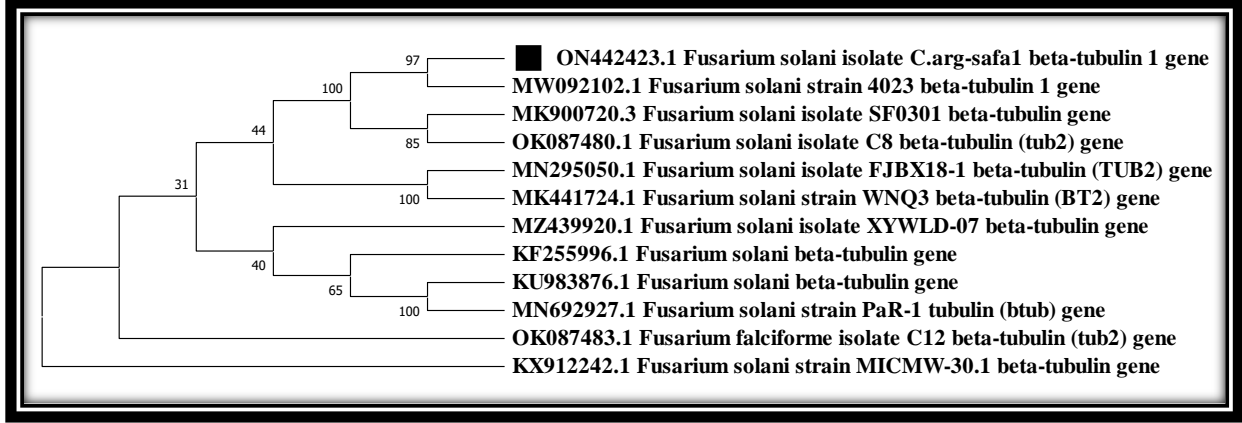
شكل (11): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium solani* isolate C.arg-safa1 (محددة بمربع ذو لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لجين translation elongation factor (TEF-1α) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining .



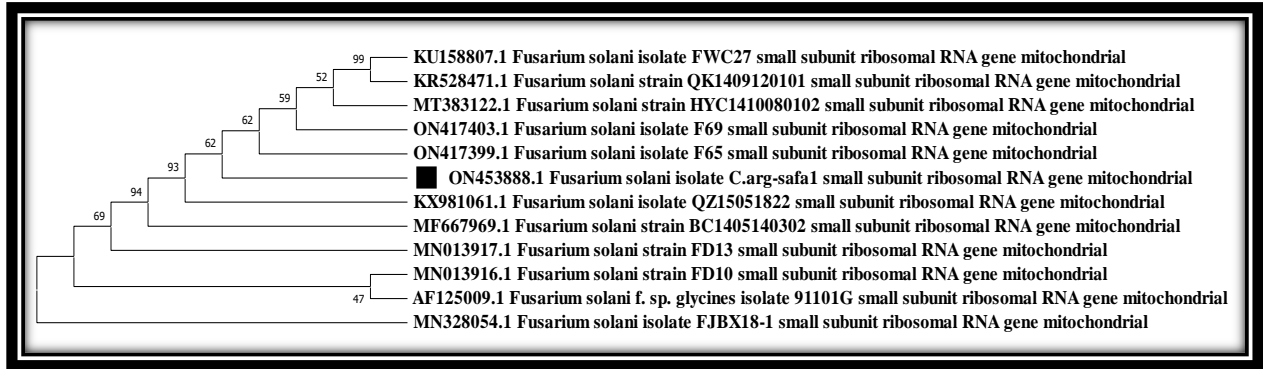
شكل (12): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium solani* isolate C.arg-safa1 (محددة بمربع ذو لون اسود) والتي بنيت اعتمادا على تتابعات قواعد النايتروجينية الخاصة بالجين RNA polymerase II (RPB1) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining



شكل (13): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium solani* isolate C.arg-safa1 (محددة بمربع ذو لون اسود) والتي تم انشاؤها بالاعتماد على تتابعات قواعد النايتروجينية الخاصة بالجين RNA polymerase II (RPB2) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining



شكل (14): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium solani* isolate C.arg-safa1 (محددة بمربع ذو لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لجين beta-tubulin 1 (β -tubulin) فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining



شكل (15): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium solani* isolate C.arg-safa1 (محددة بمربع ذو لون اسود) والتي بنيت اعتمادا على تتابعات قواعدها النايتروجينية الخاصة بالجين mitochondrial small-subunit ribosomal RNA فضلا عن تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining.

● تجميع وتفسير الجينوم الكامل للفطر *F. solani*

يُعد الفطر *F. solani* نوعا معقدا يسمى *Fusarium solani* species complex (FSSC) الذي يضم مجموعة يُقدر حاليًا عددها بما لا يقل عن 60 عضواً متميزًا نسبيًا تسمى *formae speciales*

(f.sp.) والتي هي مرتبة تصنيفية غير رسمية تقع في موقع تصنيفي ادنى من مرتبة النوع (Species) وتحت النوع (Subspecies) والضرب (Variety) وتعتمد بالدرجة الأساس على التخصص العائلي (O'Donnell و Zhang و اخرون، 2006 و Nalim و اخرون، 2011) لغرض تحديد انتساب الفطر *F. solani* المعزول في هذه الدراسة الى أي من الأعضاء الستين التابعة الى *Fusarium solani* species complex (FSSC) تم تحديد وتفسير الجينوم الكامل له، اذ تم الحصول على 16,720,684 سلسلة مقروءات مزدوجة النهايات (Paired ends reads) بمعدل طول 151 قاعدة نايتروجينية وقد بلغ المجموع الكلي للقواعد النايتروجينية 2,524,823,284 بمعدل 51.26 % للقواعد GC و 48.74 % للقواعد AT وبعد إزالة سلاسل المقروءات المنخفضة النوعية فضلا عن التسلسلات المضافة من البادئات والمحولات، جمعت (Assembly) السلاسل المقروءة المزدوجة النهايات ذات النوعية العالية باستعمال برنامج Velvet 1.2.10 بشكل متجاورات متداخلة (Contigs) اذ تم الحصول على 1,188 متجاورة بمعدل طول بلغ 48,494 قاعدة نايتروجينية وكان معدل التغطية 20 X وكان مقياس N50 قد وصل الى 780,357 قاعدة نايتروجينية (جدول 11). لقد بلغ حجم الجينوم الكامل للفطر *F. solani* الذي عزل وشخص في هذه الدراسة 51,743,296 قاعدة نايتروجينية وكان عدد الجينات المشفرة للبروتينات المعروفة لهذا الفطر هي 17,940 جين تشفر لـ 17,654 بروتين (جدول 11).

جدول (11) احصائيات عملية تجميع سلاسل المقروءات الخاصة بالفطر *F. solani*

المتجاورات ≤ 1000 قاعدة نايتروجينية	المتجاورات ≤ 100 قاعدة نايتروجينية	كل المتجاورات	إحصائيات العدد
121	1,067	1,188	العدد
1,009	200	200	اقل طول (قاعدة نايتروجينية)
7,678	758	758	طول الوسيط (قاعدة نايتروجينية)
103,244	48,494	48,494	متوسط الطول (قاعدة نايتروجينية)
3,202,592	3,202,592	3,202,592	الحد الاقصى للطول (قاعدة نايتروجينية)
780,357	780,357	780,357	طول N50
16	16	16	عدد المتجاورات $\leq N50$
51,649,457	51,649,457	51,649,457	مجموع الطول (قاعدة نايتروجينية)

أظهرت نتائج المقارنة مع بيانات الفطريات العالمية باستعمال برنامج BLASTn أن أعلى نسبة 98-100% كانت مع العديد من التسلسلات المختلفة للقواعد النايتروجينية التابعة للفطر *Fusarium solani* FSSC 5 ولغرض تأكيد النتائج التي تم الحصول عليها تم إعادة استعمال برنامج BLASTn مرة أخرى لمعرفة مدى

التشابه بين تسلسلات المتجاورات المتداخلة 1,188 التابعة للفطر *F. solani* التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة ونظائرها العالمية من تسلسلات النوع *F. solani* strain FSSC 5 اذ تبين ان اكثر هذه المتجاورات والتي بلغ عددها 778 تشابه مختلف تسلسلات هذا النوع مما يشير وبوضوح الى ان الفطر المعزول في هذه الدراسة هو *F. solani* strain FSSC 5 لذلك تم حفظ تسلسل هذا الجينوم ضمن قاعدة بيانات الجينومات التابعة للمركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية NCBI-genome تحت الرمز

JAMJFY000000000.1

(شكل 16).

The screenshot displays the NCBI Sequence Set Browser interface. At the top, it shows the project name 'JAMJFY01' and a search bar. Below this, the sequence set is identified as 'JAMJFY000000000.1 Fusarium solani'. The interface includes tabs for 'Master', 'Contigs', and 'Download'. The main content area lists various metadata fields:

- # of Contigs: 1,065
- # of Proteins: 0
- Total length: 51,649,457 bp
- BioProject: PRJNA838932
- BioSample: SAMN28488033
- Keywords: WGS
- Organism: *Fusarium solani* – [show lineage](#)
- Biosource: /collected_by = Safa J. Shehan
/collection_date = 2021
/country = Iraq
/host = *Celosia argentea* L. (Cockscomb)
/mol_type = genomic
/strain = Karbala-1
- WGS: JAMJFY010000001:JAMJFY010001065
- Reference: First whole genome characterization of *Fusarium solani* causing root rot on Cockscomb (*Celosia argentea* L.) plants in Iraq : Unpublished – Shehan,S.J., Abdalmoohsin,R.G., Lahuf,A.
- Submission: Submitted (18-MAY-2022) Plant protection Department, Agriculture College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala 56001, Iraq – Shehan,S.J., Abdalmoohsin,R.G., Lahuf,A.

شكل (16): المعلومات الخاصة بتسجيل الفطر *F. solani* Karbala-1 في موقع NCBI-genome

وبالرغم من الفطر *F. solani* سجل سابقا كمسبب مرضي لمدى عائلي واسع على مستوى العالم مثل تسببه بمرض تعفن الجذور للعوائل النباتية *Levisticum officinale* و *Apocynum venetum* و *Magnolia denudates* على التوالي (Xiao وآخرون، 2017 و Lan وآخرون، 2019 و Yin وآخرون، 2022)، الا ان هذا التسجيل لهذا الفطر كمسبب لمرض تعفن الجذور على نبات عرف الديك بالإضافة الى تحديد الجينوم الكامل له هو الأول على مستوى العراق.

6-4 مكافحة الفطريات *R. solani* (R16), *F. solani* (F3), *E. multirostrata* (E2) المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك *C. argentea*

1-6-4 اختبار المقدرة التضادية للعاملين الاحيائين *T. koningiopsis* و *A. chroococcum* ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* على الوسط الزرعي PDA:
1-1-6-4 العامل الاحيائي *T. koningiopsis*:

أظهرت النتائج (جدول 13 وشكل 17) ان الفطر الاحيائي *T. koningiopsis* يمتلك قدرة تضادية عالية المعنوية ضد الفطريات الممرضة *R. solani* (R16), *F. solani* (F3), *E. multirostrata* (E2) المعزولة في هذه الدراسة اذ بلغت درجة التضاد 1 مع الفطر *R. solani* (R16) و 2 مع الفطرين الممرضين *F. solani* (F3) و *E. multirostrata* (E2) بحسب مقياس Bell وهذه النتيجة توافقت مع نتائج مقياس Sangoyomi (2004) التي بينت ان هذا العامل الاحيائي كان فعالاً جداً عن طريق التنشيط التام 100% لنمو الفطر الممرض *R. solani* (R16)، في حين كان فعالاً مع الفطرين الممرضين *F. solani* (F3) و *E. multirostrata* (E2) وذلك بتحقيقه نسبة تنشيط 88.88%، 94.40% على التوالي قياساً بمعاملات الفطريات الممرضة بمفردها والتي بلغت النسبة المئوية للتنشيط فيها 0.00%. ولوحظ ان الغزل الفطري لهذا العامل الاحيائي قد غطى بعض من غزل الفطريات الممرضة، وهذا يشير الى حصول نوع من التداخل بين غزول الفطر الممرض والفطر الاحيائي، إذ تتميز العديد من أنواع جنس *Trichoderma* الذي ينتمي اليه هذا العامل الاحيائي بأن خيوطه ذات اقطار صغيرة نسبياً مما يمكنها من الالتفاف حول خيوط الفطريات الممرضة وتكوينها تراكيب ضاغطة وبمساعدة بعض الانزيمات المحللة التي يفرزها مثل Proteases و Cellulases و Chitinases يتمكن من تحليل جدران الخلايا الفطرية، ومن ثم اختراقها والتطفل عليها (Vinale وآخرون، 2008; Hermosa وآخرون، 2012; Tyskiewicz وآخرون، 2022).

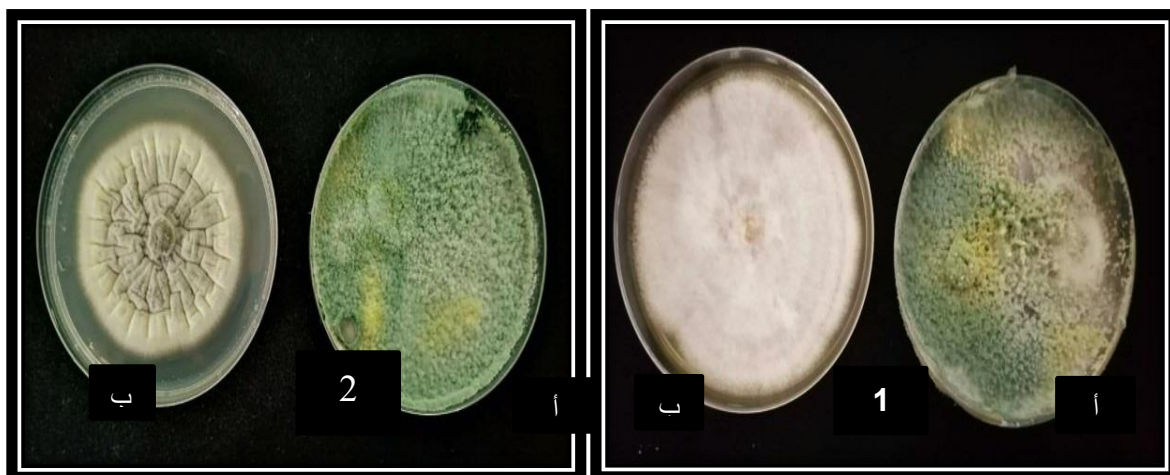
تتوافق هذه النتائج مع نتائج عدد كبير من الدراسات والتي اثبت فيها فاعلية عزلات الفطر *Trichoderma spp.* في تنشيط نمو الكثير من مسببات الامراض النباتية مختبرياً وحقلياً اذ أظهرت دراسة قام بها Ruangwong وآخرون (2021) الكفاءة العالية لسلالة الفطر PSU3-2 *T. koningiopsis* ضد مرض أنثراكنوز ما بعد الحصاد على الفلفل الحار المتسبب عن الفطر *Colletotrichum gloeosporioides* وذلك استناداً الى اثباتها انها اكثر السلالات فعالية، اذ بلغت نسبة التنشيط 79.57%.

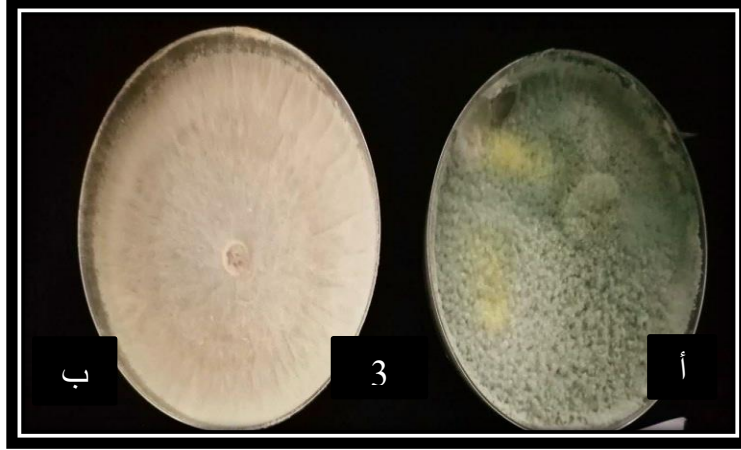
والتي كانت أعلى بكثير من السلالات الأخرى كما امتازت بسرعة نموها مقارنة مع الفطر الممرض لذلك تم اقتراح ان تكون هنالك الية المنافسة بينهما على العناصر الغذائية والحيز الحيوي كما سببت نفس السلالة في قمع نمو الفطر الممرض وبنسبة 38.33% كنتيجة لإنتاج بعض المركبات العضوية المتطايرة كما وجدت بعض المركبات المضادة للفطريات؛ مثل: ethyl hexadecanoate و azetidine و 2-phenylethanol؛ فضلا عن اثبات انتاجها لبعض الانزيمات المحطمة لجدران الخلايا الفطرية مثل chitinase و β -1,3-glucanase, كما اثبت ان هذا العامل الاحيائي ينتج مادتين تعرف بـ koninginins و 1 R-S أظهرت هذه المركبات بعض الأنشطة المضادة للفطريات المسببه لأضرار النبات مثل *F. flocciferum* و *F. oxysporum* (Hu وآخرون، 2017). كذلك اثبتت دراسة اجراها Bleinda و Paul (2022) ان استخدام سلالات من فطريات المقاومة الاحيائية *T.gamsii* و *T.harzianum* ادت الى تثبيط نمو الفطر *F.pseudograminearum* المسبب لتعفن تاج وجذور نبات الحنطة مختبريا وحقليا؛ فضلا عن ذلك ادى تلقيح التربة بالعوامل الاحيائية الى خفض نسبة وشدة الاصابة بالمرض وتحسين نمو النبات وزيادة الكتلة الحيوية له. ووجد You وآخرون (2022) عند استخدام السلالة T-51 من فطر المقاومة الاحيائية *T. koningiopsis* ضد الفطريات *Botrytis cinerea* و *F.oxysporum* ادى الى تثبيطها بنسبة 73.78%، 43.68% على التوالي؛ اذ عمل فطر المقاومة على تأخر انبات كونيديات الفطرين الممرضين و قمع استتالة الانابيب الجرثومية وادت المركبات العضوية المتطايرة المنتجة من قبل فطر المقاومة الى خفض معدل تعفن ثمار الطماطة الناتج عن الاصابة بالفطرين الممرضين علاوة على ذلك زاد وزن وحجم الثمار ووجد ان هذه المركبات العضوية المتطايرة تتكون من اكثر من 24 مركبا تم تحديدها على انها الكينات والكانات واسترات, علما انه توجد العديد من الدراسات التي اجريت في جامعات ومراكز بحثية مختلفة اثبتت فاعلية عزلات الفطر *Trichoderma spp.* في تثبيط مسببات الامراض النباتية مختبريا وحقليا منها جابر (2020) والخفاجي (2020) ودخيل (2021) والعامري (2021) و AL-Abedy (2021). اما الفطر *T.koningiopsis* فهو يعود الى انواع الجنس *Trichoderma* وهو من الفطريات المستخدمة على نطاق واسع ضد العديد من مسببات الأمراض النباتية ، ويعد هذا الفطر من الفطريات المفيدة جدا ومن مميزاته الاستشعار عن بعد والتعرف على الفطر الممرض والسرعة في مهاجمته و قمع نموه، فهو يحتوي على إنزيمات تعمل على تحلل جدران الممرضات النباتية مثل: Chitinase، Proteases، β -13-glucanase ، و Proteases و Srineprotase (Haggag وآخرون، 2006).

