جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم وقاية النبات

بعض أوجه التكامل في مكافحة مرض تعفن وموت بادرات الفلفل المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* وإمكانية مكافحته كيميائيا وإحيائيا .

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

من قبل

نبراس حمزه طعمه الغانمي

بإشراف

أ.د. رجاء غازي عبد المحسن الجنابي

1445هـ 2023م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة (أية 11)

إقرار لجنة مناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على الرسالة الموسومة (**بعض أوجه التكامل في مكافحة مرض تعفن وموت بادرات الفلفل المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* وإمكانية مكافحته كيميائيا وإحيائيا**) وقد ناقشنا الطالبة نبراس حمزة طعمة خضير في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدنا انها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير علوم في الزراعة / وقاية النبات .

رئيس اللجنة

أ.د. عقيل نزال بربر

عضواً

أ.م.د. عقيل عماد محمد

عضواً

أ.م .د. إستبرق محمد عبد الرضا

عضواً ومشرفاً

أ.د. رجاء غازي عبد المحسن

صدقت الرسالة من قبل مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

أ.د. ثامر كريم خضير الجنابي

عميد كلية الزراعة

2023 . 8 . 10

اقرار المشرف

اشهد ان اعداد الرسالة الموسومة بـ (**بعض أوجه التكامل في مكافحة مرض تعفن وموت بادرات الفلفل المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* وإمكانية مكافحته كيميائيا وإحيائيا**). جرت تحت اشرافي في قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في الزراعة / وقاية النبات.

التوقيع :

اسم المشرف: **أ.د. رجاء غازي عبد المحسن**

المرتبة العلمية: استاذ

العنوان: كلية الزراعة – جامعة كربلاء

التاريخ: / / 2023

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: / / 2023

الشكر والتقدير

الحمد لله ذي المن والفضل والاحسان حمدا يليق بجلالتة وعظمتة وصل اللهم على خاتم الرسل وعلى اله وصحبه ومن والاه صلاة تقضي لنا بها الحاجات وترفعنا بها اعلى الدرجات وتبلغنا بها اقصى الغايات من الخيرات في الحياة وبعد الممات ولله الشكر أولا وأخيرا على حسن توفيقه وكريم عونه ومنه عليَ من انجاز هذه الرسالة بعد ان يسر العسير وذلل الصعب.

ولايسعني الا ان :

اتقدم بالشكر والتقدير الى عمادة كلية الزراعة متمثلة بالاستاذ الدكتور ثامركريم خضير الجنابي. كما و يطيب لي وانا انهي كتابة رسالتي ان اتقدم بوافر الشكر وعظيم الامتنان والاحترام والتقدير للاستاذه المشرفة ا.د. رجاء غازي الجنابي لقبولها الاشراف على رسالتي التي توجت هذه الرسالة بعلمها وارشادها ورقة تعاملها وتعهدتني بتقديم النصيحة والمشورة منذ ان تتلمذ ت على يديها في الدراسات الاولية. وشكري وتقديري الى رئيس قسم وقاية النبات ا.م.د.علي عبد الحسين وجميع الاساتذه في القسم (أ.د عقيل نزال بربر- أ. د ياسرناصرحسين - أ.دعدنان عبد الجليل -–م .م علاء العامري – م .م بريركماز – م .م محمد ميثم – م .م ساره عباس). واتقدم بالشكر والتقدير الى رئيس قسم البستنة وهندسة الحدائق ا.م.د. كاظم محمد الفتلاوي ولاأنس فضل اساتذه من قسم المحاصيل وأخص بالذكرالدكتور علي ناظم-الدكتور عدي السلامي). وشكري وتقديري الى د. محمد هادي ود. زيد الشمري. واتقدم بالشكر والتقدير الى اعضاء لجنة المناقشة الموقرة لتفضلهم قبول مناقشة رسالتي. واقدم شكري وتقديري الى زملائي طلبة الدراسات العليا واخص بالذكر (ورس فيصل – سندس قحطان-فرح سعيد-رسل كريم - حسين كامل - محمد سعدون-م .م صف جميل). واقدم شكري وتقديري الى من كان لهم فضل في اكمال هذا العمل استاذ حامد محمد حمادي واستاذ عقيل رحيم جبر.

الإهداء

الى من قاد قلوب البشريه وعقولهم الى مرفا الامان ،معلم البشرية الأول محمد(صلى الله عليه واله وسلم).....

الى الرجل الطاهر الكريم.....الذي صنع طفولتي بيديه الكريمتين بعد الله سبحانه وتعالى اطال الله في عمره(أبي العزيز).....

الى تلك الوردة الفواحة التي لا أزال أستنشق شذاها حتى الان الى صاحبة اليد المعطاءة متعها الله بالصحة والعافية(أمي الغاليه).....

الى من كان ظلي حين يلفحني التعب(زوجي محمد).....

الى بذرة الفؤاد وأمل الغد أبنائي(رامي ومصطفى).....

الى من شاركوني طفولتي واحبوني بصدق واخلاص وتعاونوا معي لإتمام هذه الرساله(اخواني واخواتي).....

الى من ربطتني بهم علاقة الصداقة وورد المحبة الى اخوة جمعني بهم ميدان العمل زملائي الكرام.....

الى كل يد وقلب سار معي درب الانجاز لأكون.....

الى كل هؤلاء اهدي هذه الدراسة راجية من الله ان تكون نافذة علم وبطاقة معرفة..وان ينفعنا وينفع بنا.....

الباحثة نبراس

الخلاصة : (Abstract)

أجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة – جامعة كربلاء بهدف مكافحة مرض تعفن الجذور وموت بادرات الفلفل (*Capsicum annum*) باختبارإستجابة عدد من اصناف الفلفل ضد المسبب المرضي وإختبار كفاءة بعض العوامل الاحيائية والمبيدات الكيميائية والمعززات الحيوية في مكافحة المرض مختبريا وتحت ظروف البيت البلاستيكي .

أظهرت النتائج الحصول على 10 عزلات تعود للفطر *Rhizoctonia* sp. وأربعة عزلات للفطر *Fusarium oxysporum* وثمانية عزلات للفطر *Macrophomina phaseolina*. و14 عزلة للفطر *Fusarium solani* وعزلة واحده للفطر *Acrophialophora jodhpurensis* وعزلة واحدة *للفطر Penicillium digitatum* والتي شخصت مظهريا . بينت نتائج المقدرة الامراضية لها في المختبرتفوق العزلات Rh5 و Fo3 وFo4 و Mp3 وMp5 وFs2 وFs3 وFs6 وFs8 و Fs13 وFs14 وAc1 معنويا(P> 0.0) في خفضها للنسبة المئوية لانبات بذور الفلفل على الوسط الزرعي (Water agar) اذ بلغ معدل النسبة المئوية للانبات فيها 0.0% وتفوقت العزلة *Fs*14 (*F. solani*) في اعطائها اعلى نسبة مئوية لإصابة بادرات الفلفل في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي اذ بلغت 100 % .

بينت نتائج التشخيص الجزيئي للعزلة الاكثر امراضية ان هذه العزلة تعود للفطر *F. solani* كما اظهرت نتائج التشخيص الجزيئي لعزلة بكتريا المقاومة الاحيائية انها *Bacillus velezensis*. كما برهنت النتائج وجود نسبة تباين بين العزلات المشخصة في هذه الدراسة مع العزلات المشخصة سابقاً والمثبتة في المركز الوطني الامريكي لمعلومات التقانة الحيوية (National Center for Biotechnology Information) لذا تم تسجيل هذه العزلات في المركز المذكور وتحت رقم ادخال OQ102244 وOQ102242 لعزلتي الفطر والبكتريا على التوالي.

واظهرت نتائج حساسية عدد من اصناف الفلفل (Carisma-Single-Rio-Cayman) للاصابة بمرض تعفن الجذور وموت البادرات ان الصنف Carisma كان أكثر الاصناف حساسية وبنسبة اصابة بلغت 99.66% قياسا بمعاملة المقارنة السليمة التي بلغت فيها 0.0% . بينت نتائج اختبار القدرة التضادية للعامل الاحيائي *Trichoderma koningiopsis* على الوسط الزرعي (P.D.A) تحقيقه نسبة تثبيط للفطر *F.solani* بلغت 99.66 % في حين اعطى التركيزين 10^1و 10^2 من بكتريا المقاومة الاحيائية *B. velezensis* اعلى نسبة تثبيط للفطر الممرض على الوسط الزرعي (P.D.A.) بلغت

100% في كليهما . تفوق المبيد الكيميائي Beltanol على المبيدين Metchazole و Tabsin بتحقيقه نسبة تثبيط للفطر الممرض في الوسط الزرعي (P.D.A) بلغت 100 % ولجميع التراكيز المستخدمة في حين لم يظهر لهذا المبيد تأثير معنوي (P> 0.05) في الفطر *T. koningiopsis* والبكتريا *B. velezensis* المستخدمين كعوامل مكافحة احيائية.

تفوقت معاملة التكامل بين جميع العوامل الاحيائية والكيميائية المستخدمة في الدراسة (Beltanol+ *T. koningiopsis*+ *F.*s14+Biohealth+*B.velezensis*) معنويا على المعاملات الاخرى في خفض النسبة المئوية للاصابة وشدتها في الاصص البلاستيكية وفي تربة البيت البلاستيكي اذ بلغت 0.0% وتفوقت المعاملة نفسها في زيادة الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وزيادة حجم الجذر بوجود المسبب المرضي اذ بلغت على التوالي 43.23غم و26.80غم و4.41 غم و2.81غم و14.76مل قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 9.17 غم و0.52 وغم و0.44 غم و0.004 غم و1.00مل على التوالي . تفوقت معاملة التكامل بين جميع العوامل المستخدمة في زيادة مستويات الفينولات الكلية وانزيم البيروكسديز اذ بلغت 0.780 ملغم.غم و79.08 وحدة.غم وزن رطب على التوالي قياسا بمعاملة الفطرالممرض بمفرده والتي بلغت 0.301 ملغم .غم و26.40 وحدة.غم وزن رطب على التوالي.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	رقم الصفحة
-1	المقدمه	1
-2	مراجعة المصادر	4
1-2	امراض الجذور	4
2-2	الفطر *Fusarium* spp.	6
3-2	مكافحة الفطريات المسببة لامراض الجذور	9
1-3-2	المكافحة الاحيائية Biological control	9
1-1-3-2	العامل الأحيائي الفطري *Trichoderma* spp.	11
2-1-3-2	البكتريا *Bacillus velezensis*	16
3-1-3-2	التحفيز الحيوي Biostimulation	18
1-3-1-3-2	المحفز الحيوي Bio health	19
2-3-2	المكافحة الكيميائية بأستخدام المبيد الكيميائي Beltanol	22
-3	المواد وطرائق العمل	24
1-3	الاجهزة والمواد المستعملة في الدراسة	24
1-1-3	الاجهزة و الادوات المستعملة في الدراسة	24
2-1-3	المواد المستعملة لأجراء التجارب في هذه الدراسة	25
3-1-3	الاوساط الزرعية المستعملة في الدراسة	25
1-3-1-3	وسط البطاطا دكستروز اكرالجاهز (P.D.A)	25
2-3-1-3	وسط الآكار المائي (Water Agar)	26
3-3-1-3	الوسط المغذي السائل Nutrient Broth (N.B)	26
4-3-1-3	وسط Nutrient Agar	26
2-3	عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نبات الفلفل *Capsicum annum* المصابة بتعفن الجذور وموت البادرات.	26
3-3	حفظ عزلات الفطريات قيد الدراسة	27
4-3	اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة	27
1-4-3	اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة على انبات بذور الفلفل في الوسط الزرعي Water Agar	27
2-4-3	تحميل الفطريات المعزولة على بذور الدخن	28
3-4-3	اختبارالقدرة الامراضية للعزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذور واصابة نبات الفلفل *C. annum* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي	28
5-3	التشخيص الجزيئي Molecular identification للفطريات الممرضة وبكتريا المقاومة الاحيائية قيد الدراسة	29

1-5-3	التشخيص الجزيئي لاربعة عزلات فطرية في هذه الدراسة باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل (P.C.R)	29
2-5-3	التشخيص الجزيئي لبكتريا المقاومة الاحيائية باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل (P.C.R)	32
6-3	اختبار حساسية بعض اصناف الفلفل للاصابة الفطرالممرض *F.solani* المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.	34
7-3	مكافحة الفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل	34
1-7-3	اختبارالقدرة التضادية للعاملين الاحيائين *T.koningiopsis B.velezensis* ضد الفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط الزرعي (P.D.A)	34
1-1-7-3	العامل الاحيائي *T. koningiopsis*	34
2-1-7-3	العامل الاحيائي *B.velezensis*	36
1-2-1-7-3	حساب الكثافة العددية للبكتريا *B. velezensis*	36
2-2-1-7-3	تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري للبكتريا *B. velezensis*المثبط لنمو الفطريات الممرضة قيد الدراسة	36
2-7-3	تقييم كفاءة المبيدات Beltanol و Tabsin وMetchazole ضد الفطرالممرض *F. solani* (F14) المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)	36
1-2-7-3	تأثير المبيد الكيميائي Beltanol في نمو عزلات الفطر*T.koningiopisis* والبكتريا *B. velezensis*. مختبرياً بطريقة تسميم الوسط الزرعي (P.D.A)	37
3-7-3	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي	38
4-7-3	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* في تربة الحقل تحت ظروف البيت البلاستيكي.	40
8-3	التحليل الإحصائي.	42
-4	النتائج والمناقشه	43
1-4	العزل والتشخيص المظهري للفطريات المعزولة من نباتات الفلفل *C. annum* المصابة بتعفن الجذور وموت البادرات	43
2-4	اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة في هذه الدراسة.	45
1-2-4	اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة على انبات بذور الفلفل الو في الوسط الزرعي Water Agar.	45
2-2-4	القدرة الامراضية للعزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذور واصابة نبات الفلفل *C. annum* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي.	47
3-4	التشخيص الجزيئي .Molecular identification	48
4-4	اختبار حساسية بعض اصناف الفلفل للاصابة بالفطرالممرض*F.solani* المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.	53
5-4	مكافحة الفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل.	54
1-5-4	اختبارالقدرة التضادية للعاملين الاحيائين *T. koningiopsis* و *B. velezensis* ضد الفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط الزرعي (P.D.A)	54
1-1-5-4	العامل الاحيائي *T. koningiopsis*	54
2-1-5-4	العامل الاحيائي *B. velezensis*	57

2-5-4	تقييم كفاءة المبيدات Beltanol و Tabsin و Metchazole ضد الفطر الممرض *F. solani* (F14) المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)	59
3-5-4	تأثير المبيد الكيميائي Beltanol في نمو عزلات الفطر *T.koningiopisis* والبكتريا *B. velezensis* مختبرياً بطريقة تسميم الوسط الزرعي (P.D.A)	61
4-5-4	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي .	63
5-5-4	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* في تربة الحقل تحت ظروف البيت البلاستيكي.	65
1-5-5-4	التأثير في النسبة المئوية للاصابة وشدة الاصابة.	65
2-5-5-4	التأثير في بعض معايير النمو.	68
3-5-5-4	الفينولات الكلية.	70
4-5-5-4	فعالية انزيم البيروكسديز.	72
5-	الاستنتاجات والتوصيات.	76
1-5	الاستنتاجات	76
2-5	التوصيات	76
6-	المصادر	77
1-6	المصادر العربية	77
2-6	المصادر الأجنبية	79

قائمة الجداول

التسلسل	العنـــــوان	رقم الصفحة
1-	الاجهزة والادوات المستعملة في الدراسة.	24
2-	المواد المستعملة في الدراسة.	25
3-	المبيدات الكيميائية المستعملة في هذه الدراسة.	25
4-	تقييم الدرجة التضادية للعامل الاحيائي ضد المسببات الممرضه النباتية.	35
5-	تراكيزالمبيدات الفطرية المستعملة في مكافحة الفطر*F.solani* المسبب لتعفن الجذوروموت بادرات نبات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)	37
6-	النسبة المئوية لتكرار او وجود الفطريات المرافقة لجذورنباتات الفلفل.	44
7-	القدرة الامراضية للفطريات المعزولة على انبات بذور الفلفل في الوسط الزرعي W. A	46
8-	القدرة الامراضية للعزلات ضد بذور الفلفل في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي.	48
9-	حساسية بعض اصناف الفلفل للاصابة بالفطرالممرض*F.solani* المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.	54
10-	القدرة التضادية للعامل الاحيائي *B. velezensis* ضد الفطر*F.solani* المسبب لتعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط الزرعي (P.D.A)	58

-11	تقييم كفاءة المبيدات Beltanol و Metchazole وTabsin ضد الفطرالممرض *F. solani* (F14)المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)	60
-12	تأثير المبيد الكيميائي Beltanol في نمو عزلات الفطر*T.koningiopisis* والبكتريا *B .velezensis* مختبرياً بطريقة تسميم الوسط الزرعي .P.D.A	62
-13	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي.	64
-14	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في نسبة و شدة الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* في الحقل تحت ظروف البيت البلاستيكي.	67
-15	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في بعض معايير النموعند الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* تحت ظروف البيت البلاستيكي.	69
-16	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في الفينولات الكلية عند الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* تحت ظروف البيت البلاستيكي.	71
-17	تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في فعالية انزيم البيروكسديزعند الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *C. annum* تحت ظروف البيت البلاستيكي.	73

قائمة الأشكال

التسلسل	العنــوان	رقم الصفحة
1	اعراض الاصابة بتعفن جذور الفلفل	43
2	الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *F.solani*	44
3	الصفات المظهرية و المجهرية للفطر *Acrophialophora jodhpurensis*	45
4	القدرة الامراضية للفطر *F.solani* (Fs14) بذور الفلفل على وسط الاكار المائي(W.A)	47
5	الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Acrophialophora jodhpurensis* isolate Ac1	49
6	الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium oxysporum* isolate Fo3	50
7	الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Fusarium solani* isolate Fs14	51
8	الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Macrophomina phaseolina* isolate N6-R	52
9	الشجرة الوراثية للبكتريا *Bacillus velezensis* strain Karbala-1	53
10	اختبار القدرة التضادية للعامل الاحيائي *T. koningiopsis* ضد الفطر*F.solani* المسبب لتعفن جذور الفلفل.	56
11	النسبة المئوية لتثبيط الفطر*F.solani* المسبب لتعفن جذور الفلفل بواسطة العامل الاحيائي *T. koningiopsis* على الوسط الزرعي (P.D.A)	57
12	القدرة التضادية للعامل الاحيائي *B. velezensis* ضد الفطر*F.solani* المسبب لتعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط (P.D.A)	58
13	كفاءة المبيد الكيميائي Beltanol بالتراكيز 0.75, 1.0, 1.25 مل/لتر في تثبيط نموالفطر*F.solani* (Fs14) في الوسط الزرعي (P.D.A)	61

المقدمة : Introduction

يعود نبات الفلفل *Capsicum annum* L. الى العائلة الباذنجانية (Solanaceae) ويعد من محاصيل الخضرالموسمية وله اهمية اقتصادية اذ يعد ثالث محصول عالميا بعد الطماطة والبطاطا والموطن الاصلي للفلفل هو امريكا الوسطى و امريكا الجنوبية وانتشرمنها الى اوربا واسيا خلال القرن السادس عشر عن طريق البرتغاليين والاسبان قبل 400 سنة (Tewari،2001) . يزرع بشكل اساسي للاستهلاك كغذاء ولاغراض اخرى اذ يحتوي الفلفل على فيتامين C و بكميات كبيرة تفوق ما موجود في ثمار الحمضيات (Papathanasiou واخرون ، 2021) . كذلك يحتوي على العديد من العناصر الغذائية اهمها الكالسيوم و البوتاسيوم والفسفور والحديد والصوديوم والزنك والمنغنيز اذ ان حبة فلفل خضراء بوزن 148 غم فيها 30 سعرة حرارية وسبعة غم كربوهيدرات واثنان غم الياف غذائية واربعة غم سكر وواحد غم بروتين فضلا عن 18و2% من فيتامين A وFe على التوالي كذلك تحتوي ثمار الفلفل عل الفيتامينات B1 و B2 و B3 (Parisi وآخرون ،2020) . فضلا عن احتوائه على مستويات عالية من المواد المضادة للأكسدة كذلك هو غني بالمواد الفينولية وتستخرج من محصول الفلفل الحار مادة Capsain التي تستخدم لمعالجة الام العظام وتستخرج منه مادة الفلورين التي تحمي الاسنان من التلوث (Lu وCui ، 2019) .

يزرع الفلفل في العراق في الزراعة المحمية في بداية الخريف و الزراعة المكشوفة في بداية الربيع وبلغت المساحة المزروعة بالفلفل في عموم العراق لسنة 2020 حوالي 21189 دونم وقدر الانتاج الكلي ب 46498 طن (الجهاز المركزي للاحصاء , 2021) وهذا يوضح ان معدل الانتاجية في وحدة المساحة منخفضا مقارنة مع الانتاج العالمي وقد يعزى ذلك الى عدة اسباب منها اصابته بالعديد من المسببات المرضية وخاصة التي تصيب الجذور وقواعد السيقان وتعد الفطريات *Phytophthora* spp. و*Pythium* spp. و *Rhizoctonia* spp. و *Fusarium* spp. و*Macrophomina phaseolina* من اهمها (Hyder و آخرون ،2020 وجمعه ،2022 و العامل ، 2023).

يعد الفطر *Fusarium solani* من المسببات الرئيسة لتعفن جذور الفلفل ويؤدي الى خسائر اقتصادية كبيرة وخفض معنوي في كمية الانتاج في الزراعة المحمية والمكشوفة وهو من الفطريات المستوطنة في التربة Soil Inhabitants فضلا عن اصابتة لمدى عائلي واسع من النباتات (Nikitin

واخرون ، 2023). لذلك اتخذ المزارعون اسلوب المكافحة بأستخدام المبيدات الكيميائية لتجنب اصابة المحاصيل بأمراض النبات وعلى الرغم من كفاءة استخدام المبيدات في مكافحة المسببات المرضية للنبات ومنها المسببة لتعفنات الجذور لكن تعرضت هذه المسببات المرضية للضغط الانتخابي نتيجة تكرار استخدام المبيدات مما ادى الى ظهور صفة المقاومة فيها (Wangو Ji ، 2021) . فضلا عن تلويثها للماء والهواء والتربة والغذاء ويؤدي وجودها الى تغيير الصفات النوعية لاجزاء المحيط الحيوي وينتج عنه تأثيرات ضارة للانسان والحيوان والنبات (العادل، 2006) . ان هذا الامر شجع العاملين في مجال امراض النبات للتفكير في ايجاد وسائل اخرى للمكافحة ومنها استعمال عوامل المكافحة الاحيائية من خلال استعمال الاحياء المجهرية غير الممرضة للنبات التي لها تأثيرات تثبيطية للممرضات النباتية في التربة المزروعة من دون التأثير في بقية مجاميع الاحياء المجهرية ومن بين تلك الاحياء المجهرية المستعملة في المكافحة الاحيائية هي البكتريا المشجعة لنمو الجذور Plant Rhizobacteria Growth Promoting (PGPR) كالبكتريا *Azotobacter* spp. و *Azospirillum* spp. و *Bacillus* spp. وايضا بكتريا . *Pseudomonas* spp و.spp *Rhizobium* وكذلك بعض الفطريات الاحيائية مثل *Penicillium* spp. و *Aspergillus* spp. و الفطر.*Trichoderma* spp(Al-Daghariواخرون ، 2020) .

تعد انواع الفطر *Trichoderma* spp. والبكتريا *Bacillus* spp. (Sraa وآخرون ، 2021 و Al-Abedy وآخرون ، 2021) وهما اكثر عوامل المقاومة الاحيائية تطبيقا لسهولة عزلها من التربة واكثارها وسرعة نموها فضلا عن العلاقة التكافلية Symbiosis التي تكونها مع النباتات عن طريق استقرارها في جذورها وبالمقابل تعمل على التطفل والمنافسة وافراز بعض الانزيمات والمضادات الاحيائية تؤثر بشكل مباشر على الفطريات والنيماتودا والبكتريا الممرضة للنبات وتعمل على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات لذلك تستخدم في الوقت الحاضر على هيأة مبيدات احيائية ومنها المخصب الاحيائي Biohelth (Jiaqi وآخرون ، 2022) .

بالنظر لما تقدم ولغرض الوصول الى افضل الطرائق الآمنة لمكافحة امراض تعفنات الجذور فقد هدفت الدراسة الى مكافحة مرض تعفن الجذور وموت بادرات الفلفل (*Capsicum annum*) وإختبار إستجابة عدد من أصناف الفلفل ضد المسبب المرضي وإختبار كفاءة بعض العوامل الإحيائية والكيميائية في مكافحة المرض مختبريا وتحت ظروف البيت البلاستيكي . وتضمنت الدراسة المحاور الآتية :

1- عزل مسببات مرض تعفن الجذو وموت بادرات الفلفل في بعض مناطق محافظة كربلاء.

2- أختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة على بذور الفلفل على الوسط الزرعي (W.A) وفي الاصص البلاستيكية.

3-التشخيص المظهري للمسببات الممرضة المعزولة و التشخيص الجزيئي للمسببات الاكثر امراضية

4- اختبار إستجابة بعض اصناف الفلفل للاصابة بالمرض.

5- المكافحة المتكاملة للمسبب الاكثر امراضية بأستعمال بعض العوامل الاحيائية والمبيدات الكيميائية الأكثر فاعلية مختبرياً وتحت ظروف البيت البلاستيكي (وقياس نسبة وشدة الاصابة وبعض معايير النمو مثل حجم الجذروالوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري فضلا عن قياس فعالية انزيم البيروكسيديز و الفينولات الكلية .

2- مراجعة المصادر (Literature Review)

2- 1 امراض الجذور

تعد امراض الجذور واحدة من أهم مجاميع الأمراض النباتية التي تؤثر على العديد من العوائل النباتية في جميع أنحاء العالم (Vo وآخرون ،2022) وتمثل أعراض هذه الأمراض تهديدا كبيرا لأن الضرر يبدأ تحت الأرض اذ لا يمكن تمييز الأعراض وهي في مراحلها الأولى لذلك عندما تظهر على الجزء العلوي من النبات فإن النبات يكون قد وصل إلى مراحل متقدمة من الضرر التي قد لا يمكن السيطرة عليها في بعض الأحيان (Williamson-Benavides وDhingra،2021).

يتعرض نبات الفلفل للاصابة بالعديد من الامراض ومن اهمها الامراض التي تنقل عن طريق التربة وهي الاكثر اهمية ويتسبب عن العديد من الفطريات منها .*Fusarium* spp و *Verticillium* spp. و *Pythium* spp. و *Rhizoctonia solani* و *Sclerotinia* spp. و *Macrophomina phaseolina* والتي تؤثر سلبا على انتاج محصول الفلفل سواء في الزراعة المحمية او المكشوفة في اغلب مناطق زراعته في العالم وهذه الفطريات تسبب مجموعة كبيرة من الامراض وقد تكون اخطرها واكثرها انتشارا هو مرض تعفن الجذور وموت البادرات و الذبول (Abdulmoohsin واخرون ، 2019 وTariq وآخرون ، 2020) . تصيب مسببات مرض تعفن جذور الفلفل النباتات في جميع مراحل نموها في الزراعة المكشوفة او المحمية وكذلك يصيب المرض البادرات وهي لا تزال في المشتل فيسبب موتها مما يضطر المزارع لاعادة الزراعة او الترقيع وقد يصيب النباتات في الحقل وهي في طور الازهار وبعدعقد الثمار وان النباتات الفتية في مرحلة النمو الخضري تكون اكثر حساسية للاصابة بالمرض في الحقول مما يسبب خسائر اقتصادية كبيرة خاصة عند زراعة بذور هجن غالية التكاليف وان معظم اصناف الفلفل الشائع زراعتها غير مقاومة للمرض (Zhu واخرون ، 2021 و Gonzales-Escobede وآخرون ،2023) . اهم الأعراض المرضية المصاحبة لتعفنات الجذور بصورة عامة هي تحول لونها إلى البني مع تلين الأنسجة المصابة إذ تصبح طرية ومتحللة مع ظهور بقع مائية وتقرحات لونها بني مسود في مواضع خروج الجذور الثانوية وقد تمتد هذه التقرحات لتصيب قاعدة الساق ويلاحظ في حال اشتداد الاصابة اختفاء الجذور الشعرية وسهولة اقتلاع النباتات المصابة وعند توافر الرطوبة في التربة يتعفن الجذر كليا يرافقها تكون تسوسات او لطخات او تبقعات على الجذور تختلف في العدد والحجم واللون - من المحمر إلى البني والأسود مع تقصف الجذر يرافق ذلك اصفرار الأوراق وذبولها و توقف نمو النباتات وموتها قبل نضج الثمار واحيانا تصاب الثمار وتتعفن وتسقط على الارض (Lahlaliوآخرون ، 2022 وQiao وآخرون ،2023) . يعتمد تقدم الاصابة بمسببات أمراض الجذور ونجاحها على توفر شروط الهرم الوبائي الذي يشتمل على التفاعلات بين العائل والممرض والظروف

البيئية والزمن اذ تتأثر أمراض تعفنات الجذور بشدة بالبيئة ويفضل 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 (Ramalingam وآخرون ،2020).

تترافق الفطريات المسببة لأمراض الجذور مع المواد الميتة العضوية وتسبب ضررا للمحاصيل الزراعية وتؤدي الى خسائر كبيرة (Irulappan و Senthil-Kumar ، 2021) . تنتج أمراض تعفن الجذور عن العديد من مسببات الأمراض الكامنة في التربة التي يكون بعضها متخصصا على العائل والبعض الاخر ذو نطاق أوسع من العوائل النباتية وتعود مسببات تعفنات الجذور إلى مجاميع مختلفة من الكائنات الحية المجهرية مثل البكتريا Bacteria والفطريات Fungi وايضا للحشرات والديدان الثعبانية دور فعال في دخول الفطريات والبكتريا للجذور عن طريق احداث جروح وخدوش للنبات واحداث الاصابة فيها (Qiao وآخرون ، 2023).

تعد أمراض الجذور من أهم المشاكل التي تحدث للنبات في ظروف البيت البلاستيكي والمشاتل والحقول (Lozada وآخرون ، 2021) . ذكر العيساوي (2006) ان الفطرين *R. solani* و *Fusarium* spp. يعدان من المسببات الرئيسة لأمراض تعفن الجذور وموت البادرات للعديد من النباتات . أوضح Martin واخرون (2022) ان حوالي 90 % من المحاصيل تزرع عن طريق البذور وتشكل مصدرا مهما وفعالا لنشر المسببات المرضية ومنها مسببات تعفن الجذور. وجد شنور (2021) من خلال المسح الحقلي لعدد من مزارع الفلفل في 11 موقع في محافظة بابل (مويلحة والحصوة والوطفية والعزاوية والمحاويل والبدعة والجيلاوية وابو الجاسم والجفجافة وسرديب والطهمازية) الحصول على 11 عزلة من الفطر *F.solani* وست عزلات من الفطر *M.phaseolina* وتفوق الفطر *F.solani* في نسبة الظهور والتكرار واظهرت نتائج اختبار المقدرة الامراضية على انبات بذور الفلفل تفوق العزلة *Fs*7 للفطر *F.solani* والعزلة *Mp*5 للفطر *M.phaseolina* في خفض النسبة المئوية للانبات اذ بلغت 16.67% و25.00 % على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة السليمة والتي بلغت فيها 100% . تمكن الربيعي (2022) من عزل ثمانية اجناس فطرية مرافقة لجذور نباتات الفلفل المصابة بتعفن الجذور وموت البادرات من عدد من الحقول في ست محافظات وهذه الاجناس هي *Alternaria* sp. و*Aspergillus* sp. و*F.solani* و*M.phaseolina* و*Mucor* sp. و*Penicillium* sp. و*R.solani* و*Sclerotinia sclerotiorum* وكان الفطر *R.solani* الاكثر تكرارا وبلغت النسبة المئوية للاصابة به 96.67% .

عزل جمعة (2022) نفس الاجناس الفطرية التي عزلها الربيعي (2022) كانت مرافقة لتعفن جذور الفلفل من عينات جمعت من 14 موقعا في مناطق مختلفة من محافظة الانبار (بنان والخوضة وحمادي والمشتل وسويب والفرات والحسنية وناطل وعميرة والخالدية وخسرج ودليثة والصقلاوية والخالدية) وشمل جمع العينات من الزراعة المحمية والمكشوفة وتفوق الفطر *F.solani* في تكراره وبنسبة 50% تلاه الفطر *R.solani* بنسبة 11.30% واظهرت نتائج اختبار المقدرة الامراضية تفوق عزلات الفطر *F.solani* في تثبيط النسبة المئوية للانبات والتي بلغت في اعلاها 93.3% . وجد العامل(2023) مرافقة ست اجناس فطرية لجذور نباتات الفلفل المصابة بمرض الذبول وتعفن الجذور عزلت من عدد من حقول اليوسفية وابو غريب (محافظة بغداد) منها تسع عزلات تعود للفطر *F.solani* وثمان عزلات للفطر *F.oxysporum* وعزلة واحدة لكل من *R.solani* و *Pythium* sp. و *M. phaseolina* و *Aspergillus niger* و *Rhizopus* sp. واظهرت نتائج اختبار المقدرة الامراضية على انبات بذور الفلفل ان جميع العزلات احدثت خفضا معنويا في النسبة المئوية للانبات وتفوقت العزلة Fo6 للفطر *F.oxysporum* وبلغت النسبة المئوية للانبات فيها 0.93%.

2-2 الفطر *Fusarium* spp.

يعد الفطر *Fusarium* spp. من المسببات المرضية المستوطنة في التربة وله قدرة عالية على مقاومة الظروف البيئية غير الملائمة ويضم هذا الجنس انواع تصيب النبات في مراحل نموه المختلفة (Joshi،2018) ان العديد من انواع الفطر*Fusarium* spp. تبقى في التربة على هيئة Chlamydospores او غزل فطري على مخلفات النبات والمواد العضوية (Anyanga وآخرون، 2016)ولبعض الانواع التابعة لهذا الجنس توزيع جغرافي واسع اذ ينتشر في جميع مناطق العالم وبعضها الاخر يتحدد بالمناطق الاستوائية وشبه الاستوائية او المناطق الباردة او المناطق الدافئة والمعتدلة (Niktin وآخرون ، 2023) .

يضم جنس *Fusarium* أكثر من 1000 نوع إذ تم وصف 23 نوعا في السنوات الاخيرة اذ توضع افراده في قطاعات (Sections) اعتماداً على شكل الكونيديا الكبيرة Macroconidia وشكل الخلية القاعدية basal cell ووجود وعدم وجود الكونيديا الصغيرة Microconidia او وجود او عدم وجود الابواغ الكلاميدية Chlamydospore وموقعها في الغزل الفطري طرفي او بيني ويعد من انواع متشابه الثالوس Homothalic (Ponukumati وآخرون ، 2019 وHoh وآخرون ، 2022).

