جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم وقاية النبات

التوصيف الجزيئي لبعض الفطريات المسببة لمرض تعفن جذور الخيار *Cucumis sativus* L ومكافحته باستخدام عوامل صديقة للبيئة في محافظة كربلاء المقدسة

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

من قبل

ضحى عايد عبد هزاع فهد المسعودي

بإشراف

أ.د. عبد الزهرة جبار علي المحمداوي

2024 م 1446 هـ

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

أَمَّنْ خَلَقَ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلْأَرْضَ وَأَنزَلَ لَكُم مِّنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءً
فَأَنۢبَتْنَا بِهِۦ حَدَآئِقَ ذَاتَ بَهْجَةٍ مَّا كَانَ لَكُمْ أَن
تُنۢبِتُوا۟ شَجَرَهَآ ۗ أَءِلَٰهٌ مَّعَ ٱللَّهِ ۚ بَلْ هُمْ قَوْمٌ يَعْدِلُونَ ﴿٦٠﴾

صَدَقَ اللهُ العَلِيُّ العَظِيمْ

سُورَةُ النَّمْلِ

الإهداء

إهدي ثمرة جهدي الى سيد الخلق وحبيب العالمين ابا القاسم محمد وآل بيته الأطهار وبالأخص سيدي ومولاي صاحب العصر والزمان (عج) والى روح والدي العزيز ووالدتي الحنونة والى أستاذي ومشرفي الدكتور عبد الزهرة جبار علي المحترم والى أختي وصديقتي د . سندس قحطان جاسم الشمري والى صديقتي اللطيفة فاطمة حيدر عبد زيد والى أجمل ثنائي صديقات ثم خوات ديار منعم وأم كيان والى الأميرات أيثار وفاطمة وآثار والى أصحاب الفضل الجميل الشهداء جميعاً وبالاخص الحاج أبو مهدي المهندس .

الى أبي الحبيب . . . . . رحمه الله

كنت أتمنى لو كنت موجوداً في مثل هذا اليوم . . . .

الى من علمني القوة والأيمان باللة والأتكال على نفسي . .

الى الذي لم يبخل علي بأي شيء . . . . .

الى من سعى لأجل راحتي ونجاحي . . . .

الى أعظم وأشجع رجل في حياتي . . . . . .

أمي الحبيبة . . . . .

الى من ساندتني في صلاتها ودعائها . . .

الى من سهرت الليالي تشير دربي . . . . .

الى من تشاركني أفراحي وأحزاني . . .

الى منبع العطف والحنان . . . . .

إلى أجمل ابتسامة في حياتي . . . .

الى أروع امرأة في الوجود . . .

الى خواتي العزيزات الذي يتمنن لي كل خير وسعادة والى العزيزات بنات أخوتي الجميلات الذي شاركن في تقديم الدعم المعنوي لي في الأوقات الصعبة

ضحى عايد

الشكر والتقدير

أحمد الله وأستعين به وأشكره على وافر نعمه وغزير كرمه، الحمد لله على ما أنعم والشكر له على ما الهم والثناء له على ما قدم ، والصلاة والسلام على خيرة خلقه سيدنا محمد وعلى آل بيته الأطهار. يدفعني واجب الحب والعرفان أن أتقدم بالشكر والامتنان الى الأستاذ الفاضل الدكتور عبد الزهرة جبار علي، الذي كان لي مؤازرا"" وموجها" طيلة فترة دراستي وخاصة مدة أعداد هذا البحث، فقد أحاطني بمكارم أخلاقه ومناهل علمه ، ولم يبخل علي بأي وقت أو جهد ، فأرجو له دوام النجاح والموفقية .

ولا يفوتني واجب العرفان بالجميل أن أسجل عميق شكري وتقديري الى أساتذتي الأفاضل في قسم وقاية النبات/ كلية الزراعة- كربلاء المقدسة/ جامعة كربلاء واخصهم بالذكر الاستاذ الدكتور عدنان عبد جليل لهوف و الاستاذ الدكتور ياسر ناصر الحميري و الأستاذ المساعد الدكتور مشتاق طالب محمد والدكتورة أستبرق محمد عبد الرضا والدكتورة رجاء غازي والدكتور عقيل نزال العابدي وكل الاساتذة الافاضل في القسم وكذلك الأستاذ ياسين كمال والأستاذ علاء طالب سالم وأستاذ بريز كمار والشكر والعرفان الى رئيس قسم البستنة الأستاذ المساعد الدكتور كاظم محمد عبدالله والدكتور محمد هادي والشكر والعرفان الى الدكتور حميد عبد خشان والدكتور محمود ناصر حسين الذين لم يبخلوا يوما" بمساعدتي ولما قدموه من توجيهات و أرشادات قيمة وتعاونهم البناء لتسهيل أنجاز هذا البحث وفقهم الله لما فيه الخير وسدد خطاهم . كما اتوجه ببالغ الشكر والامتنان الى الاساتذة الافاضل المقيم العلمي واللغوي و الإحصائي ورئيس واعضاء لجنة المناقشة لتفضلهم بمناقشة هذا البحث واغنائه بملاحظاتهم القيمة وأتقدم بشكر خاص الى اولاد أخي(علي موسى – عباس موسى- وحيدر موسى –ونريد سجاد) وكما اتقدم بشكري وتقديري لزملاء الدراسة كل من(أيمان عباس –فاطمة حيدر–شهب علي –ميادة محمود– نورالهدى محمود–سرى علي –ضياء زهير–أحمد حسن –أمين طاهر–علاء جدوع) الذين قدموا لي العون والمساعدة طيلة فترة دراستي ولم يبخلو علي بوقتهم وجهدهم، وفقهم الله لكل خير .