جدول (13) اختبار المقدرة التضادية للعامل الاحيائي *T. koningiopsis* ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك

ت	المعاملة	معدل قطر المستعمرة / سم	% للتثبيط
1	F3 بمفردها	9.00	0.00
2	R16 بمفردها	9.00	0.00
3	E2 بمفردها	9.00	0.00
4	F3+ <i>T. koningiopsis</i>	1.00	88.88
5	R16+ <i>T. koningiopsis</i>	0.00	100.00
6	E2+ <i>T. koningiopsis</i>	0.50	94.40
	LSD0.05	1.2579	1.0217

* كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات *F=*Fusarium solani* , *E=*E. multirostrata* , R=*R. solani*





شكل (17): المقدرة التضادية للعامل الاحيائي *T. koningiopsis* ضد الفطريات المسببة لتعفن جذورنبات عرف الديك على الوسط الزراعي PDA

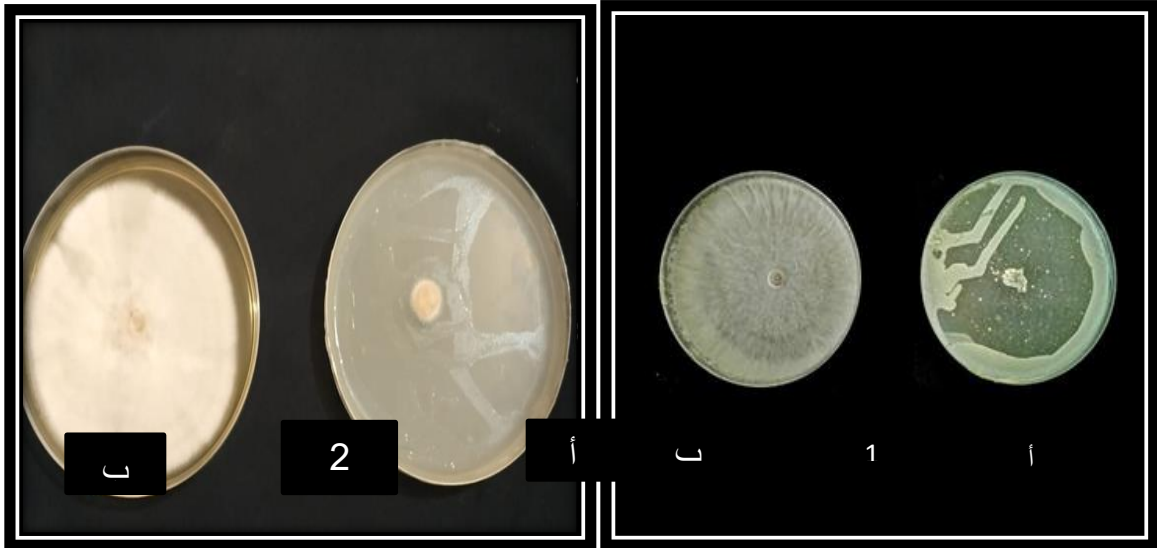
1- *T. koningiopsis* + F3 , 1ب- F3 بمفردها , 2- *T. koningiopsis* + E2 , 2ب- E2 بمفردها, 3- *T. koningiopsis* + R16 , 3ب- R16 بمفردها

:Azotobacter chroococcum 2-1-6-4

اظهرت النتائج (جدول 14 وشكل 18) قابلية البكتريا *A.chroococcum* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *R. solani* (R16), *F. solani* (F3), *E. multirostrata* (E2) المعزولة في هذه الدراسة على الوسط الزراعي PDA واطهرت بكتريا *A.chroococcum* اعلى تأثير لها عند التراكيز 10^1 و 10^2 في نمو الفطريات الممرضة اذا بلغت النسبة المئوية للتثبيط 100% , كذلك ادى التركيز 10^3 الى تثبيط نمو الفطر *E. multirostrata* (E2) مقارنة مع معاملة الفطريات الممرضة بمفردها اذا بلغت 0.00% , واطهرت النتائج ان هنالك تناسباً طردياً بين النسبة المئوية و تركيز البكتريا ، اذ احدثت خفضاً معنوياً في نمو الفطريات الممرضة وكلما كان تركيز البكتريا *A.chroococcum* اكبر كانت النسبة المئوية للتثبيط اعلى مقارنة مع معاملة الفطريات بمفردها والتي بلغت 0.00% . قد يعزى تأثير البكتريا *A.chroococcum* الى قابليتها العالية على أنتاج بعض المركبات المضادة للفطريات و إنتاج مواد ايضية ومركبات عضوية و عدد من الانزيمات التي لها القدرة على تحلل جدران خلايا الفطر الممرض ومن هذه الانزيمات: Glucanase , Chitinase Iaminarinase , و إنتاج عدد من المضادات الحيوية مثل Phenazin , Pyoluteorin , herbicolin (Muslim وآخرون 2021) وللبكتريا *A.chroococcum* القدرة على إنتاج مركبات ذات اوزان جزئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين (HCN)

اذ ان وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (Al- و Alsudani و Awsi، 2020)؛ فضلا عن ذلك لها قدرة عالية على المنافسة مع الممرضات على عنصر الحديد عن طريق انتاجها مركبات Siderophores (Hillel، 2005).

تنفق هذه النتائج مع نتائج دراسات اخرى توصلت الى القابلية التثبيطية للبكتريا *A.chroococcum* لعدد كبير من الممرضات النباتية , فقد أظهرت قدرتها التضادية العالية عند استعمالها بشكل مباشر او استعمال الراشح في تثبيط نمو الفطريات *R. solani* و *F. solani* المسببة لموت بادرات الطماطة (Al- و Alsudani و Awsi، 2020)، كما اظهرت كفاءتها في تثبيط الفطريات *Fusarium* , *Marcelleina persoonia* , *Curvularia lunata* , *Fusarium equiseti*, *Lasiodiplodia theobromae* , *oxysporum* , *Trichocladium griseum*, *Cochliobolus lunatus* والمسببة لتعفن جنور وموت بادرات عدد من نباتات الزينة على الوسط الزرعي PDA (دخيل، 2021).





شكل (18) : المقدرة التضادية للعامل الاحيائي *A.chroococcum* ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط الزراعي PDA

أ- *F3+ A.chroococcum* , ب- *F3* بمفردها , 2- *R16+A.chroococcum* , ب- *R16* بمفردها , 3- *E2+A.chroococcum* , ب- *E2* بمفردها .

جدول (14) اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *A.chroococcum* ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط الزراعي PDA

المعاملة	التخفيف	معدل قطر مستعمرة الفطر (سم)	% للتثبيط	المعاملة	التخفيف	معدل قطر مستعمرة الفطر (سم)	% للتثبيط
E2+Azo	10^0	9.00	0.00	F3+Azo	10^0	9.00	0.00
	10^{-1}	0.00	100.00		10^{-1}	0.00	100.00
	10^{-2}	0.00	100.00		10^{-2}	0.00	100.00
	10^{-3}	0.00	96.66		10^{-3}	0.3	96.66
	10^{-4}	0.50	83.33		10^{-4}	1.50	83.33
	10^{-5}	1.00	66.66		10^{-5}	3.00	66.66
	10^{-6}	3.00	44.44		10^{-6}	5.00	44.44
	10^{-7}	5.00	16.66		10^{-7}	7.50	16.66
	10^{-8}	6.50	11.11		10^{-8}	8.00	11.11

			0.00	9.00	10 ⁰	R16+Azo
			100.00	0.00	10 ⁻¹	
			100.00	0.00	10 ⁻²	
			94.44	0.50	10 ⁻³	
			77.77	2.00	10 ⁻⁴	
			55.55	4.00	10 ⁻⁵	
			31.11	6.20	10 ⁻⁶	
			11.11	8.00	10 ⁻⁷	
			5.55	8.50	10 ⁻⁸	
4.5593	0.338	LSD0.05	4.5593	0.338	LSD0.05	

* كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات *F3=*Fusarium sp.* , R16=*Rhizoctonia sp.* , E2=*E.*

Azo=*A.chroococcum,multirostrata*

2-6-4 تقييم كفاءة المبيدات Verox، Metchazole, Basten ,Beltanol ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزراعي PDA.

أظهرت النتائج (جدول 15 و16 و17 وشكل 19) ان جميع المبيدات الكيميائية المستخدمة في مكافحة الفطريات الممرضة *R.solani* (R16), *F.solani* (F3) , *E. multirostrata* (E2) مختبريا أدت الى تثبيط نمو جميع الفطريات قيد الدراسة وبنسبة 100 % وباستخدام التراكيز الموصى بها من قبل الشركات المنتجة فضلا عن استخدام نصف وثلاثة ارباع من التراكيز الموصى بها ولم تختلف هذه التراكيز فيما بينها معنويا لكل مبيد على حده في النسبة المئوية لتثبيط الفطريات الممرضة، والتي بلغت 100% أما المبيد الاحيائي Verox (Rhizobacter) (جدول18) فقد ادى التركيز الموصى به وهو (2) غم / لتر الى تثبيط نمو الفطريات الممرضة، وبمعدل 55.55% وادى هذا التركيز الى تثبيطه للفطر *R. solani* (R16) اذ بلغت النسبة المئوية لتثبيطه 16.66% في حين بلغت نسبة تثبيطه للفطرين *F. solani* (F3) , *E. multirostrata* (E2) 72.22% , 77.77% على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت النسبة المئوية للتثبيط فيها 0.00%؛ ولم يختلف التركيز 1غم/لتر من هذا المبيد في تثبيطه للفطر *R. solani* (R16) عن معاملة المقارنة اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 0.00% , اما التركيز 1.5 غم /لتر فقد بلغت نسبة تثبيطه للفطريات الممرضة *R.solani* (R16) , *F. solani* (F3) , *E. multirostrata* (E2) 0.50, %55.55 , %66.66 على التوالي وبفارق معنوي بين النسبة المئوية لتثبيط هذه الفطريات. قد يعزى

تأثير المبيد الكيميائي بلتانول في الفطريات الممرضة الى قابليته في تكوين مركبات مخلبية مع النحاس داخل إنسجه العائل؛ ومن ثمّ يسهل عملية مروره إلى داخل خلايا الممرض ثم بعد ذلك يتحرر ويؤدي إلى قتل المسبب المرضي (Meister، 2000 ودخيل، 2021)، كما ويعود سبب كفاءة المبيد الى المادة الفعالة (8-Hydroxyquinoline) والتي يعرف عن تميزها بفعاليتها ضد مدى واسع من الفطريات الممرضة للنباتات ، اذ اثبتت احد المواد المشتقة من هذه المادة الفعالة كفاءتها التثبيطية ضد الفطريات *Sclerotinia sclerotiorum* و *Fusarium graminearum* و *Magnaporthe oryzae* و *Ilyonectria liriodendra* ، وان تأثير هذه المادة على الفطريات يعود الى احداث تشوهات في الخلايا الفطرية وتغيير نفاذية الاغشية الخلوية وتسرب محتوياتها الى الخارج وتثبيط تكوين وانبات الاجسام الحجرية (Yin واخرون ، 2020 و de Souza ، 2021).

اما المبيد Basten (المادة الفعالة فيه Carbendazim وهو من مجموعة Benzimidazole) فهو من المبيدات ذات التأثير الواسع على عدد كبير من الفطريات الممرضة للنبات وهو مبيد جهازي ، اذ اثبت Cong وآخرون (2018) ان لهذا المبيد كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطر *Botrytis cinerea* المسبب لمرض العفن الرمادي على الخيار ، وذكر Ramirez-Gil و Morales-Osorio (2021) ان هذا المبيد اثبت فعالية في تثبيط نمو الفطر *Verticillium spp.* المسبب لامراض الذبول الوعائي على عدد من العوائل النباتية ويمكن ادخاله في برامج المكافحة المتكاملة عند استخدامه بتركيز قليلة ، كذلك اتفقت نتائج هذه الدراسة مع عبد الله (2015) والذي اثبت فاعلية المبيد Basten في تثبيط نمو الفطريات *Alternaria sp.* و *Pythium sp.* و *Verticillium sp.* في الوسط الزراعي PSA وتفوق على المبيدين Rooty و Ziram في نسب تثبيطه للفطريات المختبرة. في حين لم تتفق هذه الدراسة مع مطر (2012) في استخدام مبيد متشجازول Metchazole (Hymenozol) اذ وجد ان هذا المبيد كان اقل المبيدات الكيميائية المستخدمة في الدراسة كفاءة في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum f.sp.lycopersici* ، ولم تتجاوز نسبة التثبيط 75 % عند استخدام بتركيز ppm 1000 وانخفض تأثيره الى 42 % عند التركيز ppm15.62.

ولا تتفق هذه النتائج مع Gashaw وآخرون (2022) فيما يخص المبيد الاحيائي Verox (*Rhizobacter*) والذي وجد انه ذو فاعلية عالية في تثبيط نمو البكتريا *Ralstonia solanacearum* المسبب لمرض الذبول البكتيري على الطماطة والبطاطا ، وكذلك لا تتفق مع ما وجده محمد (2021) ان هنالك تأثير فعال لهذا المبيد على تثبيط فقس البيوض وهلاك يافعات الطور الثاني لديدان تعقد الجذور *Meloidogyne sp.* بعد ثلاثة ايام من المعاملة وكان المبيد أكثر فعالية وكفاءة عند التركيز ppm 2000

في تثبيط فقس البيض اذ بلغت 94.67 % مقارنة بمعاملة المقارنة , وقد يعزى هذا الاختلاف ربما لكون تأثير هذا المبيد اقل في الفطريات من ممرضات النبات الأخرى.