يعد الباحث Fires اول من سجل الجنس *Fusarium* في عام 1812(Booth ، 1971) وهو من الفطريات الناقصة Deuteromycotinaويتبع صف Hyphomycetes ورتبة Moniliales وعائلة

Renteria-Martinez)Tuberculariaceae واخرون ، 2018) . ان تشخيص انواع الجنس *Fusarium* spp. يرافقها كثير من الصعوبات ولتجنبها يتم الاعتماد على بعض القواعد التي منها وصف المستعمرة الناتجة بعد العزل مباشرة وان تكون المستعمرة ناشئة من بوغ منفرد Single spore فضلا عن استعمال اوساط زراعية قياسية وظروف حضن خاصة (Booth ، 1971 وStepien ، 2023) . تسبب انواع الفطر *Fusarium* spp. خسائر اقتصادية كبيرة وانخفاضا في الانتاج العالمي يصل الى حوالي 30-40% وفي الظروف الملائمة قد يصل الى 80% (Nirmaladevi وآخرون ، 2016 وStepien ، 2023 وNikitin وآخرون ، 2023) ولها القدرة على اصابة الاجزاء النباتية المختلفة مثل الجذور والسيقان والاوراق والثمار والبذور مما يؤدي الى انخفاض في كمية ونوعية الحاصل (Irulappan و Senthil-Kumar ، 2021) .

يعد الفطر *F. solani* من اكثر المسببات المرضية التابعة لجنس *Fusarium* ضررا ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة للمحاصيل طورة الجنسي الفطر *Nectria haematococca* الذي يعود الى شعبة الفطريات الكيسية Ascomycota (Hoh وآخرون ، 2022 و Li وآخرون ، 2023). يكون الفطر ثلاثة انواع من الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia وهي اهليجية الى بيضوية الشكل ذات خلية واحدة او خليتين تنشأ على حوامل Phialides بسيطة غير متفرعة وقصيرة اما الابواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia فهي مقسمة (3-5) حواجز منجلية الشكل وغالبا ماتمتلك خلية قاعدية قدمية Feet cell وخلية قمية Apicall cell وتتكون هذه الابواغ على مجموعة حوامل مجتمعة قصيرة بثرية الشكل Sporodochium اما الابواغ الكلاميدية Chlamydospores فتنشأ على الغزل الفطري وتظهر اما منفردة الخلايا او في سلاسل قصيرة طرفية او بينية ينتج الفطر مستعمرات بلون ابيض الى كريمي ذات غزل فطري ومعظم عزلات الفطر لا تنتج صبغات في الاكار لكن بعضها تنتج صبغات بنية او بنفسجية (Abdel-Monaim وIsmail ، 2010) . يصيب الفطر *F.solani* الجذور ويسبب تعفنها خصوصا في المراحل الوسطى والمتاخره من نمو النبات (Li وLi ، 2022) . ان الفطر *F. solani* من اكثر الفطريات وجوداً عند عزله من التربة والجذوراذ يعيش الفطر بصورة مترممة او اختيارية التطفل على النباتات وكذلك يميل الى التطفل على النسيج الحي اكثر من ميله الى المعيشة الرمية مسبباً مجموعة من الحالات المرضية ويصيب جذور النباتات البالغة ويسبب تعفنها وموت البادرات (Hemalatha وآخرون ،2018).

و من اهم الاعراض التي يسببها الفطر عند اصابة النبات تظهر على شكل تخطط ضيق طويل احمر بني على الفلق ويتحول الجذر الرئيس (الوتدي) الى اللون البني الداكن وعادة يتشقق طوليا مع تلون أحمر

في الجهاز الوعائي للجذرتتقدم بعدها الاصابة الى قاعدة الساق وتصبح الانسجة المصابة ذات لون بني يتخلله مناطق حمراء تذبل النباتات بعدها وقد تموت مع احتمال ظهور مجاميع من الجذور الليفية فوق الجذر الرئيس الذابل وتحافظ هذه الجذور الليفية على النبات حيا لفترة تحت الظروف المثالية وقد يلاحظ القليل من الاعراض التي تظهر على النبات فوق سطح التربة ومن هذه الاعراض تقزم النبات وذات لون شاحب اذ تظهر اعراض الاصفرار والجفاف على الاوراق اوعلى المجموع الخضري ولكن من دون تلون لاوعية الخشب (Li وLi ، 2022 وSaengchan وآخرون ، 2022) . يعد الفطر *F. solani* من الفطريات الانتهازية اذ تزداد الاصابة عند تعرض النبات الى حالة اجهاد مثل الظروف البيئية غير الملائمة لنمو النبات كأرتفاع درجات الحرارة و الجفاف او الرطوبة العالية وصلابة التربة او الاصابة بكائنات حية اخرى (Velasquez واخرون ، 2018) . كذلك ارتفاع وانخفاض درجة الأس الهيدروجيني (PH) التربة وقلة التسميد وضرر المبيدات له تأثير كبير لاصابة النبات بالفطر *F.solani* ويصيب النباتات احيانا من خلال الجروح او الاصابات السابقة بمسببات تعفنات الجذور الاخرى ويحدث تعفن للبذور وموت للبادرات وتقرح الساق وذبول للنبات وتعفنات مخزنية للعديد من النباتات (Safarieskandari واخرون، 2021) . يظهر المرض بدرجة حرارة 14-24 مº وان الدرجة المثلى له هي 21 مº (Burke واخرون ، 1980) وهواحد العوامل المحددة لزراعة وانتاج عدد من المحاصيل لمهاجمته للنبات بشدة خلال مراحل نموه المختلفة (Luo وآخرون ، 2000 و Ponukumati وآخرون ، 2019) . يسبب فقد كميات كبيرة من الحاصل تتراوح بين 50-85% (Singh وKumar ، 2015 و Jiaqi وآخرون ، 2022) ويبقى الفطر من موسم إلى اخر بشكل ابواغ كلاميدية (Chlamydospore) سميكة الجدران التي تعد مصدر الاصابة الاولية في الموسم اللاحق والتي بواسطتها يستطيع الفطر ان يجتاز الظروف غير الملائمة التي يمر بها (Gujar وTalwankar، 2015) . ينتج الفطر *F.solani* عددا من الانزيمات المحللة لجدران خلايا العائل التي لها دوركبير في عملية اختراق العائل النباتي ومنها Chitinase و Cellulase و Protinase المحللة للصفيحة الوسطى للجدار الخلوي , ولهذه الانزيمات دورا رئيسا في تطفل الفطر على الخلايا الحية (Mezzomo وآخرون ، 2019) . كذلك ينتج الفطر *F.solani* بعض السموم منها Fusaric acid و Javanicin و Polypeptide toxin و Zearalenone و Nivalenol وDeoxynivalenol التي لها دورفي احداث المرض إذ تؤثر هذه السموم في نفاذية أغشية الخلايا أو تثبط عمل الانزيمات وإعاقة التفاعلات الانزيمية في عملية الفسفرة التأكسدية للنبات أوتعمل كمضاد ايضي تؤدي الى نقص أحد العوامل الضرورية لنمو النبات(Azliza وآخرون ، 2014 وPodgorska-Kryszezuk وآخرون ،2022).

يخترق الفطر *F.solani* عوائله النباتية عن طريق القمم النامية او أماكن تكشف الجذور الثانوية أختراقا مباشرا أو عن طريق الجروح وينتشر بين خلايا قشرة الجذور ومن ثم يبدأ بإفراز انزيمات محللة للبكتين كأنزيم Pectin methyl esterase وPolychalactouronase التي تعمل على تحليل مركبات البكتين غير الذائبة والفينولات (Akrami، 2015) .

2-3 مكافحة الفطريات المسببة لامراض الجذور

2-3-1 المكافحة الاحيائية

المكافحة الاحيائية هي احد الاجراءات الوقائية لاختزال شدة المرض باليات مختلفة من خلال خفض كثافة لقاح المسبب المرضي عن طريق إدخال الكائنات الحية الدقيقة المضادة وتنشيطها في البيئة لمكافحة المسبب المرضي (ابوعرقوب ، 2000 و Abdel-Kader واخرون ، 2021). تعد الكائنات الدقيقة الموجودة في منطقة الجذور من الوسائل الاحيائية التي استعملت لمكافحة الممرضات النباتية من خلال استغلال نشاطاتها ضد مسببات الامراض المختلفة اذ تعد منطقة الرايزوسفير المنطقة الاكثر فعالية في تحديد الاحتياجات الغذائية بسبب النشاط العالي لاحياء 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 واخرون ، 2020) . تعد المكافحة الاحيائية من اقدم الطرائق المستعملة في مكافحة الافات ونالت حيزا كبيرا من اهتمام الباحثين وفقا للجوانب الايجابية لها في البيئة مقارنة مع المبيدات الكيميائية المستعملة للغرض نفسه (Lahlali وآخرون ، 2022) . أزداد الأهتمام بمكافحة الأمراض النباتية عن طريق الأحياء المجهرية الدقيقة والمفيدة بسبب الحاجة العالمية لبدائل صديقة للبيئة كمبيدات الآفات الكيمياوية والأسمدة اذ استخدم عددا كبيرا من السلالات البكتيرية والفطرية والفايروسات والديدان الخيطية والحشرات كعوامل للمكافحة البيولوجية واشاروا الى وجود كثير من التطبيقات للمكافحة الاحيائية للعديد من المسببات المرضية الكامنة في التربة ومنها مسببات تعفنات البذور والجذور وموت البادرات وقواعد السيقان(Ptaszek وآخرون ، 2023) . ان اعدادا كثيرة من الاحياء المجهرية تعيش في التربة ومنها اجناس فطرية مثل الجنس *Trichoderma* spp. لها قدرة تضادية ضد الفطريات الممرضة للنبات كما تعد البكتريا المشجعة لنمو النبات من العوامل الاكثر نجاحا في برامج المقاومة الاحيائية واحيانا تعد طريقة بديلة عن استعمال المبيدات الكيميائية (Tyskiewiczوآخرون ،2022) . أختبرAbdelrhim وآخرون (2023) مجموعة من العوامل الاحيائية ضد الفطر *R.solani* احد مسببات تعفن جذور الفلفل وأظهرت التجارب أن *T.harzianum* و*T.viride* و *Glicladium virens* نمت وتكاثرت بغزارة فوق مستعمرات الفطر الممرض اما

البكتريا *Pseudomonas huttiensis* و*P.aureofaciens* و *Burkholderia glathei* فقد قللت من نمو المسبب المرضي بنسبة تراوحت بين 9.71 - 12.87% وادت الى زيادة في النمو (والارتفاع والوزن الطري) للنباتات المعاملة . تم تحديد سلالتين من الفطر *T.asperellum* ضد الفطر *F.oxysporum* f.sp.*radicis-cucumerinum* المسبب لتعفن الجذر والساق في الخيار ووجد ان المعاملة بهذه السلالات بشكل منفصل كانت مجدية في تقليل حدوث المرض في تجارب البيت البلاستيكي وان المعاملة بمزيج من السلالتين كان له تأثير كبير في خفض نسبة وشدة المرض بنسبة 51% و 59.6% على التوالي عن طريق زيادة انشطة الانزيمات المضادة للاكسدة في جذور الخيار (El-Komy وآخرون ،2022) . تعد بكتريا Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) وتعرف ببكتريا الجذور المشجعة لنمو النبات والتي تشمل انواعا منها جنس *Bacillus* spp. و *Pseudomonas* spp. و*Azospirillum* spp. و *Azotobacter* spp. وغيرها القاطنة في التربة وتعمل هذه البكتريا على استعمار جذور النباتات ومنطقة الجذور وكذلك اعداد قليلة منها لها القدرة على اختراق انسجة الجذور وبذلك تكون اكثر تخصصا فهي تعزز نمو النبات وتحميه من الامراض من خلال آليات مختلفة مثل قدرة هذه الانواع من البكتريا على التنافس على الاوساط الغنية بالمواد الاولية وتحفيز المقاومة الجهازية في النبات ضد العديد من المسببات المرضية وانتاج المضادات الحيوية . وتخليق الهرمونات النباتية والنتروجين وكذلك تعمل على اذابة الفوسفات غير القابلة للذوبان ولها القدرة على منع الاثار الضارة للاجهاد من العوامل البيئية (Jamil وآخرون ، 2023 و Silva Dias واخرون ، 2021 وAbdelmoteleb وآخرون ، 2023) . كما وجد ان لبعض الاحياء المجهرية المنظمة و المحفزة لنمو النبات PGPR مثل *Bacillus* spp. و*Pseudomonas* spp. و*Azotobacter* spp. القدرة على زيادة جاهزية العناصر الغذائية المهمة للنبات مثل الفسفور(P) و النتروجين(N) والنحاس(Cu) والمغنيسيوم (Mg) والحديد Fe) والبوتاسيوم (K) والمنغنيز(Mn) وكذلك لها القدرة على انتاج منظمات نمو النبات Indole acetic acid (IAA) ولها القابلية على تثبيت النتروجين في التربة وتعمل على زيادة المساحة السطحية للجذر من خلال 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 يعمل على تحفيز المقاومة الجهازية ضد الكثير من المسببات المرضية (Lobo وآخرون ، 2022 وSarmiento-Lopez وآخرون ، 2022) . اجرى Bhusal و Mmbaga (2020) تقيما لثلاث عزلات من البكتريا .*Bacillus* spp كعناصر مقاومة أحيائية لمكافحة مرض ذبول الفلفل المتسبب عن الفطر *Phytophthora capsici* وأدت هذه العزلات الى تثبيط نموالفطر الممرض وتقليل شدة المرض وعززت نمو النبات عن طريق زيادة طول

النبات ووزن الساق وطول ووزن الجذر ومحتوى الكلوروفيل . توصل شنور(2021) إن للبكتريا *Azotobacter chroococcum* و*Penicillium cyclopium* مقدرة تضادية عالية ضد الفطرين *F.solani* و *M.phaseolina* المسببين لتعفن جذور الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A) اذ بلغت نسبة تثبيط البكتريا للفطرين الممرضين 87.04 % في حين تسبب الفطر الاحيائي بتثبيطهما بنسبة 86.66 و 74.44% على التوالي . اظهرت النتائج التي توصل اليها العامل (2023) ان للمقاومين الاحيائيين *T.harzianum* و *P.fluorescens* مقدرة تضادية عالية ضد العزلة Fo6 للفطر *F.oxysporum* بلغت 1 بمقياس Bell وآخرون (1982) المكون من 5 درجات بالنسبة لفطر المقاومة في حين ادت بكتريا المقاومة الاحيائية تثبيط الفطر الممرض وبنسبة بلغت 83.33% وبفارق معنوي عن معاملة الفطرالممرض بمفرده والتي بلغ قطر مستعمرة الفطر الممرض فيها 9.0سم في حين وجد الربيعي (2022) ان Glutathione و *Azospirillum brasilense* كفاءة في تثبيط النمو القطري للفطرالممرض *R.solani* والمسبب لتعفن جذور الفلفل وبنسب تثبيط بلغت 100 و78.63% وادى فطر المقاومة *T.viride* الى تثبيط الفطر الممرض وبالدرجة 1 وفق مقياس Bell .

1-1-3-2 العامل الأحيائي الفطري .*Trichoderma* spp

يعود تاريخ اول اكتشاف ووصف لجنس الفطر *Trichoderma* الى 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 معروفة في ذلك الوقت وقد واجه علماء تصنيف الفطريات صعوبات متعددة في تحديد الانواع المختلفة التي تعود الي الجنس *Trichoderm* بالاعتماد فقط علي الصفات المظهريه اذ وصف نوعا واحدا فقط هو *T. viride* واستمر هذا الحال الى العام 1969اذ حدث تطوركبير في مفاهيم تصنيف الفطريات وايضا اكتشف العديد من الانواع الجديدة التابعة الى جنس .*Trichoderma* spp والتي تستعمل حالياً بشكل واسع في المقاومة الأحيائية للعديد من الفطريات الممرضة للنبات (Kumar وKhurana ، 2021) . ينتمي هذا الفطر إلى تحت قسم الفطريات الناقصة Deuteromycotina في صف Hyphomycetes و ورتبة Moniliales و عائلة Moniliaceae ولكن اكتشف طوره الجنسي لاحقاًوصنف تحت قسم الفطريات الكيسية Ascomycotina رتبة Hypocreales جنس .*Hypocrea* spp (Alexopoulos ، 1996) . ينتشر الفطر .*Trichoderma* spp في جميع انواع الترب الحامضية والقاعدية والطينية الثقيلة والرملية وعلى جذور النباتات (Delta واخرون ، 2020) . يمتاز بسرعة نموه على الأوساط الغذائية الصناعية منتجا أعدادا هائلة من الجراثيم الكونيدية ذات الأحجام الصغيرة وبأشكال والوان مختلفة حسب نوع الفطر و

الوسط الغذائي ففي الوسط (P.D.A) يكون بهياة حلقات من 1-2 حلقة باللون الأبيض في البداية تتحول الى اللون الأخضر نتيجة تكون الكونيدات الخضراء اللون أما في الوسط Czapeks dox agar (C.Z.D.A) يكون ذات لون أخضر بشكل حلقات مفرده مع تجمع كونيدات صفراء أما في الوسط Cornmeal Dextrose agar (C.M.D) تكون حلقتين أو حلقة واحدة مع وجود كونيدات بيضاء اللون تتحول الى الأصفر او الأخضر في ظروف بيئية واسعة ويمكن عزله وأكثاره بسهولة (ابو عرقوب ، 2000) . تستخدم الأنواع التابعة للفطر *Trichoderma* spp. كعوامل مقاومة احيائية بسبب امتلاكها العديد من الآليات التضادية ضد عدد واسع من المسببات المرضية مما أدى الى نجاح أستخدامها في هذا المجال ، فضلا عن ذلك تمتاز بقابليتها على التكاثر والأنتشار في مختلف البيئات اذ ينمو في مختلف الترب وعلى النباتات المتحللة (Sood واخرون ، 2020 Kumar و Khurana ، 2021 و Metzو Hausladen ،2022) . يعد الفطر من مكونات التربة المحيطة بالمجموع الجذري وتوفر الحماية للنبات من الكائنات الممرضة (Das واخرون ، 2019) . وجدت دخيل (2021) ان للفطر الأحيائي *T.koningiopsis* فاعلية كبيرة في تثبيط نمو مسببات تعفن جذور عدد من نباتات الزينة على الوسط الزرعي (P.D.A) اذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات *Curvularia lunata* و *F. oxysporum* و *T richocladium griseum* والمسببة لتعفن جذور نبات أصابع العروس 80.39 % و 100 % و100 % على التوالي في حين بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات *F. oxysporum* و *Fusarium equiseti* والمسببة لتعفن جذور نبات تراجي العروس 74.5 % و 100 % على التوالي و بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطريات *F. oxysporum* و *Trichocladium griseum* و *Marcelleina persoonai* والمسببة لتعفن جذور نبات الكزانيا 100 % لجميع الفطريات والنسبة المئوية لتثبيط الفطريات *F. oxysporum* و *Lasiodiplodia theobromae* والمسببة لتعفن جذور نبات دم العاشق 84.31 % لكلا الفطرين . وجد الاسدي (2020) ان استخدام عدة أنواع من الفطر *Trichoderma* spp. ادت الى تثبيط عزلات الفطر الممرض *F. brachygibbosum* بنسبة 83.3 % قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت النسبة المئوية للتثبيط فيها 0 % . ومن خلال دراسة اجرتها الغزالي (2022) اظهرت نتائج اختبار المقدرة التضادية للعامل الاحيائي *T. koningiopsis* على الوسط الزرعي (P.D.A) تحقيقه نسبة تثبيط بلغت 100% و88.63% على التوالي للفطرين *F. oxysporum* (FB11) و *R. solani* (RK22) المسببان لمرض تعفن جذور نبات عين البزون . وجدت المشهداني (2022) تحقيق الفطر *T. koningiopsis* نسبة تثبيط بلغت 100و88.88 و94.40% للفطريات *R.solani* (R16) و*F.solani* (F3) و*Ectophoma multirostrata* (E2) على التوالي والمسببة لمرض تعفن جذور عرف الديك في بعض مشاتل محافظتي كربلاء وبابل .

تعد الانواع *Trichoderm atroviride* و *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma asperellum* و*Trichoderma longibrachiatum* و *Trichoderm avirens* و*Trichoderma viride* من اكثر الانواع التابعة للجنس *Trichoderma* والمستخدمة في الوقاية من مسببات الامراض النباتية كبدائل للمبيدات والاسمدة الكيميائية (Guzman-Guzmanوآخرون ، 2023).

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

A –الخصائص والأليات المباشرة

1-انتاج الانزيمات

تنتج انواع الفطر *Trichoderma* spp. طيفا واسعا من الانزيمات المحللة مثل Chitinases و β-glucanases وCellulases وGlucanase التي تحلل جدران خلايا المسببات المرضية كونها تحتوي على المواد Cellulose و Chitine وGlucane و Protein مما يسمح باختراقها والبدء بفعالية الاستعمار والتطفل عليها (Hermosa واخرون ، 2012 و Tyskiewiczوآخرون ، 2022) . كما ينتج انزيمات Proteases وSrineprotase 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 (AbdEl-Khair واخرون ، 2019 و Hassan وآخرون ، 2021 وكسوب ، 2022).

2-انتاج المضادات الحيوية

للفطر *Trichoderma* spp. القابلية على انتاج بعض المضادات الحيوية 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 Trichorzianines و Alamethicineو Trichodermin و Suzukacillin التي تعمل على منع تنشيط نمو الخيط الفطري للمسبب المرضي المنافس و تثبيط أنتاجه للابواغ وان انتاج مثل هذه المركبات يعتمد بشكل اساسي على وفرة العناصر الغذائية مثل افرازات الجذور و وجود العناصر المعدنية في التربة و كذلك الظروف البيئية الملائمة (Xie وآخرون ، 2021).

3- التنافس

تمتاز بعض انواع الفطر *Trichoderma* 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 من خلال اقامة علاقة تكافلية معها وبالتالي توفير الحماية لها من إلاصابة بمسببات امراض النبات الكامنة في التربة وهذا بدورة سوف ينعكس إيجاباً على حيوية النباتات (Benitez واخرون ،2004 و المشهداني ، 2022).

4-التطفل

تتطفل بعض انواع الفطر *Trichoderma* spp. على العديد من الفطريات الممرضة بسبب صغر اقطار خيوطه الفطرية (1.5- 3 مايكرون) مقارنة باقطار خيوط الفطريات الممرضة (5- 7 مايكرون) مما يجعله اكثر قابلية على التطفل (Benítez واخرون ، 2004 و Vinale واخرون ، 2008 و Lahlaliوآخرون ، 2022) . ان اليات التطفل لانواع الفطر *Trichoderma* spp. يمكن تلخيصها بعدة مراحل ابتداءا **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 مكّونة نهايات تعرف بأعضاء الالتصاق و التي تخترق جدار خلية العائل بمساعدة بعض الإنزيمات المحللة مثل إنزيمات Cellulase و Chutinase و Pectinase وGlucanase و β-(1,6)- glucanases و Proteases فضلا عن بعض المضادات الحيوية مثل Gliotassine الذي يشترك في الية التطفل الفطري (Harman، 2000 وSantos وآخرون ، 2019 وHidayah وآخرون ، 2022) . أن التفاف خيوط الفطر *Trichoderma* spp. حول خيوط العائل يتطلب التعرف المسبق على D-glucose وD-manose التي هي عبارة عن سكريات تتواجد في الجدار الخلوي للفطر*Trichoderma* spp. (Lahlali وآخرون ، 2022 و Mukherjee وآخرون ، 2022 و Pandeyوآخرون ، 2022).

B -الخصائص والاليات غير المباشر:

1- تعزيز نمو النبات

وجد ان انواع من الفطر *Trichoderma* spp. تنتج مركبات مختلفة مثل الببتيدات غير الرايبوسومية (Non-ribosomal peptides) و التربينات (Terpenoids) و البيورينات (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 و استطالتها (Lahlaliوآخرون ، 2022) . كما تبين ايضا إن وجود الفطر *Trichoderma* spp. على جذور النبات يشجع على زيادة امتصاص الماء و بعض العناصر الغذائية مثل المنغنيزوالفسفوروالمغنسيوم والكالسيوم والفسفوروالنيتروجين والصوديوم والنحاس 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 (Kumar وKhurana ، 202) . كما أن بعض عزلات الفطر *T. harzianum* تعمل على تعزيز نمو النبات عن طريق افرازها لمنظمات نمو نباتية مثل هرمون الاثلين الذي يسرع انبات البذور ويعزز نمو بادراتها (حميد ، 2002).

2- استحثاث المقاومة الجهازية

ينتج الفطر *Trichoderma* spp. بعض الببتيدات و البروتينات و الانزيمات كانزيم Peroxidase و كذلك بعض المركبات الواطئة الوزن الجزيئي التي تساهم في تحفيز الآليات الدفاعية في النباتات مما ينتج عنها زيادة في انتاج بعض المركبات الفينولية و الكحولية ذات التاثير التثبيطي للمسببات المرضية (Reino و اخرون ، 2007 و Bisen و اخرون ، 2016 والعامري ,2021). فضلا عن زيادة انتاج المواد Lignin و Suberin على جدران الخلايا والتي بدورها تعزز من درجة مقاومة النبات للمسببات المرضية (Benitez واخرون ، 2004 و Lahlaliوآخرون ، 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 بتحسن في صحة النباتات ومقاومتها الطبيعية للمُمرضات النباتية (Akrami و Zohreh ، 2015 و Lahlaliوآخرون ، 2022).

2-1-3-2 البكتريا *Bacillus velezensis*

تتميز البكتريا *Bacillus velezensis* بأنها عصوية هوائية او هوائية اختيارية موجبة لصبغة كرام ومكونة للابواغ وحرة المعيشة في التربة وتعزز نمو النبات ولها سلالات عديدة قادرة على منع نمو العديد من مسببات الامراض النباتية بما في ذلك البكتريا والفطريات والديدان الخيطية,وقد أظهر التحليل الجينومي ان البكتريا *B. velezensis* تمتلك مجموعات جينية خاصة بالسلالة مرتبطة بالتخليق الحيوي للمستقلبات الثانوية مثل البكتريوسينات والمركبات العضوية المتطايرة التي تلعب دورا مهما في تثبيط نمو العوامل الممرضة وتعزيز نمو النبات(Rabbee وآخرون ، 2019) . تمتلك هذه البكتريا قدرة وراثية عالية على تصنيع الببتيدات الدهنية الحلقية مثل Surfactin وBacillomycin-D و Fengycinو Bacillibactin وPolyketides (ومنها Macrolactin وBacillaene وDifficidin) ويمكن ان تعمل المستقلبات التي تنتجها البكتريا *B. velezensis* على استحثاث المقاومة الجهازية في النبات وبالتالي تحفيزه على الدفاع عن نفسه ضد الهجمات المتكررة من قبل الكائنات الممرضة الدقيقة (Sawantوآخرون ، 2022) . استخدم Zhou وآخرون (2022) البكتريا *B. velezensis* في مقاومة عدد من المسببات المرضية للرز منها pv. *oryzicola* و *Xanthomonas oryzae* و *Fusarium fujikuroi* و *Xanthomonas oryzae* وpv.oryzae و *Ustilaginoidea virens*و *Magnaporthe oryzae* واثبت ان لهذه البكتريا القدرة على افراز عدد كبير من الانزيمات والمواد والمركبات منها Protease وCellulase وβ -1,3-Glucanase وChitinase و Indoleacetic acidSiderophore و 1-aminocyclopropane -1-carboxylate deaminase(ACC) فضلا عن انتاجها لعدد من المضادات الحيوية مثل Surfactin وIturin و Fengycin وبالتالي يمكن استخدام هذه البكتريا كعامل مكافحة احيائية وبكفاءة عالية . ووجد Feng وآخرون (2022) ان للبكتريا *B. velezensis* السلالة JRX-YG39 مقدرة تضادية عالية في السيطرة على الفطر *Botrytis cinerea* المسبب لمرض التعفن الرمادي على العنب في الوسط الزرعي واثناء خزن الحاصل . وفي دراسة اجراها Gradyوآخرون(2019) وجدوا ان للسلالة 9D-6 من البكتريا *B. velezensis* فعالية عالية في مقاومة العديد من الممرضات النباتية منها *Clavibacter michiganensis* و *Pantoea agglomerans* و *Ralstonia solanacearum* و *campest Xanthomona* و *X.euvesicatoria* و *Alternaria solani* و *Cochliobolus carbonum* و *F.oxysporum* و *F.solani* و *Gibberella pulicarisz* و *G.zeae* و *Monilinia fructicola* و *Pyrenochaeta terrestis* و *Rhizoctonia solani* وتم تشخيص عدد من المركبات المضادة للممرضات ومنها Surfactins B و Surfactins C فضلا عن ذلك منعت هذه البكتريا عند اضافتها

الى التربة من استعمار الجذورمن قبل البكتريا الممرضة للنبات *Pseudomonas syringae* . وذكر Gradyوآخرون (2019) ان للبكتريا *B. velezensis* وهي من المجاميع المحفزة لنمو النبات (PGPR) حظوظ واعدة وكبيرة في مجال المكافحة الاحيائية لممرضات النبات. وجد Khalid وآخرون (2021) و Bampidis وآخرون (2023) ان البكتريا *B. velezensis* فضلا عن تثبيطها للممرضات النباتية فهي معزز حيوي (Probiotic) تضاف الى اعلاف الحيوانات . بين Wang وآخرون (2019) ان للسلالة DY-6 من هذه البكتريا القدرة على زيادة وزن الجسم وانشطة الانزيمات المناعية غير النوعية وتم الحصول على اعلى معدل نمو عند استخدام التركيز 10^3x1 من البكتريا . كما تمكن Hempal وآخرون (2020) من تحديد الجينوم الكامل للسلالة S4 من البكتريا *B. velezensis* المعزولة من التربة الزراعية المعدلة بالفحم الحيوي . اظهرت السلالة JS39D للبكتريا *B. velezensis* فاعلية في تثبيط الفطر *F. solani* المسبب لتعفن جذور الفاصوليا في بوجوريا وذكر ان افضل نمو لهذه البكتريا كان في درجة حموضة 7.0-8.5ودرجة الحرارة المثلى 30-35 مْ وملوحة 0-5.0 ملغم كلوريد الصوديوم فضلا عن ذلك فقد كان لهذه البكتريا القدرة على انتاج مستقلبات ثانوية ومنها Indole-3- acetic acid(IAA) وPhosphate وPectinase و Chitinase و Protease و Hydrogen cyanide(HCD) (Wekesa وآخرون 2022) . وجد Han وآخرون (2022)) فاعلية السلالتين JCK-1696 و JCK1618 من البكتريا *B. velezensis* في مكافحة الممرضات *Bukholderia contaminans* و *Epicoccum tobaicum* المسببان لمرض تثقب اوراق الكرز مختبريا وفي ظروف الحقل وقد عزى سبب هذه الفعالية الى انتاج هذه البكتريا لعدد من المضادات الحيوية مثل Iturin Aو Fengycin Aو Surfactin و Polyketide و Oxydifficidin فضلا عن انتاجها سلسلة من الانزيمات وIndol -3-acetic acid، Siderophore. ووجد Diabankanaوآخرون (2022) ان لهذه البكتريا القدرة على تثبيط نمو المسببات المرضية *F.oxysporum* و *F.graminearum* و*Alternaria alternate* و*Pseudomonas syringae* مختبريا وحقليا. في حين استنتج Kim وآخرون (2021) ان لهذه البكتريا القابلية على التقليل من نسبة وشدة الاصابة بالفطر *Colletotrichum gloeosporioides* المسبب لمرض تعفن الثمار المر او الانثراكنوزعلى التفاح واوضحوا ان السلالة Ak-0 من هذه البكتريا ممكن تسويقها كعامل مكافحة احيائية فعال ضد عدد كبير من المسببات المرضية للنبات. وذكرBaptista وآخرون (2022) ان للبكتريا *B.velezensis* القابلية مقاومة الظروف البيئية القاسية ومنها ارتفاع درجات الحرارة بسبب تكوينه للابواغ الداخلية ولها القدرة على النمو والنشاط في هذه الظروف واثبتوا فاعلية السلالة CMRP4489 في تثبيط نمو الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* المسبب لمرض العفن الابيض على عدد من العوائل النباتية فضلا عن فاعليتها ضد الفطرين

Botrytis cinerea و *M. phaseolina* وبنسبة تثبيط تجاوزت 60% . ويمكن استعمال السلالة SDTB038 لهذه البكتريا وبالتركيز 10^8 في مكافحة مرض تعفن التاج الفيوزارمي على الطماطة اذ ادت هذه البكتريا الى تعزيز نمو النبات مع تقليل تراكم لانواع الاوكسجين التفاعلية وانتاج Indol acetic acid وادت الى النمو السريع للنباتات في درجات الحرارة المنخفضة نسبيا (Chen وآخرون ، 2022) . وجد Sawant وآخرون (2022) انه يمكن استعمال هذه البكتريا كعامل مكافحة احيائية ضد الفطر *Rosellinia necatrix* المسبب لمرض تعفن الجذر الابيض في الكمثرى وعزوا ذلك الى انتاجها لعدد من المركبات المتطايرة والتي تثبط نمو مسببات الامراض النباتية فضلا عن تعزيزها لنمو النبات من خلال اذابة الفوسفات وتحويله الى حالة جاهزة للامتصاص من قبل النبات وانتاجها مركبات Siderophore الخالبة للحديد وبينت النتائج التي توصل اليها Lee وآخرون (2022) الكفاءة العالية للسلالة GH1-13 من هذه البكتريا في مكافحة الفطر *Rh.solani* المسبب لمرض عفن الجذور البني اذ ادت الى تثبيط نمو الغزل الفطري له . ذكر Eirini و Sotiris (2023) قابلية هذه البكتريا على تحفيز المقاومة الجهازية(ISR) من خلال انتاجها لعدد من المركبات العضوية المتطايرة وتعزيز نمو النبات فضلا عن قابليتها على مقاومة الظروف القاسية بسبب تكوينها للابواغ وبالتالي يمكن استخدامها كعوامل مكافحة واعدة ضد مسببات امراض النبات . ووجد Wang وآخرون (2023) ان السلالة Yb-1 من هذه البكتريا ثبطت نمو الفطر *Colletotrichum capsici* المسبب لتعفن ثمار الفلفل الحار والفطر *Botrytis cinerea* وبنسبة 93.49 و 74.03% على التوالي وان افضل تركيز من البكتريا حفز على انبات البذور ونمو البادرات هو 10^4 و 10^5 وحدة تكوين مستعمرة/ مل . واستخدم Vu وآخرون (2023) هذه البكتريا في مكافحة الفطرين *C.gloeosprioides* المسبب لمرض انثراكنوز الحمضيات و *Penicillum digitatum* المسبب لتعفن ثمار الحمضيات ما بعد الحصاد واثبتت فاعلية كبيرة في تثبيطهما . وكشف Yu وآخرون (2023) ان السلالة FZB42 من هذه البكتريا تمتلك 12 مجموعة من الجينات لها علاقة بأنتاج المستقلبات الثانوية الحيوية اثنين منها غير معروفة الوظيفة وتم اثبات ان هذه السلالة لها قابلية على التكيف الوراثي وتم تحديد سبعة نواتج ايضية ثانوية تعمل على تثبيط نمو المسببات المرضية من خلال نهج جيني وكيميائي مشترك وحسنت هذه السلالة نمو شتلات الطماطة وفول الصويا وتمكنت من السيطرة على نمو الفطرين *Phytophthora sojae* و *Ralastonia solanacearum*.