ضحى عايد

اقرار المشرف

أشهد بأن الرسالة الموسومة (التوصيف الجزيني لبعض الفطريات المسبب لمرض تعفن جذور الخيار *Cucumis sativns* L والحد منه بأستخدام عوامل صديقة للبيئة).

التي قدمتها الطالبة (ضحى عايد عبد هزاع) قد تم اعدادها بإشرافي في كلية الزراعة/ جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير علوم في الزراعية / وقاية النبات.

المشرف

أ. د. عبدالزهرة جبار علي المحمداوي
جامعة كربلاء / كلية الزراعة

توصية رئيس القسم

بناءً على توصية الاستاذ المشرف ، ارشح هذه الرسالة للمناقشة

أ. د. ياسر ناصر حسين الحميري
رئيس قسم وقاية النبات

اقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الرسالة والموسومة (التوصيف الجزيئي لبعض الفطريات المسبب لمرض تعفن جذور الخيار *Cucumis sativns* L ومكافحته بأستخدام عوامل صديقة للبيئة في محافظة كربلاء المقدسة) التي قدمتها الطالبة (ضحى عايد عبد هزاع المسعودي) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدنا أنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير علوم في الزراعة / وقاية النبات).

رئيساً
أ.د. ياسر ناصر حسين الحميري
كلية الزراعية/ جامعة كربلاء

عضواً
أ.م.د. أستبرق محمد عبدالرضا
كلية الزراعة / جامعة كربلاء

عضواً
أ.م .د. علي عاجل جاسم
كلية الزراعة / جامعة المثنى

عضواً ومشرفاً
أ.د. عبدالزهرة جبار علي
كلية الزراعة / جامعة كربلاء

صدقت الرسالة من قبل مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

أ.م .د. علي عبد الحسين كريم
العميد
كلية الزراعة / جامعة كربلاء
2024 / /

المستخلص

هدفت الدراسة الى السيطرة على مرض تعفن جذور الخيار. باستعمال مخلفات دودة الأرض (Vermicompost) ومستحضر الاحياء الدقيق Effective microorganisms (EM1) ,وحامض الهيومك تحت الظروف الحقلية. أكدت نتائج المسح الحقلي انتشار مرض تعفن جذور الخيار في المناطق التي شملها المسح الحقلي الحسينية –الصلامية -الوند- الأبراهمية وبنسبة إصابة تراوحت بين و46.23 - 0. 48% وشدة إصابة بين 28-38%. تم عزل وتشخيص أنواع عدة من الفطريات المرافقة لمرض تعفن الجذور وكان اكثر أنواع الفطريات الممرضة تكرارا هو الفطر *Fusarium spp* يليه الفطر *Rhizoctonia solani* و الفطر *Macrophomina phaseolina*. وأظهرت النتائج ان جميع عزلات الفطر *Fusarium spp* المختبرة كانت ممرضة و أدت الى خفض معنوي في النسبة المئوية لإنبات بذور الخيار، قياسا بمعاملة السيطرة. اظهرت النتائج قابلية مستحضر الاحياء الدقيقة EM1 و مخلفات دودة الأرض وحامض الهيومك أسد في تثبيط نمو الفطر الممرض *F.proliferatum* على الوسط الزرعي PDA اذ كان اعلى تأثير عند تراكيز 5و10 و 15% في نمو عزلة الفطر الممرضة حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 100% . بينما أظهرت نتائج التجربة الحقلية ان جميع المعاملات المختبرة قد أدت الى خفض شدة الإصابة وبنسب متباينة . اذ سجلت معاملة التكامل بين جمع عوامل المكافحة (EM1+Vermi + Humi) أن مرض تعفن جذور الخيار كانت اعلى نسبة تثبيط لشده الأصابة هي6.66% مقارنة بمعاملة الممرض فقط التي بلغت 77.77% فأنها سيطرت على المسبب المرضي وحجمت توسع الإصابة بشكل كبير . بينما سجلت معاملة التوليفة بين المستحضر الحيوي ومخلفات دودة الأرض المرتبة الثانية من خفض شدة الإصابة اذ بلغت 13.33% تلتها معاملتي التوليفة بين المستحضر الحيوي وحامض الهيومك ومعاملة مخلفات دودة الأرض وحامض الهيومك بمعدل شدة إصابة بلغت 22.22% و26.66% على التوالي . في حين تفوقت معاملة المستحضر الحيوي على بقية المعاملة المنفردة بتخفيض النسبة المئوية للأصابة بلغت 46.66% مقارنة بمعاملة الممرض فقط التي بلغت 77.77%