جدول (15) المقدرّة التضادّية للمبيد الكيمياءى Beltanol ضدّ الفطريات المسبّبة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط PDA

معدل التركيز	<i>E. multirostrata</i> (E2)	<i>F. (F3) solani</i>	<i>R. solani</i> (R16)	% لتثبيط الفطريات التركيز مل/لتر
0.00	0.00	0.00	0.00	Control
100.00	100.00	100.00	100.00	1
100.00	100.00	100.00	100.00	0.75
100.00	100.00	100.00	100.00	0.5
	75.00	75.00	75.00	معدل الفطريات
	التداخل	الفطريات	التركيز	L.S.D0.05
	1.1916	0.5958	0.688	

جدول (16) المقدرّة التضادّية للمبيد الكيمياءى Basten ضدّ الفطريات المسبّبة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط PDA

معدل التركيز	<i>E. multirostrata</i> (E2)	<i>F. (F3) solani</i>	<i>R. solani</i> (R16)	% لتثبيط الفطريات التركيز غم/لتر
0.00	0.00	0.00	0.00	Control
100.00	100.00	100.00	100.00	1
100.00	100.00	100.00	100.00	0.75
100.00	100.00	100.00	100.00	0.5
	75.00	75.00	75.00	معدل الفطريات
	التداخل	الفطريات	التركيز	L.S.D0.05
	1.1916	0.5958	0.688	

* كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات

جدول (17) المقدرة التضادية للمبيد الكيميائي Metchazole ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات
عرف الديك على الوسط PDA

معدل التركيز	<i>E. multirostrata</i> (E2)	<i>F. (F3) solani</i>	<i>R. solani</i> (R16)	%تثبيط الفطريات التركيز/مل/لتر
0.00	0.00	0.00	0.00	Control
100.00	100.00	100.00	100.00	1
100.00	100.00	100.00	100.00	0.75
100.00	100.00	100.00	100.00	0.5
	75.00	75.00	75.00	معدل الفطريات
	التداخل	الفطريات	التركيز	L.S.D0.05
	1.1916	0.5958	0.688	

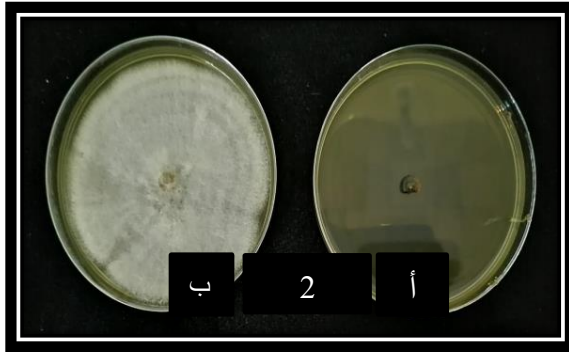
* كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات

جدول (18) المقدرة التضادية للمبيد الاحيائي Verox ضد الفطريات المسببة لتعفن جذورنبات عرف
الديك

معدل التركيز	<i>E. multirostrata</i> (E2)	<i>F. (F3) solani</i>	<i>R. solani</i> (R16)	%تثبيط الفطريات التركيز غم/لتر
0.00	0.00	0.00	0.00	Control
55.55	77.77	72.22	16.66	2
40.90	66.66	55.55	0.50	1.5
29.62	55.55	33.33	0.00	1
	49.99	40.27	4.29	معدل الفطريات
	التداخل	الفطريات	التركيز	L.S.D0.05

	1.0021	0.5011	0.4445	
--	--------	--------	--------	--

* كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات



شكل (19): المقدرّة التضادّية للمبيد الكيميائي Beltanol ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور

عرف الديك على الوسط PDA (أ1- Beltanol + F3 , ب1- F3 بمفردها , أ2- Beltanol + R16 , ب2- Rh16 بمفردها , أ3- Beltanol + E2 , ب3- E2 بمفردها)

3-6-4 تقييم كفاءة الكايتوسان وحامض الساليسيك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* في الوسط الزرعّي PDA:

1-3-6-4 الكايتوسان:

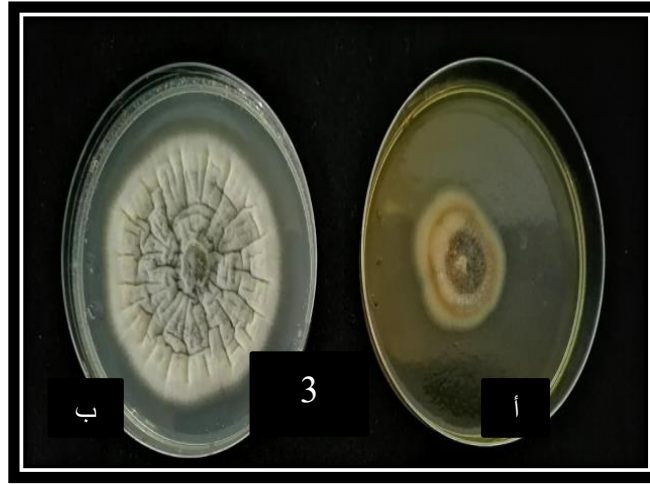
أظهرت النتائج (جدول 19 وشكل 20) تفوق الكايتوسان بتركيز 2 % وبفارق معنوي عن التراكيز 1% , 0.5 % في تثبيط نمو الفطريات *R. solani* (R16) , *F. solani* (F3) , *E. multirostrata* (E2) المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط الزرعّي PDA فعند التركيز 2% بلغ معدل قطر المستعمرات الفطرية 3.0 سم , 1.0 سم , 2.2 سم على التوالي للفطريات *R. solani* (R16) , *F. solani* (F3) , *E. multirostrata* (E2) والنسبة المئوية للتثبيط 66.6% , 88.8% , 75.5% على التوالي قياسا

بمعاملة المقارنة التي بلغ معدل قطر المستعمرة لجميع الفطريات فيها 9 سم وبنسبة تثبيط 0.00 % تلاه وبفارق معنوي التركيز 1 % اذ بلغ معدل نمو المستعمرات الفطرية فيه على التوالي 4.5 سم, 3.0 سم, 4.0 سم والنسبة المئوية للتثبيط فيها 50.0 % , 66.6 % , 55.5 % على التوالي , اما التركيز 0.5 % فلم يختلف معنويا عن معاملة المقارنة في تثبيطه للفطرين *R. solani* (R16) و *E. multirostrata* (E2) اذ بلغ معدل نمو مستعمرتي الفطرين 8.2 سم, 8.0 سم على التوالي في حين اختلف هذا التركيز عن معاملة المقارنة في تأثيره في الفطر *F. solani* (F3) وبقطر مستعمرة بلغ 6.1 سم قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغ معدل نمو الفطر فيها 9.0 سم وبذلك تكون العلاقة طردية بين التراكيز المستخدمة من الكايتوسان والنسبة المئوية لتثبيط الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك . قد تعزى قابلية الكايتوسان في تثبيط الفطريات الممرضة للنبات الى ايقاف نشاط بعض الانزيمات والبروتينات الضرورية لنمو الفطريات او بسبب زيادة نفاذية الغشاء الخلوي نتيجة لتفاعل الكايتوسان ذي الشحنة الموجبة مع غشاء الفطريات سالبة الشحنة كذلك يعمل على تثبيط تصنيع البروتينات والانزيمات الاساسية بسبب تغير في تركيب DNA, وعدم توفر المغذيات الاساسية لنمو الفطريات (Younes و Rinaudo , 2015) . وجد Kappel وآخرون(2022) ان استخدام الكايتوسان وفطر المقاومة *T.atroviride* ادى الى تثبيط نمو الفطرين الممرضين *Cercospora beticola* و *F. oxysporum* وقلل من الإصابة بمرض تبقع الاوراق السركوسبوروي وذبول البنجر السكري بشكل تآزري عبر مسارات إشارات مختلفة ، ووجد مستويات عالية من الفيتوالكسين والجينات المرتبطة بالإجهاد التأكسدي كرد دفاعي . كذلك وجد Abdel-Rahman وآخرون (2021) ان استخدام الكايتوسان العادي بتركيز 2غم و 4غم / لتر والنانوي بتركيز 0.2, 0.4 غم /لتر ادى الى تثبيط النمو الفطري للفطر *Penicillium expansum* مسبب مرض العفن الأزرق على التفاح و تحسين جودة الفاكهة من حيث الصلابة ، والمواد الصلبة الذائبة الكلية ، والحموضة فضلا عن ذلك وجد زيادة في مستوى ستة جينات مرتبطة بالامراضية هي Chtinase، Peroxidase، β -1,3- Glucanase ، Xyloglucan endotransglycosylase,(XET) البروتين المرتبط بالإمراض (PR8) ، phenylalanine Ammonialase (PAL1). علاوة على ذلك ، تم الكشف عن أعلى كمية من mRNA لجميع الجينات المدروسة في الأوراق واوصى بأستخدامه في برامج الإدارة للحفاظ على جودة ما بعد الحصاد وإطالة العمر الافتراضي للثمار

جدول (19)تقييم كفاءة الكايتوسان ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزراعي PDA

<i>E. multirostrata</i> (E2)		<i>F. solani</i> (F3)		<i>R. solani</i> (R16)		الفطريات للتركيز %
%التثبيط	قطر المستعمرة (سم)	%التثبيط	قطر المستعمرة (سم)	%التثبيط	قطر المستعمرة (سم)	
0.00	9.0	0.00	9.0	0.00	9.0	Control
11.1	8.0	32.2	6.1	8.8	8.2	0.5
55.5	4.0	66.6	3.0	50.0	4.5	1
75.5	2.2	88.8	1.0	66.6	3.0	2
0.9514	1.3314	0.9414	1.6306	1.2516	1.3314	L.S.D0.05

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات



شكل (20) : كفاءة الكايتوسان ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزراعي

PDA

1-أ- *F3+ Chitosan* , 1-ب- *F3* بمفردها , 2-أ- *R16+ Chitosan* , 2-ب- *R16* بمفردها , 3-أ- *E2+ Chitosan* , 3-ب- *E2* بمفردها
2-3-6-4 حامض السالسيك:

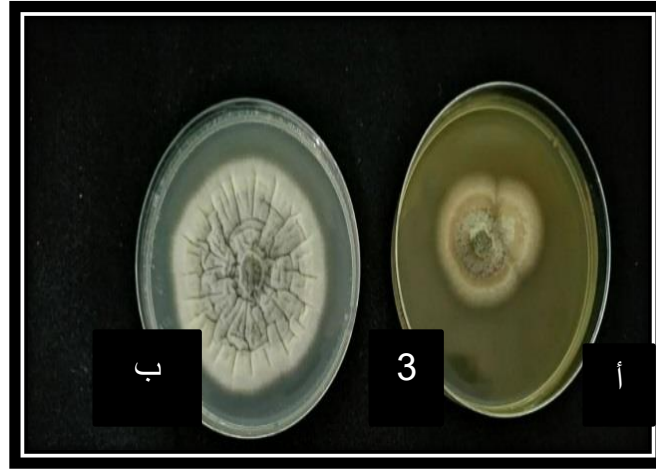
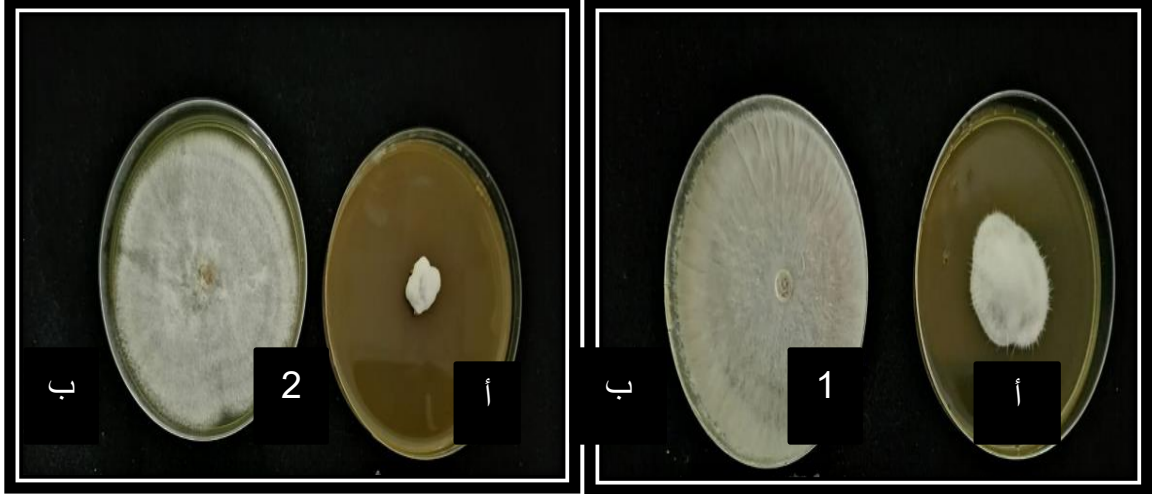
أظهرت النتائج (جدول 20 وشكل 21) فعالية جميع التراكيز المستخدمة من حامض السالسيك في تثبيط نمو الفطريات (*R16*) *R.solani*, (*F3*) *F. solani*, (*E2*) *E. multirostrata* والمسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك على الوسط الزراعي PDA قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغ معدل النمو القطري لجميع الفطريات فيها 9.0 سم وقد تفوق التركيز 1.5 غم / لتر معنويا على التراكيز الأخرى في تثبيطه للفطريات الممرضة إذ بلغ معدل النمو القطري للفطريات (*R16*) *R. solani*, (*F3*) *E.*

E. multirostrata (E2) 2.5, 1.0, 2.5 سم على التوالي وبمعدل تثبيط للنمو بلغ 72.2%, 88.8%, 72.2% على التوالي واعطى التركيز 0.5 اقل تأثير في تثبيط الفطريات الممرضة ولكنه اختلف معنويا عن معاملة المقارنة وبلغ معدل نمو الفطريات فيه على التوالي 6.0 سم, 5.0 سم, 6.2 سم وبمعدل تثبيط 33.3%, 44.4%, 33.11% على التوالي وتظهر النتائج وجود علاقة طردية بين زيادة تركيز الحامض وزيادة النسبة المئوية للتثبيط. قد تعزى فاعلية حامض السالسليك الى تثبيطه للعديد من العمليات الحيوية في الفطريات الممرضة كعمل الانزيمات والاحماض الامينية ومن ثم التأثير في نشاط ونمو المسببات المرضية (Janda وآخرون, 2007, Ibanez و 2022). تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه حسان (2005) والذي اشار الى انعدام نمو الفطر *Pythium aphanidermatum* كليا على الوسط الزراعي PSA عند استعمال تركيز 400 جزء بالمليون من حامض السالسليك , والخزرجي (2007) والذي توصل الى وجود علاقة طردية بين تركيز حامض السالسليك والنسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض تعفن بذور وموت نبات الخيار .

جدول (20) تقييم كفاءة حامض السالسليك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزراعي PDA

<i>E. multirostrata</i> (E2)		<i>F. solani</i> (F3)		<i>R. solani</i> (R16)		الفطريات التركيز غم/لتر
% للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	% للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	% للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	
0.00	90.0	0.00	90.0	0.00	90.0	Control
33.11	6.2	44.4	5.0	33.3	6.0	0.5
61.1	3.5	77.7	2.0	61.1	3.5	1
72.2	2.5	88.8	1.0	72.2	2.5	1.5
0.5111	0.8804	0.2794	0.3314	0.8804	0.9415	L.S.D0.05

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات



شكل 21 : كفاءة حامض الساليسليك ضد الفطريات المسببة لتعفن جذور نبات عرف الديك في الوسط الزراعي PDA

1-أ *F3+ Salicylic* , 1-ب *F3* بمفردها , 2-أ *R16+ Salicylic* , 2-ب *R16* بمفردها , 3-أ *E2+ Salicylic* , 3-ب *E2* بمفردها

7-3 تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطريات *F. solani* (*E2*)*E. multirostrata* و *R. solani* (R16) و *Celosia argentea* تحت ظروف البيت البلاستيكي:

اظهرت النتائج (جدول 21) ان جميع العوامل المستخدمة في مكافحة الفطريات الممرضة المسببة لتعفن جذور وموت بادرات نبات عرف الديك كانت فعالة ؛اذا ادت هذه العوامل مفردة او متداخلة الى خفض النسبة

المئوية للإصابة وشدتها؛ وتفاوتت معاملة المبيد الكيميائي Beltanol معنويا على المعاملات الأخرى في خفض النسبة المئوية للإصابة وشدتها إذ بلغت 8.0%، 2.1% و6.0%، 2.0% و 0.0%، 0.0% على التوالي للفطريات *R. solani* و *F. solani* و *E. multirostrata* تلتها وبفارق معنوي معاملة التداخل بين العوامل الاحيائية *A. chroococcum + T. koningiopsis* والتي أدت الى خفض نسبة وشدة الإصابة بالفطريات الممرضة؛ إذ بلغت على التوالي 20%، 11% و 18%، 9% و 15%، 6.66% قياسا بمعاملات الفطريات الممرضة بمفردها، والتي بلغت على التوالي 100%، 100% و 100%، 87% و 80%، 62% في حين بلغت في معاملة المقارنة السليمة 0.0% وتراوحت النسبة المئوية للإصابة في المعاملات الأخرى 15.33%-67.00% وشددة الإصابة 7.00% - 49.00%. كما أظهرت النتائج (جدول 22 و 23) ان جميع العوامل الاحيائية والكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة أدت الى زيادة بعض معايير النمو لنبات عرف الديك مثل: طول النبات، والوزن الطري والجاف للمجموعتين الخضري والجذري، وتفاوتت معاملة التداخل بين العوامل الاحيائية *A. chroococcum* و *T. konongiopsis* بدون وجود المسبب المرضي على المعاملات الأخرى في زيادة طول النبات والوزنين الطري والجاف للمجموعتين الخضري والجاف؛ إذ بلغت على التوالي 35.66 سم، 16.00 غم، 2.51 غم، 2.13 غم، 0.706 غم. تلتها معاملة Tr+Sal بدون اضافة المسببات المرضية والتي بلغت في 34.00 سم، 14.96 غم، 2.46 غم، 2.05 غم، 0.686 غم على التوالي ولم تختلف هذه المعاملة عن معاملة تداخل Az+Sal اذا بلغت على التوالي 34.00 سم، 14.93 غم، 2.45 غم، 2.11 غم، 0.693 غم قياسا بمعاملة المقارنة السليمة والتي بلغت فيها على التوالي 21.00 سم، 9.50 غم، 1.32 غم، 1.02 غم، 0.012 غم. كذلك أدت جميع العوامل الاحيائية والكيميائية المستخدمة الى زيادة معايير النمو بوجود المسببات المرضية لتعفنات الجذور قياسا بمعاملات الفطريات الممرضة بمفردها إذ بلغت جميع معايير النمو 0.00 في معاملة الفطر الممرض *R. solani* وهو الاشد امراضية و في معاملة الفطر *F. solani* بلغ طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعتين الخضري والجذري 3.66 سم، 4.00 غم، 0.70 غم، 0.013 غم، 0.001 غم على التوالي اما في معاملة *E. multirostrata* بمفرده فقد بلغت 5.00 سم، 4.66 غم، 0.090 غم، 0.025 غم، 0.003 غم على التوالي، وتفاوتت معاملة التداخل بين العوامل الاحيائية Tr+Az مع المسببات الممرضة للنبات في زيادة معايير النمو قياسا بمعاملات الفطريات الممرضة بمفردها ففي معاملة Tr+Az+E2 بلغ طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعتين الخضري والجذري 22.50 سم، 10.23 غم، 2.36 غم، 1.04 غم، 0.131 غم تلاها وبفارق معنوي معاملة Tr+Az+F33 والتي بلغت على التوالي 22.33 سم، 10.03 غم، 2.40 غم، 0.996 غم، 0.132 غم اما في معاملة Tr+Az+R16

فقد بلغت معايير النمو 20.00 سم , 9.30 غم , 2.03 غم , 0.775 غم , 0.084 غم على التوالي ولم تختلف هذه المعاملة عن معاملة التداخل بين Tr+Sal و Az+Sal بوجود الفطريات الممرضة.