3-1-3-2 التحفيز الحيوي Biostimulation

يعرف التحفيز الحيوي للنبات (A plant Biostimulation) بأنه اي مادة او كائنات دقيقة تستخدم مع النبات بهدف تحسين كفاءة التغذية او تحمل الاجهادات الحيوية و اللاحيوية او صفات جودة المحاصيل بغض النظر عن محتواها من المغذيات وهنالك العديد من المنتجات التجارية التي تحتوي على مخاليط

من هذه المواد او الكائنات الدقيقة إذ تعد الأسمدة الاحيائية Biofertilizers فئة فرعية من المحفزات الحيوية Biostimulant التي تزيد من كفاءة امتصاص واستخدام المغذيات من قبل النبات (Hijri ، 2023) . اشار مجلس صناعة المحفزات الاوروبي الى ان المحفزات الحيوية تحوي على كائنات حية دقيقة تعمل على تحفيز العمليات الحيوية عند اضافتها للنبات او لمحيطه الجذري وتحسن من نوعية الحاصل وتحمل الاجهادات اللاحيوية وتسهل تمثيل وانتقال العناصر المغذية بالإضافة الى تحسينها صفات المنتج (Kumari واخرون ، 2023). تقسم محفزات النبات الحيوية من حيث المنشأ إلى مجموعتين : أمّا يكون تخليقها بصورة طبيعية مثل الأحماض الأمينية ومستخلص الخميرة ومستخلص الأعشاب البحرية والكايتوسان والهرمونات ومنظمات النمو النباتية او يتم تركيبها بصورة صناعية مثل الهرمونات الصناعية والمركبات الفينولية والاملاح غير العضوية (Morcillo وأخرون ، 2022 و Lau وآخرون ، 2023 و Bartsch وآخرون ، 2023) . بينما تضم المحفزات الحيوية الميكروبية microbial Biostimulant مجموعتين هما : مجموعة فطريات المايكورايزا والمجموعة غير الحاوية على فطريات المايكورايزا والتي تضمّ كل من بكتريا التعايش الداخلية Bacterial endosymbionts كالرايزوبيا Rhizobium وبكتريا تحفيز النمو للنبات مثل الرايزوبكتريا (plant Growth promoting Rhizobacteria) (Morcillo وآخرون ، 2022 وKalymbetov وآخرون ، 2023 و Acin-Albiac وآخرون ، 2023) . اشارKumari وآخرون (2023) ان انظمة الزراعة الحديثة والمعتمدة على الاسمدة والمبيدات الكيمياوية والاستخدام العشوائي لها الذي يؤثر على نمو النبات بسبب تراكم المركبات السامة فضلا عن تدهور جودة التربة وخصائصها ولاجل المحافظة على خصوبة التربة واستدامتها فقد ظهراستخدام المنشطات او المحفزات الحيوية النباتية كطريقة صديقة للبيئة اذ توفر المغذيات وتحمي النبات من الضغوط البيئية والحيوية .

2-3-1-3-1المحفز الحيوي Bio Health

المحفز الحيوي Bio Health هو خليط مكون من حامض الهيومك (Humic acid بنسبة 75% و مستخلصات الأعشاب البحرية 5% و فطر *T. harzianum* و بكتريا *B.subtilis* 10% و الماء 10% (Malik و آخرون ، 2020) . يعد الفطر*T.harzianum* والبكتريا *B.subtilis* من الاسمدة الحيوية وغالبا ما تكون على هيأة مستحضرات تتم اضافتها اما للبذور او للتربة بهدف التسريع في بعض العمليات الحيوية وزيادة توافر المغذيات الجاهزة بصورة يسهل تمثيلها من قبل النبات فضلا عن تحفيز المقاومة الجهازية في النبات (Sun وآخرون ، 2022 و Lamlomوآخرون ، 2023 و Hijri ، 2023) . ويطلق مصطلح الأسمدة الاحيائية على الكائنات الحية الدقيقة التي باستطاعتها تيسير العناصر الاساسية لنمو النبات مثل النتروجين والفسفور والبوتاسيوم والحديد والكبريت وقد عمل الباحثون على عزل هذه

الكائنات الحية من البيئة الطبيعية لها وكذلك البيئات الزراعية وعملوا على تنمية هذه الكائنات مختبرياً وتم تجربتها في الأراضي الزراعية على مختلف أنواع المحاصيل وتتم عملية التلقيح بها للتربة أو البذور التي بدورها تعمل على تغيير المحتوى البيولوجي في المنطقة المحيطة بالجذور (Rizhosphere) ويتوقف نجاح التسميد الحيوي من عدمه على عدة عوامل منها كفاءة الكائن الحي المستخدم ومدى توافقه مع العائل النباتي وكذلك القدرة على التنافس مع الكائنات الحية الاخرى الموجودة في التربة ويتوقف ايضا على اعداد الكائنات الحية في المنطقة المحيطة بجذور العائل النباتي وقابليتها على البقاء (Morales و Hernandes ، 2021) . ذكر Youوآخرون (2023) ان الفطر *T. harzianum* أحد اهم الأحياء المجهرية الذي يمتاز بقدرته العالية في مقاومة العديد من مسببات امراض النبات التي تهدد محاصيل مختلفة فضلاً عن دوره في زيادة جاهزية بعض العناصر في التربة و تسهيل امتصاصها من قبل النبات و انتاجه بعض منظمات النمو المشجعة لنمو النبات فضلا عن تحفيزه للمقاومة الجهازية للنبات ضد المسببات المرضية . وجد Lanzuise وآخرون (2022) ان استخدام توليفة من نوعين من الفطر *Trichoderma* spp. مع خليط من الاحماض الدهنية متوسطة وطويلة السلسلة ادى الى تحفيز المقاومة الجهازية لعدة نباتات منها الطماطة والخس واللهانة ضد الفطرين *B. cinerea* و*R.solani* وقلل نسبة الاصابة بمقدار 90% فضلا عن زيادة في المحصول تراوحت بين 25-90% قياسا بمعاملة المقارنة المصابة واظهر التحليل بجهاز LC-MS تسجيل مستويات عالية من الdehydroglycoalkaloids و phytosphingosine التي لها دور كبير في الاستجابات الدفاعية . وذكر Silva وآخرون (2022) ان منتجات حماية المحاصيل الميكروبية التي يكون فيها الفطر *Trichoderma* spp. هوالاساس فهنا يستخدم الفطر عدة وظائف من اجل حماية النبات منها التطفل على الممرض وتعزيز توافر المغذيات وتحفيز نمو النبات اذ تمكنت سلالتين هما 1584 و CMAA للفطر *T.asperelloides* من تعزيز نمو نبات القطن من خلال اذابتها للفسفور المعدني ($CaHPO_4$) واطلاق مركبات عضوية متطايرة تضعف نمو الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* . بينت النتائج التي توصل اليها Abdelmoteleb وآخرون (2023) ان استخدام ثلاثة سلالات من البكتريا *B.subtilis* (وهي من انواع البكتريا المشجعة لنمو النبات) القابلية على تخفيف الاجهاد الحيوي في نباتات القطن والسيطرة على مسببات امراض النبات ومنها *F.nygamai* و *F.equisseti* و *F.solani* و *F.oxysporum* وبنسب تثبيط تراوحت بين 43.3 - 83.5% من خلال انتاجها لل Bacteriocin وSubtilisin و Subtilosin فضلا عن انتاجها للبيتيد الدهني Iturin وزيادة مضادات الاكسدة ومركبات الفلافونويد والفينولات الكلية ورشحوا استخدام هذه السلالات البكتيرية كسماد حيوي في نظم الزراعة المستدامة . اما حامض الهيومك فهو عبارة عن مادة معقدة ناتج من تحلل المواد العضوية ويؤدي هذا الحامض دور مهم في

تحسين صفات التربة مثل التهوية وزيادة الاحتفاظ بالماء وتقليل التكتل الحاصل في التربة بالإضافة إلى زيادة جاهزية العناصر الغذائية و يعد من المصادر الطبيعية التي تستخدم بديلا عن الأسمدة الكيميائية لغرض زيادة الانتاجية في المحاصيل وله تأثيران هما مباشر وهو زيادة نشاط الفعاليات الانزيمية وزيادة نفاذية الاغشية الخلوية وتأثير غير مباشر حيث انه يعمل على تغيير تركيب التربة (Lodygin ، 2023) . كما ان حموضة التربة (pH) تزداد بزيادة اضافة مستويات من حامض الهيومك وكذلك الحال بالنسبة للكربون العضوي والسعة التبادلية الكتيونية للتربة (CEC) وتحسين خواصها الكيميائية والفيزيائية والبايلوجية (Ren وآخرون ، 2022) . الرمز الكيميائي لحامض الهيومك $C_{75}H_{12}(COOH)_2(OH)_6(CO_2)_2$ لونه غامق (بني داكن إلى اللون الاسود) يذوب في القواعد ويترسب في الحوامض Ming وآخرون (2023) يتكون بنسب من الكربون 50.62% و الاوكسجين 31.40% والهيدروجين 2.8% والنتروجين 2.6% وهو من المنتجات التجارية الاقتصادية التي تستعمل بشكل واسع في الزراعة العضوية ومن مميزاته انه سريع التأثير وغير مؤذٍ للأنسان والحيوان والنبات وكذلك يخفض الأثر الضار للأسمدة المعدنية في التربة (Lodygin ، 2023) . في دراسة اجراها Ren وآخرون (2022) وجدوا ان استخدام حامض الهيومك ادى تحسين خواص التربة الفيزيائية والكيميائية وحسن نوعية وكمية ثمار التوت البري للاشجار المصابة بالفطريات *Fusarium* sp. و *Coniosporium* sp. فضلا عن زيادة التنوع الميكروبي قياسا بالتربة نفسها قبل الاضافة وادى الى زيادة محتوى هذه التربة من النتروجين و الفسفورو البوتاسيوم والكالسيوم . كما ذكر Silva وآخرون (2021) و Fedoseeva وآخرون (2021) ان اضافة حامض الهيومك الى التربة ادى الى تعزيز نمو البكتريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) وزيادة تحمل النبات للضغوط الاحيائية واللاأحيائية. ذكر Nagachandrabose و Baidoo (2021) ان لحامض الهيومك تأثيرات مضادة لعدد من النيماتودا المتطفلة على النبات منها *Meloidogyne* spp. و*Rotylenchulus reniformis* و *Radopholus similis* و*Helicotylenchus multicinctus* ويعزى هذا التأثير الى عدة اليات منها قتل اليافعات ومنع فقس البيض وتقليل العدوى والتكاثر وتحفيز المقاومة الجهازية في النبات ويمكن استخدامة بتوافق مع عدد من فطريات وبكتريا المقاومة الاحيائية مثل *Azospirillum* spp. و *B.megaterium* و *Pseudomonas fluorescens* و *T.viride* و *Glomus* spp. و*Chlamydosporia* و*T.asperellum* . وجد Lopez-Moral وآخرون (2021) ان استخدام الاحماض الامينية والمغذيات الدقيقة والكائنات الحية الدقيقة والمواد ذات الاصل الطبيعي والمنتجات الحاوية على النحاس والاملاح العضوية وغير العضوية كان فعالا في السيطرة على مرض ذبول الزيتون المتسبب عن الفطر *Verticillium dahliae* في ظروف مسيطر عليها . تعد الاعشاب البحرية Seaweeds extract

مكملا للأسمدة وليست بديلا عنها وهي من المواد المشجعة للنمو بتراكيز قليلة وتحوي على اكثر من مجموعة من منظمات النمو مثل الاوكسينات والجبرلينات والسايتوكاينينات وتحوي ايضا على بعض العناصر الكبرى والصغرى وان اضافتها للتربة تحسن من خواص التربة الفيزيائية والكيميائية والبايلوجية وتزيد من قابلية التربة على الاحتفاظ بالرطوبة وتحسن من نشاط الاحياء المجهرية (Deolu-Ajayi وآخرون ، 2022) . ذكر Vicenteوآخرون (2023) ان الاعشاب البحرية واحدة من اغنى مصادر المركبات النشطة بيولوجيا اذ تستخدم في صناعات مختلفة مثل مستحضرات التجميل والاغذية والادوية والزراعة وهي بديل صديق للبيئة لمبيدات الجراثيم المصنعة ولها القدرة على تحفيز اليات الدفاع الاولية. وجد Toledo وآخرون (2023) ان لمستخلص الاعشاب البحرية فعالية ضد الفطريات *Alternaria alternate* و *Botrytis cinerea* و *F.oxysporum* و *Penicillium expansum* المسببة لتعفن ثمار الكمثرى بعد الحصاد . وفي دراسة قام بها Abed و Ibade (2022) وجدوا فعالية مستخلص الاعشاب البحرية بمفردها ومع المبيد الكيميائي Topsin-M في خفض النسبة المئوية للاصابة بالفطر *Alternaria radicina* المسبب لمرض البقعة الرمادية على الفلفل الى 20.8-21.6% بعد 20 يوما من المعاملة قياسا بمعاملة المقارنة المصابة التي بلغت فيها71.4% فضلا عن زيادة معايير النمو لنبات الفلفل وزيادة نسبة النيتروجين و الفسفور والبوتاسيوم والكلوروفيل الكلي.

2-3-2 المكافحة الكيميائية بأستخدام المبيد الكيميائي Beltanol

تعد المكافحة الكيميائية احدى اهم الوسائل المستخدمة بكثره في جميع انحاء العالم على الرغم من الاضرار التي تسببها للكائنات الحية غيرالمستهدفة والبيئة لكونها تعطي نتائج سريعة وسهلة التطبيق وبالامكان تطبيقها في بيئات مختلفة (AL-Musawi ، 2012) . ذكر Nesmith(2001) ان المكافحة الكيميائية في الولايات المتحده الامريكية وصلت لنسبة 70 % من الطرق الاخرى المستخدمة في المكافحة ضد المسببات المرضية الفطرية. للمكافحة الكيميائية دور فعال في التخلص من المسببات المرضية ويمكن استخدامها كمبيدات تسمى بالمبيدات الفطرية (Fungicides) في حالة مكافحتها للفطريات ويمكن تصنيفها تبعا لتاثيرها على المسبب المرضي فقد تكون قاتلة (Fungicidal) او توقف النشاط والنمو (Fungistatic) وقد تكون وقائية لوقاية النبات من الاصابة او علاجية اي تقاوم المسبب المرضي او قد تكون وقائية علاجية كما في الكثير من المبيدات وقد تكون غير جهازية – Non systemic اي لاتدخل الى انسجة النبات فقط على الاسطح الخارجية اوجهازي Systemic وهناك مبيدات تخلط مع التربة لمقاومة المسببات المرضية المستوطنة فيها (وصفي ، 1993) . يعد المبيد الكيميائي Beltanol من المبيدات الفطرية الجهازية يعود الى مجموعة Quinoline التسمية الكيميائية 8-Hydroxyquinolin Sulfate والصيغة الكيميائية $C_{18}H_{16}N_2O_6S$ والاسم الشائع هو

Hydroxyquinolin Sulfate والوزن الجزيئي له 388.4غم/ مول (العروسي وآخرون , 2023) . لهذا المبيد مقدرة عالية لتثبيط عدد كبير من المسببات المرضية الفطرية وهو من المبيدات الحديثة نسبيا وله تأثير كبيرعلى فطريات التربة الممرضة ومنها انواع الجنس *Rhizoctonia* spp. وانواع الجنس *Fusarium* spp. اذ يعمل هذا المبيدعلى تكوين مركبات مخلبية مع النحاس في انسجة العائل وهذا يسهل مروره الى داخل خلايا الممرض ويؤدي الى تثبيطه (العامري , 2021 وكسوب ,2022 والربيعي ,2022) . يوجد هذا المبيد سائلا والخام منه ذو لون اصفر يذوب في الكحول والبنزين والاسيتون والكلورفورم والماء تمت الموافقة على تركيب هذا المبيد وفقا لدستور الادوية البريطانية واطلق عليه Chinosol وله خصائص جيدة اهمها الذوبانية العالية في الماءعند خلطه مع كبريتات البوتاسيوم (Tomilin،1997) . بينت العديد من الدراسات ان المبيد Beltanol هومبيد بكتيري فضلا عن كونه مبيد فطري وهو من المبيدات التي تساعد على تطهير التربة من المسببات المرضية اذ وجد العامري (2021) ان استخدام المبيدين الكيميائيين Beltanolو Goldston واوكسيد المغنيسيوم النانوي بالتراكيز الموصى بها في الاصص البلاستيكية ادى الى السيطرة على مرض التعفن الطري على البطاطا المتسبب عن البكتريا *Pectobacterium carotovorum carotovorum* وخفض النسبة المئوية للاصابة الى 0.0% وبينت النتائج التي توصل اليها الربيعي (2022) ان استخدام المبيد الكيميائي Beltanol بتركيز 2000 جزء بالمليون ادى الى تثبيط كامل لنمو الفطر *R. solani* المسبب لتعفن جذور الفلفل على الوسط الزرعي (P.D.A.) . وتوصلت الدراسة التي اجرتها الغزالي (2022) ان استخدام المبيد Beltanol بالتركيز الموصى به من قبل الشركة المنتجة ادى الى تثبيط نمو الفطرين *R.solani* و *F.oxysporum* المسببين لتعفن جذور وموت بادرات نبات عين البزون وبنسبة 100% مختبريا على الوسط الزرعي (P.D.A) وخفض النسبة المئوية للاصابة وشدتها الى 0.0% عند استخدامه في مكافحة المرض في ظروف البيت البلاستيكي . ووجدت المشهداني (2022) ان المبيد الكيميائي Beltanol بتركيز واحد مل /لتر ادى الى خفض النسبة المئوية للاصابة وشدة الاصابة بمرض تعفن الجذور وموت بادرات عرف الديك والمتسبب عن الفطريات *R.solani* و*F.solani* و *Ectophoma multirostrata* الى 8و2.1% و 6 و2% و 0.0 و 0.0% على التوالي قياسا بمعاملة الفطريات الممرضة بمفردها والتي بلغت 100و 100% و100و 87% و80 و 62%.

3 - المواد و طرائق العمل (Materials and Methods)

3-1 الأجهزة والمواد المستعملة في الدراسة

3-1-1 الأجهزة والأدوات المستعملة في الدراسة

جدول (1)الاجهزة والادوات المستعملة في الدراسة

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
1	جهاز التعقيم البخاري (Autoclave)	LabTech	South Kor
2	الحاضنة (Incubator)	Memmert	Germany
3	ميزان حساس (Analytical balance)	Denver Instrument	USA
4	اطباق بتري (Petri-Dishes)	Guangzhou A&J Automatinon Equipment	China
5	ثلاجة (Refrigerator)	Concord	Lebanon
6	دوارق زجاجية مختلفة الاحجام (Flasks)	UnisonicLTD	Chine
7	مجهر ضوئي مركب (Compound light Microscope)	Olympus	Japan
8	انابيب اختبار (Test tubes)	Sigma	Germany
9	جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل (Thermal cycler) و ملحقاته	MWG Biotch	Germany
10	محقنة طبية (Medical Syringe)	-*	England
11	شرائح زجاجية و اغطيتها (Slides and cover slide)	Whatman 4	England
12	اوراق ترشيح دقيقة (Filter Papers)	Whatman	England
13	جهاز الترحيل الكهربائي (Gel Electrophoresis apparatus	-	China
14	غرفة العزل (Laminar flow hood)	Lab Tech	South kor
15	ماصات دقيقة (Micropipetes)	Gilson	Germany
16	جهاز المطياف الضوئي (spectrophotometry)	-	UK
17	جهاز قياس درجة الاس الهيدروجيني (pH-meter)	-	France
18	مناخل (Sieves)	Ogawa seikico	Japan
19	جهاز تسخين (Hot plate)	Photox	England
20	ثاقب فليني (Cork Borer)	-	Germany
21	جهاز طرد مركزي مبرد (Colling Centrifuge)	Labortechnik	Germany
22	ورق المنيوم (Aluminum foil)	Zhangjiagang	China
23	اصص بلاستيكية (Plastic pots)	-	China
24	القطن والشاش(Cotton and Muselin)	BDA	England
25	مدقه بلاستيكية (Plastic pestle)	-	-
26	حمام مائي (Water bath)	Gallen hamp	England
27	جهاز التقطير(Distillation device)	G.F.L	Germany
28	ابرة التلقيح (Loop+Needle)	-	China

*(-) تعني اسم الشركة المصنعة غير معروف.

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

جدول (2) المواد المستعملة في الدراسة:

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
1	وسط البطاطا دكستروز الجاهز (P.D.A.)	Himedia	India
2	وسط المرق المغذي (Nutrient Broth (N.B.	BD Difco	USA
3	مسحوق الاكار(Agar powder)	Himedia	India
4	هايبوكلورات الصوديوم (Sodium Hypochlorate)	تجاري	Iraq
5	ماء مقطر) (Distilled water)	-*	Iraq
6	كحول اثيلي (Ethanol)	الجود	Iraq
7	كحول مثيلي(Methanol)	-	-
8	بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2	Essential	Jordan
9	كلوريد الصوديوم (NaCl)	-	-
10	حامض الهيدروكلوريد(HCl)	-	-
11	المخصب الحيويBiohealth	Humintech	German
12	مضاد حيوي (Amoxicillin)	Samera	Iraq
13	كاشف فولن	-	-
14	دارى الفوسفات	-	-

*(-) تعني اسم الشركة المصنعة غير معروف.

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

ت	اسم المبيد	المادة الفعالة	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
1	Beltanol	8- Hydroxyquinoline Sulphate 37.5%	Probelte	Spain
2	Metchazole	Hymenozol	Dragon	China
3	Tabsin	Thiophanate-methyl 70%wp	WE-Young	China

3-1-3 الأوساط الزرعية المستعملة في الدراسة:

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

حضر هذا الوسط بإذابة 39غم من الوسط الجاهزفي واحد لتر من الماء المقطر ورجّ الخليط جيدا، ثم وزع في دوارق زجاجية حجم كل منها 500مل سدت فوهاتها بسدادات من القطن وورق الألمنيوم

(Aluminum foil) ،عقمت بعدها في جهاز التعقيم البخاري بدرجة حرارة 121مْ و ضغط 15 باوند/ انج^2 لمدة 20 دقيقة . بعد انتهاء مدة التعقيم و قبل مرحلة تصلب الوسط أضيف المضاد الحيوي Amoxicillin بمعدل125 ملغم/ لتر و صب الوسط في أطباق بتري معقمة (Collee وآخرون،1996).

3-1-3-2 وسط الآكار المائي Water Agar (W.A)

حضر وسط الاكار المائي (.Water Agar (W.A في دورق زجاجي بإضافة 17غم من الاكار الى واحد لتر من الماء المقطر وعقم تحت نفس الظروف المذكورة في الفقرة3-1-3-1 . بعد انتهاء عملية التعقيم و قبل تصلب الوسط ، أضيف المضاد الحيوي Amoxicillin بمعدل 125 ملغم/ لتر و صب في اطباق بتري معقمة.

3-1-3-3 الوسط المغذي السائل Nutrient Broth (N.B.):

حضر الوسط المغذي السائل (.N.B) وفق تعليمات الشركة المجهزة BD Difco الامريكية بإذابة 13غم من الوسط في واحد لتر ماء مقطر ثم عقم بالظروف نفسها المذكورة في الفقرة 3-1-3-1.

3-1-3-4 الوسط المغذي الصلب(.Nutrient Agar (N.A

حضر الوسط المغذي الصلب(.N.A) على وفق تعليمات الشركة المجهزة BD Difco الامريكية بإذابة 28غم من الوسط في واحد لتر ماء مقطر، ثم عقم بنفس الظروف المذكورة في الفقرة 3-1-3-1.

3-2 عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نبات الفلفل المصابة بتعفن الجذور وموت البادرات.

عزلت الفطريات المرافقة لجذورنبات الفلفل الحلو (*C. annum*) التي لوحظ عليها اعراض الاصابة المتمثلة بضعف النمو والذبول واصفرار المجموع الخضري و تعفن المجموع الجذري. تم جمع العينات المصابة من بعض المزارع الواقعة في (الحسينية والإبراهيمية والوند والحر والحافظ والهندية والخيرات والصحراوية) محافظة كربلاء وجلبت الى مختبر الدراسات العليا في كلية الزراعة/ جامعة كربلاء لأجراء عملية عزل المسببات . غسلت الجذور جيدا بماء الحنفية للتخلص من الأتربة و الشوائب العالقه بها و بعدها قطعت الى قطع صغيرة (0.5سم) و عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز (1% NaOCl) لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر و جففت باستعمال ورق ترشيح معقم (بجهازالتعقيم البخاري) نقلت بعدها اربعة قطع لكل طبق من أطباق بتري الحاوية على وسط البطاطا دكستروز اكر (.P.D.A) و حضنت في درجة حرارة 25 ± 2°م لمدة ثلاث أيام . نقيت الفطريات بنقل جزء من طرف مستعمرة الفطر إلى طبق أخر حاوي الوسط الغذائي (P.D.A) . شخصت الفطريات المعزولة مبدئياً بالاعتماد على الصفات المظهرية و باستخدام المفاتيح التصنيفية الموصوفة من قبل (Parmeter وWhitney،1970 و Leslie و

Summerell،2006 و Watanabe،2018) . وحسبت النسبة المئوية لوجود او تكرار الفطرفي كل عينة وفق المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية لوجود الفطريات} = \frac{\text{عدد قطع الجذور في الاطباق التي ظهر فيها الفطريات الممرضه}}{\text{العدد الكلي لقطع الجذور المستعملة لكل عينة}} \times 100$$

3-3 حفظ عزلات الفطريات قيد الدراسة

حفظت العزلات الفطرية التي تم الحصول عليها من عملية العزل في أنابيب اختبار حاوية على وسط (P.D.A) المائل (Agar slants) اذ حضر الوسط كما في الفقرة 3-1-3-1 ووزع في أنابيب اختبار بحجم 5مل/ انبوبة و من ثم وضعت بشكل مائل لحين التصلب. لقحت الأنابيب بالعزلات الفطرية وذلك بأخذ قرص قطره 0.5 سم من مستعمرة كل فطر ووضعه على الوسط الزرعي في الانابيب و كلا على انفراد وحضنت في درجة حرارة 25±2°م لحين نمو الفطريات بعدها حفظت جميع الأنابيب في الثلاجة على درجة (4مْ).

4-3 اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة

1-4-3 اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة على انبات بذور الفلفل في الوسط الزرعي Water Agar

اختبرت المقدرة الامراضية ل10 عزلات للفطر *R.solani* واربع عزلات للفطر *F. oxysporum* وثمانية عزلات للفطر *M.phaseolina* و14 عزلة للفطر *F.solani* وعزلة واحدة للفطر *A. jodhpurensis* والمعزولة من جذور نباتات الفلفل الاخضر الحلو المصابة باستعمال طريقة الاطباق المتبعة من قبل Christensen واخرون (1988) . اذ أخذ قرص قطره 0.5 سم من حافة المستعمرات الفطرية النقية بعمر 7 أيام النامية على وسط (P.D.A) ووضع في وسط طبق بتري بلاستيكي يحوي على وسط الاكار المائي (W.A) المحضر في الفقرة 3-1-3-2 . حضنت الاطباق الملقحة لمدة 3 أيام في درجة حرارة 25 ±2 م°، زرعت بعدها بذور الفلفل الاخضر الحلو(صنف Carisma) المعقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1 % كما في الفقرة 3-2 على أطراف المستعمرات الفطرية النامية في الطبق وبواقع 10 بذرة في كل طبق كررت كل عزلة فطرية ثلاث مرات فضلا عن معاملة المقارنة وذلك بزراعة بذور الفلفل المعقمة بدون فطر وبعدد المكررات نفسها، ثم حضنت جميع الاطباق بدرجة حرارة 25 ±2 م° لحين انبات جميع البذور في معاملة المقارنة . حسبت بعدها النسبة المئوية للإنبات وكالآتي:

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

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

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

3-4-2 تحميل الفطريات المعزولة على بذور الدخن

اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Dewan (1989) لغرض تحميل الفطريات الممرضة اذ استعملت بذور الدخن المحلي (*Panicum miliacem*) اذ غسلت البذور 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 فوهاتها جيدا بالقطن وورق الالمنيوم وعقمت تحت الظروف المذكورة نفسها مسبقا في الفقرة-3-1 3-1. بعد اكتمال عملية التعقيم ، لقحت الدوارق كلا على حدة و بخمسة أقراص (0.5 سم) مأخوذة من وسط البطاطا دكستروز اكر (P.D.A) النامي عليه الفطر بعمر سبعة ايام . حضنت جميع الدوارق في درجة حرارة 25 ±2 مْ لمدة 14 يوما مع الاخذ بنظر الاعتبار رجها كل ثلاثة ايام و ذلك لضمان توزيع اللقاح الفطري على جميع البذور.

3-4-3 اختبارالمقدرة الامراضية للعزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذورواصابة نبات الفلفل في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي

نفذت هذه التجربة بخلط تربة مزيجية مع بتموس (1:2) تم تعقيمها بواسطة جهاز التعقيم البخاري بدرجة حرارة 121مْ و ضغط 15 باوند/ انج^2 لمدة 60 دقيقة و في اليوم الثاني اعيدت عملية التعقيم مرة أخرى تحت نفس الظروف. بعدها لقحت التربة بالفطر المحمل على بذور الدخن بنسبة 1% والمحضر في الفقرة 3-4 -2 بعد خلط اللقاح بأكياس بلاستك لكي يتجانس اللقاح مع التربة والبتموس ثم وضعت في اصص بلاستيكية سعة اكغم بعدها رطبت التربة بأضافة الماء لها ثم غطيت بأكياس بولي اثلين مثقبة (للمحافظة على الرطوبة) لمدة 48 ساعة . بعدها زرعت بذور الفلفل و بواقع ستة بذور/ اصيص و سقيت باحتراس كلما دعت الحاجة . بعد مرور 40 يوما من الزراعة حسبت النسبة المئوية للاصابة وفق المعادلة:

النسبة المئوية للاصابة = عدد النباتات المصابة / العدد الكلي للنباتات × 100

و بناء" على ما توصلت اليه نتائج هذه التجربة ، فقد تم اختيار اربعة عزلات لغرض تشخيصها جزيئيا واستخدام واحدة منها في التجارب اللاحقة لكونها الأكثر أمراضية على نبات الفلفل من بين العزلات الفطرية الأخرى .

3-5 التشخيص الجزيئي للفطريات الممرضة وبكتريا المقاومة الاحيائية قيد الدراسة :

1-5-3 لقد تم اجراء التشخيص الجزيئي لاربعة عزلات فطرية في هذه الدراسة باتباع الخطوات التالية:

- **استخلاص الحامض النووي (DNA)**

استخلص الحامض النووي (D.N.A.) باستعمال العدّة DNeasy Plant Kits, Cat. No. المجهزة من قبل شركة QIAGEN الألمانية و باتباع خطوات العمل الاتية:

1) اخذ 100-200 ملغم من مستعمرة الفطر النامية على وسط البطاطا دكستروز اكر (P.D.A) بعمر 7 ايام ووضعت في انبوب اختبار (1.5ml Eppendrof tube) و اضيف اليها 400 مايكروليتر من المحلول الدرائ AP1 ثم سحقت بواسطة مدقة بلاستيكية (Eppendrof micropestle) و مزجت جيدا باستعمال جهاز المزج (Vortex mixer).
2) حضنت الانبوبة الحاوية على العينة في حمام مائي بدرجة حرارة 65 °م لمدة 10 دقائق اخذين بنظر الاعتبار رج الانبوبة كل 2-3 دقائق خلال فترة التحضين لغرض تحطيم جدر الخلايا و الانوية لتحرير الحامض النووي .
3) إضيف 130 مايكروليتر من المحلول الدارئ P3 إلى الانبوبة و مزجت جيداً بواسطة جهاز المزج و حضنت بعدها على الثلج لمدة خمسة دقائق لغرض ترسيب المنظفات الخاصة بالمحاليل الدارئه و البروتينات و السكريات المتعددة و الخاصة بالفطر.
4) اخضعت العينة الى عملية الانتباذ بسرعة 14000 دورة/ دقيقة لمدة خمسة دقائق, ثم نقل المحلول الطافي الى انبوبة QIAshredder Mini spin column ذات اللون الارجواني و التي تحتوي على مرشح لحجز معظم الرواسب و حطام الخلايا و الحصول على راشح خالي من تلك الشوائب.
5) نقل الراشح الى انبوبة اختبار (2 ml Eppendrof micropestle) معقمة و اضيف اليه 700 مايكروليتر من المحلول الدارئ AW1 و مزجت المحتويات جيدا باستعمال الماصة الدقيقة (Micropipette).
6) بعدها نقل 650 مايكرو ليتر من الخليط بواسطة الماصة الدقيقة الى انبوبة الفصل (DNeasy Mini spin column) موضوعة في انبوبة جمع (Collection tube), أجريت بعدها عملية الانتباذ بسرعة

8000 دورة/ دقيقة لمدة دقيقة واحدة و التخلص بعدها من الراشح و ارجاع انبوبة الفصل الى نفس انبوبة الجمع (Collection tube).

7) أضيف 500 مايكرو ليتر من المحلول الدارئ AW2 مع أجراء عملية الانتباذ بسرعة 8000 دورة/ دقيقة لمدة دقيقة واحدة و التخلص بعدها من الراشح مع اعادة اضافة 500 مايكروليتر من المحلول نفسه الدرائ (AW2) واجريت عملية الانتباذ بسرعة 14000 دورة/دقيقة لمدة دقيقتين و**تم** التخلص من الراشح.

8) ارجعت انبوبة الفصل (DNeasy Mini spin column) الى انبوبة اختبار (1 ml Eppendrof tube) و اضيف 100 مايكروليتر من المحلول الدارئ TE الى منتصف الغشاء الموجود في انبوبة الفصل وتركت بشكل عمودي لمدة خمسة دقائق في درجة حرارة الغرفة لتجرى بعدها عملية الانتباذ بسرعة 8000 دورة/ دقيقة لمدة دقيقة واحدة للحصول على الراشح الحاوي على الحامض النووي (DNA) النقي.