جدول (21) تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في النسبة المئوية للاصابة وشدها وطول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري الناتجة عن الاصابة بالفطر *R. solani* المسبب لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* تحت ظروف البيت البلاستيكي:

ت	المعاملة	النسبة المئوية للاصابة	النسبة المئوية لشدة الاصابة	طول النبات	الوزن الطري للمجموع الخضري	الوزن الطري للمجموع الجذري	الوزن الجاف للمجموع الخضري	الوزن الجاف للمجموع الجذري
1	المقارنة	0.00	0.00	21.00	9.50	1.02	1.32	0.012
2	R16	100.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	Tr	0.00	0.00	24.33	10.50	1.52	2.03	0.050
4	Az	0.00	0.00	24.00	10.23	1.43	2.03	0.051
5	Chito	0.00	0.00	22.66	9.00	1.35	2.00	0.041
6	Sa	0.00	0.00	24.00	10.06	1.42	2.02	0.051
7	Bel	0.00	0.00	22.00	9.50	1.02	2.10	0.041
8	Az +Tr	0.00	0.00	35.66	16.00	2.13	2.51	0.706
9	Chito +sl	0.00	0.00	27.33	14.70	1.83	2.20	0.620
10	Chito +Tr	0.00	0.00	28.00	14.80	1.93	2.31	0.670
11	Sal +Tr	0.00	0.00	34.00	14.96	2.05	2.46	0.686
12	Chito + Az	0.00	0.00	27.33	14.50	1.92	2.44	0.676
13	Sal +Az	0.00	0.00	34.00	14.93	2.11	2.45	0.693
14	Tr+R16	40.00	55.00	12.50	5.66	0.185	0.086	0.003
15	Az+R16	43.00	60.00	12.00	5.66	0.184	0.083	0.002
16	Chito+R16	49.00	67.00	7.50	5.20	0.075	0.073	0.002
17	Sa+R16	45.00	62.00	9.00	5.60	0.178	0.086	0.002
18	Bel+R16	2.1	8.00	17.66	9.50	1.00	2.01	0.040
19	Tr+Az+R16	11.00	20.00	20.00	9.30	0.775	2.03	0.084
20	Az+Chito+R16	17.66	25.00	13.00	7.13	0.689	0.190	0.003
21	Az+Sa+R16	12.00	21.00	19.33	8.70	0.747	2.00	0.077
22	Tr+Chito+R16	13.33	24.00	15.00	7.30	0.678	1.08	0.061
23	Tr+Sa +R16	11.66	20.00	20.00	8.70	0.760	11.66	0.087
24	Sa+Chito+R16	13.66	27.00	16.16	7.80	0.588	1.22	0.077
	Lsd0.05	0.5023	0.6132	0.8044	0.1130	0.0080	0.0050	0.0938

* كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاث مكررات , *R.solania*=R, *T.koningiopsis*=Tr, *A.chroococcum*=Az , *Chitosan*=Chito

Beltanol=Bel, *Salicylic acid*=Sal

جدول (22) تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في نسبة الاصابة وشدها و طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري الناتجة عن الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea* تحت ظروف البيت

الوزن الجاف للمجموع الجذري	الوزن للمجموع الخضري	الوزن الطري للمجموع الجذري	الوزن الطري للمجموع الخضري	طول النبات	النسبة المئوية لشدة الاصابة	النسبة المئوية للاصابة	المعاملة	ت
0.012	1.32	1.02	9.50	21.00	0.00	0.00	المقارنة	1
0.001	0.70	0.013	4.00	3.66	87.00	100.00	F3	2
0.050	2.03	1.52	10.50	24.33	0.00	0.00	Tr	3
0.051	2.03	1.43	10.23	24.00	0.00	0.00	Az	4
0.041	2.00	1.35	9.00	22.66	0.00	0.00	Chito	5
0.051	2.02	1.42	10.06	24.00	0.00	0.00	Sa	6
0.041	2.10	1.02	9.50	22.00	0.00	0.00	Bel	7
0.706	2.51	2.13	16.00	35.66	0.00	0.00	Az +Tr	8
0.620	2.20	1.83	14.70	27.33	0.00	0.00	Chito +sl	9
0.670	2.31	1.93	14.80	28.00	0.00	0.00	Chito +Tr	10
0.686	2.46	2.05	14.96	34.00	0.00	0.00	Sal +Tr	11
0.676	2.44	1.92	14.50	27.33	0.00	0.00	Chito + Az	12
0.693	2.45	2.11	14.93	34.00	0.00	0.00	Sal +Az	13
0.006	0.252	0.710	7.56	14.00	37.00	48.00	Tr+F3	14
0.005	0.224	0.709	9.53	13.16	39.00	50.33	Az+F3	15
0.066	0.090	0.351	7.06	11.00	47.00	64.00	Chito+F3	16
0.004	0.190	0.70	7.30	13.00	39.00	50.33	Sa+F3	17
0.077	2.00	0.710	7.56	14.00	2.00	6.00	Bel+F3	18
0.132	2.40	0.996	10.03	22.33	10.00	18.00	Tr+Az+F3	19
0.101	1.53	0.838	8.50	17.16	16.66	23.66	Az+Chito+F3	20
0.125	2.21	0.961	9.93	22.00	10.66	20.00	Az+Sa+F3	21
0.678	1.62	0.842	9.20	18.00	13.00	22.33	Tr+Chito+F3	22
0.128	2.31	0.985	10.06	22.00	9.00	18.33	Tr+Sa +F3	23
0.101	2.03	0.788	8.36	20.00	12.66	24.00	Sa+Chito+F3	24
0.0948	0.0053	0.0086	0.1134	0.8040	0.5020	0.6115	Lsd 0.05	

*كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاث مكررات, F= F.solani, T.koningiopsis=Tr, A.chroococcum=Az

Beltanol=Bel, Salicylic acid=Sal, Chitosan=Chito

جدول (23) تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في نسبة الاصابة وشدتها و طول

النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجزري الناتجة عن الاصابة بالفطر E.

multirostrata المسبب لمرض تعفن جذورنبات عرف الديك *Celosia argentea* تحت ظروف البيت

البلاستيكي

ت	المعاملة	النسبة المنوية للاصابة	النسبة المنوية لشدّة الاصابة	طول النبات	الوزن الطري للمجموع الخضري	الوزن الطري للمجموع الجزري	الوزن الجاف للمجموع الخضري	الوزن الجاف للمجموع الجزري
1	المقارنة	0.00	0.00	21.00	9.50	1.02	1.32	0.012
2	E2	80.00	62.00	5.00	4.66	0.025	0.090	0.003
3	Tr	0.00	0.00	24.33	10.50	1.52	2.03	0.050
4	Az	0.00	0.00	24.00	10.23	1.43	2.03	0.051
5	Chito	0.00	0.00	22.66	9.00	1.35	2.00	0.041
6	Sa	0.00	0.00	24.00	10.06	1.42	2.02	0.051
7	Bel	0.00	0.00	22.00	9.50	1.02	2.10	0.041
8	Az +Tr	0.00	0.00	35.66	16.00	2.13	2.51	0.706
9	Chito +sl	0.00	0.00	27.33	14.70	1.83	2.20	0.620
10	Chito +Tr	0.00	0.00	28.00	14.80	1.93	2.31	0.670
11	Sal +Tr	0.00	0.00	34.00	14.96	2.05	2.46	0.686
12	Chito + Az	0.00	0.00	27.33	14.50	1.92	2.44	0.676
13	Sal +Az	0.00	0.00	34.00	14.93	2.11	2.45	0.693
14	Tr+E2	43.00	35.00	17.00	7.86	0.900	1.09	0.069
15	Az+E2	45.33	37.66	16.50	7.70	0.895	1.09	0.067
16	Chito+E2	57.00	40.00	10.66	7.40	0.603	0.084	0.058
17	Sa+E2	46.00	38.00	16.33	7.50	0.833	1.09	0.067
18	Bel+E2	0.00	0.00	21.83	9.43	1.001	2.02	0.312
19	Tr+Az+E2	15.00	6.66	22.50	10.23	1.04	2.36	0.131
20	Az+Chito+E2	19.00	8.66	18.00	8.70	0.950	1.62	0.103
21	Az+Sa+E2	16.33	8.00	22.50	10.00	1.01	0.423	0.133
22	Tr+Chito+E2	21.33	19.66	21.33	9.10	0.932	2.05	0.120
23	Tr+Sa +E2	15.33	7.00	22.50	10.16	1.003	2.32	0.123
24	Sa+Chito+E2	20.00	10.33	19.00	8.63	0.946	1.73	0.107
	LSD 0.05	0.5017	0.5017	0.8040	0.1135	0.0087	0.0055	0.0948

*كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاث مكررات, *A.chroococcum*=Az ,*T.koningiopsis*=Tr, *E. multirostrata*=E ,
Beltanol=Bel, *Salicylic acid*=Sal ,*Chitosan*=Chito

كذلك اظهر المبيد الكيميائي Beltanol فاعلية في زيادة معايير النمو بوجود المسببات المرضية اذ بلغ طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري 21.83سم, 9.43غم, 2.02غم, 1.001غم, 0.312غم على التوالي في معاملة Bel+E2 في حين بلغت 19.6سم , 9.5غم, 2.00غم, 1.00غم, 0,077غم على التوالي في معاملة F3+Bel . وادت جميع المعاملات الاخرى الى زيادة معايير النمو المعتمدة في هذه الدراسة اذ بلغ معدل طول النبات بين 7.50 - 24.33سم والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري 5.20-14.80غم , 0.073-2.44غم على التوالي في حين تراوح الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري 0.075-1.93غم, 0.002-0.676غم على التوالي.

قد يعزى تأثير المبيد الكيميائي بلتانول في الفطريات الممرضة الى قابليته في تكوين مركبات مخليبية مع النحاس داخل إنسجه العائل ومن ثم يسهل عملية مروره إلى داخل خلايا الممرض ثم بعد ذلك يتحرر ويؤدي إلى قتل المسبب المرضي (Meister, 2000 ودخيل، 2021), كما ويعود سبب كفاءة المبيد الى المادة الفعالة (8-Hydroxyquinoline) والتي يعرف عن تميزها بفعاليتها ضد مدى واسع من الفطريات الممرضة للنباتات , اذ اثبتت احد المواد المشتقة من هذه المادة الفعالة كفاءتها النثبيبية ضد الفطريات *Sclerotinia* *Ilyonectria* و *sclerotiorum* و *Fusarium graminearum* و *Magnaporthe oryzae* و *liriodendra* , وان تأثير هذه المادة على الفطريات يعود الى احداث تشوهات في الخلايا الفطرية وتغير نفاذية الاغشية الخلوية وتسرب محتوياتها الى الخارج وتثبيط تكوين وانبات الاجسام الحجرية (Yin واخرون , 2020 و de Souza , 2021).

وقد يعزى تأثير فطر المقاومة الاحيائية *T.koningiopsis* وهو من الفطريات العائدة للجنس *Trichoderma* والمستخدمة على نطاق واسع ضد العديد من مسببات الأمراض النباتية , ويعد هذا الفطر من الفطريات المفيدة جدا ومن مميزاته الاستشعار عن بعد والتعرف على الفطر الممرض والسرعة في مهاجمته وقمع نموه, فهو يحتوي على إنزيمات تعمل على تحلل جدران الممرضات النباتية مثل *Proteases* , β -13-glucanase , *Proteases* , *Chitinase* و *Srineprotase* (Haggag و Abd El-Khair , 2006), كما تعمل الانواع العائدة للفطر *Trichoderma spp.* على تعزيز نمو النبات عن طريق افرازها لمنظمات نمو نباتية مثل هرمون الاثلين الذي يسرع انبات البذور ويعزز نمو بادراتها نتيجة للعلاقة التكافلية بين الفطر والمجموع الجذري وزيادة قابلية النباتات على مقاومة الظروف غير

الملائمة سواء كانت بيئية مثل الجفاف أو حيوية مثل المسببات المرضية (Hirpara وآخرون، 2007 و Alizadeh وآخرون، 2020)، وذكر Akrami و Zohreh (2015) ان هذا الفطر قادر على افراز بعض الانزيمات المحللة للمواد العضوية الموجودة أو المضافة للتربة وهذا بدوره يعمل على زيادة جاهزية العديد من العناصر المهمة لنمو النباتات مثل: النتروجين، والفسفور، والبوتاسيوم، والنحاس، والزنك، والحديد وهذا بالنتيجة سوف يحسن من صحة النباتات ومقاومتها الطبيعية للمُمرضات النباتية. بين - Contreras و Cornejo وآخرون (2016) قدرة أنواع من الفطر *Trichoderma spp* في زيادة نشاط عدد من الهرمونات الدفاعية في النباتات متمثلة بـ Ethylene و Salicylic acid و Jasmonic acid، إلى جانب دوره في عملية استحثاث المقاومة في النباتات ضد مختلف المسببات المرضية وهي احدى اليات الفطر المهمة. ذكر الخفاجي (2020) و Abd-Elkhair (2019) ان الفطر *Trichoderma spp* يفرز العديد من الإنزيمات التي تعمل على تحلل الجدار الخلوي للمسببات المرضية ومن ثمّ اختراق الخلايا وبدء عملية الاستعمار والتطفل على المسبب المرضي مثل إنزيم الـ Protease و Esterase و Phosphamidase؛ فضلا عن انتاجه لعدد كبير من المضادات الحيوية والتي من اهمها: Trichorzianines ، Acetaldehyde ، Alamethicine ، Dermadine ، Trichorzianines ، Acetaldehyde ، Alamethicine ، Alkylpyrones ، chitinases و β -1 ، 3 ، glucanases. التي تثبط عمل بعض من إنزيمات المسبب المرضي وبالتالي العمل على إيقاف دورة المرض منذ البداية.

تتوافق هذه النتائج مع نتائج عدد كبير من الدراسات والتي اثبت فيها فاعلية عزلات الفطر *Trichoderma spp*. في تثبيط نمو الكثير من مسببات الامراض النباتية مختبريا وحقليا اذ أظهرت دراسته قام بها Ruangwong وآخرون (2021) الكفاءة العالية لسلالة الفطر PSU3-2 *T. koningiopsis* ضد مرض أنثراكنوز ما بعد الحصاد على الفلفل الحار المتسبب عن الفطر *Colletotrichum gloeosporioides*؛ وذلك استنادا الى اثباتها انها اكثر السلالات فعالية، اذ بلغت نسبة التثبيط 79.57% والتي كانت أعلى بكثير من السلالات الأخرى، كما امتازت بسرعة نموها مقارنة مع الفطر الممرض لذلك تم اقتراح ان تكون هنالك الية المنافسة بينهما على العناصر الغذائية والحيز الحيوي كما سببت نفس السلالة في قمع نمو الفطر الممرض وبنسبة 38.33% كنتيجة لانتاج بعض المركبات العضوية المتطايرة، كما وجدت بعض المركبات المضادة للفطريات مثل ethyl hexadecanoate و azetidine و 2-phenylethanol فضلا عن اثبات انتاجها لبعض الانزيمات المحطمة لجدران الخلايا الفطرية مثل: انزيمات chitinase و β -1,3-glucanase، كما اثبت ان هذا العامل الاحيائي ينتج مادتين تعرف بـ R-S koniginins 1 و 2

أظهرت هذه المركبات بعض الأنشطة المضادة للفطريات المسببه لأمراض النبات مثل *Fusarium flocciferum* و *Fusarium oxysporum* (Hu وآخرون، 2017).

اما العامل الاحيائي *A.chroococcom* فقد يعزى تأثيره في مسببات الامراض النباتية إلى تصنيعها العديد من المضادات الحيوية و منظمات النمو وهي مواد ذات تأثيرات مثبتة لعمليات فسلجية كيموحيوية معينة في الكائنات الحية الدقيقة ومنشطة للنبات مثل الجبرلينات والسايٹوكانينات والأوكسينات مما ينعكس على تحسين بيئة نمو الجذور، كما اثبتت قدرتها على تحسين نمو النبات ونسجة التربة وتقوم هذه البكتريا بأسغلال النيتروجين في الغلاف الجوي لتخليق البروتين الخلوي الذي يتم تثبيته في التربة (Farshad وآخرون 2020) ، كذلك تعد من الأحياء الدقيقة المنتجة لمثبطات مسببات الأمراض النباتية عن طريق افراز انزيمات خاصة مضادة للمسببات المرضية مثل: الفطريات، والبكتريا مما يوفر حماية النبات مثل انزيم ACC deaminase الذي ينظم عمل منظمات النمو (Aasfar وآخرون، 2021) والانزيمات المحللة لجدران خلايا المسببات الممرضة للنبات والحاوية على الكايتين مثل: Endochitinase و zarrin Chitobiosidase (Pandey وآخرون، 2019). كذلك كان لبكتريا الـPGPR دور كبير في خفض نسبة وشدة الإصابة لقدرتها على إنتاج المركبات الأيضية الثانوية مثل Lipopolysaccharides (LPs) و *N-acyl-homoserine lactones* (AHLs) التي تزيد المقدرة الدفاعية للنبات عن طريق تنشيط مسار تنظيم إنزيم (Lipoxygenase LOX) و ترسيب الكالوس وتراكم المركبات الفينولية (Han وآخرون، 2016 و Schikora، 2016)، ولهذه البكتريا قابلية عالية على إنتاج بعض المركبات المضادة للفطريات و انتاج مواد ايضية ومركبات عضوية و عدد من الانزيمات التي لها القدرة على تحلل جدران خلايا الفطر الممرض ومن هذه الانزيمات ، Glucanase , Chitinase Iaminarinase , وانتاج عدد من المضادات الحيوية مثل، Pyoluteorin herbicolin , Phenazin ، (Sraa وآخرون 2021) وايضا للبكتريا *A.chroococcom* القدرة على انتاج مركبات ذات اوزان جزئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيدالهيدروجين (HCN) اذ ان وجود هذا المركب بتراكيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (Alsudani و Al-Awsi، 2020) فضلا عن ذلك لها قدرة عالية على المنافسة مع الممرضات على عنصر الحديد عن طريق انتاجها مركبات Siderophores (Hillel، 2005)، و انتاجها للعديد من المركبات المفيدة لنمو النباتات مثل الامونيا والفيتامينات ومنظمات النمو التي تشمل اندول استيك اسيد والجبرلين والسايٹوكينين والتي تعزز من انبات البذور ونمو النبات اذ تعمل بكتريا *A.chroococcom* على تشجيع نمو النباتات فضلا عن انتاجها للهرمونات التي تسهم في زيادة تصنيع

الكربوهيدرات في الاوراق ، و انتاجها للعديد من المركبات المفيدة لنمو النباتات مثل الامونيا والفيتامينات ومنظمات النمو التي تشمل اندول استيك اسيد والجبرلين والسايوكينين والتي تعزز من انبات البذور ونمو النبات , فقد اشار العديد من الباحثين الى وجود تداخل بين زيادة مستويات الهرمونات النباتية وتوجيه نقل المركبات العضوية المصنعة في النباتات وهذا التداخل يمكن تغييره على اساس تنشيط الجينات وبعض الانزيمات وتكوين البروتينات والمحافظة على تكوين الكلوروفيل ولاحماض النووية وتاخير شيخوخة الاوراق وكل هذه العوامل تؤدي الى تحسين نموالنبات وزيادة كمية الانتاج, كذلك تعمل البكتريا *A.chroococcum* على زيادة جاهزية العناصر الغذائية للنبات ومن ثم تحسين كفاءة استغلال النتروجين من قبل الجذور وزيادة جاهزية الفسفور والحديد الذي يوفر البيئة المناسبة للبكتريا (Al- و Alsudani وAbdel-Rahman و2020، Awsi وآخرون, 2021 و Silva وآخرون, 2021).

اما الكايتوسان فقد تعزى قابليته في تثبيط الفطريات الممرضة للنبات الى ايقاف نشاط بعض الانزيمات والبروتينات الضرورية لنمو الفطريات او بسبب زيادة نفاذية الغشاء الخلوي نتيجة لتفاعل الكايتوسان ذي الشحنة الموجبة مع غشاء الفطريات سالبة الشحنة كذلك يعمل على تثبيط تصنيع البروتينات والانزيمات الاساسية بسبب تغير في تركيب DNA, وعدم توفر المغذيات الاساسية لنمو الفطريات (Younes و Rinaudo , 2015) . وجد Kappel وآخرون(2022) ان استخدام الكايتوسان وفطر المقاومة *T.atroviride* ادى الى تثبيط نمو الفطرين الممرضين *Cercospora beticola* و *Fusarium oxysporum* وقلل من الإصابة بمرض تبقع الاوراق السرکوسبوري وذبول البنجر السكري بشكل تآزري عبر مسارات إشارات مختلفة ، ووجد مستويات عالية من الفيتوالكسين والجينات المرتبطة بالإجهاد التأكسدي كرد دفاعي . كذلك وجد Abdel-Rahman وآخرون (2021) ان استخدام الكايتوسان العادي بتركيز 2غم و 4غم / لتروالنانوي بتركيز 0.2, 0.4 غم /لتر ادى الى تثبيط النمو القطري للفطر *Penicillium expansum* مسبب مرض العفن الأزرق على التفاح و تحسين جودة الفاكهة من حيث الصلابة ، والمواد الصلبة الذائبة الكلية ، والحموضة فضلا عن ذلك وجد زيادة في مستوى ستة جينات مرتبطة بالامراضية هي *Chtinase*، *Peroxidase*، *β-1,3- Gluganase*، *Xyloglucan*، *Ammonialase*، *endotransglycosylase* ، البروتين المرتبط بالأمراض (PR8) ، *phenylalanine* (PAL1). علاوة على ذلك ، تم الكشف عن أعلى كمية من mRNA لجميع الجينات المدروسة في الأوراق واوصى بأستخدامه في برامج الإدارة للحفاظ على جودة ما بعد الحصاد وإطالة العمر الافتراضي للثمار.

ربما تعود فاعلية حامض السالسليك الى تثبيطه للعديد من العمليات الحيوية في الفطريات الممرضة كعمل الانزيمات والاحماض الامينية ومن ثم التأثير في نشاط ونمو هذه المسببات المرضية (Janda وآخرون 2007, Ibanez و 2022).

ان نتائج هذه التجربة جاءت مؤكدة لنتائج التجارب المختبرية من ان جميع المعاملات اظهرت كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *F. solani* و *R. solani* و *E. multirostrata* والحد من انتشارهما ، مما اسهم في توفير مستوى معين من الحماية لنباتات عرف الديك من الاصابة بالمسببات المرضية ، ومن ثم احدثت خفضا بالنسبة المئوية للاصابة وشدها بمرض تعفن الجذور وموت البادرات ورفعا معنويا في بعض معايير نمو النباتات وتتفق هذه النتائج مع ماوجده الجبوري (2017) و العميدي (2021) من ان استعمال عوامل المقاومة الاحيائية والكيميائية وفر حماية جيدة للمحاصيل من الاصابة بالمسببات المرضية

5-الاستنتاجات والتوصيات

1-5الاستنتاجات Conclusions

- 1- انتشار مرض تعفن جذور نبات عرف الديك *C. argentea* في جميع المشاتل التي شملها المسح في محافظتي كربلاء وبابل.
- 2- وجد ان الفطريات الممرضة *F. solani* و *R. solani* و *E. multirostrata* هي المسببات لمرض تعفن جذور نبات عرف الديك *C. argentea* في محافظتي كربلاء وبابل .
- 3-تحديد الجينوم الكامل للفطر *F.solani strain FSSC5* ولأول مرة في العراق.
- 4- فاعلية العوامل الاحيائية *T. koningiopsis* و *A. chroococcum* في تثبيط الفطريات *F.solani* و *R. solani* و *E. multirostrata* .
- 5- فاعلية المبيدات الكيميائية Beltanol و Basten و Metehazole في تثبيط نمو الفطريات *R. solani* (R16) و *F. solani* (F3) و *E. multirostrata* (Ec2) المختبرة وبشكل كامل.
- 6- فاعلية الكايتوسان و حامض السالسيك في تثبيط نمو الفطريات *R. solani* (R16) , *F. solani* (F3) و *E.multirostrata* (E2) وبنسب مختلفة.
- 8- تفوق معاملة التداخل بين العامل الاحيائي *T. koningiopsis* و حامض السالسيك و معاملة التداخل بين العاملين الاحيائيين *T. koningiopsis* و *A. chroococcum* في خفض النسب المئوية للإصابة وشدتها بالفطريات *R. solani* (R16) و *F. solani* (F3) و *E.multirostrata* (E2) وزيادة معايير النمو وبنسب مختلفة.

2-5 التوصيات Recommendation

- 1- استخدام توليفات التداخل بين العامل الاحيائي *T.koningiopsis* و حامض السالسيك و معاملة التداخل بين العاملين الاحيائيين *T.koningiopsis* و *A. chroococcum* في السيطرة على مرض تعفن جذور عرف الديك المتسبب عن الفطريات *R. solani* و *F. solani* و *E. multirostrata* وزيادة معايير النمو وبنسب مختلفة.
- 2- إجراء دراسات للبحث عن عوامل احيائية كفوءة معزولة من التربة لادخالها في برامج مكافحة مسببات الامراض النباتية وبالأخص مسببات امراض الجذور.
- 2- تشخيص الجينوم الكامل لمسببات فطرية مرضية اخرى باستعمال الاسلوب المتبع في هذه الدراسة.
- 3- تحديد المسببات المرضية لامراض تعفونات الجذور وقواعد سيقان نباتات زينة أخرى ودراسة امكانية ان تكون نباتات الزينة عوائل بديلة للمسببات المرضية التي تصيب محاصيل اقتصادية مهمة.
- 4- تحديد اسباب المدى العائلي الواسع للفطر *F.solani* SSC5 بالرغم من كون هذه السلالات متخصصة على عوائلها وذلك باستعمال المقارنة الجينومية الكاملة.

المصادر العربية

- أبو عرقوب , محمود موسى (2000). المقاومة الاحيائية لامراض النبات . المكتبة الاكاديمية , القاهرة / جمهورية مصر العربية.
- أبو عرقوب، محمود موسى (2002). المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة - مستحثة - حيوية) ودورها في أمراض النبات. المكتبة الاكاديمية للطباعة والنشر. جمهورية مصر العربية.
- التميمي، زينب لطيف حميد (2019). دراسة تشخيصية جزيئية للفطريات المسببة لمرض موت البادرات Damping –off disease على نبات الطماطة ومكافحتها باستخدام التكامل بعض العوامل الاحيائية والمركبات النانوية. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة كربلاء / العراق.
- الجبوري، حرية حسين شهاب (2002). تأثير استخدام معيق النمو كلتار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على اصابة نبات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور. رسالة ماجستير. كلية الزراعة/ جامعة بغداد/العراق.
- الجليبي , سامي كريم ونسرین خليل الخياط (2013) . نباتات الزينة في العراق. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي / كلية الزراعة / جامعة بغداد/ العراق.
- الخفاجي,سجاد جاسم,(2021). عزل وتشخيص البكتريا المسببة لمرض التدرن التاجي على شتلات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaledulensis dehn* ومقاومتها باستخدام بعض العوامل الاحيائية والكيميائية,رسالة ماجستير,كلية الزراعة اجامعة كربلاء/العراق.
- الخزرجي,ياسر عيدان باني محمود,(2007).تأثير الماء الممغنط وحامض السلسلك في نمو وحماية نبات الخيار من الفطر الممرض *Fites(Pyhtium aphanthermatem (edsun)*, اطروحة دكتوراه / كلية الزراعة /جامعة بغداد/العراق.
- الركابي، فراس علي احمد (2008).تأثير مستخلصات النمو الخضري لبعض الادغال على الفطريات المرضية لجذور الطماطة وفطر المقاومة الاحيائية *Trichoderma harzianum Rifai*. رسالة ماجستير / كلية الزراعة / جامعة الكوفة/العراق.
- الرماحي,عالية هيكل حسين (2021). حماية محصول الذرة الصفراء باستعمال بعض المواد النانوية من الاصابة بالفطر *Aspergillius flavus* وتأثيرها على اختزال انتاج سم الافلاتوكسين B1 , اطروحة دكتوراه ,كلية الزراعة /جامعة بغداد/العراق.

- الطائي، أحمد كاظم حمزة (2017). تشخيص مسبب مرض ذبول الكلم وإمكانية مقاومته باستخدام عوامل حيوية واللاحيوية وتقويم تأثيرها على مؤشرات نمو النبات. رسالة ماجستير، كلية الزراعة/جامعة الكوفة/العراق.
- العامري، علاء طالب سالب، (2021). التشخيص الجزيئي للبكتريا المسببة لمرض التعفن الطري على البطاطا في محافظتي كربلاء و بابل ومقاومتها باستعمال بعض العوامل الاحيائية والمركبات النانوية، رسالة ماجستير، كلية الزراعة/جامعة كربلاء/العراق.
- العميدي ، زهراء عماد (2021) . تقييم كفاءة البكتريا *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum brasilenes* في مقاومة مسيبات مرض تعفن جذور نبات الخيارفي محافظة بابل . رسالة ماجستير ، كلية التقنية / المسيب / جامعة الفرات الاوسط/العراق.
- العميدي، مهند حامد يونس العميدي (2019). تأثير مستخلصات أوراق أشجار اليوكالبتس *camaldulensis Eucalyptus* في نمو فطريات إغقان جذور شتلات الصنوبر البروتي *Ten brutia*. *Pinus* والثويا الشرقية *L. oreintalis Biota*. من خلال بعض صفات النمو. رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات /جامعة الموصل /العراق.
- امين، منال محمد، (2013) الكايتوسان . مجلة أسيوط للدراسات البيئية , (38)-1-8 .
- جابر، محمد حسن (2020). عزل وتشخيص الفطريات المسببة لمرض تعفن البذور وموت بادرات الحنطة *Triticum aestivum* في محافظة كربلاء ومكافحتها باستخدام التكامل بين بعض الأصناف والمركبات النانوية والعامل الاحيائي *Trichoderma harzianum*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة /جامعة كربلاء/العراق.
- جبر، كامل سلمان ونجاة عدنان سعد وعامر محمد بندر (2002). حساسية نبات الباذنجان للفطر *Rhizoctonia solani* لوحده او مع ديدان تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* كمعقد مرضي. مجلة الزراعة العراقية عدد خاص 7 (5) : 231-242.
- جعفر ، علا هادي (2012). المقاومة الاحيائية والكيميائية لمرض ذبول اللوبياء المتسبب عن الفطرين *Fusarium solani (Mart) Sacc* و *Rhizoctonia solani kuhn* رسالة ماجستير ، الكلية التقنية/ المسيب ، هيئة التعليم التقني /العراق.

- **حسان,الاء خضير.(2005).**تقويم فعالية بعض عوامل الاستحثاث والمبيدات في حماية نباتات الخيار من الاصابة بالفطر *Pythium aphanidermatum*,رسالة ماجستير| قسم وقاية النبات-كلية الزراعة/جامعة بغداد/العراق.
- **حسون، أبراهيم خليل . (2005) .** المكافحة البيولوجية و الكيميائية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا . *Rhizoctonia .solani kuan*أطروحة دكتوراه .كلية الزراعة /جامعة بغداد/العراق.
- **حميد، فاخر رحيم (2002).** دراسة كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma. spp* في استحثاث المقاومة ضد الفطر وتحفيز النمو في أربعة أصناف من القطن. رسالة ماجستير، كلية الزراعة/جامعة بغداد/العراق.
- **دخيل,فيد عباس (2021).**التكامل بين العوامل الاحيائية والمبيدات الكيميائية في السيطرة على مسببات امراض جذور نباتات الزينة في مشاتل محافظتي كربلاء وبابل,رسالة ماجستير,كلية الزراعة/جامعة كربلاء/العراق.
- **ديوان، مجيد متعب (1994).**الكثافة العددية للفطريات المرضية وغير المرضية المرافقة لجذور الطماطة وعلاقتها بمرض الذبول، مجلة البصرة للعلوم الزراعية.7 (2): 91 – 100.
- **ذير,رشيد مشرف (2021).** التشخيص المظهري والجزئي لمسببات مرض ذبول السمسم وتقييم بعض عوامل استحثاث المقاومة,أطروحة دكتوراه جامعة الانبار /كلية الزراعة/العراق.
- **سرحان ،عبد الرضا طه,(2009).** تشخيص الفطور المحمولة بالبذرة والمرافقة لبذور بعض البقوليات وأسلوب مكافحتها حيويًا في العراق . مجلة وقاية النبات العربية,(27)
- **شمران، زيد طالب (2017).** تقويم فعالية بعض العوامل الاحيائية ومستحضر الاحياء المجهرية EM-1 ضد الفطر *Macrophomina phaseolina* مسبب مرض التعفن الفحمي على نبات زهرة الشمس. رسالة ماجستير، الكلية التقنية/المسيب/جامعة الفرات الاوسط التقنية/العراق.
- **شنور , شيماء عبد الامير محمد (2021) .** المكافحة المتكاملة لامراض جذور الفلفل *Capsicum annum* المتسببة عن الفطرين *Fusarium solani* و *Macrophmena phaseolina* . رسالة ماجستير , الكلية التقنية /المسيب /جامعة الفرات الاوسط التقنية/العراق.
- **عبد الله,بحار مقداد (2015).**دراسة فاعلية بعض المبيدات الفطرية الحديثة في تثبيط نمو بعض الفطريات الممرضة للنبات القاطنة في التربة مختبريا, مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة ,9(1): 8941-8991.

- عبود , هادي مهدي (1998) . استعمال الكايتوسان لاستحثاث المقاومة الجهازية لمرض الذبول الفيوزارمي وتعقد الجذور على الطماسة . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة / جامعة بغداد/العراق.
- علي، ريزان محمد صالح (2007) . امراض موت البادرات وتعفنات جذور شتلات الغابات في محافظة السليمانية ومقاومتها. رسالة ماجستير، كلية الزراعة/ جامعة السليمانية/ العراق.
- فالج،جنان علي(2020).التشخيص الجزيئي للفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض تعفن بذور وموت بادرات الخيار (*Cucumis sativus L.*) ومكافحته باستخدام بعض انواع الفطر *Trichoderma* واوكسيد الزنك النانوي والمبيد *Rhizolex*, كلية الزراعة /جامعة كربلاء/العراق.
- محمد , لقاء حسين (2021) .تشخيص ديدان تعقد الجذور *Meloidogyn .spp* على الطماسة في بعض مناطق محافظة كربلاء وتقييم بعض عوامل المكافحة الاحيائية وغير الاحيائية ,رسالة ماجستير ,كلية الزراعة / جامعة كربلاء/العراق.
- مطر , محمد (2012) . فاعلية بعض مبيدات الفطور الكيمائية والحيوية في مكافحة الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* . مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية , سلسلة العلوم البيولوجية . مجلد (34) عدد (4) .
- ميخائيل ، سمير وعبد الحميد طرابية وعبدالجواد الزري(1981). امراض البساتين والخضر ،جامعة الموصل ،العراق.