9) تم قياس تركيز الحامض النووي (DNA) باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) بطول موجي 260 نانوميتر و لغرض معرفة التركيز للحامض النووي (DNA) اعتمدت المعادلة الاتية:

تركيز الحامض النووي (µg /ml) = مقدار الامتصاص الضوئي على طول موجي 260 نانوميتر × 50 عامل التخفيف (Dilution factor)

و لمعرفة نقاوة الحامض النووي (DNA purity) تم تطبيق المعادلة التالية و الموصوفة من قبل Williams و آخرون (1997).

$$\text{نقاوة الحامض النووي (DNA)} = \frac{\text{قيمة الامتصاص على طول موجي 260 نانوميتر}}{\text{قيمة الامتصاص على طول موجي 280 نانوميتر}}$$

- **تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)**

لغرض تشخيص العزلات الفطرية المختارة والمعزولة في هذه الدراسة, تم تنفيذ تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) باستخدام العدّة (Ready-To-Go PCR Beads, Cat.المجهزة من قبل شركة GE Healthcareالبريطانية. حضر تفاعل البلمرة المتسلسل بحجم 25 مايكروليتر و الحاوي على واحد مايكروليتر كل من البادئ الأمامي(ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG) و الخلفي (TS4: TCCTCCGCTTATT GATA TGC) (White و آخرون، 1990) و اثنان مايكروليتر من الحامض النووي المستخلص. وضعت جميع المكونات المذكورة أعلاه في الأنبوبة المجهزة من قبل الشركة المصنعة و أكمل الحجم بالماء (Nuclease-free water) إلى 25 مايكرو ليتر.

تم مضاعفة الحامض النووي للعزلات الفطرية باستخدام خطوات و ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) الأتية: عملية مسخ أولي (Initial denaturation) للحامض النووي (DNA) لمدة خمس دقائق في درجة حرارة 98 مْ متبوعة بـ 35 دورة كل منها مؤلفة من عملية مسخ نهائي (Final denaturation) لمدة 45 ثانية في درجة حرارة 94مْ, ارتباط البوادئ (Primer annealing) لمدة 45 ثانية في درجة حرارة 55 مْ و من ثم استطالة اولية (Initial elongation) لناتج الحامض النووي المضاعف (PCR-amplified product) لمدة دقيقة واحدة في درجة حرارة 72مْ و اخيراً انهاء تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) بخطوة الاستطالة النهائية (Final elongation) في درجة حرارة 72مْ لمدة خمس دقائق (Zhang و آخرون، 2012).

الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكاروز

حضرت طبقة هلام الاكاروز (Agarose gel) بأخذ غرام واحد من مسحوق الاكاروز و أذابته في 100مل من المحلول الدارئ (Tris boric acid EDTA buffer) 1×TBE و لحين تحول الخليط إلى محلول رائق. أضيف خمسة مايكروليتر من صبغة الاثيديم بروماید (Ethidium bromide) بعد انخفاض درجة المحلول المحلول الى حوالي 45مْ. جهز القالب الخاص بصب الاكاروز (Agarose gel tray) و الحاوي على المشط في إحدى نهاياته لعمل حفر (Wells) داخل طبقة هلام الاكروز. صب الاكاروز المذاب و الحاوي على صبغة الاثيديم بروماید (Ethidium bromide) و ترك ليتصلب في درجة حرارة الغرفة و بعد التصلب رفع المشط بحذر و أعيد القالب إلى مكانه في جهاز الترحيل الكهربائي (Electrophoresis tank), ثم أضيف المحلول الدارئ 1×TBE إلى حوض الترحيل مغطيا طبقة هلام الاكاروز بارتفاع حوالي 70 ملم.

اضيف خمسة مايكروليتر من الحامض النووي المضاعف بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR product) الى كل حفرة (Well) من حفر طبقة هلام الاكاروز المحضرة سابقاً. كما تم اضافة خمسة مايكروليتر من معلم الحامض النووي (Molecular-weight size marker) الى الحفرة الموجودة في الجانب الايسر من العينات المضافة لغرض تحديد احجام الحامض النووي المضاعفة. أوصلت أقطاب مجهز الطاقة (Power supply) بالتيار الكهربائي و شغل على 150 ملي امبير و لمدة ساعة واحدة. بعد اكمال عملية ترحيل العينات, فحصت طبقة هلام الاكاروز الحاوية على نواتج الحامض النووي (PCR products) تحت الاشعة فوق البنفسجية (UV transillumination) .

- **تحليل تسلسل قواعد الحامض النووي (DNA) المضاعفة بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)**

لغرض تشخيص الفطريات المعزولة ارسلت نواتج الحامض النووي (PCR products) المضاعفة من العزلات الفطرية بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) مع البوادئ (ITS1 و ITS4) الى شركة Macrogen (كوريا الجنوبية) لغرض تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية (Nucleotide sequence) و بالاتجاهين الامامي و الخلفي لنواتج الحامض النووي المضاعفة. حللت جميع تسلسلات القواعد النيتروجينية باستخدام برنامج BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) لمقارنتها مع البيانات المتوفرة في المركز الوطني الامريكي لمعلومات التقنية الحيوية (US National Center for Biotechnology Information,US NCBI) و العائدة لنفس الفطر و المشخصة عالمياً. كما و تم بالاعتماد على تسلسلات القواعد النيتروجينية للعزلات المشخصة رسم شجرة التحليل الوراثي (Phylogenetic tree) بواسطة برنامج MEGA-X (Kumar و اخرون،2016).

3-5-2 التشخيص الجزيئي لبكتريا المقاومة الاحيائية باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)

- **استخلاص الحامض النووي (DNA)**

تم استخلاص الحامض النووي (DNA) من البكتريا باستخدام العدّة (Cat. No. D6005, USA) المجهزة من قبل شركة Zymo Research و باتباع الخطوات الاتية:

1- لقح الوسط المغذي السائل (Nutrient Broth) بمستعمرة بكتيرية مفردة منماة على وسط الاكار المغذي (Nutrient agar) و حضن بدرجة حرارة 28 °م لمدة 24 ساعة في حاضنة هزازة (Shaking incubator).

2- نقل 1.5 مل من الوسط الحاوي على البكتريا الى انبوبة اختبار (2ml eppendorf tube) و اجريت لها عملية الانتباذ لمدة دقيقة واحدة بسرعة 13000 دورة/ دقيقة واهمل الراشح (Supernatant) و احتفظ بالجزء المترسب او المتجمع في اسفل الانبوبة (Pellet).

3- اضيف 750 مايكروليتر من محلول التحلل (Lysis Solution) لتحويل الجزء المتجمع في قعر الانبوبة الى محلول عالق لنقلة الى انبوبة اخرى حاوية على كرات صغيرة (ZR Bashing Bead™ Lysis Tube) و التي تساعد على تحطيم جدار الخلايا و تحرر الحامض النووي منها و بمساعدة جهاز هزاز (Vortex).بعدها اجريت عملية الانتباذ بسرعة 13000 دورة/ دقيقة و لمدة 10 ثواني لتجميع المحلول و ترسيب بعض المواد في اسفل الانبوبة.

4- نقل 400 مايكروليتر من الجزء الطافي (Supernatant) الى انبوبة (Zymo-Spin™ IV Spin Filter, Orange Top) التي تحتوي على مرشح (Filter) و الموضوعة في انبوبة جمع (Collection Tube) ثم اجريت عملية الانتباذ بسرعة 1300 دورة/ دقيقة و لمدة دقيقة واحدة.

5-اضيف 1200 مايكروليتر من محلول ارتباط الحامض النووي (Fungal/ Bacterial (DNA DNA Binding Buffer) الى الراشح الناتج من الخطوة رقم 4.

6-نقل 800 مايكروليتر من الخليط الناتج من الخطوة رقم 5 الى عمود الفصل (Zymo-Spin™ IIC Column) الموضوع في انبوبة جمع (Collection Tube) و اجريت عملية الانتباذ بسرعة 1300 دورة/ دقيقة لمدة دقيقة واحدة وتم التخلص من الراشح الموجود في انبوبة الجمع مع اعادة هذه الخطوة مرة اخرى مع المحلول المتبقي من الخطوة رقم 5.

7-اضيف 200 مايكروليتر من المحلول DNA Pre-Wash Buffer الى عمود الفصل (Zymo-Spin™ IIC Column) الموضوع في انبوبة جمع جديدة و إخضع لعملية الانتباذ بسرعة 1300 دورة/ دقيقة لمدة دقيقة واحدة. بعدها اضيف 500 مايكروليتر من المحلول Fungal/Bacterial DNA Wash Buffer الى انبوبة الفصل (Zymo-Spin™ IIC Column), ثم اجريت عملية الانتباذ بسرعة 1300 دورة/ دقيقة لمدة دقيقة واحدة.

8-نقلت انبوبة الفصل (Zymo-Spin™ IIC Column) الحاوية على الغشاء المرتبط به الحامض النووي الى انبوبة جديدة (1.5 مل) و اضيف محلول Elution Buffer الى مركز الغشاء و ترك بصورة عمودية لمدة دقيقة واحدة في درجة حرارة الغرفة. بعدها اجريت عملية الانتباذ بسرعة 13000 دورة/ دقيقة و لمدة دقيقة واحدة للحصول على الحامض النووي (DNA). تم قياس تركيز و نقاوة الحامض النووي المستخلص باتباع طريقة العمل الموصوفة في الفقرة 3-5-1 و حفظ فيما بعد في درجة حرارة -20°م لحين الاستعمال.

- **تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لمضاعفة الجين 16SrRNA من العزلة البكتيرية:**

لغرض تشخيص العزلة البكتيرية نفذ اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) باستخدام نفس المواد و خطوات العمل الموصوفة في الفقرة 3-5-1باستثناء استخدام البادئين 27 (**F**: 5'- AGAGTTTGA TCCTGG CTCAG- 3') و 1492 (**R**: 5'- GGTTACCTTGTTACG ACTT- 3') غير المتخصصة (Universal PCR primers) لمضاعفة الجين 16SrRNA بناتج حامض نووي (PCR-amplified product) حجمه 1500 زوج قاعدة نيتروجينية (bp) . تم مضاعفة الحامض النووي للبكتريا باستخدام خطوات و ظروف تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) المتبعة في الفقرة 3-5-1 ماعدا استعمال درجة حرارة الالتصاق (Primer annealing) التي كانت 56°م لمدة 45 ثانية. فصل ناتج الحامض النووي المضاعف (PCR-amplified product) على طبقة هلام الاكروز المحضرة وفق طريقة العمل الموصوفة في الفقرة 3-5-1 كما تم تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية لناتج الحامض النووي بعد ارسالها الى شركة Macrogen (كوريا الجنوبية) . بعدها حللت تسلسلات القواعد النيتروجينية بواسطة برنامج (BLAST) و تمت مقارنتها مع ما متوفر من البيانات لعزلات البكترية

المشخصة عالمياً و العائدة لنفس النوع و المسجلة في المركز ألوطني لمعلومات التقنية الحيوية (NCBI). تم رسم شجرة التحليل الوراثي (Phylogenetic trees analysis) باستخدام برنامج MEGA-X (Kumar و اخرون، 2016).

6-3 - اختبار حساسية بعض اصناف الفلفل للاصابة بالفطرالممرض *F.solani* المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.

نفذت هذه التجربة بخلط تربة مزيجية و بتموس (1:2) و عقمت بواسطة جهاز التعقيم البخاري(الاوتوكليف) بالظروف المذكورة نفسها في الفقرة3 -4-3. بعد ذلك لقحت التربة بعزلة الفطر*F.solani*(F14) والمحمله على بذور الدخن بنسبة1% والمحضر في الفقرة 3-4-2 بعد خلط اللقاح بأكياس بلاستك لكي يتجانس مع التربة والبتموس بعدها وضعت في اصص بلاستيكية سعة واحد كغم رطبت التربة بأضافة الماء لها ثم غطيت بأكياس بولي اثلين مثقبة (للمحافظة على الرطوبة) لمدة 48 ساعة بعدها نقلت شتلات الفلفل (المحضرة مسبقا كدايات بعمر 30 يوما) وزرعت في الاصص البلاستيكية اذ استخدمت اربعة اصناف هي Carisma وSingle وRio وCayman و بواقع ثلاث نباتات لكل اصيص وبثلاث مكررات لكل معامله مع معاملة مقارنه لكل صنف وبعدد المكررات نفسها ,سقيت النباتات باحتراس كلما دعت الحاجة, بعد مرور 60 يوما من الزراعة حسبت النسبة المئوية للاصابة وفق المعادلة المذكورة في الفقرة 3-4-3.

7-3 مكافحة الفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل

1-7-3 اختبارالمقدرة التضادية للعاملين الاحيائين *T. koningiopsis* و*B. velesensis* ضد الفطر *F.solani* (Fs14)المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط الزرعي PDA.

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

تم الحصول على عزلة المقاوم الاحيائي *T.koningiopsis*من مختبر الدراسات العليا علما انه مشخص جزيئيا في دراسة سابقة اذ اختبرت المقدرة التضادية للفطر *T. koningiopsis* ضد الفطر *F.solani*(F14) والمسبب لتعفن جذور وموت بادرات الفلفل و حسب طريقة الزرع المزدوج (Dual culture) (Baker و Cook،1974) ، إذ تم تقسيم أطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي (P.D.A) بخط وهمي إلى قسمين متساوين ، لقح مركز القسم الأول بقرص قطره 0.5 سم مأخوذ من حافة المستعمرات النقية بعمر سبعة أيام الخاصة بالفطر الممرض في حين لقح مركز القسم الثاني بقرص بحجم مماثل مأخوذ

من مستعمرة نقية للفطر *T. koningiopsis* بعمر سبعة أيام و بواقع ثلاثة مكررات. كما نفذت معاملة مقارنة بتلقيح القسم الأول بقرص من الفطر الممرض مع ترك القسم الأخر بدون تلقيح .وايضا نفذت معاملة مقارنة اخرى بتلقيح القسم الثاني بقرص من الفطر *T. koningiopsis* مع ترك القسم الأخر 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 فعالاً اذا كانت درجة التضاد 1 او 2 .

فضلا عن هذه الطريقة فقد استعملت طريقة تحديد النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري (Nwankiti و Gwa، 2018) وذلك باتباع المعادلة التالية الموصوفة من قبل Abott (1925) الواردة في المشهداني (2022):

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

وحددت الفعالية التضادية للعامل الاحيائي اعتماداعلى النسبة المئوية للتثبيط وباستعمال مقياس Sangoyomi (2004) (جدول 5).

جدول 4: تقييم الدرجة التضادية للعامل الاحيائي ضد المسببات الممرضه النباتية.

النسبة المئوية للتثبيط	درجة الفعالية
%0	ليس فعالاً
اكثرمن 0 الى 20%	قليل الفعالية
اكثر من 20 الى 50%	متوسط الفعالية
اكثر من 50 واقل من 100%	فعال
%100	فعال جداً

3-7-1-2 العامل الاحيائي *B.velezensis*

تم الحصول على عزلة البكتريا *B. velezensis* من مختبر الدراسات العليا - قسم وقاية النبات - كلية الزراعة- جامعة كربلاء اذ عزلت وشخصت الى المستوى الجزيئي في درس امراض النبات المتقدم العملي وجرى تنميتها واكثارها على الوسط الزرعي Nutrient agar ثم على الوسط السائل Nutrient broth

3-7-1-2-1 حساب الكثافة العددية للبكتريا *B.velezensis*

اتبعت الخطوات نفسها في الفقرة السابقة 3-7-1-2-1 اذ تم تحضير ثلاثة اطباق بتري بقطر تسعة سم حاوية على الوسط (P.D.A.) المعقم . لقحت الاطباق بعالق البكتريا بمعدل واحد مل/ طبق من التخافيف 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 (Black، 1965).

3-7-1-2-2 تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري للبكتريا *B. velezensis* المثبط لنمو الفطر الممرض *F.solani* قيد الدراسة.

حضرت سلسلة من التخافيف لعالق البكتريا*B.velezensis* بأخذ واحد مل من الوسط السائل Broth Nutrient النامية فيه البكتريا بواسطة محقنة طبية واضيف الى انبوبة اختبار تحتوي على تسعة مل ماء مقطر معقم ثم نقل 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 واحد مل/ طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري وصب فوقه الوسط الزرعي (P.D.A.) وحرك الطبق حركة رحوية لتوزيع اللقاح البكتيري بعدها أخذ قرص من حافة المستعمرة الفطرية بقطر 0.5 سم من مستعمرة الفطر *F.solani*(F14) والمنماة على الوسط (P.D.A.) بعمر سبعة ايام وبمعدل ثلاثة اطباق لكل تخفيف وتركت ثلاث اطباق للمقارنة من دون تلقيح بالبكتريا وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±1 م° . تم حساب مقدار التثبيط بعد وصول معاملة المقارنة لحافة الطبق بحساب قطر مستعمرة الفطر النامي ومنها حسبت النسبة المئوية للتثبيط كما في الفقرة 3-7-1-1.

3-7-2 تقييم كفاءة المبيدات Beltanol و Tabsin و Metchazole ضد الفطرالممرض *F. solani* (Fs14) المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)

استعملت ثلاثة تراكيز لكل مبيد اذ استعمل التركيز الموصى به من قبل الشركة المصنعة واقل واعلى من التركيز الموصى به جدول (6).

جدول 5: تراكيزالمبيدات الفطريه المستخدمة في مكافحة الفطر*F.solani* المسبب لتعفن الجذوروموت بادرات نبات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)

اسم المبيد	الحجم او الوزن/لتر	طبيعة المبيد
Beltanol	**0.75, 1, 1.25مل**	مركز قابل للذوبان في الماء
Tabsin	**0.75, 1, 1.25غم**	حبيبات قابلة للأنتشار
Metchazole	**0.75, 1, 1.25غم**	حبيبات قابلة للأنتشار

حضرت دوارق زجاجية يحوي كل منها250 مل من الوسط الزرعي (P.D.A.) المعقم . بعد انخفاض درجة حرارة الوسط الى45 م^{o} ، أضيفت المبيدات **Beltanol و Tabsin وMetchazole** إلى الدوارق بالتراكيز المبينة في الجدول 6 لكل مبيد كل على انفراد ثم رجت الدوارق جيدا وصبت الاوساط المضاف لها المبيدات في اطباق بتري معقمة بعد تصلب الوسط لقح بأخذ قرص قطره 0.5 سم من حافة مستعمرة كل فطر نامي على الوسط الزرعي (P.D.A) بعمرسبعة ايام اذ وضع القرص في منتصف الطبق نفذت التجربة على وفق التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) وبثلاثة مكررات لكل معاملة مع تنفيذ مقارنة للفطريات بدون استخدام مبيد و بعدد المكررات نفسها . حضنت الاطباق في درجة حرارة 25±2 م^{o} سجلت النتائج بعدسبعة ايام بقياس الاقطار المتعامدة للنمو الشعاعي للفطريات من ظهر الطبق في المكررات كافة بأستخدام مسطرة مدرجة ومنها استخرجت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة الواردة في الفقرة3-7-1-1.

3-7-2-1 تأثير المبيد الكيميائي Beltanol في نمو عزلات الفطر*T.koningiopisis* والبكتريا *B.velezensis* مختبرياً بطريقة تسميم الوسط الزرعي (P.D.A)

حضر الوسط الزرعي P.D.A في دوارق زجاجية حجم 250 مل وعقم بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121م^{o} و ضغط 15باوند/ انج^{2} لمدة 20 دقيقة. بعد انتهاء التعقيم و انخفاض درجة الحرارة الى مرحلة قبل التصليب ، استخدم التركيز الموصى للمبيد واحد مل /لترفضلا عن استخدام تركيز اقل من الموصى به وهو 0.75 اضيف المبيد Beltanol الى الوسط كل تركيز على انفراد مع المزج الجيد مع الوسط الزرعي. صب الوسط الزرعي في اطباق بتري معقمة بعد تصلبه لقح مركز كل طبق بقرص قطر(0.5 سم) مأخوذ من مستعمرة الفطر *T.koningiopsis*بعمر سبعة ايام و بثلاث مكررات مع معاملة مقارنة للفطر بدون اضافة المبيد للوسط . اما بالنسبة للبكتريا *B.velezensis* نشطت على وسط (N.B.) وبعمر 24 ساعة واخذ واحد مل من الوسط المنمى عليه البكتريا ووضع في اطباق بتري معقمة ثم صب الوسط (P.D.A.)

المسمم بتراكيز المبيد وحرك الطبق حركة رحوية كررت كل معاملة ثلاث مرات مع معاملة مقارنة بدون اضافة المبيد الى الوسط الزرعي(P.D.A.) وبعدد المكررات نفسها ، حضنت الاطباق لمدة سبعة ايام بدرجة حرارة 25±2 مْ و سجلت النتائج واستخرجت النسبة المئوية للتثبيط كما ذكر في الفقرة 3-7-1-1.

3-7-3 تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي

عقمت تربه مزيجة مع البتموس (2 :1) كما في الفقرة 3-4-3 ووضعت في اصص بلاستيكية سعة1 كغم، واضيف لقاح العزلة الفطرية Fs14 (المنتخبة بناءً على تجربة البذور 3-4 -1 وتجربة الاصص 3-4 -2) والمنمى على بذور الدخن المحلي للمعاملات الحاوية على المسبب المرضي وبنسبة 1% (وزن/ وزن) ثم رطبت التربة وغلفت الاصص باكياس من البولي اثيلين المثقبة لمدة 48 ساعة للمحافظة على الرطوبة، ثم اضيف فطر المقاومة الاحيائية *T. koningiopsis* بنسبة 1%(وزن/ وزن) واضيفت البكتريا *B.velezensis* المنماة على الوسط الزرعي .N.B (بتركيز 10^2)بنسبة 1% (حجم/ وزن) واضيف المعزز الحيوي Biohealth بمقدار 15مل /اصيص (حضر المعزز الحيوي من اضافة 16غم/70 مل ماء)، كما اضيف المبيد الكيميائي Beltanol بتركيز 0.75 وبمقدار 10 مل/اصيص زرعت جميع الاصص بدايات الفلفل صنف Carisma وسقيت بالماء ونفذت التجربة بواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة وكالاتي:

1- مقارنه سليمه.
2- تربة ملوثة بالفطر *F. solani* فقط.
3- تربة ملوثة بالعامل الاحيائي *T. koningiopsis* فقط
4- تربة ملوثة بالعامل الاحيائي *B. velezensis* فقط
5- مبيد Beltanol فقط
6- المخصب الحيوي Biohealt
7- *F. solani* +Beltanol
8- *F. solani*+*T. koningiopsis*
9- *B.velezensis* + *F. solani*
10- *F. solani*+Biohealth
11- *B.velezensis*+*T. koningiopsis*+ *F. solani*

12- *T. koningiopsis*+ Biohealth+ *F. solani*

13- Biohealth+ *F. solani*+ *B.velezensis*

14- Biohealth+ *F. solani*+ *B.velezensis*+ *T. koningiopsis*

15- *B.velezensis* + *T. koningiopsis*

16- *T. Koningiopsis*+ Biohealth .

17- Biohealth+ *B.velezensis*

18- Biohealth+ *B.velezensis*+T. *koningiopsis*

19- *F. solani*+*B.velezensis*+*T. koningiopsis*+Beltanol

20- *F. solani*+ Biohealth + *T. koningiopsis*+Beltanol

21- *F. solani*+ Biohealth+ *B.velezensis* + Beltanol

22- *F. solani*+ Biohealth+ *B.velezensis* + Beltanol +*T. koningiopsis*

23- *B.velezensis* + Beltanol +*T. koningiopsis*

24- *Beltanol* +T. *koningiopsis*+ Biohealth

25- *B.velezensis* + Beltanol+ Biohealth

26- *B.velezensis* + Beltanol+ Biohealth+ *T. koningiopsis*

وبعد مرور 60 يوما تم حساب النسبة المئوية للاصابة كما في المعادلة الواردة في الفقرة 3-4- 3 اعتمد على الدليل المرضي لتقييم شده الاصابة بمرض تعفن الجذور كما ورد في الغزالي (2022) والمشهداني (2022) كما يلي :

0 = جذور سليمه

1= تلون (تعفن) الجذورالثانوية

2= تلون الجذور الثانوية وجزء من الجذور الرئيسة

3= تلون الجذر الرئيس دون تعفن قاعدة الساق

4= تلون الجذر الرئيس وتحلل وتعفن قاعدة الساق

5= موت النبات

تم احتساب النسبة المئوية لشده الاصابة وفق معادلة Mckinney (1923) التي وردت في جابر (2020) ودخيل (2021) وكالاتي :

$$\% \text{ شدة الاصابة} = \frac{\text{مجموع (عدد النباتات في الدرجة × رقم الدرجة)}}{\text{العدد الكلي للنباتات × اعلى درجة}} \times 100$$

4-7-3 تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل في الحقل تحت ظروف البيت البلاستيكي

نفذت هذه التجربة في احد البيوت البلاستيكية التابعة لكلية الزراعة – جامعة كربلاء اذا اضيف المبيد الكيميائي Beltanol لتربة الحقل قبل خمسة اشهر من اجراء التجربة وبعد 10 ايام حرثت التربة ونعمت جيدا واضيف نفس المبيد مرة ثانية للتخلص من المسببات المرضية التي قد تكون موجودة في التربة وحرثت التربة مرة ثانية وتركت لثلاثة اشهر قبل اجراء المعاملات اذ كررت المعاملات المذكورة نفسها في الفقرة 3-7-3 بعد تسوية التربة وتقسيمها الى ثلاثة قطاعات اضيف لقاح الفطر الممرض*F.solani* وكذلك العامل الاحيائي الفطري *T. koningiopsis* المحملة على بذور الدخن كما في الفقرة 3-4-2 الى الجور(التي تم عملها على جوانب كل قطاع المسافة بين جورة واخرى 30 سم) وبثلاثة مكررات لكل معاملة و يحتوي كل مكرر يحتوي على ثلاثة نباتات . واضيف العامل الاحيائي البكتيري *B. velezensis* الى الجور بواقع 30 مل / جورة,اما المخصب الحيوي Biohealth فقد اضيف الى الجورايضا بواقع 30مل /جورة, واضيف المبيد الكيميائي Beltanol سقيا الى المعاملات بمقدار 30مل/ جورة (وبالتركيزواحد مل/لتر) فضلا عن معاملة المقارنة اضيف لها بذور الدخن المعقمة فقط وبعدد المكررات نفسها سقيت المعاملات حسب الحاجة كما اجريت عمليات الخدمة من عزق وتعشيب بين فترة واخرى بعد مرور 15 يوم من اجراء المعاملات تم قياس مستوى انزيم البيروكسديز والفينولات الكلية وفق الطرق الآتية :

- **قياس الفينولات**

سحق واحد غم من أوراق الفلفل باستخدام هاون خزفي بإضافة 10 مل من الميثانول تركيز 80% ثم سخن المستخلص لمدة 30 دقيقة في حمام مائي عند درجة حرارة 45 ° م بعدها رشح بأستخدام ورق ترشيح نوع Whatman No.1 . اخذ واحد مل من المستخلص وأضيف له خمسة مل من الماء المقطر و250 مايكروليتر من كاشف فولن 1 عياري وترك المزيج لحين تطور اللون الأزرق تمت القراءة باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند الطول الموجي 725 نانوميتر(Gailite واخرون ،2005).

- **قياس فعالية انزيم البيروكسديز**

سحق واحد غم من أوراق الفلفل كل معاملة على حدة مع 10 مل من دارئ الفوسفات ذي الاس الهيدروجيني 7 في هاون خزفي ، ثم وضع في انابيب اختبار سعة 10 مل وأخضع الخليط لعملية انتباذ بسرعة 3000 دورة / دقيقة .حفظ الجزء الطافي في درجة صفر °م لحين قياس الفاعلية .

قيست فعالية انزيم البيروكسيديز باختبار كوايكول Guaiacol (Howell واخرون ،2000)

إذ شمل الاختبار تحضير مكونات مزج التفاعل المكون من:

1-محلول الكوايكول بتركيز 0.5 مولاري والمحضر من تخفيف 1.1 مل كوايكول في 250 مل من الماء المقطر .

2- محلول بيروكسيد الهيدروجين $H2O_2$(0.02 مولاري) : حضر بأضافة 0.56 مل بيروكسيد الهيدروجين (تركيزه 30%) في 50 مل ماء مقطر.

3- محلول دارئ ترس Tris حضر بإذابة 1.211 غم مادة ترس مع 14.11 غم كلوريد الصوديوم Nacl مذابة في الماء المقطر، أ كمل الحجم بالماء المقطر إلى 250 مل للحصول على تركيز 0.04 مولاري لمحلول ترس و1 مولاري لكلوريد الصوديوم NaCl ،استخدم حامض الهيدروكلوريد HCL واحد عياري لتعديل الاس الهيدروجيني من 9 الى 7.5 .

4- مزيج التفاعل : خلطت المحاليل من 1-3 مع الماء المقطر وبنسبة 1:1:1 :7 على التوالي للحصول على مزيج التفاعل .

قيست فعالية الانزيم باستخدام المطياف الضوئي (Spectrophotometer)عن طريق وضع خليط مكون من 3 مل من مزيج التفاعل و0.2 مل من مستخلص أوراق الفلفل في خلية الجهاز (Whitakar وBerhard ،1972). سجل التغير الحاصل في امتصاص الضوء عند الطول الموجي 420 نانوميتر في درجة حرارة 30 °م. أخذت النتائج بتسجيل القراءات لثلاث مكررات من كل معاملة وتم حساب فعالية الأنزيم من خلال المعادلة الأتية:

$$\text{فعالية الأنزيم / دقيقة / غم نسيج رطب} = \frac{\triangle \text{أ} \times 3}{\triangle \text{ن}}$$

حيث أن : $\triangle$ أ = التغير في امتصاص الضوء.

$\triangle$ ن = المدة الزمنية للتغير في الامتصاص.

وبعد مرور 90 يوماعلى تطبيق التجربة تم حساب النسبة للاصابة وشدتها (وفق المعادلات المذكورة في الفقرة 3-4-3 و 3-7-3 وبأستخدام نفس الدليل المرضي المذكور في ذات الفقرة)بعدها تم قياس حجم الجذر (من خلال قياس حجم السائل المزاح بعد وضعه في اسطوانة مدرجة حاوية على الماء) وضعت النباتات في اكياس ورقية لغرض تجفيفها في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 70 م^{o} لحين ثبات الوزن الجاف , قيس بعدها الوزن الجاف للمجموع الخضري و الجذري.

3-8 التحليل الإحصائي :

اعتمد التصميم العشوائي الكامل Complete Random Design (C.R.D) لجميع التجارب العاملية أو ذات العامل الواحد ما عدا التجربة في الفقرة 3-7-4 فقد اعتمد فيها تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Complete Random Block Design (C.R.B.D) وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference (L.S.D) وذلك باستعمال برنامج GenStat الاصدار العاشر.

4-النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

4-1 العزل والتشخيص المظهري للفطريات المعزولة من نباتات الفلفل *C. annum* المصابة بتعفن الجذور وموت البادرات

اظهرت نتائج عملية جمع العينات وعزل الفطريات المرافقة لها ان مرض تعفن الجذور متواجد في جميع الحقول المشمولة بالدراسة في محافظة كربلاء خلال موسم النمو للعام 2022 . تمثلت الاعراض المرضية التي ظهرت على نباتات الفلفل بضعف النمو والذبول واصفرار المجموع الخضري و تعفن المجموع الجذري رافقه تلون بني شديد على قاعدة الساق ويمتد الى منطقة التاج وينتج عنه لاحقا تعفن وانسلاخ الجذور وذبول بعض النباتات بأكملها وموتها (شكل1) . اظهرت نتائج عملية العزل والتشخيص وجود فطريات مختلفة تعود الى اجناس عديدة مصاحبة لمرض تعفن الجذور وموت بادرات نبات الفلفل المشمولة بالدراسة . يعزى سبب انتشار المرض بهذه المناطق الى زراعة محصول الفلفل بصورة متكررة او لزراعة محاصيل اخرى تعود للعائلة الباذنجانية في الحقول نفسها ادى ذلك الى تراكم لقاح الفطريات الممرضة والتي تبقى في التربة وملائمة الظروف البيئية خاصة درجات الحرارة او قد يعود السبب الى الاستعمال الواسع و المتكرر للمبيدات الكيميائية مما طور صفة المقاومة للمسببات الممرضة اضافة لعمليات العزق والتعشيب التي تؤدي الى تجريح الجذور مما يهيئها لغزو الفطريات الممرضة (EL-Mougy واخرون ،2011).

شكل(1) :اعراض الاصابة بتعفن جذور الفلفل (A)المقارنة (نبات سليم)(B) و(C) النباتات المصابة.

بينت نتائج عملية التشخيص المظهري للفطريات المعزولة من خلال الفحص المجهري للنموات الفطرية التي ظهرت نتيجة زرع القطع النباتية المصابة على الوسط الزرعي (P.D.A) وبالاعتماد على المفاتيح التصنيفية الموصوفة من قبل Parmeter وWhitney(1970) و Leslie وSummerell (2006) و Watanabe(2018) ان 10 عزلات فطرية مرافقة لمرض تعفن الجذور وموت البادرات تعود الى الجنس *R.solani* و 4 عزلات للفطر *F. oxysporum* و8 عزلات للفطر *M. phaseolina* و14 عزلة للفطر *F.solani* (شكل2) وعزلة واحدة للفطر *A. jodhpurensis* (شكل3) وعزلة للفطر *P.digitatum* وتفوق الفطر*F.solani* في النسبة المئوية لظهوره اذ بلغت 51% (جدول7) تلاه الفطر*R.solani* بنسبة ظهور 16.40 اما الفطريات *M.phaseolina* و*F.oxysporum* و*p. digitatum* و*A. jodhpurensi* فبلغت نسبة ظهورها 15.45 و9.34 و5.40 و 2.41% على التوالي . تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه شنور(2021) و جمعة (2022) والذين وجدوا ان اكثر الفطريات ظهورا والمرافقة لتعفن جذور الفلفل هو *F.solani* . كما تتفق مع محمد (2021) والذي وجد في دراسته ان اكثر الفطريات ظهورا والمرافقة لتعفن جذور الفلفل تعود للجنس *Fusarium* spp. .

جدول 6: النسبة المئوية لتكرار او وجود الفطريات المراقفة لجذورنباتات الفلفل

اسم الفطر	%للتكرار
R. solani	16.4
F.oxysporum	9.34
M.phaseolina	15.45
F.solani	51
A. jodhpurensis	2.41
P. digitatum	5.4

شكل(2): الصفات المظهرية والمجهريه للفطر *F.solani* أ: الصفات المظهرية ب:السبورات الكونيديه

شكل (3) :الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Acrophialophora jodhpurensis*

أ: الصفات المظهرية ب:الصفات المجهريه

2-4 اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة:

1-2-4 اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة على انبات بذور الفلفل في الوسط الزرعي Water Agar

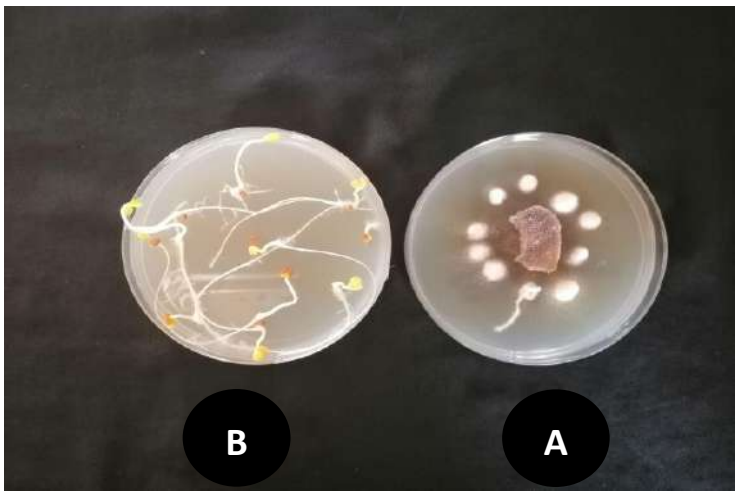
اظهرت نتائج (جدول 8 وشكل 4) ان جميع عزلات الفطريات المختبرة ادت الى خفض معنوي في النسبة المئوية للانبات قياسا بمعاملة المقارنة السليمة التي بلغت النسبة المئوية لانبات البذور فيها 100% وتفوقت العزلات Rh5 وFo3 وFo4 وMp3 وMp5 وFs2 وFs3 وFs6 وFs8 وFs13 وFs14 وAc1 في خفضها للنسبة المئوية للانبات عن باقي العزلات اذ بلغ معدل النسبة المئوية للانبات فيها 0.0% تلتها العزلة Fo2 والتي بلغت نسبة الانبات فيها 3.33% في حين تراوحت النسبة المئوية للانبات لباقي العزلات ما بين5.66- 96.66 % . اتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات منها شنور(2021) و المشهداني (2022) وجمعة (2022) والربيعي (2022) والعامل (2023) . يعد هذا التسجيل الاول للفطر *A. jodhpurensis* كممرض للنبات اذ تشير معظم الابحاث الى انه يستعمل في المكافحة الاحيائية للممرضات النباتية وهو من الفطريات الكيسية ويكون اجسام ثمرية من نوع Perithecia قد يعزى هذا لاختلاف السلالة المعزولة في هذه الدراسة وراثيا عن السلالات الاخرى غير الممرضة (Daroodi وآخرون ، 2022).

جدول7: القدرة الامراضية للفطريات المعزولة على انبات بذور الفلفل في الوسط الزرعي Water Agar

ت	رمز العزلة	% للتثبيط	ت	رمز العزلة	% للتثبيط
1	**مقارنة**	**0.0***	**20**	**Mp5**	100.00
2	**Rh1**	43.33	**21**	**Mp6**	73.33
3	**Rh2**	40.00	**22**	**Mp7**	93.33
4	**Rh3**	30.00	**23**	**Mp8**	90.00
5	**Rh4**	20.00	**24**	**Fs1**	43.33
6	**Rh5**	100.00	**25**	**Fs2**	100.00
7	**Rh6**	56.66	**26**	**Fs3**	100.00
8	**Rh7**	93.33	**27**	**Fs4**	56.66
9	**Rh8**	80.00	**28**	**Fs5**	90.00
10	**Rh9**	36.66	**29**	**Fs6**	100.00
11	**Rh10**	90.00	**30**	**Fs7**	20.00
12	**Fo1**	40.66	**31**	**Fs8**	100.00
13	**Fo2**	69.66	**32**	**Fs9**	93.33
14	**Fo3**	100.00	**33**	**Fs10**	56.66
15	**Fo4**	100.00	**34**	**Fs11**	80.00
16	**Mp1**	30.00	**35**	**Fs12**	60.00
17	**Mp2**	3.33	**36**	**Fs13**	100.00
18	**Mp3**	100.00	**37**	**Fs14**	100.00
19	**Mp4**	56.66	**38**	**Ac1**	100.00
	LSD0.05	**6.63**		**LSD0.05**	**6.63**

*** كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات**

***A.jodhpurensis* :Ac ، *Rh.solani* : Rhs ، *F.oxysporum* :Fo ، *M.phaseolina* :Mp ، *F.solani* :Fs**



شكل (4) A: القدرة الامراضية للفطر *F.solani* (Fs14) ضد بذور الفلفل على وسط الاكار المائي (W.A) ; B: معاملة المقارنة.

2-2-4 القدرة الامراضية للعزلات الفطرية قيد الدراسة على انبات بذور واصابة نبات الفلفل في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي

اظهرت نتائج القدرة الامراضية في الاصص البلاستيكية (جدول 9) ان جميع العزلات الفطرية قيد الدراسة كانت قادرة على اصابة بذور وبادرات الفلفل إذ تراوحت النسبة المئوية للاصابة بين 00.20-100.00% ، واختلفت هذه المعاملات معنويا عن معاملة المقارنة السليمة التي كانت نسبة الاصابة فيها 0.00% , وتفوقت العزلة *F*14 للفطر *F.solani* في مقدرتها الامراضية اذ بلغت النسبة المئوية للاصابة فيها 100% في حين كانت العزلات *Rh*4 و *Fs*7 هي الاقل في مقدرتها الامراضية وبنسبة اصابة بلغت 20% لكل منها وتباينت العزلات الاخرى في مقدرتها الامراضية على بذورونباتات الفلفل اذ ادت هذه العزلات الى تعفن بذور الفلفل قبل الانبات أو موت البادرات وان العديد من انواع الفطر *Fusarium* spp. والفطر *Rhizoctonia* sp. و*M.phaseolina* تسبب مرض تعفن البذور والجذور وموت البادرات على العديد من العوائل النباتية وذلك بسبب طبيعته التطفلية وغزارة نمو الغزل الفطري داخل الانسجة الوعائية الذي يؤدي الى عرقلة وصول الماء والاملاح الى الاوراق فضلا عن تأثير الانزيمات والسموم التي تنتجها الفطريات والتي تلعب دوراً كبيراً في تحليل جدران خلايا النبات ودخول الفطر الى الانسجة النباتية للجذور والبذور والسيقان وقد تؤدي الى منع انباتها او قتل الاجنه (الغزالي ,2022 و المشهداني , 2022) .

تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه التميمي (2019) وشنور (2021) ودخيل(2021) Kashyab واخرون(2022) والعامل (2023) بناء على هذه النتائج اختيرت العزلات Ac1 و Fo3 و Fs14 و Mp5 لتشخيصها جزيئيا واستخدام واحدة منها في التجارب اللاحقة .

جدول 8 : القدرة الامراضية للعزلات ضد بذور الفلفل في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملة	% للاصابة	ت	المعاملة	% للاصابة	ت	المعاملة	% للاصابة
1	مقارنة	0.00*	14	Fo 3	96.66	27	Fs 4	56.66
2	Rh 1	46.66	15	Fo 4	93.33	28	Fs 5	90.00
3	Rh 2	40.00	16	Mp 1	33.33	29	Fs 6	96.66
4	Rh 3	30.00	17	Mp 2	56.66	30	Fs 7	20.00
5	Rh 4	20.00	18	Mp 3	96.66	31	Fs 8	93.33
6	Rh 5	40.00	19	Mp 4	56.66	32	Fs 9	86.66
7	Rh 6	63.33	20	Mp 5	96.66	33	Fs 10	56.66
8	Rh 7	83.33	21	Mp 6	80.00	34	Fs 11	80.00
9	Rh 8	80.00	22	Mp 7	93.33	35	Fs 12	56.66
10	Rh 9	36.66	23	Mp 8	93.33	36	Fs 13	96.66
11	Rh 10	86.66	24	Fs 1	43.33	37	Fs 14	100.00
12	Fo 1	93.33	25	Fs 2	96.66	38	Ac 1	96.66
13	Fo 2	93.33	26	Fs 3	93.33			
LSD0.05		**8.34**	LSD0.05		**8.34**		LSD0.05	**8.34**

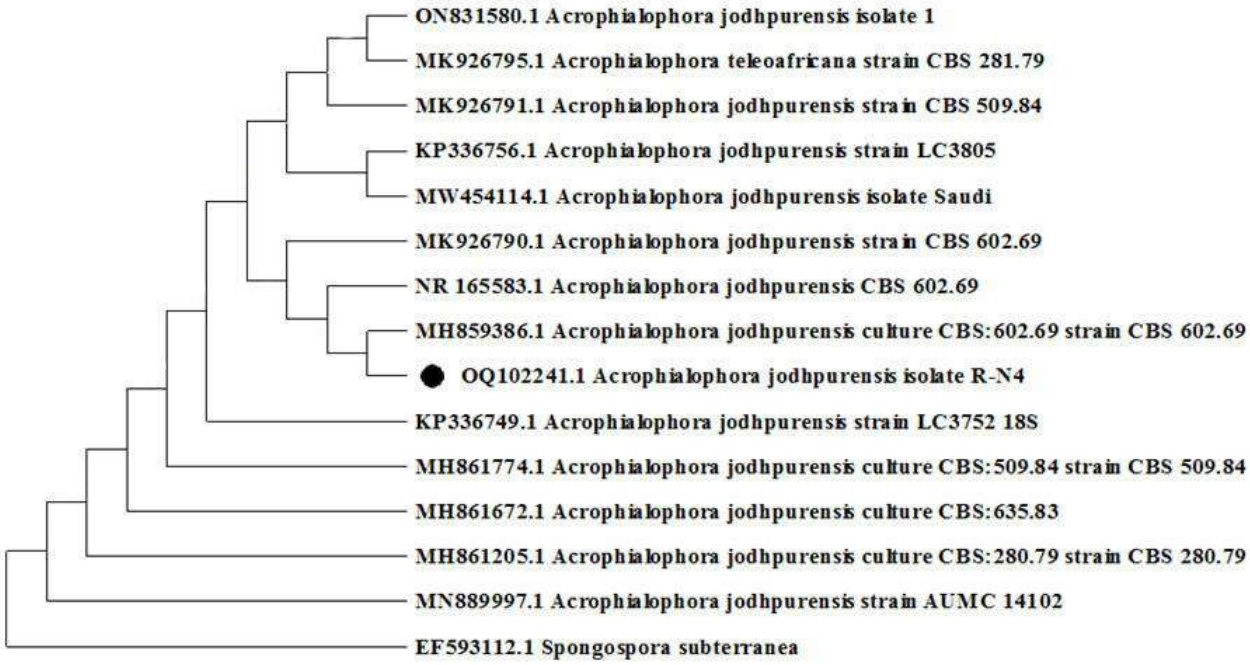
*** كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات**

A.jodhpurensis* :Ac ، *M.phaseolina*: *Mp* ، *F.solani*:*Fs* ، *R.solani*:*Rhs* ، *F.oxysporum*:*Fo

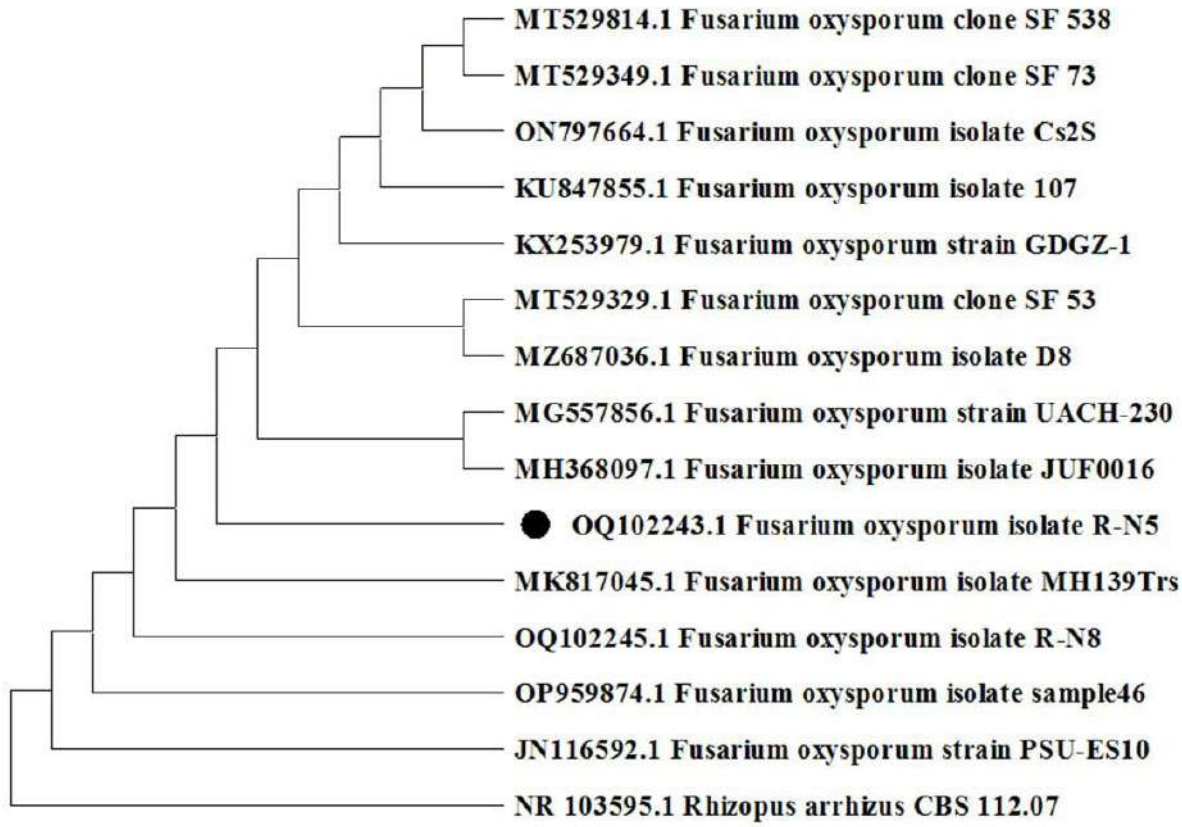
3-4 التشخيص الجزيئي للفطريات الممرضة وبكتريا المقاومة الاحيائية:

أظهرت النتائج أمكانية مضاعفة الحامض النووي بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) وبحجم 550-600 زوج قاعدة نتروجينية وبأستخدام البوادئ ITS1-ITS4 . أظهر تحليل تسلسل القواعد النايتروجينية لناتج الحامض النووي المضاعف بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) ان العزلات الفطرية المعزولة في هذه الدراسة تعود الى الفطريات *A.jodhpurensis* (*Ac*1) (شكل 5) و *F. oxysporum* (*Fo*3) (شكل6) و *F.solani* (*Fs*14) (شكل7) و *M.phaseolina*(*Mp*5) (شكل 8) كما

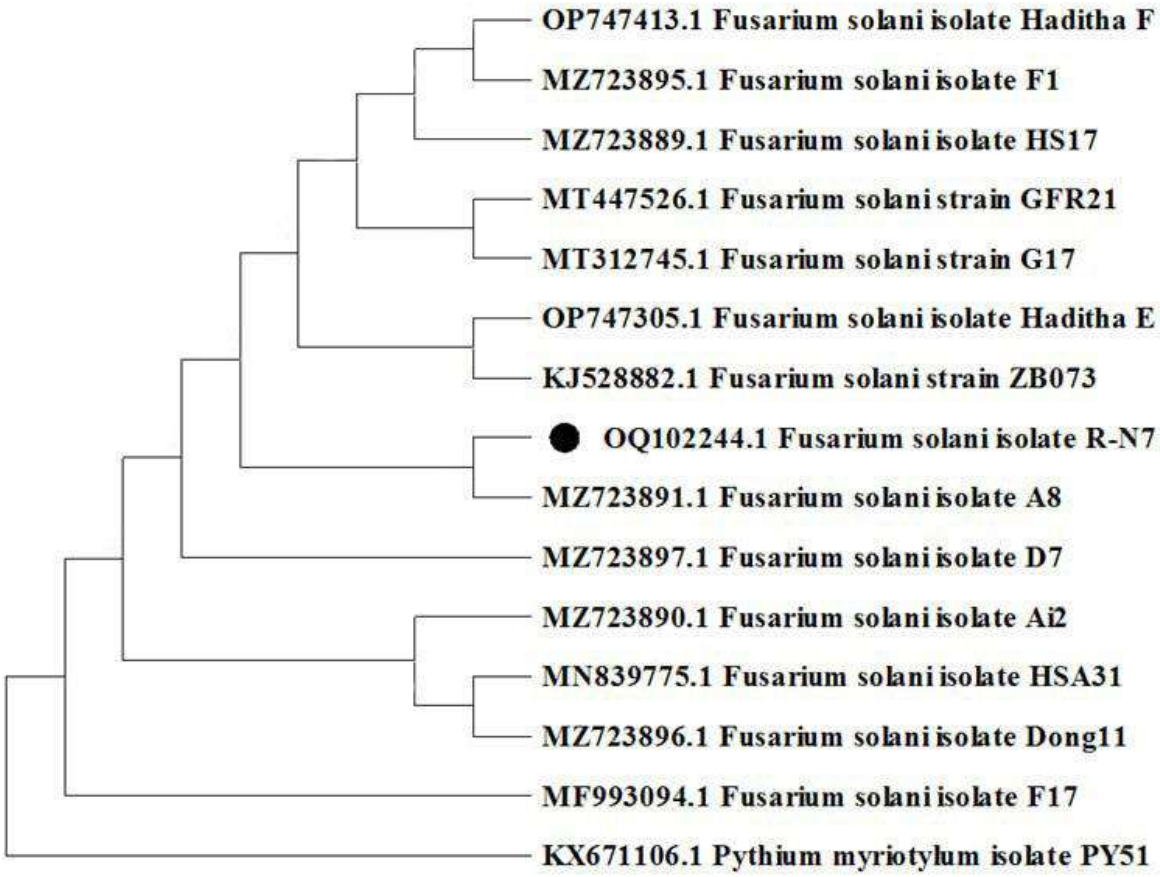
برهنت النتائج وجود نسبة تباين بين العزلات الفطرية المشخصة في هذه الدراسة مع العزلات المشخصة سابقاً والمثبتة في المركز الوطني الامريكي لمعلومات التقانة الحيوية (N.C.B.I) واظهر تحليل تسلسل القواعد النايتروجينية لناتج الحامض النووي المضاعف بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (P.C.R) وبأستخدام البوادئ لمضاعفة الجين 16SrRNAان العزلة البكتيرية المعزولة والمشخصة تعود للبكتريا *B. velezensis* (شكل9) . لذا تم تسجيل هذه العزلات في المركز المذكور وتحت أرقام الايداع OQ102241 وOQ102243 و OQ102244 وOQ102245 وOQ102242 على التوالي.



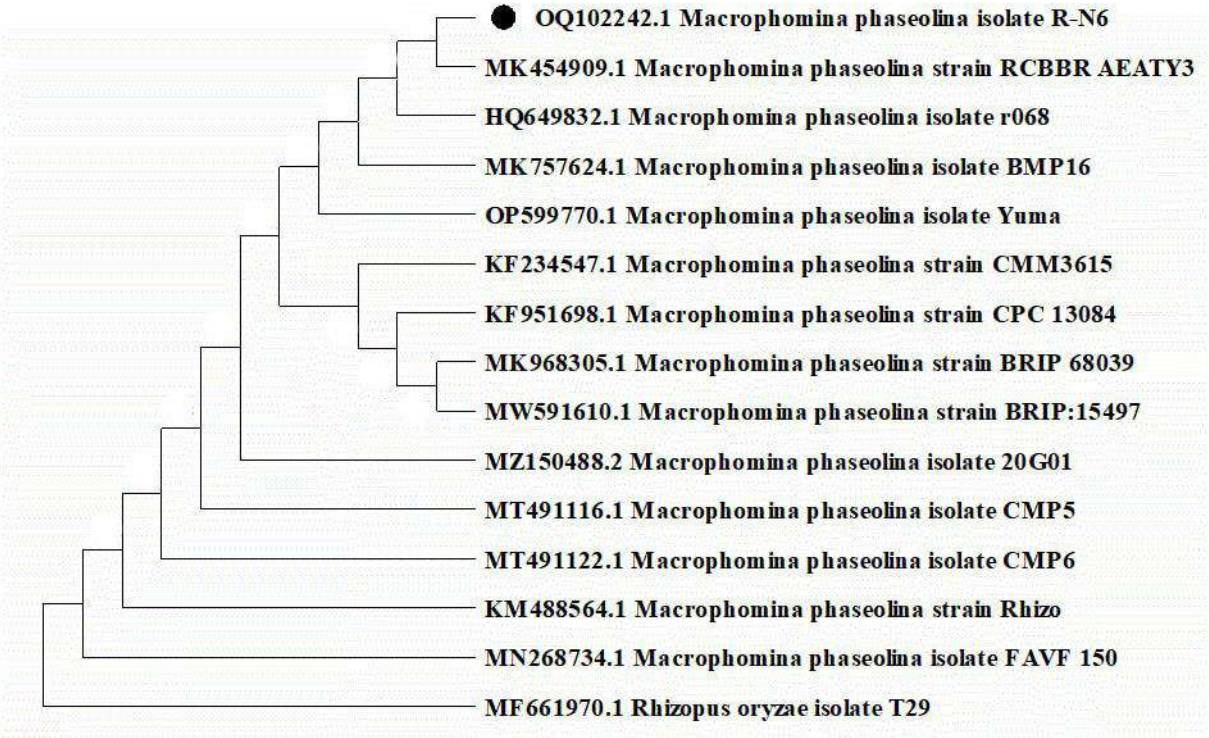
شكل (5): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *A. jodhpurensis* isolate *Ac*1 (محدد بنقطة ذو لون اسود) والتي أنشأت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية للفطرالممرض نفسه تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank. ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining .



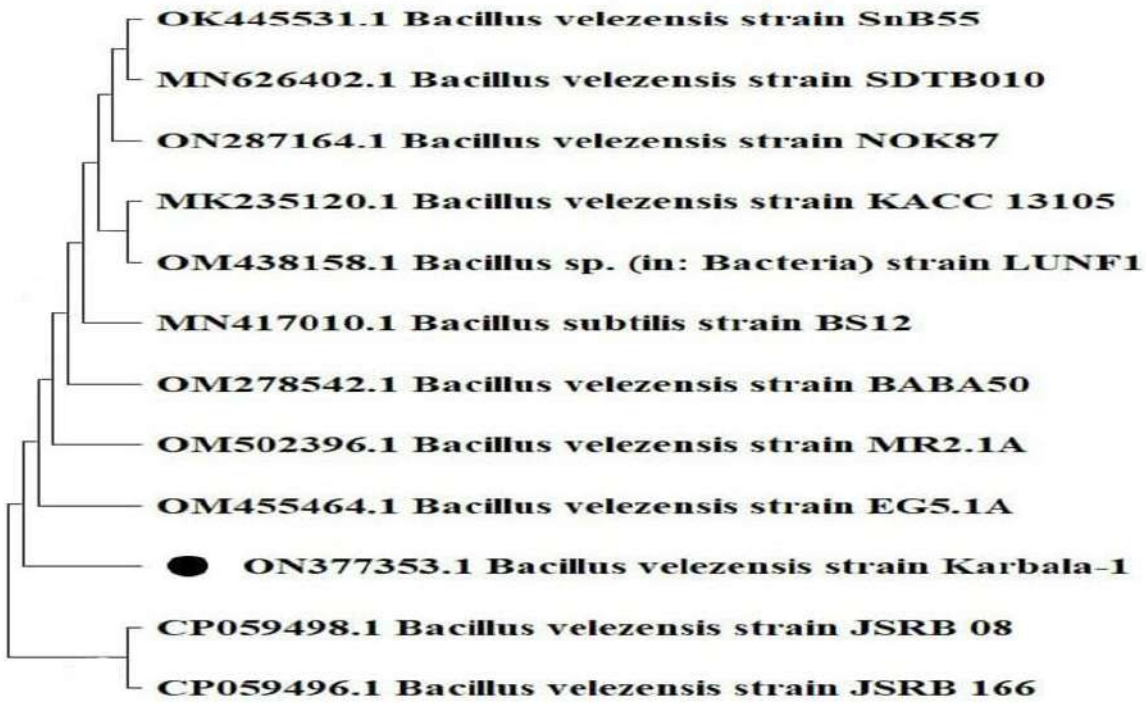
شكل (6):الشجرة الوراثية للفطر الممرض *F. oxysporum* isolate Fo3 (محدد بنقطة ذو لون اسود) والتي أنشأت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية للفطرالممرض نفسه تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank. ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining .



شكل (7): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *F. solani* isolate *Fs*14 (محدد بنقطة ذو لون اسود) والتي أنشأت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية للفطرالممرض نفسه تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank. ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining .



شكل (8): الشجرة الوراثية للفطر الممرض *M.phaseolina* isolate R-N6 (محدد بنقطة ذو لون اسود) والتي أنشأت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية للفطرالممرض نفسه تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank. ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining .



شكل (9) : الشجرة الوراثية للبكتريا *B. velezensis* strain Karbala-1 (محددة بنقطة ذو لون اسود) والتي أنشأت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لجين 16S بالاضافة الى تتابعات سلالات وعزلات عالمية تعود لنفس النوع تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank . ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining ضمن برنامج Genetics Analysis Molecular Evolutionary (MEGA).

4-4 اختبار حساسية بعض اصناف الفلفل للاصابة بالفطرالممرض *F.solani* المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.

اظهرت نتائج (جدول 10) ان الاصناف الاربعة Carisma و Single و Rio و Cayman المستخدمة في هذا الاختبار كانت حساسة للاصابة بالفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن الجذور وموت البادرات قياسا بمعاملة المقارنة السليمة لكل صنف والتي بلغت النسبة المئوية للاصابة في جميعها 0.0% وقد تفوق الصنف Carisma في حساسيته للاصابة بالفطر الممرض وبنسبة اصابة بلغت 99.66% تلاه الصنف Cayman والذي بلغت النسبة المئوية للاصابة فيه 90.66% اما الصنفان Single و Rio فبلغت فيهما 87.66 و 56.33% على التوالي . يعزى اختلاف حساسية هذه الاصناف للاصابة بالفطر الممرض لوجود اختلافات وراثية بين هذه الاصناف وبالتالي اختلاف في كمية ونوعية المركبات التي قد

تعمل كخط صد للمسببات المرضية ومنها مسببات تعفن الجذور . اشارت العديد من الدراسات الى اختلاف في حساسية الاصناف لمعظم محاصيل الفاكهة والخضر تجاه المسببات المرضية وقد أعزي ذلك الى اختلافات تركيبية او كيميائية بين هذه الاصناف (Esfahani وآخرون ، 2014 وCerkauskas ،2017 و العامري ,2021).

جدول 9 : حساسية بعض اصناف الفلفل للاصابة بالفطرالممرض *F.solani* المسبب لتعفن الجذور وموت البادرات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملات	% للاصابة
1	Carisma	0.00*
2	Carisma +Fs14	99.66
3	Single	0
4	Single +Fs14	87.66
5	Rio	0
6	Rio+ Fs14	56.33
7	Cayman	0
8	Cayman+Fs14	90.66
	LSD **0.05**	**1.11**

***كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات ، *F.solani* :Fs**

5-4 مكافحة الفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل

1-5-4 اختبارالمقدرة التضادية للعاملين الاحيائين *T.koningiopsis* و*B. Velezensis* ضد الفطر *F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط الزرعي (P.D.A)

1-1-5-4 العامل الاحيائي *T. koningiopsis*

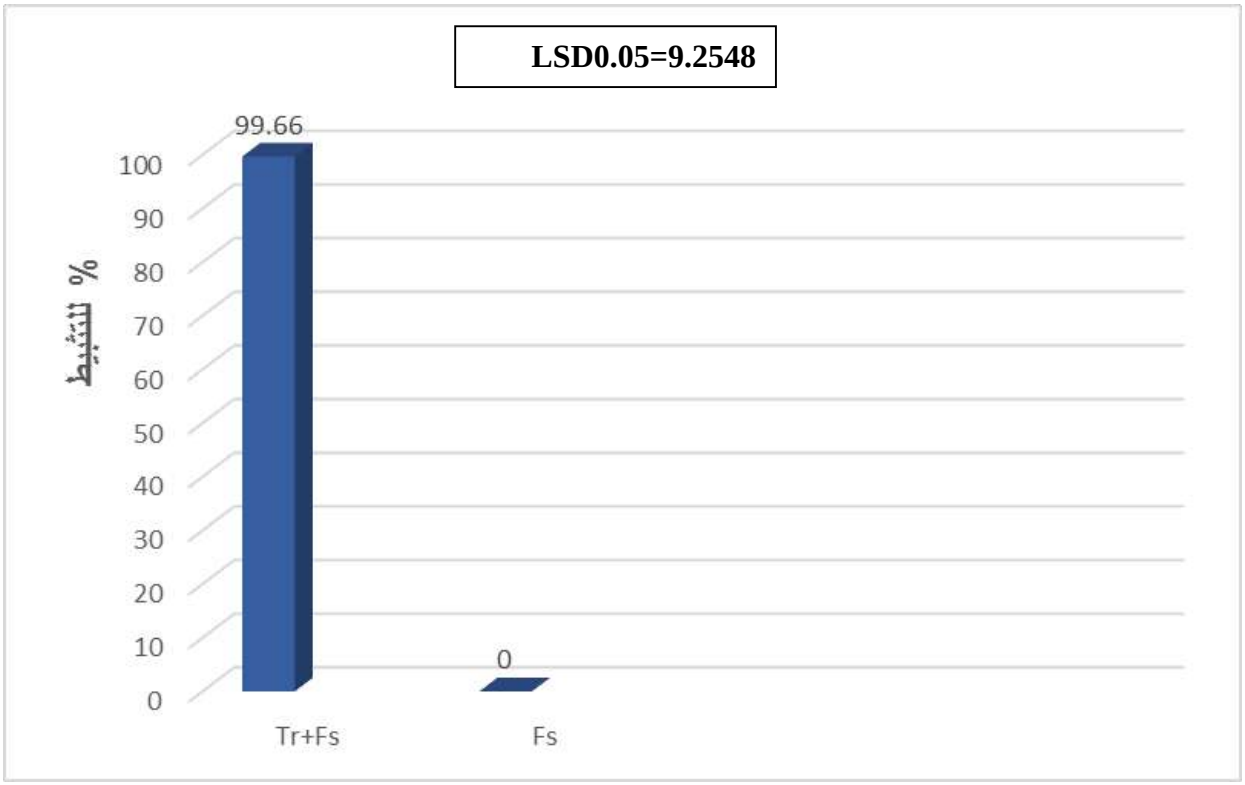
أظهرت نتائج (شكل 10و11) ان الفطر الاحيائي *T. koningiopsis* يمتلك قدرة تضادية عالية المعنوية ضد الفطرالممرض*F. solani* (F14) المعزولة في هذه الدراسة ، اذ بلغت درجة التضاد 1 بحسب مقياس Bell وهذه النتيجة توافقت مع نتائج مقياس Sangoyomi (2004) التي بينت ان هذا العامل الاحيائي كان فعالاً جداً وبنسبة تثبيط 96.66% لنمو الفطر الممرض *F.solani*(F14) قياسا بمعاملة الفطر

الممرض بمفردها والتي بلغت النسبة المئوية للتثبيط فيها 0.00%. ولوحظ ان الغزل الفطري لهذا العامل الاحيائي قد غطى غزل الفطر الممرض وهذا يشير الى حصول نوع من التداخل بين غزول الفطر الممرض والفطرالاحيائي . تتميز العديد من أنواع جنس *Trichoderma* الذي ينتمي اليه هذا العامل الاحيائي بأن خيوطه ذات اقطار صغيرة نسبيا مما يمكنها من الالتفاف حول خيوط الفطريات الممرضة وتكوينها تراكيب ضاغطة وبمساعدة بعض الانزيمات المحللة التي يفرزها مثل Proteases و Cellulases وChitinases يتمكن من تحليل جدران الخلايا الفطرية ومن ثم اختراقها والتطفل عليها (Tyskiewicz وآخرون ، 2022 و Metz و Hausladen ،2022 والغزالي ,2022 و المشهداني ,2022 و Guzman -Guzman و آخرون ،2023) .

اثبت دراسات اخرى فعالية عزلات الفطر *Trichoderma* spp. في تثبيط نمو الكثير من مسببات الامراض النباتية مختبريا وحقليا اذ أظهرت دراسة قام بها Ruangwong واخرون (2021) الكفاءة العالية لسلالة الفطر *T. koningiopsis* PSU3-2 ضد مرض ألانثراكنوز ما بعد الحصاد على الفلفل الحار المتسبب عن الفطر*Colletotrichum gloeosporioides* وكانت اكثر السلالات فعالية اذ بلغت نسبة التثبيط 79.57٪ التي 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 فضلا عن انتاجها بعض المركبات العضوية المتطايرة كما وجدت بعض المركبات المضادة للفطريات مثل Ethyl hexadecanoate و Azetidine و 2-phenylethanol بالاضافة الى 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 R-S 1 و2 أظهرت هذه المركبات بعض الأنشطة المضادة للفطريات المسببه لأمراض النبات مثل *F. flocciferum* و *F. oxysporum* (Hu واخرون ،2017). كذلك اثبتت دراسة اجراها You واخرون (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 . بينت النتائج التي توصل اليها Miguel- Ferrer وآخرون (2021) ان استخدام سلالتين من الفطرين *T.harzianum*(TH4) و*T.koningiopsis*(TK11) ادت الى تثبيط نمو الفطر *F.solani* المسبب لتعفن جذور الفلفل الحار في الوسط الزرعي وفي الاصص البلاستيكية وبنسبة 53.3% وزيادة في نسبة انبات البذور بلغت 82%. وجد You وآخرون (2022) عند استخدام السلالة T-51 من فطر المقاومة الاحيائية *T. koningiopsis* ضد الفطريات *Botrytis cinerea* و *F.oxysporum* ادى الى تثبيطهما بنسبة 73.78% و 43.68%

على التوالي اذ عمل فطر المقاومة على تأخر انبات كونيديات الفطرين الممرضين وقمع استطالة 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 دخيل (2021) والعامري (2021) و AL-Abedy واخرون (b) (2021) والغزالي (2022) والمشهداني (2022) و Behiry و آخرون (2023) . يعود الفطر *T.koningiopisis* الى انواع الجنس *Trichoderma* وهومن 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 وقمع نموه فهو يحتوي على إنزيمات تعمل على تحلل جدران الممرضات النباتية مثل Chitinase و Proteasesو β-13-glucanase وProteases و Srineprotase (Haggag و AbdEl-khair،2006).