- **Aasfar, A.; Bargaz, A.; Yaakoubi, K.; Hilali, A.; BY.; and Meftah Kadmiri, I. (2021).** Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in microbiology*, 12, 354.
- **Abbott, W.S. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticides .*Journal of Economic Entomology* 18:265-267
- **Abdelghany, M. M. A.; Kurikawa, M.; Watanabe, M.; Matsui, H.; Yamamoto, M.; Ichinose, Y.; and Noutoshi, Y. (2022).** Surveillance of Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Japanese Isolates with Varied Anastomosis Groups and Subgroups on *Arabidopsis thaliana*. *Life*, 12(1), 76
- **Abdel-Kader, M. M.; El-Mougy, N. S.; Khali, M. S. A.; and El-Gama, N. G. (2021).** Biocontrol Agents for Controlling Wheat Root Rot Disease under Greenhouse Conditions. *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(2)..
- **Abd-El-Khair, H.; Elshahawy, I.E.; and Haggag, H.E.K. (2019).** Field application of *Trichoderma* spp. combined with thiophanate-methyl for controlling *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* in dry bean. *Bulletin of the National Research Centre* 43: 19.
- **Abdel-Rahman, F. A.; Monir, G. A.; Hassan, M. S.; Ahmed, Y.; Refaat, M. H.; Ismail, I. A.; and El-Garhy, H. A. (2021).** Exogenously Applied Chitosan and Chitosan Nanoparticles Improved Apple Fruit Resistance to Blue Mold, Upregulated Defense-Related Genes Expression, and Maintained Fruit Quality. *Horticultrae*, 7(8), 224.
- **Abdoulaye, A. H.; Foda, M. F.; and Kotta-Loizou, I. (2019).** Viruses infecting the plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. *Viruses*, 11(12), 1113..
- **Abood, N.T.; Abdul-Moohsin, R.G. and Altaie, A.H. (2020).** Isolation and diagnosis of *Fusarium Solani* that causes root rot soybean and evaluating the

efficiency of bacteria *Bacillus subtilis* and *Azotobacter* spp. in controlling the disease. EurAsian Journal of BioSciences 14: 4617-4623.

- **Agrios, G. N. (2005).** Plant pathology. 5th ed. Academic Press, New York, U.S.A.
- **Ajayi-Oyetunde, O. O.; and Bradley, C. A. (2018).** *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of *Rhizoctonia* seedling disease of soybean. Plant pathology, 67(1), 3-17.
- **Akrami, M.; and Zohreh, Y. (2015).** Biological Control of *Fusarium* wilt of Tomato (*Solanum lycopersicum*) by *Trichoderma* spp. as Antagonist Fungi. Biological Forum. An International Journal 7(1): 887-892.
- **Al-Abedy, A. N.; Al-Janabi, R. G.; Al-Tmeme, Z. A.; SALIM, A. T.; and Ashfaq, M. (2020).** Molecular Characterization of Novel Isolates of *Rhizoctonia Solani*, *Trichoderma atroviride* and *Fusarium* SPP. Isolated from Different plants and cutting woods in Iraq. Pak. J. Bot, 52(3), 1073-1082.
- **AL-Abedy, A.N.; Abdalmoohsin, R.G.; Odeh, A.A. and Al-Salami, I. (2021).** Evaluation of the potential of some *trichoderma* spp. Isolates, nanoparticles (mgo-nps) and the fungicide beltanol in controlling seedling damping-off and seed decay caused by *Fusarium brachygibbosum* in tomato, Int. J. Agricult. Stat. Sci. (17) 1: 1661-1671.
- **Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W.; and Blackwell, M. (1996).** Introductory mycology, 4th Ed. New York, pp 869
- **Ali, A., Muhammad; Muhammad. T. M.; Sijam, K., and Siddiqui, Y. (2011).** Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya L.*) fruit during cold storage. Food chemistry, 124(2), 620-626.
- **Alizadeh, M.; Vasebi, Y.; and Safaie, N. (2020).** Microbial antagonists against plant pathogens in Iran: A review. pen Agriculture 5: 404-440 .

- **Al-Khafagi, A. H.(2012).** Chemical control of cowpea damping off and root rot. *Mesopotamia Journal of Agriculture* 40 (1):249-257.
- **Al-Sanae, E. A.; Afaf, I.; Shehata, A. H.; Mohammed, A.; and Amal, A. A. (2016).** Molecular detection and characterization of *Fusarium sporotrichioides* based on ITS2 rDNA. *Polymorphism. Human Journals*, 2(3), 365-376.
- **Al-Sharmani, H. R.; Al-Kalabi, H. H.; and AL-Abedy, A. N. (2019, November).** Efficacy of rice husks compost and *Trichoderma harzianum* on *Rhizoctonia solani* and its effect on seeds germination and seedling health. In *IOP Conference Series: Earth and Environmenta Science* (Vol. 388, No. 1, p. 012002). IOP Publishing.
- **Alsudani,A.A.;Al-Awsi,G.R.L.(2020).** Biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Kühn) and *Fusarium solani* (Marti) causing damping-off disease in tomato with *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*,(23): 1456-1461..
- **Anderson, J. P.; Hane, J. K.; Stoll, T.; Pain, N.; Hastie, M. L.;Kaur, P.; and Singh, K. B. (2016).** Proteomic analysis of *Rhizoctonia solani* identifies infection-specific, redox associated proteins and insight into adaptation to different plant hosts. *Molecular & Cellular Proteomics*, 15(4), 1188-1203.
- **Andrews, S. (2010).** FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.
- **Anyanga, W. O.; Rubaihayo, P.; Gibson, P.; and Okori, P. (2016).** Combining ability and gene action in sesame (*Sesamum indicum L*) elite genotypes by diallel mating design. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 8(11), 250-256.
- **Arora, H.; Sharma, A.; Sharma, S.; Haron, F. F.; Gafur, A.; Sayyed, R. Z.; and Datta, R. (2021).** *Pythium* damping-off and root rot of *Capsicum annum L.*: Impacts, Diagnosis, and Management. *Microorganisms*, 9(4), 823.

- **Avery, S. V.; Singleton, I.; Magan, N.; and Goldman, G. H. (2019).** The fungal threat to global food security. *Fungal biology*, 123(8), 555-557.
 - **Aydi-Ben-Abdallah, R.; Jabnoun-Khiareddine, H.; and Daami-Remadi, M. (2020).** *Fusarium* wilt biocontrol and tomato growth stimulation, using endophytic bacteria naturally associated with *Solanum sodomaeum* and *S. bonariense* plants. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 1-13.
 - **Azizi, M.F.; Mardhiah, N.H.; and Lau, H.Y. (2022).** Current and emerging molecular technologies for the diagnosis of plant diseases – An overview, *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 10(2) :294 – 305.
 - **Bade, M. L.; and Wick, R. L. (1988).** Protecting crops and wildlife with chitin and chitosan.
 - **Baker, K.F.; and Cook, R.J. (1974).** *Biological Control of Plant Pathogens*. American Phytopathological Society, Saint Paul.
 - **Bankevich, A.; Nurk, S.; Antipov, D.; Gurevich, A. A.; Dvorkin, M.; Kulikov, A. S.; et al. (2012).** SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology* 19(5): 455-477.
- Batson, A.; Gyawali, S. and du Toit, L. J. (2020).** Evaluation of spinach and *Beta vulgaris* cultivars for differential susceptibility to two pathogenicity groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*. *Plant Health* 2020 Online
- **Bell, D. K.; Wells, H. D.; and Markham, C. R. (1982).** In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens *Phytopathology* 72:379- 382.
 - **Benhamou, N.; Lafontaine, P. J.; and Nicole, M. (1994).** Seed treatment with chitosan induces systemic resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants. *Phytopathology*, 84(12), 1432-1444.

- **Benítez, T.; Rincón, A. M.; Limón, M. C. and Codó, A. C. (2004).** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International microbiology Journal* 7:249-260.
- **Benjamin, G.; Pandharikar, G.; and Frendo, P. (2022).** Salicylic Acid in Plant Symbioses: Beyond Plant Pathogen Interactions. *Biology* 2022, 11, 861.
- **Bertagnolli, B. L.; Dal Soglio, F. K.; and Sinclair, J. B. (1996).** Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008. I. Possible correlations with inhibition of growth and biocontrol. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 48(3), 145-160
- **Bisen, K.; Keswani, C.; Patel, J. S.; Sarma, B. K.; and Singh, H. B. (2016).** *Trichoderma* spp.: efficient inducers of systemic resistance in plants. In *Microbial-mediated induced systemic resistance in plants* (pp. 185-195). Springer, Singapore.
- **Bistgani, Z. E.; Siadat, S. A.; Bakhshandeh, A.; Pirbalouti, A. G.; and Hashemi, M. (2017).** Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, 5(5), 407-415.
- **Bodah, E.T. (2017).** Root Rot Diseases in Plants: A Review of Common Causal Agents and Management Strategies. *Agriculture Research & Technology* 5(3): 56-63.
- **Bolger, A. M.; Lohse, M.; and Usadel, B. (2014).** Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30 (15): 2114-2120.
- **Booth, C . (1971)** The Genus *Fusarium*. Kew, Surry, England. Commonwealth Mycol. Inst.. 237pp.
- **Borkowski, J.; and Kowalczyk, W. (1999).** Influence of Tytanit and chitosan sprays and other treatments on the tomato plant growth and the development of powdery mildew [*Oidium lycopersicum*]. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences. Biological Sciences*, 47(2-4).

- **Burgess, L. W. ; Knight T. E.; Tesoriero L. and Phan H. T. (2008).** Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. Australian Centre for International Agricultural Research- Canberra-Australia.
- **Calhim, S.; Halme, P.; Petersen, J. H.; Læssøe, T.; Bässler, C.; and Heilmann-Clausen, J. (2018).** Fungal spore diversity reflects substrate-specific deposition challenges. *Scientific Reports*, 8(1), 1-9.
- **Camacho, C.; Coulouris, G.; Avagyan, V.; Ma, N.; Papadopoulos, J.; Bealer, K. and Madden, T. L. (2009).** BLAST+: architecture and applications. *BMC 91 Bioinformatics*, 10(1), 421.
- **Carreras-Villaseñor, N.; Rodríguez-Haas, J. B.; Martínez-Rodríguez, L. A.; Pérez-Lira, A. J.; Ibarra-Laclette, E.; Villafán, E.; and Sánchez-Rangel, D. (2022).** Characterization of Two *Fusarium solani* Species Complex Isolates from the Ambrosia Beetle *Xylosandrus morigerus*. *Journal of Fungi*, 8(3), 231.
- **Chandra, S.N.; Shankar, A.C.U.; Niranjana, S.R.; and Prakash H.S. (2008).** Molecular detection and characterization of *Fusarium verticillioides* in maize (*Zea mays* L.) grown in southern India. *Annals of Microbiology*, 58 (3): 359-367
- **Chobe, D. R.; Tarafdar, A.; Chandran, U. S.; Sudharani, and Sharma, M. (2020).** First report of *Ectophoma multirostrata* causing root rot in chickpea. *Plant disease*, 104(6), 1866-1866.
- **Christensen, M. J.; Falloon, R. E.; and Sklpp, R. A. (1988).** A Petri plate technique for testing pathogenicity of fungi to seedlings and inducing fungal sporulation. *Australasian Plant Pathology* 17 (2): 45–47.
- **Chu; K. H., Li; C. P., and Qi; J. (2006).** Ribosomal RNA as molecular barcodes: a simple correlation analysis without sequence alignment. *Bioinformatics*, 22(14), 1690-1701.

- **Clark, F. E.; (1965).** Agar-plants method for total microbial count. C. F: Black, 1965. Method of soil analysis part. 2. Publisher Madison Wisconsin U.S.A. pp. 1572.
- **Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmino, B. P.; and Simons, A. (1996).** Mackin and McCartney Practical Medical Microbiology. The Churchill Livingstone. *Inc. USA.*
- **Colombowala, A.;and Aruna, K. (2020).**Microbial Siderophores: A Prospective Tool for Strategic Medical Interventions.Ind. J. Pure App. Biosci, 8(6): 34-45.
- **Cong, M.; He, S.; Ma, H.; Li, G.; and Zhu, F. (2018).** Hormetic effects of carbendazim on the virulence of *Botrytis cinerea*. Plant disease, 102(5), 886-891.
- **Conrad, J. L.; Balcarcel, A. M.; and Mehling, C. M. (2012).** Earliest example of a giant monitor lizard (*Varanus*, Varanidae, Squamata). PLoS One, 7(8), e41767.
- **Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L.; Del-Val, E. K.; and Larsen, J. (2016).** Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. FEMS microbiology ecology, 92(4), fiw036
- **cubeta, M. A., & Vilgaly, R. (1997).** Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. Phytopathology, 87(4), 480-484.
- **Cunha, F. S. D.; Costa, A. E. D. S.; Araújo, K. M. G. D.; Lima Neto, I. D. S.; Capucho, A. S.; and Ishikawa, F. H. (2022).** Inheritance of resistance to damping-off (*Rhizoctonia solani*) in watermelon. Bragantia, 81
- **de Souza, L. M.; de Chaves, M. A.; Joaquim, A. R.; Gionbelli, M. P.; Gava, A.; Fiorentin, J.; and Fuentesfria, A. M. (2021).** The efficacy of 8-hydroxyquinoline derivatives in controlling the fungus *Ilyonectria liriodendri*, the causative agent of black foot disease in grapevines. Journal of Applied Microbiology, 131(3), 1440-1451.

- **Dempsey, D. M. A.; Shah, J.; and Klessig, D. F. (1999).** Salicylic acid and disease resistance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18(4), 547-575.
 - **Dewan, M.M. (1989).** Identity and frequency of occurrence of fungi in root of wheat and rye grass and their effect on take-all and host growth. Ph.D. thesis University. Western Australia.
 - **Divya. B. J; Sravani.J.M.; Chandana.H.J.; Sumana.T.and Thyagaraju.K.(2019).**Phytochemical andphytotherabeutic activites of *Celosia argenta* areveiw; world Journal of pharmacy and Pharmaceutical Sciencnes 8(3): 488-505.
 - **Dolatabadian, A.; and Fernando, W. G. D. (2022).** Genomic Variations and Mutational Events Associated with Plant–Pathogen Interactions. *Biology*, 11(3), 421.
 - **dos Santos, M. F.; da Costa, D. L.; Vieira, T. A.; and Lustosa, D. C. (2019).** Effect of *Trichoderma*'spp. fungus for production of seedlings in *Enterolobium Schomburgkii*'(Benth.) Benth. *Australian Journal of Crop Science*, 13(10), 1706-1711.
 - **El Hadrami, A.;Adam, L. R.; El Hadrami, I.; and Daayf, F. (2010).** Chitosan in plant protection. *Marine drugs*, 8(4), 968-987.
 - **Elewa, I. S.; Mostafa, M. H.; Sahab, A. F.; and Ziedan, E. H. (2011).** Direct effect of biocontrol agents on wilt and root-rot diseases of sesame. *Archives of Phytopathology and plant protection*, 44(5), 493-504.
 - **El-Kazzaz, M. K.; Ghoneim, K. E.; Agha, M. K. M.; Helmy, A.; Behiry, S. I.; Abdelkhalek, A.; and Elsharkawy, M. M. (2022).** Suppression of Pepper Root Rot and Wilt Diseases Caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. *Life*, 12(4), 587.
- Fapohunda, S. O.; Moore, G. G.; Ganiyu, O. T.; and Beltz, S. B. (2012).** Toxigenic *Aspergillus flavus* and other fungi of public health concern in food and organic matter in southwest Nigeria. *Mycology*, 3(3), 210-219

- **Faqir, Y.; Ma, J.; and Chai, Y. (2021).** Chitosan in modern agriculture production. *Plant, Soil and Environment*, 67(12), 679-699.
- **Farr, D.C. ; Bills, G. F. ; Chamuris, G. P. and Rossman, A. Y. (1995).** Fungi on plants and plant products in the United states. *The American Phytopathological Society St. Paul., MN.* pp 11.
- **Farshad, K.; Hosseini, S.A.; Hamidi, B. A.; Dimitri, R. and Tornabene,, F.(2020).** Nonlocal Torsional Vibration of Elliptical Nanorods with Different Boundary Conditions .*Vibration*, 3(3): 189-203
- **Feng, S.; Shu, C.; Wang, C.; Jiang, S.; and Zhou, E. (2017).** Survival of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA, the Causal Agent of Rice Sheath Blight, under Different Environmental Conditions. *Journal of Phytopathology*, 165(1), 44-52.
- **Fiorenza, A.; Aiello, D.; Costanzo, M. B.; Gusella, G.; and Policzci, G. (2022).** A New Disease for Europe of *Ficus microcarpa* Caused by *Botryosphaeriaceae* Species. *Plants*, 11(6), 727.
- **Foroud N.A.; Chatterton S.; Reid L.M.; Turkington T.K.; and Tittlemier SA, et al.(2014)** *Fusarium* Diseases of Canadian Grain Crops: impact and disease management strategies. in: future challenges in crop protection against fungal pathogens. springer, new york, usa, pp. 267-316.
- **Fredricks, K. T.; Hubert,T. D.; Amberg, J.J.; Cupp, A. and Dawson, V. K.(2019).** Chemical Controls for an Integrated Pest Management Program. *North American Journal of Fisheries Management*, 41(1):1-12.
- **Frisvad, J. C.; Hubka, V.; Ezekiel, C. N.; Hong, S. B.; Nováková, A.; Chen, A. J.; and Houbraken, J. (2018).** Taxonomy of *Aspergillus* section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies in mycology*, 91(1), 37-59.