شكل (10) : اختبار القدرة التضادية للعامل الاحيائي *T. koningiopsis* ضد الفطر*F.solani* المسبب لتعفن جذور الفلفل أ=الفطرالممرض+ *T. koningiopsis* ، ب=الفطر الممرض بمفرده



شكل (11) : النسبة المئوية لتثبيط الفطر *F.solani* المسبب لتعفن جذور الفلفل بواسطة العامل الاحيائي *T. koningiopsis* على الوسط الزرعي (P.D.A)

2-1-5-4 العامل الاحيائي *B.velezensis*

اظهرت نتائج (جدول 11 وشكل 12) قدرة البكتريا *B. velezensis* في تثبيط نمو الفطر*F.solani* (F14) المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل والمعزول في هذه الدراسة على الوسط الزرعي (P.D.A) .اظهرت البكتريا *B. velezensis* أعلى تأثير لها عند التراكيز 10^1و10^2 في نمو الفطر الممرض اذا بلغت النسبة المئوية للتثبيط 100% قياسا بمعاملة الفطر الممرض والذي بلغ معدل قطر مستعمرة الفطر فيه 9سم وبنسبة تثبيط 100% اما التركيز 10^3 فقد ادى الى تثبيط نموالفطر الممرض وبنسبة 94.4% في حين اعطى التركيز 10^8 اقل تأثير في نمو الفطر الممرض وبنسبة تثبيط 13.3% . اظهرت النتائج ان هنالك تناسبا طرديا بين النسبة المئوية لتثبيط النمو و تركيز البكتريا . يعزى تأثير البكتريا *B. velezensis* في الفطر الممرض لقدرتها على افراز عدد كبير من الانزيمات والمواد والمركبات منها Protease و Cellulase وβ -1,3-Glucanase وChitinase وIndole-3- acetic acid(IAA) وSiderophore و1-aminocyclopropane -1-carboxylate Deaminase (ACC) فضلا عن انتاجها لعدد من المضادات الحيوية مثل Surfactin و Iturin و Fengycin . كما ان لهذه البكتريا القدرة على انتاج مستقلبات ثانوية (مواد ايض ثانوية) Phosphate و Pectinase و Chitinase و Hydrogen

(HCD) cyanide . كما تمتلك هذه البكتريا قدرة وراثية عالية على تصنيع الببتيدات الدهنية الحلقية مثل Bacillomycin-D وFengycin و Bacillibactin و Polyketides ومنها Macrolactin و Bacillaene وDifficidin . أتفقت هذه النتائج مع نتائج عدد من الدراسات والتي اكدت فاعلية البكتريا *B. velezensis*. في تثبيط نمو عدد كبير من المسببات المرضية للنبات(Sawant وآخرون ، 2022 وZhou وآخرون ،2022 وFeng وآخرون ،2022) . بناءا على نتائج هذا الاختبار اختير التركيز 10^2 وحدة تكوين مستعمرة/مل لاستخدامه في التجارب اللاحقة.

جدول 10 : القدرة التضادية للعامل الاحيائي *B. velezensis* ضد الفطر*F.solani* المسبب لتعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط الزرعي (P.D.A)

التخفيف	معدل قطر مستعمرة الفطر(سم)	% للتثبيط
10^0	9.00	0.00
10^{-1}	0.00	100.00
10^{-2}	0.00	100.00
10^{-3}	0.50	94.4
10^{-4}	1.40	84.4
10^{-5}	2.20	75.5
10^{-6}	4.00	55.5
10^{-7}	6.30	30.0
10^{-8}	7.80	13.3
LSD0.05	0.3355	4.5939

*كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات

شكل(12) : القدرة التضادية للعامل الاحيائي *B. velezensis* ضد الفطر*F.solani* المسبب لتعفن جذور وموت بادرات الفلفل على الوسط (P.D.A)

2-5-4 تقييم كفاءة المبيدات Beltanol و Tabsin و Metchazole ضد الفطرالممرض *F. solani* (*F*14) المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)

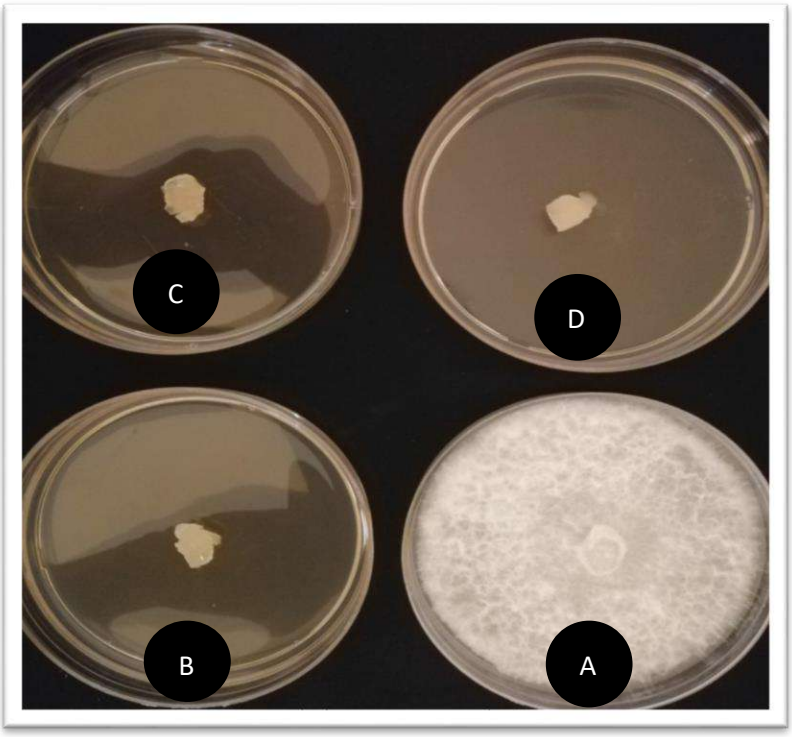
أظهرت نتائج (جدول 12) ان جميع المبيدات الكيميائية المستخدمة في مكافحة الفطر الممرض *F.solani* (*Fs*14) مختبريا بطريقة تسميم الوسط الزرعي (P.D.A) أدت الى تثبيط نمو الفطر وتباينت المبيداتBeltanol و Metchazole وTabsin في تأثيرها في الفطر الممرض اذ تفوق المبيد الكيميائي Beltanol وادت جميع التراكيز المستخدمة من هذا المبيد (0.75 و 1.00 و1.25 مل/لتر)الى تثبيط نمو الفطر الممرض وبنسبة 100 % (شكل 13) قياسا بمعاملة المقارنة والتي بلغت نسبة التثبيط فيها 0.0% ,في حين ادى التركيز الموصى به من المبيدين الكيميائيين Metchazol وTabsin وهو واحد غم /لتر الى تثبيط الفطر الممرض بنسبة 77.7 و 66.23% على التوالي . بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطر *F.solani* عند التركيز 0.75غم/لتر و 74.03 و 53.66% للمبيدين على التوالي واختلفت هذه النسب معنويا في تثبيطها للفطر الممرض عند استخدام التركيز 1.25مل /لتر ولكلا المبيدين اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط فيهما 85.50 و 72.93% على التوالي . أتفقت نتائج هذه الدراسة مع جابر (2020) اذ وجد حصول التثبيط التام للفطر .*Fusarium* spp عند استخدام مبيد Beltanol بتركيز واحد مل / لتر في حين قل التأثير التثبيطي مع بعض انواع .*Fusarium* spp الممرضة عند استخدام 10 % من التركيز الموصى به اذ انخفض التأثير التثبيطي للمبيد و بلغ 88.23 % مع الفطرين الممرضين *F.cerealis* و *F.culmorum* بينما بلغت نسبة التثبيط 0% في معاملة المقارنة . كما أتفقت هذه الدراسة مع المشهداني(2022) والتي اظهرت نتائج دراستها كفاءة هذا المبيد وتحقيقه نسبة تثبيط 100% لنمو الفطريات الممرضة *R.solani* (Rs16) و*F. solani* (F3) و *Ectophoma multirostrata* (E2) عند استخدامه بالتراكيز اقل واعلى من التركيز الموصى به وتتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي اظهرت الكفاءة العالية للمبيد الكيميائي Beltanol في تثبيط نمو عدد كبير من الممرضات النباتية الفطرية والبكتيرية(دخيل ,2021 و العامري , 2021 والغزالي ,2022) . قد يعزى تأثير المبيد الكيميائي Beltanol 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 والغزالي ،2022) اذ تعد المادة الفعالة في المبيد وهي 8-Hydroxyquinoline ذو كفاءة عالية ضد مدى واسع من الفطريات الممرضة للنبات . 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 غشاء الخلية وتسرب محتوياتها الى الخارج وتثبيط تكوين وانبات الاجسام الحجرية (

Yinواخرون، 2020 و De Sonza واخرون ، 2021) . لاتتفق هذه النتائج مع ما وجده Kongcharoen واخرون (2020) عند استخدام المادة الفعالة في مبيد Tabsin(Thiophase methes) ضد الفطريات *Pyricularia oryzae* و *Bipolaris oryzae* و *Curvularia lunata* و *Fusarium incartanum* المسببة لامراض الرز اذ سبب هذا المبيد تثبيطا منخفضاً لنمو الفطريات الممرضة إذ بلغ 32-33 % عند استخدامه بالجرعة الموصى بها مقارنة بمبيدات اخرى مثل Mancozab و Fluopyrom و Carbendazin التي كانت اكثر فعالية في تثبيط نمو الفطريات الممرضة. وجد مطر (2012) ان مبيد Metchazole (Hymenozol) كان اقل المبيدات الكيميائية المستخدمة في الدراسة كفاءة في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum* f.sp.*lycopersici* ولم تتجاوز نسبة التثبيط 75 % عند استخدامة بتركيز 1000جزء بالمليون . بناء على نتائج هذه التجربة اختير المبيد Beltanol لاستخدامه في التجارب اللاحقة.

جدول 11 : تقييم كفاءة المبيدات Beltanol و Metchazole و Tabsin ضد الفطرالممرض *F. solani* (*F*14) المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الفلفل في الوسط الزرعي (P.D.A)

المبيدات / التركيز مل/لتر	%لتثبيط الفطر بالمبيدBeltanol	%لتثبيط الفطر بالمبيد Metchazol	%لتثبيط الفطر بالمبيدTabsin	معدل التراكيز
مقارنة	0.00	0.0	0.0	0.00
0.75	100.00	74.03	53.66	75.89
1.0	100.00	77.70	66.23	81.31
1.25	100.00	85.50	72.93	86.14
معدل الفطريات	75.00	60.05	48.20	
L.S.D0.05	التركيز	المبيدات	التداخل	
	0.8333	0.7217	1.4434	

*كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات



شكل(13) : كفاءة المبيد الكيميائي Beltanol بالتراكيز 0.75 و1.0 و1.25 مل/لتر في تثبيط نمو الفطر *F.solani*(*Fs*14) في الوسط الزرعي (P.D.A) مقارنة بمعاملة السيطرة(بدون مبيد).

A: مقارنة ، Beltanol : B بتركيز0.75 ، Beltanol : C بتركيز 1.00 ،Beltanol:D بتركيز 1.25

3-5-4 تأثير المبيد الكيميائي Beltanol في نمو عزلات الفطر*T.koningiopisis* والبكتريا *B.velezensis* مختبرياً بطريقة تسميم الوسط الزرعي (P.D.A)

اظهرت نتائج (جدول 13) وجود فروق معنوية بين التراكيز الموصى بها والتراكيز الاقل للمبيد Beltanol المستخدم في هذه التجربة في تأثيره التضادي على عوامل المقاومة الاحيائية *T.koningiopisis* و *B.velezensis* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط عند استخدام التركيز الموصى به (1.00مل/لتر) من مبيد Beltanol 0.45 و0.34 % على التوالي واختلفت هذه النسب معنويا عند استخدام اقل من التركيز الموصى به (0.75 مل/لتر)في تأثيرها في الفطر *T.koningiopisis* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 0.22 ولم تختلف معنويا في تأثيرها في البكتريا *B.velezensis* اذ بلغت فيها 0.32% قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت النسبة المئوية للتثبيط 0.0%. يتبين ان تأثير المبيد في العوامل الاحيائية طفيف سواء بالتراكيز الموصى بها او الاقل منها وبالتالي امكانية استخدام التكامل بين المبيدات الكيميائية بالتراكيز الموصى بها وعوامل المكافحة الاحيائية في تجارب المكافحة في نفس الوقت .

جدول 12: تأثير المبيد الكيميائي Beltanol في نمو عزلات الفطر*T.koningiopisis* والبكتريا *B.velezensis* مختبرياً بطريقة تسميم الوسط الزرعي (P.D.A)

التركيز / %للتثبيط	*T.koningiopisis*	*B.velezensis*	معدل التركيز
0.75 ml	0.22*	0.32	0.27
1 ml	0.45	0.34	0.39
مقارنة	0	0	0
معدل المعاملة	0.22	0.22	
L.S.D0.05	**التراكيز**	**المعاملة**	**للتداخل**
	0.034	0.028	0.048

*** كل رقم في الجدول يمثل معدل لثلاث مكررات.**

يعزى انخفاض تأثر الفطر *T.koningiopisis* والبكتريا *B.velezensis* بالمبيد الكيميائي Beltanol الى قدرتها على تحمل (Tolerant) او مقاومة (Resistance) فعل المبيدات وهذا يتفق مع ما ذكره Alwan وSukkar (2010) و اللوباوي واخرون (2018) ان فطر وبكتريا المقاومة الاحيائية يقومان بإفراز أنزيمات خاصة بأيض المبيدات تؤدي عملها بطريقتين مترابطتين يتم في الأولى تغير التركيب الجزيئي للمبيد ليصبح اقل سمية من المادة الاصلية. أما في الثانية فيتم تحويل التركيب الجزيئي إلى مركب أكثر قطبية وعندها يصبح أكثر ذوباناً في الماء ويمكن التخلص منه إلى خارج الجسم حيث تكون معظم المبيدات الكيميائية غير ذائبة في الماء ونتيجة أكسدتها أو تحللها مائيا يساعد على إدخال مجاميع قطبية إلى الجزيئ ليصبح أكثر ذوبان في الماء و مهيئاً للدخول في تفاعلات أخرى تدعى هذه الخطوة بالأيض الأولي وفي معظم الأحيان يتم ارتباط المركب الناتج من الأيض الأولي بمركبات طبيعية داخل أنسجة الكائن كالسكريات. تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Gurikar واخرون (2014) والعامري(2021) .

4-5-4 تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي

أظهرت النتائج (جدول 14) ان جميع المعاملات المستخدمة ادت الى خفض النسبة المئوية للاصابة وشدتها والناتجة عن الاصابة بالفطر الممرض *F.solani* المسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات الفلفل قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 100.0% و 86.60 % على التوالي وتفوقت معاملة التكامل بين جميع العوامل بوجود الفطر الممرض(*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*)معنويا على المعاملات الاخرى في خفض النسبة المئوية للاصابة وشدتها اذ بلغت 0.00% لكلاهما ولم تختلف هذه المعاملة عن معاملة المقارنة السليمة وكذلك المعاملات الاخرى بدون وجود الفطر الممرض وبلغت النسبة المئوية للاصابة وشدتها في جميعها 0.00% تلتها وبفارق معنوي معاملتي *F.s*+Bio+*B.v*+*T.k* و *F.s*+*B.v*+*T.k*+Bel وبنسبة وشدة اصابة بلغت في كلاهما 8.00% و3.33 % على التوالي وتراوحت النسبة المئوية للاصابة في المعاملات الاخرى بين 9.00 – 30.00% وشدة الاصابة بين 6.66 – 20.66% . أتفقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي توصلت الى ان استخدام اكثر من عامل مكافحة يكون له تأثير اكبر في خفض نسبة وشدة الاصابة بالعديد من المسببات المرضية من خلال الفعل التآزري لهذه العوامل مجتمعة والتي يكون لها تأثير تثبيطي للمسببات المرضية فضلا عن دورها في تحفيز المقاومة الجهازية في النبات ضد المسببات المرضية من خلال انتاج البروتينات التي لها علاقة بالامراضية والفايتوالكسينات فضلا عن تحفيز النبات على النمو من خلال انتاج مركبات ومواد مثل منظمات النمو (الغزالي ,2022 و المشهداني , 2022 و جمعة ,2022 و العامل ,2023).

جدول 13: تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *Capsicum annum* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي

ت	المعاملات	%نسبة الاصابة	%شدة الاصابة
1	مقارنة	0.00*	0.00
2	*F.s*	100.00	86.60
3	*T.k*	0.00	0.00
4	*.B.v*	0.00	0.00
5	Bel	0.00	0.00
6	Bio	0.00	0.00
7	*F.s*+Bel	26.00	15.33
8	*F.s*+*T.k*	26.50	16.66
9	*F.s*+*B.v*	26.00	14.66
10	*F.s*+Bio	30.00	20.66
11	*F.s*+*B.v*+*T.k*	13.00	8.33
12	*F.s*+Bio+*T.k*	16.00	10.66
13	*F.s*+Bio+*B.v*	17.00	12.33
14	*F.s*+Bio+*B.v*+*T.k*	8.00	3.33
15	*B.v*+*T.k*	0.00	0.00
16	*T.k*+Bio	0.00	0.00
17	Bio+*B.v*	0.00	0.00
18	Bio+*B.v*+*T.k*	0.00	0.00
19	*F.s*+*B.v*+*T.k*+Bel	8.00	3.33
20	*F.s*+Bio+*T.k*+Bel	11.00	6.66
21	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel	9.00	6.66
22	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*	0.00	0.00
23	*B.v*+*T.k*+Bel	0.00	0.00
24	Bel+*T.k*+Bio	0.00	0.00
25	Bel+*B.v*+Bio	0.00	0.00
26	Bel+*B.v*+Bio+*T.k*	0.00	0.00
	LSD0.05	**0.45**	**0.46**

***كل رقم في الجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات**

Fs: *F.solani* و *B. velezensis*:*B.v* و *T.koningiopsis* :*T.k* و Biohealth:Bio و Beltanol :Bel

4-5-5 تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل *Capsicum annum* تحت ظروف البيت البلاستيكي

4-5-5-1 التأثير في النسبة المئوية للاصابة وشدة الاصابة

بينت النتائج (جدول 15) ان جميع المعاملات المستعملة في مكافحة الفطر *F.solani* المسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات الفلفل ادت الى خفض نسبة وشدة الاصابة قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده الذي بلغت النسبة المئوية للاصابة وشدتها فيها 100.00%, 93.33% على التوالي ، وتفوقت معاملة التكامل بين جميع العوامل المستخدمة(*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*) معنويا على المعاملات الاخرى في خفض نسبة وشدة الاصابة بالمرض اذ بلغت 0.00% لكليهما ولم تختلف هذه المعاملة معنويا عن معاملة المقارنة السليمة التي بلغت فيها 0.00% وتلتها معاملة (*F.s*+*B.v*+*T.k*+Bel) التي حققت 18.00% و11.33 % على التوالي وتراوحت النسبة المئوية للاصابة في المعاملات الاخرى بين 19.00%- 50.00% في حين تراوحت النسبة المئوية لشدة الاصابة بين 12.33- 46.00% . قد يعزى تاثير الفطر *F.solani* في نبات الفلفل الى انتاجه عدد من الانزيمات المحللة لجدران خلايا العائل والتي لها دوركبير في عملية اختراق العائل النباتي ومنها Chitinase و Cellulase و Protinase المحللة للصفيحة الوسطى للجدار الخلوي ولهذه الانزيمات دورا رئيسا في تطفل الفطر على الخلايا الحية(Mezzomoواخرون، 2019) . كذلك ينتج بعض السموم منها Fusaric acid وJavanicin و Polypeptide toxinو Zearalenone و Nivalenol و Deoxynivalenol والتي لها دورا في احداث المرض إذ تؤثر هذه السموم في نفاذية أغشية الخلايا أو تثبط عمل الانزيمات وإعاقة التفاعلات الانزيمية في عملية الفسفرة التأكسدية للنبات أوتعمل كمضادا ايضيا يؤدي الى نقص أحد عوامل النمو الضرورية لنمو النبات(Azliza وآخرون ,2014 وPodgorska-Kryszezuk وآخرون 2022) . فضلا عن انتاجه انزيمات محللة للبكتين كأنزيم Pecti methyl esterase وPolychalactouronase التي تعمل على تحليل مركبات البكتين غير الذائبة والفينولات (Akrami ،2015) . اما تفوق معاملة التكامل بين جميع العوامل المستخدمة فيعزى الى التآزر بينها في كبح المسبب المرضي وبالتالي خفض نسبة وشدة الاصابة الى 0.00% اذ تنتج الانواع التابعة للفطر.*Trichoderma* spp عددا من الانزيمات المحللة منها Chitinases وβ-glucanases وCellulases وGlucanase التي تحلل جدران خلايا المسببات المرضية كونها تحتوي على المواد Chitine وGlucane و Protein مما يسمح باختراقها والبدء بفعالية الاستعمار والتطفل عليها (Hermosa واخرون ،2012 و Tyskiewicz وآخرون 2022) فضلا عن انتاجه انزيمات Proteases وSrineprotase 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 وAbdEl-khair ،2006 و Hassan وآخرون ،2021 وكسوب ,2022). فضلا عن انتاجه عددا من المضادات الحيوية منها Peptaibols و Polyketides و Steroids و Trichorzianines و Alamethicine Trichodermin و Suzukacillin التي تعمل على منع تنشيط نمو الخيط الفطري للمسبب المرضي المنافس و تثبيط أنتاجه للابواغ (Xie وآخرون , 2021) . كما ان سرعة نموانواع الفطر *Trichoderma* spp. العالية وطاقته التكاثرية الكبيرة والتي تمكنه من التنافس والتغلب على الفطريات الممرضة في اشغال الحيز البيئي المحيط بجذور النباتات من خلال اقامة علاقة تكافلية معها وبالتالي توفير الحماية لها من إلاصابة بمسببات امراض النبات الكامنة في التربة وهذا بدورة سوف ينعكس إيجاباً على حيوية النباتات (Benitez واخرون،2004 و المشهداني , 2022). كذلك تتطفل بعض انواع الفطر *Trichoderma* spp. على العديد من الفطريات الممرضة بسبب صغر اقطار خيوطه الفطرية (1.5- 3 مايكرون) مقارنة باقطار خيوط الفطريات الممرضة (5- 7 مايكرون) مما يجعله اكثر قابلية على التطفل (Lahlali وآخرون 2022) . يعود سبب فعالية البكتريا *B. velezensis* لانتاجها البكتريوسينات والمركبات العضوية المتطايرة والتي تلعب دورا مهما في تثبيط نمو العوامل الممرضة وتعزيز نمو النبات (Rabbee وآخرون ،2019). يمكن ان تعمل المستقلبات التي تنتجها البكتريا *B. velezensis* الى استحثاث المقاومة الجهازية في النبات وبالتالي تحفيز النبات على الدفاع عن نفسه ضد الهجمات المتكررة من قبل الكائنات الممرضة الدقيقة (Sawant وآخرون،2022). اما المعزز الحيوي Biohealth فتعزى فاعليته الى العناصر الداخلة في تكوينه(*B.subtilis* و *T.harzianum* والطحالب البحرية والهيومك اسد) وكل من هذه المكونات تعمل بطرائق مختلفة لاضعاف والقضاء على المسبب المرضي فضلا عن تحفيز نمو النبات وزيادة مقاومته للمسببات المرضية المختلفة(Toledo وآخرون ،2023).

جدول 14: تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في نسبة وشدة الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملات	%نسبة الاصابة	%شدة الاصابة
1	مقارنة	0.00*	0.00
2	*F.s*	100.00	93.33
3	*T.k*	0.00	0.00
4	*.B.v*	0.00	0.00
5	Bel	0.00	0.00
6	Bio	0.00	0.00
7	*F.s*+Bel	30.00	26.66
8	*F.s*+*T.k*	46.00	40.00
9	*F.s*+*B.v*	40.00	33.33
10	*F.s*+Bio	50.00	46.00
11	*F.s*+*B.v*+*T.k*	30.00	20.00
12	*F.s*+Bio+*T.k*	36.00	26.66
13	*F.s*+Bio+*B.v*	37.00	28.66
14	*F.s*+Bio+*B.v*+*T.k*	20.00	13.33
15	*B.v*+*T.k*	0.00	0.00
16	*T.k*+Bio	0.00	0.00
17	Bio+*B.v*	0.00	0.00
18	Bio+*B.v*+*T.k*	0.00	0.00
19	*F.s*+*B.v*+*T.k*+Bel	18.00	11.33
20	*F.s*+Bio+*T.k*+Bel	20.00	13.33
21	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel	19.00	12.33
22	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*	0.00	0.00
23	*B.v*+*T.k*+Bel	0.00	0.00
24	Bel+*T.k*+Bio	0.00	0.00
25	Bel+*B.v*+Bio	0.00	0.00
26	Bel+*B.v*+Bio+*T.k*	0.00	0.00
	LSD0.05	**0.56**	**0.75**

***كل رقم في الجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات Fs:*F.solani* و B.v *B.velezensis* و *T.k*:*T.koningiopsis* و Bio:Biohealth و Bel : Beltanol .**

2-5-5-4 التأثير في بعض معايير النمو

اوضحت النتائج (جدول 16) ان جميع المعاملات ادت الى زيادة الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري وحجم المجموع الجذري قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده والذي بلغ فيه 17.9 غم و0.52غم و0.44غم و 0.004غم و 1.00مل على التوالي . تفوقت معاملة التكامل بين جميع العوامل بدون وجود الفطر الممرض(Bel.+*B.v*+Bio+*T.k*) معنويا على المعاملات الاخرى في زيادة معايير النمو اذ بلغت 49.00غم و27.80غم و 5.31غم و2.93غم و 19.20مل على التوالي ولم تختلف هذه المعاملة معنويا عن معاملة Bio+*B.v*+*T.k* وبلغت معايير النمو فيها 48.33غم و27.20غم و 5.00غم و 2.84غم و 19.00مل على التوالي . كذلك تفوقت هذه المعاملة على المعاملات الاخرى بوجود الفطر الممرض(*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*) واعطت زيادة في معايير النمو بلغت 43.23غم و 26.80غم و4.41غم و2.81غم و14.76مل على التوالي واختلفت هذه المعاملات معنويا عن معاملة المقارنة السليمة والتي بلغت فيها 26.56غم و 20.30غم و 2.31غم و 2.04غم و 8.00مل . تراوح الوزن الطري للمجموع الخضري في المعاملات الاخرى بين 18.60- 44.23 غم في حين بلغ الوزن الطري للمجموع الجذري في المعاملات الاخرى 13.13-26.90 غم والوزن الجاف للمجموع الخضري 1.75- 4.67غم والوزن الجاف للمجموع الجذري 1.40-2.84غم وحجم المجموع الجذري 6.00 – 17.06مل .تتفق هذه النتائج مع ما توصلت اليه الكثير من الدراسات في ان استعمال التكامل بين العديد من العوامل الاحيائية وغير الاحيائية ادى الى تعزيز دور هذه العوامل في مكافحة عدد كبير من المسببات الممرضة من خلال تحفيز المقاومة الجهازية للنبات فضلا عن زيادة معايير النمو المختلفة(دخيل ,2021 و الغزالي ,2022 و جمعة ,2022 والعامل ,2023) . قد تعزى الزيادة في معايير النمو الى دور العوامل المستخدمة ومنها العوامل الاحيائية في زيادة جاهزية العناصر الغذائية للنبات والتي انعكست على النمو الخضري للنبات ومن ثم زيادة كفاءة عملية التركيب الضوئي وزيادة امتصاص العناصر الغذائية من قبل النبات ومنها العناصر الاساسية كالنتروجين والفسفور والبوتاسيوم التي تؤدي الى زيادة المجموع الخضري والجذري إذ يدخل الفسفور والنتروجين في تكوين المركبات الكاربونية وفي تركيب الاحماض النووية DNA و RNA الضرورية لعملية الانقسام الخلوي اما البوتاسيوم والكالسيوم فلهما أهمية كبيرة لعملها كمرافقات انزيمية ومنظمات للجهد الازموزي ولهما دور مهم في تنشيط عملية البناء الضوئي و نقل المواد الغذائية المصنعة في الأوراق إلى اجزاء النبات المختلفة وهذا يأتي نتيجة تواجدهما في جدران الخلايا ودورهما في عملية الانتقال عبر الاغشية الخلوية (Patrick وآخرون ، 2001 والعامري ,2021 والمشهداني ,2022) وهذا ينعكس بشكل مفيد وايجابي على النمو الخضري وزيادة الحاصل.

جدول 15: تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في بعض معايير النموعند الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملات	الوزن الطري/غم		الوزن الجاف/غم		حجم المجموع الجذري/مل
		للمجموع الخضري	للمجموع الجذري	للمجموع الخضري	للمجموع الجذري	
1	مقارنة	26.56*	20.30	2.31	2.04	8.00
2	*F.solani*	9.17	0.52	0.44	0.004	1.00
3	*.T.k*	30.40	24.30	3.02	2.51	8.00
4	*.B.v*	31.60	25.13	3.90	2.24	12.00
5	.Bel	26.80	20.36	2.32	2.04	13.00
6	Bio	30.80	24.50	3.70	2.53	13.70
7	*.F.s*+Bel	18.60	13.20	1.80	1.40	6.00
8	*.F.s*+*T.k*	20.83	13.90	2.40	1.49	9.00
9	*F.s*+*B.v*	21.30	14.20	2.70	1.54	9.20
10	*F.s*+Bio	18.68	13.13	1.75	1.41	9.50
11	*.F.s*+*B.v*+*T.k*	26.40	19.80	2.52	1.87	11.70
12	*.F.s*+Bio+*T.k*	23.56	17.90	2.34	1.72	11.80
13	*F.s*+Bio+*B.v*	24.46	18.30	2.43	1.79	12.23
14	*F.s*+Bio+*B.v*+*T.k*	20.00	24.20	3.50	2.50	13.40
15	*B.v*+*T.k*	40.73	26.50	4.67	2.76	15.00
16	*T.k*+Bio	35.90	25.10	3.82	2.82	15.16
17	Bio+*B.v*	37.80	25.90	3.90	2.84	15.26
18	Bio+*B.v*+*T.k*	48.33	27.20	5.00	2.84	19.00
19	*F.s*+*B.v*+*T.k*+Bel	34.13	24.80	3.51	2.57	13.00
20	*F.s*+Bio+*T.k*+Bel	32.30	24.60	3.11	2.54	13.80
21	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel	31.10	24.20	3.04	2.51	14.00
22	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*	43.23	26.80	4.41	2.81	14.76
23	*B.v*+*T.k*+Bel	44.23	26.90	4.46	2.82	17.06
24	Bel+*T.k*+Bio	43.00	26.60	4.40	2.75	18.10
25	Bel.+*B.v*+Bio	43.23	26.90	4.45	2.81	18.03
26	Bel.+*B.v*+Bio+*T.k*	49.00	27.80	5.31	2.93	19.20
	LSD0.05	**0.82**	**0.78**	**0.78**	**0.78**	**0.85**

***كل رقم في الجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات *Fs*:*F.solani* و *B.v*: *B. velezensis* و *T.k*:*T.koningiopsis* و Bio:Biohealth وBel: Beltanol .**

3-5-5-4 الفينولات الكلية

اظهرت نتائج (جدول17) تفوق معاملة التكامل بين جميع العوامل المستعملة في مكافحة الفطر الممرض *F.solani* (*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*) معنويا على المعاملات الأخرى في زيادة تركيز الفينولات الكلية اذ بلغ معدله 0.780 ملغم /غم تلتها وبدون فارق معنوي معاملة *B.v*+Bio+*T.k* والتي بلغت فيها 0.779 ملغم /غم واختلفت هذه المعاملة معنويا عن معاملة Bel+*B.v*+Bio+*T.k* والتي بلغت الفينولات الكلية فيها 0.772 ملغم /غم تلتها وبفارق معنوي معاملة *B.v*+ *T.k* وقدرت فيها ب 0.767 ملغم /غم وبينت النتائج ان التكامل بين اكثر من عامل من عومل المكافحة بوجود المسبب المرضى ادى الى زيادة في معدل الفينولات الكلية قياساً بمعاملة المقارنة السليمة والتي استخدم فيها الماء المقطر المعقم ومعاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 0.425 و 0.301 ملغم /غم على التوالي ، في حين تراوحت الفينولات الكلية في المعاملات الاخرى بين 0.531- 0.760 ملغم /غم . أتفقت هذه النتائج مع نتائج العديد من الدراسات والتي اظهرت كفاءة العديد من عوامل المكافحة الاحيائية والكيميائية في زيادة كمية الفينولات الكلية المصنعة في النباتات وخصوصا بعد اصابتها بالمسببات المرضية المختلفة سواء كانت فطرية او فايروسية او بكتيرية او نيماتودية وما لها من دور واضح في مقاومة النبات لهذه المسببات المرضية(العامري ,2021 وجمعة ,2022 والربيعي ,2022).

جدول 16: تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في الفينولات الكلية عند الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملات	الفينولات الكلية(ملغم/غم)
1	مقارنة	0.425*
2	*F.s*	0.301
3	*T.k*	0.723
4	*.B.v*	0.755
5	Bel	0.500
6	Bio	0.744
7	*F.s*+Bel	0.531
8	*F.s*+*T.k*	0.599
9	*F.s*+*B.v*	0.642
10	*F.s*+Bio	0.623
11	*F.s*+*B.v*+*T.k*	0.677
12	*F.s*+Bio+*T.k*	0.671
13	*F.s*+Bio+*B.v*	0.675
14	*F.s*+Bio+*B.v*+*T.k*	0.686
15	*B.v*+*T.k*	0.767
16	*T.k*+Bio	0.747
17	Bio+*B.v*	0.760
18	Bio+*B.v*+*T.k*	0.779
19	*F.s*+*B.v*+*T.k*+Bel	0.700
20	*F.s*+Bio+*T.k*+Bel	0.682
21	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel	0.690
22	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*	0.780
23	*.B.v*+*T.k*+Bel	0.692
24	Bel+*T.k*+Bio	0.688
25	Bel+*B.v*+Bio	0.694
26	Bel+*B.v*+Bio+*T.k*	0.772
	LSD0.05	**0.0091**

كل رقم في الجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات Fs: *F.solani* و B.v: *B.velezensis* و Biohealth=Bio و Bel: Beltanol و T.k: *T.koningiopsi

4-5-5-4 فعالية انزيم البيروكسديز

اظهرت نتائج (جدول18) تفوق معاملة التكامل بين جميع العوامل المستخدمة في مكافحة الفطر الممرض *F.solani* (*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*) معنويا على المعاملات الأخرى في زيادة تركيز انزيم البيروكسديز اذ بلغ معدله 79.08 وحدة.غم وزن رطب تلتها وبدون فارق معنوي معاملة Bel+*B.v*+Bio+*T.k* التي بلغ فيها 78.90 وحدة.غم وزن رطب قياساً بمعاملة المقارنة السليمة واستخدم فيها الماء المقطر المعقم ومعاملة الفطر الممرض بمفرده وبلغت 21.50 و 26.40 وحدة.غم وزن رطب على التوالي في حين كان اقل مستوى لفعالية الانزيم في معاملة المبيد الكيميائي Beltanol بمفرده والتي بلغت 41.53 وحدة.غم وزن رطب وتراوح مستوى الانزيم في المعاملات الاخرى بين 44.10- 78.61 وحدة.غم وزن رطب .