- **Garcia – Rincon , j. ; J. Vega-P´erez ; M. G. Guerra-S´anchez ; A. N. Hern´andez-Lauzardo; A. Pe˜na-D´iaz, and M. G. Vel´azquez-Del Valle . 2010 .** Effect of chitosan on growth and plasma membrane properties of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill Pesticide Biochemistry and Physiology . 97: 275–278 .
- **Gardiner DM; Stephens A.E.; Munn A.L.; and Manners J.M.; (2013)** An ABC pleiotropic drug resistance transporter of *Fusarium graminearum* with a role in crown and root diseases of wheat. FEMS Microbiol Lett 348(1): 36-45
- **Gashaw, T.; Sitotaw, B.; and Yilma, S. (2022).** Evaluation of Rhizosphere Bacterial Antagonists against *Ralstonia solanacearum* Causing Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Wilt in Central Ethiopia. International Journal of Agronomy, 2022
- **Ghadamgahi, F.; Tarighi, S.; Taheri, P.; Saripella, G. V.; Anzalone, A.; Kalyandurg, P. B.; and Vetukuri, R. R. (2022).** Plant Growth-Promoting Activity of *Pseudomonas aeruginosa* FG106 and Its Ability to Act as a Biocontrol Agent against Potato, Tomato and Taro Pathogens. Biology, 11(1), 140.
- **Giabimeip;Yousuf.o.;Singh.a.andDevi.m.(2018).**a study on phytochemical screening of *Celosia argenta var cristata* in florescence extract.the pharma innovation journal;7(10):284-287.
- **Gonzalez M.; Pujol M.; Metraux J.P.; Gonzalez-Garcia V.; and Bolton M.D.; et al.(2011).** Tobacco leaf spot and root rot caused by *Rhizoctonia solani* Kühn. Molecular plant pathology 12(3): 209-216.
- **Gupta, V.K. (2013).** Growth characteristics of *Fusarium* spp. causing wilt disease in *Psidium guajava* L. in India. Journal of Plant Protection Research. 50 (4): 452-462
- **Haggag, W. M.; and Abd El-Khair, H. (2006).** Effect of polyamine biosynthesis inhibitors on the barley blotch pathogens and disease control. PLANT PROTECTION BULLETIN-TAIPEI-, 48(4), 311.

- **Han, J.H. (2000).** Antimicrobial food packaging. *Food Technology* 54:56-65.
- **Harman, G. E. (2006).** Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp., *Phytopathology* 96 (2):190-194.
- **Hermosa, R.; Viterbo, A.; Chet, I. and Monte, E. (2012).** Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158(1):17–25.
- **Hidayah, N.; Wijayanti, K. S.; and Yulianti, T. (2022).** Possibility to develop biological control agents for plant diseases on ramie plantation. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 974, No. 1, p. 012046). IOP Publishing.
- **Hillel, D. (2005).** Plant Growth Promoting Bacteria. Elsevier, Oxford, U. K.:103-115.
- **Hirpara, D.G.; Gajera, H.P.; Patel, A.K.; Katakpara, Z.A. and Golakiya, B.A. Hofte, M. and P.A.H.M. Bakker. (2007).** Competition for Iron and Induced Systemic Resistance by Siderophores of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Soil Biol.* 12:121-133
- **Hsuan, H. M.; Salleh, B.; and Zakaria, L. (2011).** Molecular identification of *Fusarium* species in *Gibberella fujikuroi* species complex from rice, sugarcane and maize from Peninsular Malaysia. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 6722-6732.
- **Hu, M.; Li, Q.; Yang, Y.; Liu, K.; Miao, C.; Zhao, L. and Ding, Z. (2017).** Koninginins R-S from the endophytic fungus *Trichoderma koningiopsis*, *Natural Product Research* 31 (7): 835-839.
- **Ibanez, F.; Suh, J. H.; Wang, Y.; Rivera, M.; Setamou, M.; and Stelinski, L. L. (2022).** Salicylic acid mediated immune response of *Citrus sinensis* to varying frequencies of herbivory and pathogen inoculation. *BMC plant biology*, 22(1), 1-16.

- **Intaparn, P.; Noireung, P.; Maumoon, R.; Poti, T.; Wongwan, T.; McGovern, R. J. and To-Anun, C. (2020).** First record of *Phytophthora* sp. causing root and stem rot on *Catharanthus roseus* in Thailand. *Plant Pathology and Quarantine*, 10(1), 10-20.
- **Janda, J. M.; and Abbott, S. L. (2007).** 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9): 2761–2764
- **Jensen, H. L.(2021).** The *Azotobacteriaceae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 8:195-213.
- **Jiang, P.; Zheng, Y.; Liu, J.; Yu, G.; and Lin, F. (2022).** Pathways of cadmium fluxes in the root of the hyperaccumulator *Celosia argentea* Linn. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-9.
- **Jiao, X.; Lu, X.; Luo, Y.; Hao, J. J.; and Gao, W. (2022).** Correction: Jiao et al. Effects of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* Infection on the Metabolism of Ginsenosides in American Ginseng Roots. *Molecules* 2015, 20, 10535–10552. *Molecules*, 27(12), 3649.
- **Kamoru, A. A; Kareem, Y. K.; Yusuf, O. K. and Stephen, A. O. (2020).** Effects of electromagnetic treatment of irrigation water on growth and yield of Lagos Spinach (*Celosia argentea*). *Agricultural Engineering International*;22(2).
- **Kapadiya, I. B.; Undhad, S. V.; Talaviya, J. R.; and Siddhapara, M. R. (2014).** Evaluation of phytoextracts against *Fusarium solani* causing root rot of okra. *Journal of Biopesticides*, 7, 7
- **Kappel, L.; Kosa, N.; and Gruber, S. (2022).** The Multilateral Efficacy of Chitosan and *Trichoderma* on Sugar Beet. *Journal of Fungi*, 8(2), 137.

- **Kareem, T. A.; and Hassan, M. S. (2013).** Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* isolated from pepper plants in Iraq by using PCR. Diyala Agricultural Sciences Journal, 5(2), 45-54.
- **Karuri, H. (2022).** Root and soil health management approaches for control of plant-parasitic nematodes in sub-Saharan Africa. Crop Protection, 152, 105841.
- **Kashyap, A. S.; Manzar, N.; Ahamad, F.; Tilgam, J.; Sharma, P. K.; and Saxena, A. K. (2022).** First Report of Root Rot Disease in Green Gram (*Vigna radiata*) Caused by *Ectophoma multirostrata* in India. Plant Disease, (ja).
- **Khalifa, M. W.; Rouag, N.; and Bouhadida, M. (2022).** Evaluation of the Antagonistic Effect of *Pseudomonas Rhizobacteria* on *Fusarium* Wilt of Chickpea. Agriculture, 12(3), 429.
- **Kheiri A, Moosawi j.S.A.; Malhipour A, Saremi H and Nikkhah M.(2017).** Synthesis and characterization of chitosan nanoparticles and their effect on *Fusarium* head blight and oxidative activity in wheat. Int J Biol Macromol.;102:526–538. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.04.034.
- **Khosravi,H.; and Dolatabad, H. K.(2020).** Identification and molecular characterization of *Azotobacter chroococcum* and *Azotobacter salinestris* using Ardra, rep, eric, and box. Molecular Biology Reports, 47(1):307–316
- **Kong, M.; Chen, X. G.; Xing, K.; and Park, H. J. (2010).** Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. International journal of food microbiology, 144(1), 51-6.
- **Kumar, N.; and Khurana, S. P. (2021).** *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for benefit of agriculture and environment. In Biocontrol Agents and Secondary Metabolites (pp. 41-63). Woodhead Publishing.

- **Kumar, N.; Petkoska, A. T.; AL-Hilifi, S. A.; and Fawole, O. A. (2021).** Effect of chitosan–pullulan composite edible coating functionalized with pomegranate peel extract on the shelf life of mango (*Mangifera indica*). *Coatings*, 11(7), 764.
- **Kumar, S.; Strcher, G.; and Tamura, K. (2016).** MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33: 1870–1874..
- **Kusajima, M.; Fujita, M.; Soudthelath, K.; Nakamura, H.; Yoneyama, K.; Nomura, T.;and Nakashita, H. (2022).** Strigolactones Modulate Salicylic Acid-Mediated Disease Resistance in *Arabidopsis thaliana*. *International journal of molecular sciences*, 23(9), 5246.
- **Lahlali, R.; Ezrari, S.; Radouane, N.; Kenfaoui, J.; Esmaeel, Q.; El Hamss, H.; and Barka, E. A. (2022).** Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms*, 10(3), 596.
- **Lahuf, A. A.; Abdullah, K. M.; and Mohammadali, M. T. (2020).** Assessment of the nanosized particles of ZnO and MgO and some cultivars in control of *Alternaria solani* causing tomato early blight. *Ecology, Environment and Conservation Journal* 26: 89-95.
- **Lamichhane, J. R.; Arseniuk, E.; Boonekamp, P.; Czembor, J.; Decroocq, V.; Enjalbert, J.; Finckh, M.R.; Korbin, M.; Koppel, M.; Kudsk, P.; Mesterhazy, A.; Sosnowska,D.; Zimnoch-Guzowska, E.and Messéan, A.(2018).**Advocating a need for suitable breeding approaches to boost integrated pest management: a European perspective. *Pest management Science*, 74(6):1219-1227.
- **Lan, Y. R. et al. (2019).** *Plant Disease*,103: 1416.
- **Langmead, B.; and Salzberg, S. L. (2012).** Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods* 9(4): 357-359.

- **Leslie, J. F.; & Summerell, B. A. (2006).** *Fusarium* laboratory workshops--A recent history. *Mycotoxin Research*, 22(2), 73.
- **Li, J.; and Li, C. (2022).** *Fusarium solani* Causing Root Rot Disease on *Gastrodia elata* in Shaxi, China. *Plant Disease*, 106(1), 320.
- **Li, S., Hartman; G. L.; Lee, B. S.; and Widholm, J. W. (2000).** Identification of a stress-induced protein in stem exudates of soybean seedlings root-infected with *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38(10), 803-809.
- **Lodha, S.; and Mawar, R. (2019).** Population dynamics of *Macrophomina phaseolina* in relation to disease management: A review. *Journal of Phytopathology*, 168(1), 1-17.
- **Mahdi, S.; Mukhtar, H.; Bashir, H. and Ali Nawaz.(2018).** Optimization of growth conditions for *Azotobacter* species and their use as biofertilizer. *jbmoa*, 6(5):274-278.
- **Majumdar, R.; Strausbaugh, C. A.; Galewski, P. J.; Minocha, R.; and Rogers, C. W. (2022).** Cell-Wall-Degrading Enzymes-Related Genes Originating from *Rhizoctonia solani* Increase Sugar Beet Root Damage in the Presence of *Leuconostoc mesenteroides*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1366.
- **Makun, H. A.; Dutton, M. F.; Njobeh, P. B.; Phoku, J. Z.; and Yah, C. S. (2011).** Incidence, phylogeny and mycotoxigenic potentials of fungi isolated from rice in Niger State, Nigeria. *Journal of Food Safety*, 31(3), 334-349.
- **Malamy,T.;J.P.Carr;D.F.Klessing and I.Raskin.(1990).**salicylic acid alikelyendogenous singnal in the resistance response of tobacco the viral infection science.250;1002-1004.
- **Manganiello, G.; Sacco, A.; Ercolano, M. R.; Vinale, F.; Lanzuise, S.; Pascale, A.; and Woo, S. L. (2018).** Modulation of tomato response to *Rhizoctonia solani* by

Trichoderma harzianum and its secondary metabolite harzianic acid. *Frontiers in microbiology*, 9, 1966.

- **Mannai, S.; Horrigue-Raouani, N.; and Hamdi, N.B. (2018).** Effect of Six Fungicides against *Fusarium oxysporum* and *F. solani* Associated with Peach Seedlings Decline in Tunisian Nurseries. *Annual Research & Review in Biology* 26(4): 1-11.
- **Massa, F.; Defez, R.; and Bianco, C. (2022).** Exploitation of Plant Growth Promoting Bacteria for Sustainable Agriculture: Hierarchical Approach to Link Laboratory and Field Experiments. *Microorganisms*, 10(5), 865.
- **Matheron.M.(2001).**Modes of action for plant disease mangment chemistries. Annul desert vegetable crop work shop.
- **McKinney, H. H. (1923).** Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agriculture Research* 26:195-217.
- **Meister, R. T. (2000).** Farm chemical handbook. Listing for " Beltanol ". Willouhg by OH. 86 : 45p.
- **Mészárosné P., A.; Südiné F.; A.; Tóthné B. F.; andTóth, F. (2021).** The Spread of the Soil-Borne Pathogen *Fusarium solani* in Stored Potato Can Be Controlled by Terrestrial Woodlice (Isopoda: Oniscidea). *Agriculture*, 12(1), 45.
- **Metz, N.; and Hausladen, H. (2022).** *Trichoderma* spp. As potential biological control agent against *Alternaria solani* in potato. *Biological Control*, 166, 104820.
- **MINFAL, (2011).** Government of Pakistan. Ministry of Food and Agriculture Economic Wing) Islamabad. Pakistan
- **Montealeger, J. R.; Rodrigo, R.; Luz, P. M.; Rodrigo, H.; Polyana S.; and Ximena. B.; (2003).** Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato .*J. Biotec.* 6:115-127.

- **Munkvold, G. P. (2017).** *Fusarium* species and their associated mycotoxins. Mycotoxigenic fungi, 51-106.
- **Muslim,S.N.; Aziz,R.A. and Al- Hakeem,A.M.(2021).** Biological control of *Azotobacter chroococcum* on *Fusarium solani* in tomato plant ,Journal of phycsis conferens series,(2)1879-22018.
- **Muthukumar, A.; Karthikeyan, G.; and Prabakar, K. (2005).** Biological control of tuber rot (*Fusarium oxysporum*) tube rose (*Polianthes tuberosa L.*). Madras Agric. J, 92(10-12), 742-744.
- **nagaraj, B. T.; Sunkad, G.; Pramesh, D.; Naik, M. K.; and Patil, M. B. (2017).** Host range studies of rice sheath blight fungus *Rhizoctonia solani* (Kuhn). Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 6(11), 3856-3864.
- **Nalim, F.A.; Samuels, G.J.; Wijesundera, R.L. et al (2011).** New species from the *Fusarium solani* species complex derived from perithecia and soil in the Old World tropics. Mycologia, 103:1302–1330.
- **Narayanasamy, P. (2011).** Microbial plant pathogens-detection and disease diagnosis Vol. 1. Springer, Heidelberg, Germany.
- **Nascimento, C. A.; Teixeira-Silva, N. S.; Caserta, R.; Marques, M. O. M.; Takita, M. A.; and de Souza, A. A. (2022).** Overexpression of CsSAMT in Citrus sinensis Induces Defense Response and Increases Resistance to *Xanthomonas citri* subsp. citri. Frontiers in plant science, 820.
- **Nelson, P. E.; Toussoun, T. A.; Burgess, L. W.; Marasas, W. F. O.; and Liddell, C. M. (1986).** Isolating, identifying, and producing inoculum of pathogenic species of *Fusarium*.
- **Neveux M. (2007).**Herbal Medicine, History of Herbal Medicine: Herbal Remedies. J .P Brothers, USA. 2007; 34-35

- **Nirmaladevi, D.; Venkataramana, M.; Srivastava, R. K.; Uppalapati, S. R.; Gupta, V. K.; Yli-Mattila, T.; and Chandra, N. S. (2016).** Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Scientific reports, 6(1), 1-14.
- **Nwankiti, A. O.; and Gwa, V. I. (2018).** Evaluation of antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* causal agent of white yam (*Dioscorea rotundata* poir) tuber rot. Trends in Technical & Scientific Research, 1(1), 0012-0018.
- **Nzungize J; Gepts P; Buruchara R.; Male A.; and Ragama P.; et al. (2011).** Introgression of Pythium root rot resistance gene into Rwandan susceptible common bean cultivars, African Journal of PlantScience5(3):193-200.
- **O'Donnell, K. (2000).** Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* species complex. Mycologia, 92:919
- **Ogoshi, A. (1996).** Introduction—the genus *Rhizoctonia*. In *Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control (pp. 1-9). Springer, Dordrecht.
- **Ons, L.; Bylemans, D.; Thevissen, K.; and Cammue, B. P. A. (2020).** Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. Microorganisms 2020, 8, 1930; doi:10.3390/microorganisms8121930.
- **Osei, R.; Yang, C.; Cui, L.; Wei, L.; Jin, M.; and Wei, X. (2021).** Antagonistic bioagent mechanisms of controlling potato soft rot. Plant Protection Science, 58(1), 18-30
- **Ozdemir, F.; Koc, N. K.; Paulitz, T.; Nicol, J. M.; Schroeder, K. L.; and Poole, G. (2020).** Determination of *Fusarium* crown rot resistance in wheat to *Fusarium*

culmorum and *Fusarium pseudogramineum* using real time PCR. *Crop Protection*, 135, 105204.