يعزى تأثير عوامل المقاومة الاحيائية *B. velezensis* و *T.koningiopsis* والمخصب الحيوي Biohealth في زيادة معدل انزيم البيروكسديزوالفينولات الكلية وبعض معاييرالنمو في النباتات المعاملة الى دورها في عملية استحثاث المقاومة في النباتات ضد مختلف المسببات المرضية وتعد اهم الياتها تكوين البروتينات التي لها علاقة بالامراضية ومنها انزيم البيروكسديز. ذكرSticher و آخرون (1997) ان عوامل الاستحثاث قد تكون حيوية (Biotic) مثل مسببات مرضية ذات ضراوة (Virulence) او قليلة او معدومة الضراوة (Avirulence) ومسببات غير ممرضة (Non Pathogenic) مع العائل النباتي والكائنات الرمية التعايشية مع الجذور مثل PGPR . او تكون عوامل الاستحثاث غير حيوية (Abiotic) مثل المواد الكيمياوية والمعادن والمركبات غير العضوية والاشعة فوق البنفسجية والمعاملة بالحرارة إذ يستحث إنزيم Peroxidase في انسجة النبات عند التعرض للمسببات المرضية او المستحثات وله دور حاسم في تحديد مستوى مقاومة العائل وهوإنزيم رئيس في التخليق الحيوي للكنين وترسيب السوبرين والتركيب الحيوي لجدار الخلية اي زيادة الدفاعات الهيكلية (Thakker وآخرون ، 2013 و Jogaiah وآخرون ، 2013) . كما يقوم بتحويل الـextensins المفرزة في Apoplast من مونوميرات monomeric قابلة للذوبان إلى شبكة غير قابلة للذوبان وبالاعتماد على H_2O_2 وبدورها تؤدي إلى زيادة الدفاع النباتي(Thakker وآخرون ، 2013) . ويعمل إنزيم Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) في التخليق الحيوي للمركبات الايضية الثانوية النباتية كإنتاج العديد من المركبات الفينولية التي تؤدي إلى زيادة ترسيب اللكنين وسمك جدران الخلايا (Chen وآخرون ، 2017).

جدول 17: تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والكيميائية والتكامل بينها في مستوى انزيم البيروكسديزعند الاصابة بالفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات الفلفل تحت ظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملات	مستوى البيروكسديز وحدة.غم وزن رطب
1	مقارنة	21.50*
2	*F.s*	26.40
3	*T.k*	55.43
4	*.B.v*	57.80
5	Bel	41.53
6	Bio	57.60
7	*F.s*+Bel	34.10
8	*F.s*+*T.k*	57.70
9	*F.s*+*B.v*	60.30
10	*F.s*+Bio	59.80
11	*F.s*+*B.v*+*T.k*	63.60
12	*F.s*+Bio+*T.k*	63.20
13	*F.s*+Bio+*B.v*	62.80
14	*F.s*+Bio+*B.v*+*T.k*	78.61
15	*B.v*+*T.k*	64.90
16	*T.k*+Bio	64.70
17	Bio+*B.v*	64.60
18	Bio+*B.v*+*T.k*	70.10
19	*F.s*+*B.v*+*T.k*+Bel	70.00
20	*F.s*+Bio+*T.k*+Bel	69.80
21	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel	71.30
22	*F.s*+Bio+*B.v*+Bel+*T.k*	79.08
23	*.B.v*+*T.k*+Bel	70.50
24	Bel+*T.k*+Bio	70.30
25	Bel+*B.v*+Bio	72.60
26	Bel+*B.v*+Bio+*T.k*	78.90
	LSD0.05	**0.55**

***كل رقم في الجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات.Fs: *F. solani* و B.v: *B. velezensis* و T.k: *T. koningiopsis* وBio:Biohealth وBel : Beltanol**

وفي دراسة أظهرت عزلتين من بكتريا PGPR هي *P.aeruginosa* و *Azotobacter chroococcum* معزولة من جذور نباتات طماطة سليمة كفاءتها ضد الفِطْر *Alternaria solani* المسبب لمرض اللفحة المبكرة على الطماطة لإنتاجها حاملات الحديد و HCN و Chitinase فضلاً عن ذلك لوحظ زيادة في فَّعالية الإنزيمات الدفاعية مثل Peroxidase (PO) وإنزيم Polyphenol oxidase (PPO) وزادت من امتصاص المغذيات ومحتوى الكلوروفيل (Babu وآخرون ، 2015).

تعزى هذه الزيادة في تراكم الفينولات إلى فعالية العوامل المستعملة في مكافحة الفطر *F.solani* في هذه الدراسة في تحفيز ردود فعل النبات ضد العامل الممرض إذ يعد تحفيز الفينولات مؤشرا على تحفيز المقاومة الجهازية ضد العامل الممرض . ذكر Hassan و آخرون (2007) ان استحثاث المقاومة في العائل ضد المسببات الممرضة خلال تعرضه لها وبالتالي زيادة في فعالية انزيم البيروكسديز والذي يشارك في تحفيز انتاج الفايتوالكسينات من خلال أكسدة الفينولات وتحويلها إلى مواد أكثر سمية للمسببات المرضية. و ذكر Fernandez وHeath (1989) إن التراكم السريع للفينولات يؤدي إلى تقييد العوامل الممرضة عند نقطة دخولها فضلا عن تنشيط الجينات المسؤولة عن انتاج البروتينات المرتبطة بالامراضية (pathogensis related protein) . تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات سابقة فقد وجد Sivakumar و Sharma (2003) أن معاملة بذور الذرة الصفراء بأنواع من البكتريا المحفزة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria)) كنوع من المقاومة ضد الفطر *R.solani* المسبب لمرض سقوط البادرات أدى إلى تراكم الفينولات وبعض الانزيمات منها أنزيم البيروكسديز PO ومن ثم خفض نسبة الاصابة بهذا المرض . وجد Seleim واخرون (2014) زيادة في مستوى انزيم البيروكسديز وتراكم الفينولات واختزال نسبة الاصابة 66.67 % تحت ظروف البيت الزجاجي و53.33% في الظروف الحقلية عند استخدام انواع من البكتريا *Pseudomonas* spp. لمقاومة البكتريا*Ralastonia solanacearum* المسببة لمرض ذبول الطماطة . كما ذكر Shakir واخرون (2018) ان المعاملة بمبيدات الافات ادت الى زيادة في مستوى انزيم البيروكسديز وزيادة في تراكم الفينولات الكلية.

كما ذكر Datnoff وPernezy (2000) ان للمواد الايضية المنتجة من قبل بعض الانواع ومنها *Trichoderma* spp. دورا مهما في جعل بعض العناصر المعدنية بحالة مخلبية غير قابلة للاتحاد مع مركبات كيميائية اخرى وبحالة جاهزة للامتصاص من قبل النبات . وجد Akrami وZohreh (2015) ان بعض انواع الفطر *Trichoderma* spp. تتميز بقابليتها على افراز بعض الانزيمات مثل Proteases و glucanases (1،6) –β وChitinases و المحللة للمواد العضوية الموجودة او المضافة للتربة وبالتالي زيادة جاهزية العديد من العناصر المهمة للنبات مثل النتروجين والفسفور و البوتاسيوم و الزنك و الحديد وانعكاس ذلك على صحة النبات وبالتالي زيادة كافة معايير النمو فضلا عن زيادة مقاومته لمسببات

الامراض النباتية . 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 واخرون ،2007 و Alizadeh وآخرون ، 2020) . ذكرAkrami وZohreh (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 والفسفوروالبوتاسيوم والنحاس والزنك والحديد وهذا بالنتيجة سوف يحسن من صحة النباتات ومقاومتها الطبيعية للمُمرضات النباتية. بين - Contreras Cornejo وآخرون (2011) قدرة إنواع 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 . ذكرالخفاجي (2020) وAbd-Elkhair واخرون (2019) ان الفطر.spp *Trichoderma* يفرزالعديد 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 وEsterase وPhosphamidase فضلا عن انتاجه لعدد كبير من المضادات الحيوية والتي من اهمها Trichorzianines و Acetaldehyde و Alamethicine و Dermadine و Trichorzianinesو Acetaldehyde و Alamethicine و Dermadine و Alkylpyrones و chitinases و1-β و glucanases 3 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 دراسه قام بها Ruangwong واخرون (2021) الكفاءة العالية لسلالة الفطر *T. koningiopsis* PSU3-2 ضد مرض أنثراكنوز ما بعد الحصاد على الفلفل الحار المتسبب عن الفطر.*Colletotrichum gloeosporioides*

5- الاستنتاجات والتوصيات (Recommendations and Conclusions)

5-1 الاستنتاجات (Conclusions)

1- انتشار مرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل في جميع الحقول التي شملها المسح في بعض مناطق محافظة كربلاء.

2- وجد ان الفطر *F.solani* من المسببات الرئيسة لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل والاكثر امراضية في محافظة كربلاء .

3- جميع اصناف الفلفل المختبرة في هذه الدراسة كانت حساسة للاصابة بالفطر *F.solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات الفلفل.

4- فاعلية العوامل الاحيائية *T. koningiopsis* و *B.velezensis* و المخصب الحيوي Biohealth والمبيد الكيميائي Beltanol في تثبيط الفطر *F.solani* على الوسط الزرعي (P.D.A) وفي البيت البلاستيكي وبنسب مختلفة .

5- تفوق توليفات التداخل بين اكثر من عامل احيائي وكيميائي على العوامل المفردة في خفض النسبة المئوية للاصابة وشدتها بالفطر *F. solani* وزيادة معايير النمو والفينولات الكلية ومستوى انزيم البيروكسديز وبنسب مختلفة.

5-2 التوصيات (Recommendations)

1- أستخدام توليفات بين العوامل الاحيائية *B.velezensis* و *Trichoderma koningiopsis* وBiohealth والمبيد الكيميائي Beltanol كعوامل مكافحة ومخصبات حيوية ضد مسببات أمراض تعفنات الجذور .

2- إجراء دراسات للبحث عن عوامل احيائية كفوءة معزولة من التربة لادخالها في برامج مكافحة مسببات الامراض النباتية وبالأخص مسببات امراض الجذور.

3- إجراء دراسات للبحث عن عوامل كيميائية امينة للبيئة وكفوءة في مكافحة مسببات الامراض النباتية ومنها مسببات امراض الجذور.

4- إستخدام الأصناف الأقل حساسية للسيطرة على أمراض الجذور.

6 - المصادر: References

6 - 1 المصادر العربية:

- **أبو عرقوب، محمود موسى .2000.** المقاومة الاحيائية لامراض النبات. المكتبة الاكاديمية، القاهرة – جمهورية مصر العربية.
- **الاسدي، علي عبد علي عودة. 2020.** أستخدام بعض العوامل الاحيائية والجسيمات النانوية والتراكيب الوراثية في مقاومة بعض مسببات امراض تعفن بذور وموت بادرات الطماطة (*Solanum lycopersicom* L.) . رسالة ماجستير. كلية الزراعة – جامعة كربلاء.
- **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.
- **الجهاز المركزي للاحصاء وتكنولوجيا المعلومات. 2021.** المحاصيل الثانويه والخضراوات.مديرية الاحصاء الزراعي.وزارة التخطيط والتعاون الانمائي.جمهورية العراق.
- **الخفاجي، سجاد جاسم عبد الحر .2020.** عزل وتشخيص البكتريا المسببة لمرض التدرن التاجي على شتلات اليوكالبتوس .D *Eucalyptus camaldulensis)*) ومقاومتها بأستخدام بعض العوامل الكيميائية والاحيائية. كلية الزراعة – جامعة كربلاء.
- **الربيعي،الاء رعد موسى.2022.**استحثاث المقاومه ضد مسببات مرض موت البادرات وتعفن الجذور في نباتات الفلفل باستعمال بعض العوامل الاحيائيه والكيميائيه.رسالة ماجستير.وقاية نبات/امراض النبات.كلية الزراعه .جامعة بغداد.
- **العادل ،خالد محمد .2006.**مبيدات الافات. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة بغداد –العراق .
- **العامري، علاء طالب سالم .2021.** التشخيص الجزيئي للبكتريا المسببة لمرض التعفن الطري على البطاطا في محافظتي كربلاء وبابل ومقاومتها بأستعمال بعض العوامل الاحيائية والمركبات النانوية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة كربلاء.
- **العامل،علي ناصر علي .2023.** الفعالية التكاملية لعاملي المكافحة الاحيائية *Trichoderma harzianum* و *pseudomonas fluorescens* والحديد المخلبي في مكافحة مرض الذبول في الفلفل .قسم وقاية النبات /امراض النبات.كلية الزراعه .جامعة بغداد.
- **العروسي ، حسين وميخائيل عبد علي سمير و محمد رحيم . 2003** . مكافحة الامراض النباتيه. مكتبة المعارف الحديثه.الاسكندريه.
- **العيساوي، ذياب عبد الواحد فرحان .2006.** عزل وتشخيص بعض الفطريات المرافقة لمرض موت بادرات وتعفن جذور الرقي ومقاومتها بالطرق الاحيائية والكيميائية. رسالة ماجستير-الكلية التقنية المسيب-هيئة التعليم التقني .

- **الغزالي ، نور علي عبد .2022**. عزل وتشخيص الفطريات *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solani* المسببه لامراض الجذور وقواعد السيقان على نبات عين البزون في بعض المشاتل ومكافحتها احيائيا وكيميائيا. رسالة ماجستير .قسم وقاية النبات .كلية الزراعه –جامعة كربلاء.

- **اللوباوي، سلوان عبد الزهرة جبار و صادق محمد علي و أديب كتاب عبد زيد الشافعي و حسين راسم صبوري . 2018.** تحليل بعض المبيدات الكيميائية بواسطة أنواع من الفطر *Aspergillus* spp. في الترب والاسمدة العضوية المختلفة . مجلة كربلاء للعلوم الزراعية .

- **المشهداني ، صفا جميل .2022**. فاعلية المكافحه المتكامله في السيطره على بعض مسببات مرض تعفن الجذور على نبات عرف الديك *Celosia argentea*. رسالة ماجستير. قسم وقاية النبات كلية الزراعه -جامعة كربلاء.

- **جابر، محمد حسن .2020.** عزل وتشخيص الفطريات المسببة لمرض تعفن البذور وموت بادرات الحنطة *Triticum aestivum* في محافظة كربلاء ومكافحتها بأستخدام التكامل بين بعض الاصناف والمركبات النانوية والعامل الاحيائي *Trichoderma harzianum* . رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة كربلاء.

- **جمعه ، احمد محمد سلمان .2022**. تقييم كفاءة بعض المستخلصات النباتيه والبروبوليس في مكافحة الفطر *Fusarium solani* المسبب لعفن جذور وقواعد سيقان الفلفل. رسالة ماجستير.قسم وقاية النبات /امراض النبات . كلية الزراعه . جامعة الانبار.

- **حسون ، ابراهيم خليل .2005** . المكافحة البايلوجية والكيميائية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani* K. . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة. جامعة بغداد.

- **حميد ، فاخر رحيم .2002.** دراسة كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* spp. في استحثاث المقاومة ضد الفطر وتحفيز النمو في اربعة اصناف من القطن. رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة بغداد.

- **دخيل ، فيد عباس .2021.** التكامل بين العوامل الاحيائية والمبيدات الكيميائية في السيطرة على مسببات امراض جذور نباتات الزينه في مشاتل محافظتي كربلاء وبابل. رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة كربلاء

- **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.

- **كسوب ، فهمي طه ياسين . 2022**. استحثاث المقاومه الجهازيه لنبات السمسم ضد مرض تعفن البذور وموت البادرات .رسالة ماجستير .قسم وقاية النبات.كلية علوم الهندسه الزراعيه .جامعة بغداد.

- **محمد ، شيماء عبد الامير.2021**. كفاءة بعض المستخلصات النباتيه والعوامل الاحيائيه ضد بعض مسببات مرض تعفن جذور الفلفل في محافظة بابل .رسالة ماجستير-تقني في المقاومه الاحيائيه-جامعة الفرات الاوسط التقنيه/المسيب.

- **مطر، محمد .2012.** فاعلية بعض مبيدات الفطور الكيميائية والحيوية في مكافحة الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* . مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية.سلسلة العلوم البيولوجية.

- **وصفي ، عماد الدين .1993.** اساسيات أمراض النبات.التقنية الحيوية. كلية الزراعة. جامعة الاسكندرية.

2-6 المصادر الأجنبية:

- **Abd El-rhim , A.S .; Abdellatif , Y.M.R. ; Hossain , M. A. ; Alamri , S. ; Pessarakli , M. ; Lessy , A. M. N. and Dawood , M. F. A. 2023.** Comparative Study of Three Biological Control Agents and Two Conventional Fungicides against Coriander Damping-off and Root Rot Caused by *Rhizoctonia solani*. *Plants*. 12(8) - 1694. https://doi.org/10.3390/plants12081694.
- **Abd El-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),pp.239-242.
- **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*(*1*),* 1-9.
- **Abd El–Monaim, M. F. and Ismail, M. E. 2010.**The Use of Antioxiddants to Control Root Rot and Wilt Diseases of Pepper Scientia. *Biologicae*. 2(2),46-55.
- **Abd El-moteleb, A. ; Moreno-Ramírez, L. ; Valdez-Salas, B. ; Seleiman, M. F. ; El-Hendawy, S. ; Aldhuwaib, K. J. ; Alotaibi, M. and González-Mendoza, D.2023.** New *Bacillus subtilis* Strains isolated from prosopis glandulosa rhizosphere for suppressing *Fusarium* spp.. and enhancing growth of *Gossypium hirsutum* L. *Biology*. 12(1),p.73. https://doi.org/10.3390/ 12010073.
- **Abdulmoohsin, R. G. ; Lahuf, A. A. ; Husain, Y. N. and Hameed, Z. L. 2019 November.** Bioefficiency of some indigenous biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* causing cowpea seed rot and preemergence damping-off. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*. (Vol. 388,No. 1, p. 012011). IOP Publishing.
- **Abed, M. and Ibade, K. W. 2022.** Effect of Seaweed Extracts and Fungicide against the Pathogen *Alternaria Radicina* in Pepper plant. *International Journal of Agricultural and Statistical Sciences* .18 (1), 1703-1707. https:// 03899.2022.18.1703.
- **Abott, W. S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* . 18(2),pp. 265-267.
- **Acin-Albiac, M. ; García-Jiménez, B. ; Marín Garrido, C. ; Borda Casas, E. ; Velasco-Alvarez, J. ; Serra, N. S. and Acedo, A. 2023.** Lettuce Soi Microbiome Modulated by an L-*a*-Amino Acid-Based Biostimulant. *Agriculture.* 13, p.344. https:// doi.org/10.3390/13020344.
- **Akrami, M. 2015.** Effects of *Trichoderma* spp.. in bio-controlling *Fusarium solani* and *F. oxysporum* of cucumber (*Cucumis sativus*). *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences.* 4(3),241-245.
- **Akrami, M. and Zohreh, Y. 2015.** Biological control of *Fusarium* wilt of tomato (*Solanum lycoperscum*) by *Trichoderma* spp. as antagonistic fungi. *Biological forum-an international Journal* .7(1),p.887-892.
- **Al-Abedy, A. N. ; Kadhim, J. H. ; Abdalmoohsin, R. G. and Al-Taey, D. K. A. 2021**. Genetic diversity of tomato yellow leaf curl virus isolates and the effect of virus on the hormones content of tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. *Research on Crops.* 22(2), pp. 347–355**(a)**
- **AL-Abedy, A. N. ; Abdalmoohsin, R., G. ; Odeh, A. A. and Al-Salami, I. 2021.** Evaluation of the potential of some T*richoderma* spp. Isolates,nanoparticles (mgo-nps) and thefungicide beltanol in controling seeding damping-off and seed decay caused by*Fusarium brachygibbosum* in tomato. *International Journal Agriculture Stat. Science*. 17(1), 1661-1671.(**b**).
- **Al-Abedy, A. N. ; Al-Musawi, B. H. ; Al-Isawi, H. I. N. and Abdalmoohsin, R. G. 2022.** Morphological and molecular identification of *cladosporium sphaerospermum* isolates collected from tomato plant residues | Identificação morfológica e molecular de isolados de *cladosporium*

sphaerospermum coletados de resíduos de plantas de tomate. *Brazilian Journal of Biology*.82, e237428.(c)

- **Al-Daghari, D. S. S. ; Al-Abri, S. A. ; Al-Mahmooli, I. H. ; Al-Sadi, A. M. and Velazhahan, R. 2020.** Efficacy of native antagonistic rhizobacteria in the biological control of *Pythium aphanidermatum*-induced damping-off of cucumber in Oman. *Journal of Plant Pathology*.102,305-310.
- **Alexopoulos, C. J. ; Mims, C. W. and Blackwell, M. 1996.** *Introductory mycology* .4th Ed.869 pp. John Wiley and Sons.New York.
- **Alizadeh, M. ; Vasebi, Y. and Safaie, N. 2020**. Microbial antagonists against plant pathogens in Iran: A review. *pen Agriculture* 5: 404-440.
- **AL-Musawi, M. A. 2012.** Identification of the causes of root and stem baserot disease of beans and resistance it using of some chemical and biological induction agents Master Thesis. *Faculty of Agriculture*. Baghdad University.
- **Alwan, S. L. and Sukkar, A. R. 2010.** Testing the ability of some fungal species to bio-destroy some types of chemical pesticides. *Journal of Life Sciences*. Kufa University. 2 :1-13.
- **Anyanga, W.O. ; Rubaihayo, P. ; Gibson, P. and Okori , P. 2016.** Combining ability and gene action in sesame (*Sesamum indicum L.*) elite genotypes bydiallel mating design. *Journal Plant Breeding Crop Science*. 8(11)250-256. doi:10.5897/JPBCS2016.0586.
- **Azliza, I. N.; Hafizi, R.; Nurhazrati, M. and Salleh, B. 2014.** Production of major mycotoxins by *Fusarium* species isolated from wild grasses in peninsular Malaysia. *Sains Malaysiana*. 43, 89-94.
- **Babu, A. N. ; Jogaiah, S. ; Ito, S. ; Nagaraj, A. K. and Tran, L. P.2015.** Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated withtheir beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant Peroxidase and Polyphenol oxidase. *Plant Science*.231:62-73.
- **Baker, K.F. and Cook, R.J.1974.** Biological control of plant pathogens. WH Freeman and Company.
- **Bampidis, V. ; Azimonti, G. ; Bastos, M. L. ; Christensen, H. ; Dusemund, B. ; Durjava, M. F. ; Kouba, M. ; López-Alonso, M. ; Puente, S. L. ; Marcon, F. ; Mayo, B. ; Pechová, A. ; Petkova, M. ; Ramos, F. ; Sanz, Y. ; Villa, R. E. ; Woutersen, R. ; Prieto, M. ; Anguita, M. ; Pettenati, E. ; Rossi, B. and Brozzi, R. 2023**. Efficacy of the feed additive consisting of *Bacillus velezensis* NRRL B-67257 (Correlink™ ABS747) as a feed additive for all growing poultry species (Elanco GmbH) .*European Food Safety Authority*. 21(1)/9832321.
- **Baptista, J. P. ; Teixeira, G. M. ; Jesus, M. L. A. ; Bertê, R. ; Higashi, A. ; Mosela, M. ; Silva, D. V. D. ; Oliveira, J. P. D. ; Sanches, D. S. ; Brancher, J. D. ; Balbi-Peña, M. I. ; Pereira, U. D. P. and Oliveira, A. G. D. 2022**. Antifungal activity and genomic characterization of the biocontrol agent *Bacillus velezensis* CMRP 4489. *Scientific Reports*. 12(1), Article number: 17401.
- **Bartsch, Z. J. ; DeSutt, T. M. and Gasch, C. K. 2023.** Microbial activity and hard red spring wheat growth improvement following biostimulant application. *Agrosystems Geosciences an Environment* . 6 (1) p. 20332, https://doi.org/10.1002/agg2.20332.
- **Behiry, S. ; Soliman, S. A. ; Massoud, M. A. ; Abdelbary, M. ; Kordy, A. M. ; Abdelkhalek, A. ; Heflish, A.2023.** *Trichoderma pubescens* Elicit Induced Systemic Resistance in Tomato Challenged by *Rhizoctonia solani*. *Journal Fungi* . 9(2)p. 167. https://doi.org/10.3390/9020167.
- **Bell, D. K.; Well, H. D. and Markham, G. R. 1982.** In vitro antagonism of *Trichoderma* spp. Against six fungia plant pathogens. *Phytopathology*. 72(4), 379 – 382.
- **Benítez, T. ; Rincón, A. M. ; Limón, M. C. and Codón , A. C. 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*. 7(4),249-260.
- **Bhusal, B. and Mmbaga, M. T. 2020.** Biological control of *Phytophthora* blight and growth promotion in sweet pepper by *Bacillus* species. *Biological control*.150,104373.

References المصادر

- **Bisen, K. ; eswani, 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.
- **Black, C.K. 1965**. Methods of soil analysis.Agron Mono.No.9 Part 2. American .Soc.Agron.Madison.Wisconsins.U.S.A.812 pp.
- **Booth, C. 1971.** The genus *Fusarium* kew Commonwealth Mycological Institute. England Kew, Surrey, p237.
- **Burke, D. W. ; Mille, D. E. and Barker, A. W. 1980.** Effects of soil tem Pherature on growth of beans in relation to soil com.phaction and *Fusarium* Root Rot. *Pytopathology* .70,1047-1049.
- **Cerkauskas, R. F. 2017.** Etiology and management of *Fusarium* crown and root rot (*Fusarium oxysporum*) on greenhouse pepper in Ontario, Canada. *Canadian journal of plant pathology*. 39(2), 121-132.
- **Chen, Y. ; Fengjiao, L. I. ; Tian, L. u. ; Mingchao, H. ; Rufang, D. ; Xueliu, L. ; Wei, C. ; Pingzhi, W. ; Meiru, L. ; Huawu, J. and Guojiang ,W. 2017.** The 86 phenylalanine ammonia-lyase gene LjPAL1 is involved 1 in plant defense responses to pathogens and plays diverse roles in Lotus japonicus-rhizobium symbioses. *Molecular Plant Microbe Interaction* . 30(9),739-753**.**
- **Chen, Q. ; Qiu, Y. ; Yuan, Y. ; Wang, K. and Wang, H. 2022** .Biocontrol activity and action mechanism of *Bacillus velezensis* strain SDTB038 against *Fusarium* crown and root rot of tomato. *Front Microbiol*. 13,10.3389/994716.
- **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.
- **Clark, F. E. and Black, C. F. 1965.** Agar–Plants Method for Total Microbial Methods of Soil analysis part 2. Publisher madeson, Wisconsin. USA. pp 1572.
- **Collee, J. G. ; Fraser, A. G. ; Marmino, B. P. and Simons, A. 1996.** Mackin and McCartney Practical Medical .*Microbiology*. The Churchill Livingstone . *USA.*
- **Contreras-Cornejo, H. A. ; Macías- Rodríguez , L. ; Beltrán-Pena, E. ; Herrera-Estrella, A. and López-Bucio, J. 2011.** *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal and camalex independent mechanisms in Arabidopsis thaliana and confers resistance against necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. *Plant Signaling and Behavior* . 6(10) 1554-1563**.**
- **Daroodi, Z. ; Taheri, P. and Tarighi , S. 2022.** *Acrophialophora jodhpurensis* an endophytic plant growth promoting fungus with biocontrol effect against *Alternaria alternata*. *Front Plant Science* . Sep 23;13,984583. doi: 10.3389/fpls..984583. 36212286; PMCID: PMC9540611.
- **Das, M. M. ; Haridas, M. and Sabu, A. 2019.** Biological control of black pepper and ginger pathogens *Fusarium oxysporum، Rhizoctonia solani and Phytophthora capsici* using *Trichoderma* spp. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*.17، 177-183.
- **Datnoff, L. E. and Pernezy, K. L. 2000 .** Effect of Bacteria and Fungal Microorganisms to Colonize Tomato Roots, lmplove Transplant Growth and Control *Fusarium* Crown and Root Rot. *ltural Sciences* . 65: 168-178.
- **De Ita, M. A. V. ; Lezama, C. P. ; Simon, A. B. ; Mora, L. A. M. ; Lara, M. H. ; Garcia, B. L. and Romero-Arenas, O. 2020.** In vitro Antagonism of Strains of *Trichoderma* spp.، on Pathogenic Fungi of Nopal Vegetable. *Journal of Pure and Applied Microbiology. 14(2)، 1345-1352.*
- **De-Souza, L. M. ; de Chaves, M. A. ; Joaquim, A. R. ; Gionbelli, M. P. ; Gava, A. ; Fiorentin, J. ; Ficagna, E. ; Almança, M. A. K. ; Teixeira, M. L. ; Andrade, S. F. and Fuentefria, A. M. 2021**. The efficacy of 8-hydroxyquinoline derivatives in controlling the fungus Ilyonectria liriodendr، the causative agent of black foot disease in grapevines. *Journal of Applied Microbiology* .Feb 10 doi: 10.1111/jam.15035. Epub ahead of print. PMID: 33565222.

- **Deolu-Ajayi, A. O. ; Meer, I. M. V. D. ; Werf, A. V. D. and Karlova, R. 2022.** The power of seaweeds as plant biostimulants to boost crop production under abiotic stress.*plant cell and environment*. 45 (9), Pages 2537-2553 https://doi.org/10.1111/pce.14391.
- **Dewan, M. M. 1989.** Identity and Frequency of Occurrence of Fungi in Roots of Wheat and Rye Grass and Their Effect on Take-all and Host Growth (Doctoral dissertation, University of Western Australia).
- **Diabankana, R. G. C. ; Shulga, E. U. ; Validov, S. Z. and Afordoanyi, D. M. 2022 .** Genetic Characteristics and Enzymatic Activities of *Bacillus velezensis* KS04AU as astablebi ocontrol agent against Phytopathogens. *International Journal Plant Biology*. 13(3),201-222. .https://doi.org/10.3390/ijpb13030018.
- **Eirini, G. P. and Sotiris, E. T. 2023.** *Bacillus* species: factories of plant protective volatile organic compounds . *Journal of Applied Microbiology.* 134 (3) March, lxad037, https://doi.org/10.1093/jambio/lxad037.
- **El-Komy , M. H. ; Al-Qahtani , R. M. ; Ibrahim , Y. E. ; Almasrahi , A. A. and Al-Saleh , M. A. 2022.** Soil application of *Trichoderma asperellum* strains significantly improves *Fusarium* root and stem rot disease management and promotes growth in cucumbers in semi-arid regions. *European Journal of Plant Pathology*. 1-17.
- **Esfahani, M. N. ; Nasehi , A. ; Rahmanshirazi , P. ; Ghadirian, C. 2014.** Susceptibility assessment of bell pepper genotypes to crown and root rot disease. *Phytopathology and Plant Protection* .47(8) 10.1080/03235408.2013.826541.
- **Fedoseeva, E. V. ; Tereshina ,V. M. ; Danilova, O. A. ; Ianutsevich , E. A. ; Yakimenko , O. S. and Terekhova , V. A. 2021**. Effect of humic acid on the composition of osmolytes and lipids in a melanin-containing phytopathogenic fungus *Alternaria alternate. Environmental Research*. 193, 10.1016/110395.
- **Feng, B. ; Chen, D. ; Jin, R. ; Li, E. and Peiqian, L.P. 2022.** Bioactivities evaluation of an endophytic bacterial strain *Bacillus velezensis* JRX-YG39inhabiting wild grape. *Microbiology*. 10.1186/s12866-022-02584-0.
- **Fernandez, M. R. and Heath, M.C. 1989.** Interaction of non-host French bean plant (*Phaseolus vulgaris*) with parasitic and saprophytic fungi III cytological detectable responses. *Canadian Journal Botany*. 67: 676 - 686.
- **Gailite, A. ; steinite, I. and Ievinsh, G. 2005.** Ethylene is involved in *Trichoderema* induced resistance of bean plants against *Pseudomonas syringae*.*Biology*. 691، 59-70.
- **González-Escobedo, R. ; Muñoz-Castellanos, L.N. ; Muñoz-Ramirez, Z .Y. ; Guigón-López, C. ; Avila-Quezada, G. D. ; .2023.** Rhizosphere bacterial and fungal communities of healthy and wilted pepper (*Capsicum annuum* L.) in an organic farming system.*Ciência Rural*.53(7),1678-4596, http://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220072.
- **Grady, E. N. ; MacDonald, J. ; Ho, M. T. ; Weselowski, B. ; Tim McDowell, T. ; Solomon, O. ; Renaud, J. and Yuan, Z. C. 2019.** Characterization and complete genome analysis of the surfactin-producing, plant-protecting bacterium *Bacillus velezensis9 D*-6.*Microbiology*. 10.1186/s12866-018-1380-8.
- **Guigón-López, C. ; Avila-Quezada, G. D. ; . 2023.** Rhizosphere bacterial and fungal communities of healthy and wilted pepper (*Capsicum annuum* L.) in an organic farming system .*Ciência Rural*. 53(7) , 1678-4596, http://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220072.
- **Gujar, J. and Talwankar, D. 2015.** Antifungal activity of leaf extract ongrowth of *Macrophomina phaseolina* on soyabean seed. *Indian StreamsResearch* .2,1-3.
- **Gurikar, C. ; Adkar-Purushothama, C. R. ; Naik, M. K. ; Umdale, S. and Sreenivasa, M. Y. 2014.** Impact of Pesticides on PGPR Activity of *Azotobacter* sp. Isolated from Pesticide Flooded Paddy Soils. *Greener Journal of Agricultural Sciences*. , 4 (4):117-129.