- **Palma-Guerrero, J.; Jansson, H. B.; Salinas, J.; and Lopez-Llorca, L. V. (2008).** Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Journal of applied Microbiology*, 104(2), 541-553.
- **Pandey, S.; Gupta, S.; and Ramawat, N. (2019).** Unravelling the potential of microbes isolated from rhizospheric soil of chickpea (*Cicer arietinum*) as plant growth promoter. *3 Biotech*, 9(277) :1-9.
- **Pandit, M. A.; Kumar, J.; Gulati, S.; Bhandari, N.; Mehta, P.; Katyal, R.; and Kaur, J. (2022).** Major Biological Control Strategies for Plant Pathogens. *Pathogens*, 11(2), 273.
- **Panth, M.; Hassler, S.C. and Baysal-Gurel F.(2020).** Methods for Management of Soilborne Diseases in Crop Production. *Agriculture*, 10(16):1-22.
- **Parameter, J. R.; Whitney, H. S. (1970).** Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: *Rhizoctonia solani* Biology and Pathology. Parmeter, J. R. (Editor). University of California Press, California
- **Paudel, M.; Parajuli, K.; Parajuli, S.; and Regmi, S. (2020).** Molecular Diagnostic Approaches For Plant Pathogens Detection And Disease Management. *Science Heritage Journal (GWS)*, 4(1), 27-30.
- **Podgórska-Kryszczuk, I.; Solarska, E.; and Kordowska-Wiater, M. (2022).** Reduction of the *Fusarium* Mycotoxins: Deoxynivalenol, Nivalenol and Zearalenone by Selected Non-Conventional Yeast Strains in Wheat Grains and Bread. *Molecules*, 27(5), 1578.
- **Ponukumati, S. V.; Elliott, M. L.; and Des Jardin, E. A. (2019).** Comparison of secreted in xylem (SIX)

genes in two *Fusarium* wilt pathogens of ornamental palms. *Plant Pathology*, 68(9), 1663-1681

- **Popova,L.; pancheva, T.; and A. Uzunova.(1997).**salicylic acid:properties biosynthesis and physiological role.*Blug.J.plant physiol.*23:85-93.
- **Prabhukarthikeyan, S. R.; Parameswaran, C.; Sawant, S. B.; Naveenkumar, R.; Mahanty, A.; Keerthana, U.; and Rath, P. C. (2022).** Comparative Proteomic Analysis of *Rhizoctonia solani* Isolates Identifies the Differentially Expressed Proteins with Roles in Virulence. *Journal of Fungi*, 8(4), 370.
- **Prasannath, K., (2017).** Plant defense-relate enzymes against pathogens: a review. *AGRIEAST: Journal of Agricultural Sciences*, 11(1):38-48.
- **Quaglia, M.; Troni, E.; D’Amato, R.; and Ederli, L. (2022).** Effect of zinc imbalance and salicylic acid co-supply on Arabidopsis response to fungal pathogens with different lifestyles. *Plant Biology*, 24(1), 30-40.
- **Rahman, M.; Mukta, J. A.; Sabir, A. A.; Gupta, D. R.; Mohi-Ud-Din, M.; Hasanuzzaman, M.; and Islam, M. T. (2018).** Chitosan biopolymer promotes yield and stimulates accumulation of antioxidants in strawberry fruit. *PLoS One*, 13(9), e0203769.
- **Raja, H. A.; Miller, A. N.; Pearce, C. J.; and Oberlies, N. H. (2017).** Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of natural products*, 80(3), 756-770.
- **Ramírez-Gil, J. G.; and Morales-Osorio, J. G. (2021).** Proposal for Integrated Management of *Verticillium* Wilt Disease in Avocado Cultivar Hass Crops. *Agronomy*, 11(10), 1932.
- **Raskin,I.a.(1992)**Role of salicylic in plants.*Annu.Rev.plant physiology*43:439-463.

- **Rehman, A.; Imran, M.; Mehboob, S.; Nasir, A.; Khan, W. A.; and Riaz, K. (2015).** Etiology Pathogenicity and Management of Collar Rot in Cockscomb (*Celosia argentea*). International Journal of Agriculture and Biology, 17(1).
- **Reino, J.L.; Guerrero, R. F.; Hernández-Galán, R. and Collado, I. G. (2007).** Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. Phytochemistry Reviews 7(1):89–123
- **Riaz, M.; Mahmood, R.; Antar, M.; Akhtar, N.; Khan, S. N.; Anjum, M. A.; and Smith, D. L. (2022).** A Bacterial Consortium and Synthetic Fertilizer Based Biocontrol Approach Against Potato Rot Disease “*Neocosmospora rubicola*”.
- **Ruangwong, O.; Pornsuriya, C.; Pitija, K. and Sunpapao, A. (2021).** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma koningiopsis* PSU3-2 against postharvest anthracnose of chili pepper. Journal of Fungi 7 (4): 276. <https://doi.org/10.3390/jof7040276>.
- **Saengchan, C.; Sangpueak, R.; Le Thanh, T.; Phansak, P.; and Buensanteai, N. (2022).** Induced resistance against *Fusarium solani* root rot disease in cassava plant (*Manihot esculenta* Crantz) promoted by salicylic acid and *Bacillus subtilis*. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science, 72(1), 516-526.
- **Sangekar, S. N.; Tarbej, J. S.; and Devarkar, V. D. (2018).** Phytochemical and Taxonomical Studies of *Celosia argentea* L.(AMARANTHACEAE). International Journal of Scientific Research in Science and Technology, 4(5), 481-486.
- **Sangoyomi, T. (2004).** Post-harvest Fungal deterioration of yam (*Dioscorea rotundata*. Poir) and its Control. Ph.D. Thesis. University of Ibadan, Nigeria.
- **Schikora, A. (2016).** Beneficial effects of bacteria-plant communication based

on quorum sensing molecules of the N -acyl homoserine lactone group. *Plant Methods* 90:605–612.

- **Scott, K.; Eyre, M.; McDuffee, D.; and Dorrance, A. E. (2020).** The efficacy of ethaboxam as a soybean seed treatment toward *Phytophthora*, *Phytophthium*, and *Pythium* in Ohio. *Plant disease*, 104(5), 1421-1432. .

- **Senapati, M.; Tiwari, A.; Sharma, N.; Chandra, P.; Bashyal, B. M.; Ellur, R. K.; Krishnan, S. G. (2022).** *Rhizoctonia solani* Kühn Pathophysiology: Status and Prospects of Sheath Blight Disease Management in Rice. *Frontiers in Plant Science*, 13, 881116-881116.

- **Shah, M. A. W.; Yasmin, H.; Mumtaz, S.; El-Serehy, H. A.; Khan, N.; and Hassan, M. N.(2021)** .Prevalence of Wheat Associated *Bacillus* spp. and Their Bio-Control Efficacy Against *Fusarium* Root Rot.

- **Sharma, H.; Haq, M. A.; Koshariya, A. K.; Kumar, A.; Rout, S.; and Kaliyaperumal, K. (2022).** “*Pseudomonas fluorescens*” as an Antagonist to Control Okra Root Rotting Fungi Disease in Plants. *Journal of Food Quality*, 2022.

- **Sharma, L.; Goswami, S.; and Nagrale, D. T. (2013).** Culture and physiological variability in *Rhizoctonia solani*, responsible for foliar and lesions on aerial part of soybean. *Journal of Applied and Natural Science*, 5(1), 41-46.

- **Shields, A.; Shivnauth, V.; and Castroverde, C. D. M. (2022).** Salicylic Acid and N-Hydroxypipicolinic Acid at the Fulcrum of the Plant Immunity-Growth Equilibrium.

- **Shinohara, N.; Woo, C.; Yamamoto, N.; Hashimoto, K.; Yoshida-Ohuchi, H.; and Kawakami, Y. (2021).** Comparison of DNA sequencing and morphological identification techniques to characterize environmental fungal communities. *Scientific reports*, 11(1), 1-8.

- **Shoaib, A.; Ferdosi, M. F. H.; Saleem, M. A.; and Javed, S. (2021).** Morphological and biochemical variations induced by synergy of salicylic acid and zinc in cockscomb. *Folia Horticulturae*, 33(1), 79-90.
- **Silva, D. B. H.; Jung, S. H.; Castro Oliveira, J. V. D.; and Ryu, C. M. (2021).** C4 Bacterial Volatiles Improve Plant Health. *Pathogens*, 10(6), 682.
- **Sood, M.; Kapoor, D.; Kumar, V.; Sheteiw, M. S.; Ramakrishnan, M.; Landi, M.; and Sharma, A. (2020).** *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants*, 9(6), 762.
- **Sun, D.; Liang, G.; Xie, J.; Lei, X.; and Mo, Y. (2010).** Improved preservation effects of litchi fruit by combining chitosan coating with ascorbic acid treatment during postharvest storage. *African Journal of Biotechnology*, 9(22), 3272-3279.
- **Sun, J. X.; Li, X.; Jiang, Y.; Liu, Y. L.; Li, P.; and Li, H. J. (2022).** Precise identification of *Celosia argentea* seed and its five adulterants by multiple morphological and chemical means. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 114802.
- **Suwannarach, N.; Khuna, S.; Kumla, J.; Cheewangkoon, R.; Suttiprapan, P.; and Lumyong, S. (2022).** Morphology Characterization, Molecular Identification, and Pathogenicity of Fungal Pathogen Causing Kaffir Lime Leaf Blight in Northern Thailand. *Plants*, 11(3), 273.
- **Tang, Y.; Xin, H. L.; and Guo, M. L. (2016).** Review on research of the phytochemistry and pharmacological activities of *Celosia argentea*. *Revista brasileira de farmacognosia*, 26, 787-796.
- **Thiyajai, P.; and Koyama, T. (2022).** Binary ethanol-water solvents affect betalain contents and health-promoting properties of red *Celosia argentea* inflorescence extracts. *International Food Research Journal*, 29(1).

- **Tilahun, S.; Alemu, M.; Tsegaw, M.; and Berhane, N. (2022).** Morphological and Molecular Diversity of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Pathogenic Fungi in Chilga District, North Gondar, Ethiopia. *Front. Fungal Biol.* 2: 765737.
- **Tuan, L. N. A.; Du, B. D.; Ha, L. D. T.; Dzung, L. T. K.; Van Phu, D.; and Hien, N. Q. (2019).** Induction of chitinase and brown spot disease resistance by oligochitosan and nanosilica–oligochitosan in dragon fruit plants. *Agricultural Research*, 8(2), 184-190.
- **Tyśkiewicz, R.; Nowak, A.; Ozimek, E.; and Jaroszuk-Ścisel, J. (2022).** *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329.
- **Uquillus, C.; I. Letlier; F. Blanco; X. Jordana and L. Holuigue. (2004)** NPR1-Independent activation of immediate early salicylic acid responsive genes. *societ.* 17(1):34-42.
- **Vanloon, L. C.; and J. F. Antniw. (1982).** Comparison of the effects salicylic acid and ethophon with virus-induced hypersensitivity and acquired resistance in tobacco. *Neth. J. plant pathol.* 88:56-237.
- **Vinale, F.; Sivasithamparam, K.; Ghisalberti, E. L.; Marra, R.; Woo, S. L. and Lorito, M. (2008).** *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology Biochemistry* 40:1–10.
- **Vocciante, M.; Grifoni, M.; Fusini, D.; Petruzzelli, G.; and Franchi, E. (2022).** The Role of Plant Growth-Promoting *Rhizobacteria* (PGPR) in Mitigating Plant's Environmental Stresses. *Applied Sciences*, 12(3), 1231.
- **Wang, Z., Nilsson, R. H., James, T. Y., Dai, Y., & Townsend, J. P. (2016).** Future perspectives and challenges of fungal systematics in the age of big data. In *Biology of Microfungi* (pp. 25-46). Springer, Cham.

- **Watanabe, T. (2018).** Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species 3rd Edition. CRC Press, Florida, USA.
- **White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S. J. W. T.; and Taylor, J. (1990).** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), 315-322.
- **Williamson-Benavides, B. A.; and Dhingra, A. (2021).** Understanding root rot disease in agricultural crops. Horticulturae, 7(2), 33.
- **Wilson, P. S.; Ketola, E. O.; Ahvenniemi, P. M.; Lehtonen, M. J.; and Valkonen, J. P. T. (2008).** Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. Plant Pathology, 57(1), 152-161.
- **Xiao, R. F., et al. (2017).** Plant Disease, 101: 630.
- **Yang, X. H.; Lu, G., Zhao, Z. H.; Li., L. L.; and Yao, X. M. (2007).** Isolation and identification of *Fusarium* species from cucumber wilt diseased plants in vegetable greenhouses in northeastern China . JOURNAL-SHENYANG AGRICULTURAL UNIVERSITY, 38 (3),308
- **Yin, Q., et al. (2022).** Plant Disease, First Look.
- **Yin, X. D.; Ma, K. Y.; Wang, Y. L.; Sun, Y.; Shang, X. F.; Zhao, Z. M.; and Liu, Y. Q. (2020).** Design, synthesis, and antifungal evaluation of 8-hydroxyquinoline metal complexes against phytopathogenic fungi. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 68(40), 11096-11104.
- **You, J.; Li, G.; Li, C.; Zhu, L.; Yang, H.; Song, R.; and Gu, W. (2022).** Biological Control and Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51. Journal of Fungi, 8(2), 131.
- **Younes, I.; and Rinaudo, M. 2015.** Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine drugs, 13(3), 1133-1174.

- **Yu, G.; Jiang, P.; Fu, X.; Liu, J.; Sunahara, G. I.; Chen, Z.; and Wang, X. (2020).** Phytoextraction of cadmium-contaminated soil by *Celosia argentea* Linn.: A long-term field study. *Environmental Pollution*, 266, 115408.
- **Zhang, N.; O'Donnell, K.; Sutton D.A.; et al (2006)** Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *Journal Clinical Microbiology*, 44:2186–2190.
- **Ziedan, E. S. H. (2022).** A review of the efficacy of biofumigation agents in the control of soil-borne plant diseases. *Journal of Plant Protection Research*, 62(1), 2
- **Zin, N. A.; and Badaluddin, N. A. (2020).** Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178.

Abstract

This study was conducted at the College of Agriculture - University of Karbala with the aim of isolating and diagnosing the fungi causing root rot of *Celosia argentea* in a number of nurseries in the governorates of Karbala and Babylon. In addition the most pathogenic fungi isolated in this study will be tested to determine their host range and testing the antagonistic ability of a number of biological factors, chemical pesticides, salicylic acid and chitosan in combating the most pathogenic fungi that cause rotting of the roots of the *C. argentea* in the laboratory and under the conditions of the plastic house in the plastic pots.

The results of the isolation showed that the morphological diagnosis obtained 20 isolates belonging to the fungus *Rhizoctonia* spp. and 22 isolates of *Fusarium* spp. And 3 isolates of the fungus *Ectophoma* sp. The results of pathogenicity showed that isolates R16 and F3 significantly reduced the percentage of germination of red radish seeds to 0.00%, as well as their complete inhibition of the germination of *C. argentea* seeds compared to the comparison treatment in which the percentage of germination reached 100% for both types of seeds.

The results of the molecular diagnosis of isolates R16, F3, E2 confirmed by analyzing the sequences of the nitrogenous bases of the doubling DNA products by polymerase chain reaction of the selected genetic markers and comparing them with the global strains and isolates using the BLAST program (Basic Local Alignment Search Tool). These isolates were *Rhizoctonia solani* (R16), *Ectophoma multirostrata* (E2), *Fusarium solani* (F3) whose sequences of six genetic markers important in mycobacterial diagnosis included internal transcribed spacer (ITS), translation elongation factor (TEF-1 α), RNA polymerase I (RPB 1) and RNA polymerase II (RPB 2), and beta-tubulin 1 (β -tubulin), as well as mitochondrial small-subunit ribosomal RNA, in addition to identifying its complete genome for

the first time in Iraq. Within the NCBI-genome database under the code JAMJFY000000000.1.

The results of the family range test of fungal isolates R16, F3, E2 showed that they have a wide family range represented in the inhibition of germination of cucumber, ruqyi, watermelon, eggplant, hot pepper, tomato and Ayn al-Bazoun seeds in different proportions. The laboratory results of the antagonistic ability of the biological agent *Trichoderma* showed its high inhibitory ability which reached 100%, 88.88% and 94.40% against the fungi *R. solani* (R16), *F. solani* (F3) and *E. multirostrata* (E2) respectively. Also, *Azotobacter chroococcum* achieved an inhibition rate of 100% against all tested fungi.

The chemical pesticides Beltanol, Basten and Metehazole achieved 100% inhibition rates against *R. solani* (R16), *F. solani* (F3) and *E. multirostrata* (Ec2) tested with all the concentrations used, while the percentage of inhibition of Verox biocidal was 16.66%, 72.22%, 77.77%, respectively when using the recommended concentration compared to the comparison treatment. The inhibition percentage was 0.00% for all fungi.

The results of the chitosan efficacy test at concentrations 0.5, 1, and 2% showed that the concentration was significantly superior to 2% ($P > 0.05$) by achieving the percentage of inhibition of the fungi *R. solani* (R16), *F. solani* (F3) and *E. multirostrata* (E2) tested amounted to 66.6%, 88.8% and 75.5%, respectively, compared to the control treatment, which amounted to 0.00%, while the results showed the use of salicylic acid at concentrations of 0.5, 1, and 1.5 g/L, the concentration of 1.5 g/L was significantly ($P > 0.05$) superior in its inhibition of pathogenic fungi. Above, the inhibition percentage was 72.2%, 88.8% and 72.2%, respectively.

The treatment of the chemical pesticide Beltanol was significantly superior to the other treatments in reducing the percentage of infection, which reached 8.0%, 2.1%, and 6.0%, and the percentage of infection severity to 2.0%, 0.0% and 0.0%, respectively, for the fungi *R. solani*, *F. solani* and *E. multirostrata* followed by the treatment of interaction between the biological factors Tr + Az, which led to a reduction in the incidence of pathogenic fungi to 20%, 11% and 18%, respectively, and the severity of infection to 9%, 15% and 6.66% compared to treatments of pathogenic fungi alone, which reached rates of infection. 100%, 100% and 100%, respectively, and the infection severity percentages were 87%, 80% and 62%, while in the right comparison treatment it amounted to 0.0%, and the percentage of infection in the other treatments ranged from 15.33%-67.00%, and the infection severity rates were 7.00% - 49.00%

The treatment of interaction between the biological factors Tr+Az and the plant pathogens was superior in increasing the growth parameters compared to the treatments of the pathogenic fungi alone. 0.131 g, respectively, followed with a significant difference by the treatment of 3 Tr + Az + Fu, in which the growth parameters reached 22.33 cm, 10.03 g, 2.40 g, 0.996 g, and 0.132 g, respectively. In the Tr + Az + Rh16 treatment, the growth parameters reached 20.00 cm and 9.30 g, 2.03 g, 0.775 g, and 0.084 g, respectively, and this treatment did not differ from the interaction between Tr+Sal and Az+Sal in the presence of pathogenic fungi.



University of Kerbala
College of Agriculture
Department of Plant Protection

**The effectiveness of integrated control in controlling some
pathogens of root rot disease on *Celosia argentea***

Thesis submitted to

**The Council of the College of Agriculture / University of Kerbala as Partial
Fulfillment of the Requirement for Degree of Master of Sciences in Agriculture
– Plant Protection**

By

Safa Jameel Sheehan

Supervised By

Prof . Dr . Rajaa G. Abdulmoohsin

1444 A.H.

2022 A.D.