- **Guzmán-Guzmán, P. ; Kumar, A. ; Santos-Villalobos, D. S.; Parra-Cota, F. I. ; Orozco-Mosqueda, M. D. C. ; Fadiji, A. E. ; Hyder, S. ; Babalola, O. O. ; Santoyo, G. 2023.***Trichoderma* Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review. *Plants*.12, 432. https://doi.org/10.3390/ plants12030432.
- **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-taipel*.48(4), 311.
- **Han, V. C. ; Yu, N. H. ; Yoon, H. ; Ahn, N. H. ; Son, Y. K. ; Lee, B. H. ; and Kim, J. C. 2022.** Identification, Characterization, and Efficacy Evaluation of *Bacillus velezensis* for Shot-Hole Disease Biocontrol in Flowering Cherry .*Plant Pathology*. 38(2)/115-130.
- **Harman, G. E. 2000.** Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzinum* T-22. *Plant disease*. 84(4):377-393.
- **Hassan, E. M. ; Maggie; S. ; Saieda, S. ; El-Abbasi , I. H. and Mikhail, M.S. 2007.** Changes in peroxidase activity due to resistance induced against *faba bean chocolate* spot disease. *Egypt Journal Phytopathology*. 35:35-48.
- **Hassan, S. M. ; El-Bebany, A. F. ; Salem, M. Z. and Komeil, D. A. 2021.** Productivity and post-harvest fungal resistance of hot pepper as affected by potassium silicate, clove extract foliar spray and nitrogen application. *Plants*.10(4): 662.
- **Hemalatha, N. ; Thilagam, R. and Kalaivani, G. 2018.** Isolation and identification of phytopathogenic fungi from infected plant parts. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 10(1): 0975-7066.
- **Hempel, P. P. ; Yao, M. ; Yannarell, S. ; Shevchenko, O. ; Vogt, F. ; Donofrio, N. and Maresca, J. A. 2020 .**Complete Genome Sequence of *Bacillus velezensis* Strain S4, Isolated from Biochar-Treated Soil. Microbiology. 10.1128/00352-20.
- **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.* 974(1) p. 012046). IOP Publishing.
- **Hijri, M. 2023.** Microbial-Based Plant Biostimulants. *Microorganisms* . 11(3):686. DOI:10.3390/11030686.
- **Hirpara, D. G. ; Gajera, H. P. ; Patel, A. K. ; Katakpara, Z. A. ; Golakiya, B. A. ;Hofte, M. and Bakker, P. A. H. M. 2007** . Competiton for Iron and Induced Systemic Resistance by Siderophores of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Soil Biology*. 12:121-133.
- **Hoh, D. Z. ; Lee, H. H. ; Wada, N. ; Liu, W. A. ; Lu, M. R. ; Lai, C. K. ; Ke, H. M. ; Sun, P. F. ; Tang, S. L. ;Chung,W. H. ; Chen,Y. L. ;Chung, C. L. ; and Tsai, I. J. 2022**.Comparative genomic and transcriptomic analyses of trans-kingdom pathogen *Fusarium solani* species complex reveal degrees of compartmentalization. *BMbiology*.https://doi.org/10.1186/s12915-022-01436-7.
- **Howell, C. R. ; Hanson, L. E. ; Stipanovic, R. D. and Puckhaber, L. S. 2000.** Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology*.90(3), 248-252.
- **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.
- **Hyder , S. ; Gondal , A. S. ; Rizvi , Z. F. and Inam, M. 2020.** Biological control of chili damping off disease , caused by *Pythium myriotylum*. *Frontiers in Microbiology*.12(1):35-42.
- **Irulappan, V. and Senthil-Kumar, M. 2021.** Dry Root Rot Disease Assays in Chickpea: a Detailed Methodology. *Journal of Visualized Experiments.* (167) e61702، doi:10.3791/61702 .

References المصادر

- **Jamil , S. U. U. ; Ullah , S. ; Zada, S. ; Rafiq, M. ; Shah, A. A. and Hasan, F. 2023.** Isolation of Antimicrobial Active Compounds Producing *Bacillus subtilis* Strain from Bat Guano of Kashmir Cave, Pakistan. *Geomicrobiology*. Pages 337-346. https://doi.org/10.1080/01490451.2171164.
- **Jiaqi , Y. ; Guoqing , L. ; Chaohan, L. ; Lihua, Z. ; Hongjuan , Y. ; Ronghao , S. and Weihong , G. 2022.** Biological Control and Plant Growth Promotion by Volatile Organic Compounds of *Trichoderma koningiopsis* T-51. *Journal of Fungi.* 8(2)، 131.
- **Jogaiah, S. ; Govind, S. R. and Tran, L. P. 2013.** Systems biology-based approaches toward understanding drought tolerance in food crops. *Journal critical reviews in biotechnology.* 33(1):23-39.
- **Joshi, R. 2018.** A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. *Journal of Medicina Plants*. Studies 6:112-115.
- **Kalymbetov, G. Y. ; Kedelbayev, B. S. ; Yelemanova, Z. R. and Sapargaliyeva, B. 2023.** Effects of different biostimulants on Seed germination of sorghum plants.*Journal of Ecological Engineering*. 24 (3) , 134–142. https://doi.org/10.12911/22998993/157568ISSN 2299–8993, License CC-BY 4.0.iotic stresses
- **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).
- **Ke, H. M. ; Sun, P. F. ; Tang, S. L. ; Chung, W. H. ; Chen, Y. L. ; Chung, C. L. and Tsai, I. J. 2022**. Comparative genomic and transcriptomic analyses of trans-kingdom pathogen *Fusarium solani* species complex reveal degrees of compartmentalization.*BMC Biology* .https ://doi.org/10.1186/s12915-022-01436-7.
- **Khalid, F. ; Khalid, A. ; Fu, Y. ; Hu, Q. ; Zheng, Y. ; SalmanKhan, S. ; and Wang, Z. 2021.** Potential of *Bacillus velezensis* as a probiotic in animal feed. *Microbiology*.59- p. 627–633.
- **Kim, Y. S. ; Lee, Y. ; Cheon, W. ; Park, J. ; Kwon, H. T. ; Balaraju, K. ; Kim, J. ; Yoon, Y. J. and Jeon, Y. 2021.** Characterization of *Bacillus velezensis* AK-0 as a biocontrol agent against apple bitter rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *scientific reports* **.**11- **(**626) /10.1038/s41598-020-80231-2.
- **Kongcharoen, N. ; Kaewsalong, N. and Dethoup, T. 2020.** Efficacy of fungicides in controlling rice blast and dirty panicle diseases in Thailand. *Scientific Reports* .10(1)- 1-7.
- **Kumar, S.; G. Stecher and Tamura, K. (2016).** MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33:1870-1874
- **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.
- **Kumari, M. ; Swarupa, P. ; Kesari, K. K. ; Kumar, A. 2023** . Microbial Inoculants as Plant biostimulants a review on risk status. *Life*. 13-12. https://doi.org/10.3390 life13010012.
- **Lahlali , R. ; Ezrari , S. ; Radouane , N. ; Kenfaoui , J. ; Esmaeel , Q. ; El Hamss , H. ; Belabess, Z. and Barka, E. A. 2022.** Biological Control of Plant Pathogens a global perspective. *microorganisms.10* (3)- 596. https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596.
- **Lamlom, S. F. ; Irshad, A. and Mosa, W. F. A. 2023** .The biological and biochemical composition of wheat (*Triticum aestivum*) as affected by the bio and organic fertilizers. *BMC Plant Biology*. 23- 111/10.1186/s12870-023-04120-2.
- **Lanzuise, S. ; Manganiello, G. ; Guastaferro, V. M. ; Vincenzo, C. ; Vitaglione, P. ; Ferracane, R. ; Vecchi, A. ; Vinale, F. ; Kamau, S. ; Lorito, M.andWoo,S.L. 2022.** Combined Biostimulant Applications of *Trichoderma* spp. With Fatty Acid Mixtures Improve Biocontrol Activity,Horticultural Crop Yield and NutritionalQuality. *Agronomy*.12-pp.275 https://doi.org/10.3390/12020275.

- **Lau, S. E. ; Teo, W. F. A. ; Teoh, E. Y. and Tan, B. *C.* 2022.** Microbiome engineering and plant biostimulants for sustainable crop improvement and mitigation of biotic and abiotic stresses. *Discover Food* . pp. 9. https://doi.org/10.1007/s44187-022-00009-5.
- **Lee, G. ; Choi, H. ; Liu, H. ; Han, Y.-H. ; Paul, N. C. ; Han, G. H. ; Kim, H. ; Kim, P. I. ; Seo, S. -Il ; Jaekyeong Song, J. and Sang,H. 2022.** Biocontrol of the causal brown patch pathogen *Rhizoctonia solani* by *Bacillus velezensis* GH1-13 and development of a bacterial strain specific detection method. *Front Plant Science*.13. https://doi.org/10.3389/fpls..1091030.
- **Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006.** *Fusarium* laboratory workshops--A recent history. *Mycotoxin Research* . 22(2) - pp73-74.
- **Li, J. ; and Li, C. 2022.** *Fusarium solani* Causing Root Rot Disease on gastrodia elata in Shaxi, china. *Plant disease*.106(1) - pp.320.
- **Li, J. ; He, K. ; Zhang, Q. ; Wu, X. ; Li, Z. ; Pan, X. ;Wang, Y. ; Li, C. ; Zhang, M. 2023**. Draft Genome and Biological Characteristics of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* Causing Black Rot in Gastrodia elata. Causing Black Rot in Gastrodia elata. *International Journal of Molecular Sciences.* 24 - pp.4545. https://doi.org/10.3390/ ijms24054545.
- **Lobo, L. L .B . ; Silva, M. S .R .D .A .D. ; Castellane, T. C. L. ; Carvalho, R. F. and Rigobelo, E .C. 2022** .Effect of Indole-3-Acetic Acid on Tomato Plant Growth.*Microorganisms*.10(11) - pp.2212; https://doi.org/10.3390/10112212.
- **Lodygin, E. 2023 .** Frontier Studies in Composition of Humic Substancesand Soil Organic Matter. *Agronomy*.13- pp.188. https://doi.org/10.3390/13010188.
- **López-Moral, A. ; Agustí-Brisach , C. and Trapero, A. 2021.** Plant Biostimulants: New Insights Into the Biological Control of VerticilliumWilt of Olive.*Frontiers in Plant Science*.12| https://doi.org/10.3389/ 662178.
- **Lozada, D. N. ; Nunez, G. ; Lujan, P. ; Dura, S. ; Coon,D. ; Barchenger, D. W. ; Sanogo, S. and Bosland , P. W. 2021.** Genomic regions and candidate genes linked with *Phytophthora capsici* root rot resistance in chile pepper (*Capsicum annuum L.*). *BMC Plant Biology*. 21- pp.601 https://doi.org/10.1186/s12870-021-03387- 7.
- **Lu , Y. and Cui , B. 2019.** Extraction and Purification of Capsaicin from Capsicum Oleoresin Using a Combination of Tunable Aqueous Polymer-Phase Impregnated Resin (TAPPIR) Extraction and Chromatography Technology. *Molecules*. 24 (21) - 3956. doi: 10.3390/molecules24213956.
- **Luo, Y. K. ; Hildebrand, S.K. ; Chong, O. M. and Russin, J.S. 2000.** Soybean yield looss to sudden death syndrome in relation to symptomexpression and root colonization by *Fusarium solani*. f.sp *glycines .plant Disease.* 84- pp.914-920.
- **Malik, A. ; Mor, V. S. ; Tokas, J. ; Punia, H. ; Malik, S. ; Malik, K. ; Sangwan, S. ; Tomar, S. ; Singh, P. and Singh, N. 2020.** Biostimulant-treated seedlings under sustainable agriculture: A global perspective facing climate change. *Agronomy.* 11(1)- pp.14.
- **Martin I, Galvez L, Guasch L, Palmero D. 2022**. Fungal Pathogens and Seed Storage in the Dry State. *Plants*. 11(22)- 3167. https://doi.org/10.3390/11223167.
- **Meister, R. T. 2000.** Farm chemical handbook. Listing for -Beltanol willouhg OH. *Farm Chemicals*. PP- 10-13.
- **Metz, N. and Hausladen, H. 2022**. *Trichoderma* spp. As potential biological control agent against *Alternaria solani* in potato. *Biological Control*.166- pp.104820.
- **Mezzomo, R. ; Rolim, J. M. ; Santos, Á. F. D. ; Poletto, T. ; Walker, C. ; Maciel, C. G. and Muniz, M. F. B. 2019.** Aggressiveness of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* isolates to yerba-mate and production of extracellular enzymes. *Summa Phytopathologica* . 45،pp.141-145.
- **Micknney, H. H. 1923.** Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *journal of agricultural research.*26-pp.195.

- **Miguel-Ferrercz, L. ; Romero-Arenas, C. ; O. ; Andrade-Hoyos, P. ; Sánchez-Moralesc , P. ; Rivera-Tapia, J. A. and Fernández-Pavía, S. P. 2021.** Antifungal activity of *Trichoderma harzianum* and *T. koningiopsis* against *Fusarium solani* in seed germination and vigor of Miahuateco chili seedlings .*Revista mexicana de fitopatología*_. 2007-8080. 0185-3309. https://doi.org/10.18781/ 2101-5 .
- **Ming, L. ; Dou, S. ;Wang, H. and Zhu, Y. 2023.** Study of the Humification Process and Humic Acid-like Structure Characteristics of Kitchen Waste with the Addition of Biochar. *Agronomy*.13 - pp.465. https:// doi.org/10.3390/agronomy13020465.
- **Montealegre, J. R. ; Rodrigo, R. ; Luz, P. M. ; Rodrigo, H. ; Polyana, S. and Imena, B. 2003.** Selection of bioantagonistic to be used in biological control of *Rizoctonia solani* in tomato . *Journal Biotecnology*.6 - pp.115-127.
- **Morales, V. E. and Hernández, A. 2021**. Epiphytiology of charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina* in soybean fertilized with biolandbiosol. *Bioagro*. 33(2) - pp.91-104. https://doi.org/10.51372/332.3.
- **Morcillo, R. J. L. ; Baroja-Fernández, E. ; López-Serrano, L. ; Leal-López, J. ; Muñoz, F. J. ; Abdellatif Bahaji, A. ; Férez-Gómez, A. and Pozueta-Romero, J. 2022 .** Cell-free microbial culture filtrates as candidate bio stimulants to enhance plant growth and yield and activate soil- and plant-associated beneficial microbiota. . *Plant Physiology*. 13 - | https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1040515.
- **Mukherjee, P. K. ; Mendoza-Mendoza, A. ; Zeilinger, S. and Horwitz, B. A. 2022.** Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. *Fungal Biology Reviews*.39 - pp.15-33.
- **Naegele, R. P. and Hausbeck, M. K . 2020.** *Phytophthora* Root Rot Resistance and Its Correlation with Fruit Rot Resistance in *Capsicum annuum*. *Horticultural Science*. 55(12)- PP**.** 1931–1937. https://doi.org/10.21273/15362-20.
- **Nagachandrabose, S. and Baidoo, R. 2021.** Humic acid a potential bioresource for Nematode control. *Nematology.* 24 (1)- PP. 1-10 doi: https://doi.org/10.1163/15685411-bja10116.
- **Nesmith, W. 2001.** Fungicide application guidelines for commercial vegetables in kentucky. *Plant pathology*. fact sheet. Cooperative extension service, Univ. of Kentucky- college of Agriculture.
- **Nikitin, D. A. ; Ivanova, E. A. ; Semenov, M. V. ; Zhelezova, A. D. ; Ksenofontova, N. A. ; Tkhakakhova, A. K. and Kholodov, V. A. .2023.** Diversity, Ecological Characteristics and Identification of Some Problematic Phytopathogenic *Fusarium* in Soil A Review. *Diversity*.15-pp. 49.
- **Nirmaladevi, D. M. ; Venkataramana, R. K. ; Srivastava, S. R. Uppalapati, V. K.; Gupta, T. Y.-M. and Chandra, N. S.2016.** Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Scientific Reports*. 6 - pp.1-30.
- **Nwankiti, A. O. and Gwa, V. I. 2018.** Evaluation of antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* causal agent of white yam (*Dioscorearotundata poir*) tuber rot. *Trends in Technical and scientific research.* 1(1) - PP. 12–18.
- **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 pseudogramineaum* using real time PCR. *Crop Protection*.135- pp. 105204.
- **Pandey, R. N. ; Jaisani, P. and Singh, H. B. 2022.** *Trichoderma* agricultural applications and beyond. *In Biopesticides Elsevier*. pp. 353-381.
- **Papathanasiou, T. ; Gougoulias, N. ; Karayannis, V. G. and Kamvoukou, C**. **A. 2021.** Investigation of the total phenolic content and antioxidant capacity of three sweet pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) at different development and maturation stages. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering.* 65(2)- PP. 219-228.

References المصادر

- **Parmeter, J. R. and Whitney, H. S. 1970.**Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: *Rhizoctonia solani* Biology and Pathology. *Parmeter Journal Research* .University of California Press, California.
- **Parisi, M. ; Alioto, D. and Tripodi, P. 2020.** Overview of biotic stresses in pepper (*Capsicum* spp.): sources of genetic resistance, molecular breeding and genomics. *International Journal of Molecular Sciences*. 21 (7)- PP. 2587.
- **Patrick, J. W. ; Zhang, W. ; Tyerman, S. D. ; Offler, C. E. and Walker, N. A. 2001.** Role of membrane transport in phloem translocation of assimilates and water. *Australian Journal of Plant Physiology*. 28 ، pp.695-707.
- **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)- PP. 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) - PP. 1663-1681.
- **Ptaszek, M. ; Canfora, L. ; Pugliese, M. ; Pinzari, F. ; Gilardi, G. ; Trzci ´ nski, P. ; Malusà, E. 2023**. Microbial-Based Products to Control Soil-Borne Pathogens: Methods to Improve Efficacy and to Assess Impacts on Microbiome. *Microorganisms*. 11 - p.224. https://doi.org/10.3390/11010224.
- **Qiao, J. ; Zhang, R. ; Liu, Y. and Liu, Y. 2023.** Evaluation of the Biocontrol Efficiency of *Bacillus subtilis* Wettable Powder on Pepper Root Rot Caused by *Fusarium solani*. *Pathogens*. 12-p. 225. https://doi.org/10.3390/pathogens12020225.
- **Rabbee, M. F. ; Ali, M. S. ; Choi, J. ; Hwang, B. S. ; Jeong, S. C. and Baek, K. 2019.** *Bacillus velezensis*: A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. *Molecules*. 10.3390/24061046.
- **Ramalingam, J. ; Raveendra, C. ; Savitha , P. ; Vidya, V. ; Chaithra, T. L. ; Velprabakaran, S. and Vanniarajan, C. 2020.** Gene pyramiding for achieving enhanced resistance to bacterial blight، blast، and sheath blight diseases in rice. *Frontiers in plant science* . 11- p.1662.
- **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)- pp.89–123.
- **Ren, H. ; Islam, M. S. ; Wang, H. ; Guo, H. ; Wang, Z. ; Qi, X. ; Zhang, S. ; Guo, J. ; Wang, Q. and Li, B. 2022.** Effect of Humic Acid on Soil Physical and Chemical Properties, Microbial Community Structure, and Metabolites of Decline Diseased Bayberry.I*nternational Journal Molecular Sciences* . , 23(23)- p.14707; https://doi.org/10.3390/ijms232314707.
- **Renteria-Martinez, M. E., Guerra-Camacho, M. Á., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F., Varela-Romero, A., Gutiérrez-Millán, L. E., & Meza-Moller, A. D. C. (2018).** Multilocus phylogeneticanalysis of fungal complex associated with root rot watermelon in Sonora, Mexico. Revista 74exicana de fitopatología, 36(2)- 233-255.
- **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) - PP. 276. https://doi.org/10.3390/jof7040276.
- **Saengchan, C. ; Sangpueak, R. ; Thanh, T. L. ; 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 and Plant Science*. 72(1)- PP. 516-526, DOI: 10.1080/09064710.2021.2018033.

- **Safarieskandari, S. , Chatterton, S. and Hall, L. M. 2021.** Pathogenicity and host range of *Fusarium* species associated with pea root rot in Alberta, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 43(1) - PP.162-171.
- **Sangoyomi, T. 2004.** Post-harvest Fungal deterioration of yam (*Dioscorea rotundata*. Poir) and its Control. Ph.D. Thesis. University of Ibadan، Nigeria.
- **Santos, M. S. ; Nogueira, M. A. and Hungria, M. 2019.** Microbial inoculants reviewing the past discussing the present and previewing an outstanding future for the use of acteria in agriculture. *AMB Express* .9(1) - pp.1-22.
- **Sarmiento-López, L. G. ; López-Meyer, M. ; Maldonado-Mendoza, I. E. ; Quiroz-Figueroa, F. R. ; Sepúlveda-Jiménez, G. and Mario Rodríguez-Monroy, M. 2022.** Production of indole-3-acetic acid by *Bacillus circulans* E9 in a low-cost medium in a bioreactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 134 (1) - PP 21-28. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.03.007.
- **Sawant, S. S. ; Song, J. and Seo, H. J. 2022.** Characterization of *Bacillus velezensis* RDA1 as a Biological Control Agent against White Root Rot Disease Caused by *Rosellinia necatrix*. *Plants*. 11(19)- p.2486.
- **Seleim, M. A. ; Kamal, A. ; Abo-elyousr, K. A. M. ; Mohamed, A. A. ; Al-Marzoky, H. A. 2014.** Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities as Biochemical Markers for Biocontrol Efficacy in the Control of Tomato Bacterial Wilt. *Journal of Plant Physiology and Pathology*.2(1) - pp.1-4.
- **Shakir, S. ; Irfan, S. ; Akhtar, B. ; Rehman, S. ; Khan, D. ; Taimur, N. and Azizullah, A.2018.** Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*solanum lycopersicum*)seedlings .*Ecotoxicology*.27(9) - pp. 1-7.
- **Silva Dias, B. H. ; Jung, S. H. ; Castro Oliveira, J. V. D. and Ryu, C. M. 2021.** C4 Bacterial Volatiles Improve Plant Health. *Pathogens*. 10(6) - pp. 682.
- **Silva, L. G. ; Camargo, R. C. ; Mascarin, G. M. ; Nunes, P. S. D. O. ; Dunlap, C. and Bettiol, W. 2022.** Dualfunctionality of *Trichoderma* Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and biostimulant of cotton plants. *Plant Sciences* . 13/https://doi.org/10.3389/fpls.2022.983127.
- **Silva, M. S. R. D. A. D. ; Santos, B. D. M. S. D. ; Silva , C. S. R. D. A. D. ; Silva, C. S. R. D. A. D. ; Antunes, L. F. D. S. ; Santos, R. M. D. ; Santos, C. H. B. and Rigobelo, E. C. 2021** . Humic Substances in Combination With Plant Growth-Promoting Bacteria as an Alternative for Sustainable Agriculture.
- **Singh, S. K. and Kumar, R. 2015.** Etiology, symptoms and molecularcharacterization of papaya root rot-a new and serious threat. *Indian Phytopathology*. 68(3) - pp. 348-349.
- **Sivakumar, G. and R. C. Sharma, 2003.** Induced biochemical changes due to seed bacterization by *Pseudomonas fluorescens* in maize plants. *Indian Phytopathology* .56(2) - pp.134-13.
- **Sood, M. ; Kapoor, D. ; Kumar, V. ; Sheteiwy, M. S. ; Ramakrishnan, M. ; Landi, M. and Sharma, A. 2020.** *Trichoderma* The "secrets" of a multitalented biocontrol agent.. *Plants*. 9(6) - pp. 762.
- **Sraa,N.M.;Rawa , A-R. A. and AL-Hakeem, A. M. 2021May**.Biological control of *Azotobacter chroococcum* on *Fusarium solani* in tomato plant.*International Journal of Physics Conference Series*.1879,(2),P.022018.
- **Sticher, L. ; Mauch-Mani , B. and Metraux, P. 1997.** Systemic acquired resistance.*AnnualReview of Phytopathology*.35 . pp.235-270.
- **St¸epien, Ł. 2023.** Plant-Pathogenic Fusarium Species**.** Journal Fungi. 9, 13. https://doi.org/10.3390/jof9010013
- **Sun, C. ; Bei, K. ; Liu, Y. and Pan, Z. 2022**. Humic acid improves greenhouse toma quality and bacterial richnessin rhizosphere soil. *Acsomega*. 7(34)- 29823-29831https://doi.org/10.1021/.2c02663.

- **Tariq, A. ; Naz, F. ; Shahid, M. ; Gondle, A. S. ; Sattar, A. ; Nabeel, M. ; Jabeen, Z. ; and Hassan, I. ; .2020.** First report of root rot caused by *Ceratobasidium* sp. AG-Fa on *Capsicum annuum* in Pakistan. *Journal Plant Pathology.* 102- pp.1323–1324 https://doi.org/10.1007/s42161-020-00609-z.
- **Thakker, J. N. ; Patel, S. and Dhandhukia, P.C. 2013.** Induction of defenserelated enzymes inbanana plants: effect of live and dead pathogenic. strain of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *ISRN Biotech.* 13 - pp1–6.
- **Tewari, J.P. (2001)** Guide to commercial greenhouse sweet bell pepper production in Alberta. Agriculture and Rural Development, Government of Alberta.
- **Toledo, E. ; Félix, C. ; Vicente, T. F. L. ; Augusto, A. ; Félix, R. ; Toledo, B. ; Silva, J. ; Trindade, C. ; Raimundo, D. ; Lemos, M. F. L. 2023**.Seaweed Extracts to Control Postharvest Phytopathogenic Fungi in Rocha Pear. *Journal Fungi.* 9, p. 269. https:// doi.org/10.3390/jof9020269.
- **Tomilin, C. 1997.** The pesticide manual. farnham: british crop protection council cambridge : royal society of chemistry. Chapter 2 - pp.1-10.
- **Tyśkiewicz, R. ; Nowak, A. ; Ozimek, E. ; Jaroszuk-Ściseł, 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,p. 2329. https://doi.org/10.3390/ijms23042329.
- **Velásquez , A.C. ; Castroverde , C.D.M. and He , S.Y. 2018 .** Plant-Pathogen Warfare under Changing Climate Conditions. *Curr Biology*. 28 (10)- R619-R634. doi: 10.1016/j.cub.2018.03.054.
- **Vicente, T. F. L. ; Félix, C. ; Félix, R. ; Valentão, P. ; Lemos, M. F. L. 2023 .**Seaweed as a Natural Source against Phytopathogenic Bacteria. *Mar Drugs*. 21, 23. https://doi.org/ 10.3390/md21010023.
- **Vinale, F. ; Sivasithamparam, K. ; Ghisalberti, E. L. ; Marra, R. ; Woo, S. L. and Lorito, M. 2008.** *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology Biochemistry*. 40- p.1–10.
- **Vo, H. H. ; Han, V.-C. ; Tran, T. T. ; Vu, T. T. and Tran, D. K. 2022.** First report of wilt and root rot on bell pepper (*Capsicum annuum*) caused by *Thielaviopsis ethacetica* . *new diseasereports.* 46(1) - pp.2044-0588 https://doi.org/10.1002/ndr2.12113**.**
- **Vu, T. X. ; Tran, T. B. ; Tran, M. B. ; Do, T. T. K. V. ; Do, L. M. ; Dinh, M. T. ; Thai, H-D. ; Pham,D-N. and Tran, V-T. 2023.** Efficient control of the fungal pathogens *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium digitatum* infecting citrus fruits by native soilborne *Bacillus velezensis* strains . *Heliyon*. 9 https://doi.org/10.1016/j..X.e13663 .
- **Wang, B. ; Li, E. ; Lin, Y. ; Xiao, T. ; Ji, X. ; Zhao, Z. and Yan, W. 2023.** Identification, Biocontrol Activity,and Field Application Effect of *Bacillus velezensis* Yb-1.*Horticulturae* . 9,p.376. https://doi.org/10.3390/horticulturae9030376.
- **Wang,** L**. and Ji, P. 2021.** Fitness and competitive ability of field isolates of *Phytophthora capsici* resistant or sensitive to fluopicolide. *Plant Disease.* 105(4)- 873-878.
- **Wang, J. ; Li, B. ; Wang, Y. ; Liao, M. ; Rong, X. and Zhang, Z. 2019.** Influences of immersion bathing in *Bacillus velezensis* DY-6 on growth performance, non-specific immune enzyme activities and gut microbiota of Apostichopus japonicas .*Oceanology and Limnology*. 37- pp.1449–1459.
- **Watanabe, T. 2018.** Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species 3rd Edition. *CRC Press Florida.* USA.
- **Wekesa, T. B. ; Wekesa, V. W. ; Onguso, J. M. ; Wafula, E. N. and Kavesu, N. 2022 .** Isolation and Characterization of *Bacillus velezensis* from Lake Bogoria as a Potential Biocontrol of *Fusarium solani* in *Phaseolus vulgaris* L. *Bacteria*.10:3390/104002.

References المصادر

- **Whitakar, J. R. and Berhard, B. A. 1972.** Experiments for an Introduction to Enzymology. *The Whbier Press* . Davis , Calis .
- **White, T. J. ; Bruns, T. ; Lee, S. H. and Taylor, J. W. 1990.** PCR protocols: a guide to methods and application. *Academic Press* . London.
- **Williams, W. W. ; Mackey, K. and Chomczynski, P. 1997.** Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. *Biotechniques*. 22(3) - pp.474-481.
- **Williamson-Benavides, B. A. and Dhingra, A. 2021.** Understanding root rot disease in agricultural crops. *Horticulturae* .7(2)- p.33.
- **Xie, L. ; Zang, X. ; Cheng, W. ; Zhang, Z. ; Zhou, J. ; Chen, M. and Tang, Y. 2021.** Harzianic Acid from *Trichoderma afroharzianum* Is a Natural Product Inhibitor of Acetohydroxyacid Synthase. *Journal of the American Chemical Society*.
- **Yin, X D. ; Ma, K. ; Wang, Y. ; Sun, Y. ; Shang, X. ; Zhao, Z. ; Wang, R. ; Chen, Y. ; Zhu, J. and Liu, Y. 2020.** Design ،Synthesis ،and Antifungal Evaluation of 8-Hydroxyquinoline Metal Complexes against Phytopathogenic. *Fungi Journal of Agricultural and Food Chemistry* .
- **You, J. ; Hu, Z. ; Li, C. ; Yang, H. ; Zhu, L. ; Cao, B. ; Song, R. ; Gu, W. 2023.** The Effect of *Trichoderma harzianum* Hypovirus 1 (ThHV1) and Its Defective RNA ThHV1-S on the Antifungal Activity and Metabolome of *Trichoderma koningiopsis* T-51. *JournalFungi* .9- p. 175. https://doi.org/10.3390/jof9020175.
- **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)- p.131.
- **Yu, C. ; Chen, H. ; zhu, L. ; Song, Y. ; Jiang, Q. ; Zhang, Y. ; Ali, Q. ; Gu, Q. ; Gao, X. ; Borriss, R. ; Dong, S. and Wu, H. 2023 .** Profiling of Antimicrobial Metabolites Synthesized by the Endophytic and Genetically Amenable Biocontrol Strain *Bacillus velezensis* DMW1.*Microbiology Spectrum*.11(2) . https://doi.org/10.1128/spectrum.00038-23. 03899.2022.18.1703.
- **Zhang, S. ; Zhao, X. ; Wang, Y. ; Li, J. I. N. G. ; Chen, X. ; Wang, A. , and Li, J. 2012.** Molecular detection of *Fusarium oxysporum* in the infected cucumber plants and soil. *Pakistan Journal of Botany*. 44(4)- pp.1445-1451.
- **Zhou, J. ; Xie, Y. ; Liao, Y. ; Li, X. ; Li, Y. ; Li, S. ; Ma, X. ; Lei, S. ; Lin, F. Jiang, W. and He, Y.Q. 2022.** Characterization of a *Bacillus velezensis* strain isolated from Bolbostemmatis Rhizoma displaying strong antagonistic activities against a variety of rice pathogens. *Frontiers in microbiology*.13.
- **Zhu, Q. ; Chen, L. ; Chen, T. ; Xu**, **Q. ; He, T. ; Wang, Y. and Jin**, **A**. **2021.** Integrated transcriptome and metabolome analyses of biochar-induced pathways in response to *Fusarium* wilt infestation in pepper. *Genomics* . 113(4)- pp.2085-2095.
- **Zin, N. A. ; and Badaluddin, N. A. 2020.** Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences* . 65(2)- pp.168-178.

Abstract:

This study was conducted in the College of Agriculture - University of Kerbala with the aim of controlling root rot disease and death of pepper seedlings (*Capsicum annum*) and testing the response of a number of pepper varieties against the pathogen and testing the efficiency of some biological agents chemical pesticides and biological agents in controlling the disease in the laboratory and under the conditions of the plastic house. The results showed that 10 isolates of *Rhizoctonia* sp. four isolates of *Fusarium oxysporum* and eight isolates of *Macrophomina phaseolina* were obtained. And 14 isolates of *Fusarium solani* one isolate of *Acrophialophora jodhpurensis* and one isolate of *Penicillium digitatum* which were diagnosed phenotypically. The results of the laboratory pathogenicity showed that the isolates *Rh*5, *Fo*3, *Fo*4, *Mp*3, *Mp*5, *Fs*2, *Fs*3, *Fs*6, *Fs*8, *Fs*13, *Fs*14 and *Ac*1 were significantly superior ($P > 0.0$) in reducing the percentage of germination of pepper seeds on water agar, as the percentage rate of germination was 0.0% and the isolate *Fs*14 (*F. solani*) excelled in giving Uh The highest percentage of infection of pepper seedlings in plastic pots under plastic house conditions was 100 % .

The results of the molecular diagnosis of the most pathogenic isolate showed that this isolate belongs to the fungus *F. solani.* The results of the molecular diagnosis of the isolate of the biologically resistant bacteria showed that it is *Bacillus velezensis*. The results also demonstrated the existence of a discrepancy between the isolates diagnosed in this study with the isolates previously diagnosed and confirmed in the National Center for Biotechnology Information so these isolates were registered in the mentioned center under the accession number OQ102244 and OQ102242 for the fungus and bacteria isolates respectively.

The results of the sensitivity of a number of pepper cultivars (Carisma-Single-Rio-Cayman) to root rot disease and seedling death showed that the Carisma cultivar was the most sensitive cultivar with an infection rate of 99.66% compared to the proper comparison treatment in which it amounted to 0.0%. The results of the antibody factor test showed *Trichoderma koningiopsis* on the culture medium (Potato dextrose agar) achieved an inhibition rate for the fungus *F.solani* amounted to 99.66% while

concentrations 101 and 102 of the biologically resistant *B. velezensis* gave the highest inhibition rate for the pathogenic fungus on the culture medium (P.D.A.) amounted to 100% in both . The chemical pesticide Beltanol outperformed the pesticides Metchazole and Tabsin by achieving 100% inhibition of the pathogenic fungus in the culture media (P.D.A.) for all concentrations used while this pesticide did not show a significant effect (P > 0.05) on *T. koningiopsis* and *B. velezensis* bacteria used as control agents. biome.

The treatment of integration between all biological and chemical factors (*F.s*14+Biohealth+*B.velezensis* +*T. koningiopsis*+ +Beltanol) used in the study was significantly superior to other treatments in reducing the percentage of infection and its severity in plastic pots and in the soil of the plastic house as it reached 0.0% and the treatment excelled The same in increasing the fresh and dry weight of the vegetative and root groups and the increase in the root size in the presence of the pathogen which were respectively 43.23 g, 26.80 g, 4.41 g, 2.81 g and 14.76 ml compared to the treatment of the pathogenic fungus alone, which amounted to 9.17 g 0.52 g, and 0.44 g. and 0.004 gm and 1.00 mL respectively. The treatment of integration between all the factors used in increasing the levels of total phenols and the enzyme peroxidase was 0.780 mg / g and 79.08 respectively compared to the treatment of the pathogenic fungus alone which amounted to 0.301 mg / g and 26.40.

University of Kerbala

College of Agriculture

Department of Plant Protection

Some aspects of integration in controlling rot and death disease of pepper seedlings caused by *Fusarium solani* and the possibility of chemical and biological control.

A Thesis submitted to the Council of the College of Agriculture / University of Kerbala as Partial Fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Agricultural Science Plant- Protection

by

Nebras Hamza Toma Al-Ghanimi

Supervised by

Prof. Dr. Rajaa Ghazi Abdulmoohsin Al-Janabi

1445 A.H. **2023 A.D.**