كما ساهمت معاملات التكامل بإضافة مستحضر الاحياء الدقيقة EM1 ومخلفات دودة الأرض وحامض الهيومك أسد في تربة الحقل غير ملوث بلقاح الفطريات الممرضة بتحقيق زيادة ملحوظة في معايير النمو المدروسة لنباتات الخيار المتمثلة بالطول والوزن الطري والجاف والحاصل التجميعي ، فقد بلغ طول النبات 175.67 سم وبلغ الوزن الطري والجاف 2.753 غم 680.33 غم وبلغ الحاصل التجميعي 9.99 كغم قياسا بمعاملة المقارنة، اذ بلغ طول النبات 149.67سم والوزن الطري 1.760كغم والوزن الجاف 440.00 غم و الحاصل التجميعي 6.55. وهذا يدل على كفاءة مستحضر الاحياء الدقيقة EM1 ومخلفات دودة الأرض في تحفيز المقاومة الجهازية في النبات وزيادة معايير النمو .

قائمة المحتويات

التسلسل	المواضيع	رقم الصفحة
1	المقدمة (Introduction)	2-1
2	مراجعة المصادر (Litreatu Review)	3
1-2	موت البادرات وتعفن جذور الخيار	3
2-2	مسببات أمراض تعفن جذور الخيار	4
1-2-2	الفطر *Fusarium proliferatum*	4
2-2-2	الفطر *Rhizoctionia solani*	6-5
3-2-2	الفطر *Macrophomina phaseolina*	9-8
3-2	المكافحة الأحيائية Biologycal Controlلمسببات أمراض النبات	12-10
1-3-2	دور مستحضر الأحياء الدقيقة الفعالةEMفي المقاومة الأحيائية	16-13
4-2	سماد الـ Humic acid	17
5-2	مخلفات دودة الأرض Vermicompost	18
6-2	مدى الترابط بين التشخيص المظهري والتشخيص الجزيئي للفطريات	19
1-6-2	التشخيص المظهري للفطريات	19
2-6-2	التشخيص الجزيئي Molecular ldentification	22-20
3	المواد وطرائق العمل Materials and Methods	23
1-3	الأجهزة والادوات والمواد المستخدمة في إجراء التجارب	23
2-3	المسح	24
3-3	عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نباتات الخيار	25
4-3	حفظ العزلات الفطرية	26
5-3	الكشف عن العزلات المرضية للفطريات *Rhizoctonia solani*و*Macrophomina phaseolina* و *Fusarium proliferatum* بأستعمال بذور الخيارعلى الوسط الزرعي PDA	26
6-3	التشخيص الجزيئي Molecular ldentification	27
7-3	اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطر Fusarum spp على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي .	28
8-3	تحضير لقاح الفطريات	29
9-3	تقييم المقدرة التضادية لمستحضر الأحياء الدقيقة الفعالة Effective Microorganisms(EM1)	29

10-3	تقويم تأثير التكامل بين المستحضر الحيوي ومحلفات دودة الأرض وحامض الهيومك ضد مرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً	30
11-3	التصميم والتحليل الأحصائي	32
4	النتائج والمناقشة **Results and Discussion**	33
1-4	العزل والتشخيص	33
4 -1-1	المسح الحقلي لمرض تعفن جذور الخيار.	33
2-1-4	عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نباتات الخيار المصابة	34
2-4	التوصيف المظهري لأهم العزلات الفطرية المعزولة من الجذور	35
3-4	اختبار المقدرة الامراضية	38-37
1-3-4	اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات الممرضة باستعمال بذور الخيار على الوسط الزرعي PDA	37
2-3-4	اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات الممرضة على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية .	40
4-4	التشخيص الجزيئي Molecular ldentification	48-42
5-4	تقييم المقدرة التضادية لعدة تراكيز من مستحضر الاحياء الدقيقة الفعالة Effective microorganisms EM1)) في تثبيط نمو الفطر *Fusarium proliferatum* على وسط PDA	48
6-4	تأثير التكامل بين المستحضر الحيوي (EM1) و مخلفات دودة الأرض (Vermicompost) وحامض الهيومك ضد مرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً	52-49
7-4	تأثير التكامل بين المستحضر الحيوي (EM1) و مخلفات دودة الأرض (Vermicompost) وحامض الهيومك على معايير النمو والإنتاج ضد الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً	55-53
5	ألاستنتاجات والتوصيات	56

1-5	ألاستنتاجات	56
2-5	التوصيات	56
6	المصادر	57
1-6	المصادر العربية	58-57
2-6	المصادر الأنكليزية	84-59
7	الملاحق	88-85

قائمة الجداول

رقم جدول	**عنوان جدول**	**الصفحة**
1	مكونات المستحضر الأحيائي EM1	**20**
2	الأجهزة والمعدات المختبرية التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ	**27**
3	المواد التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ	**28**
4	تاريخ جمع العينات في محافظة كربلاء المقدسة التي شملها المسح	**28**
5	المسح الحقلي لمرض تعفن جذور الخيار في بعض مناطق محافظة كربلاء.	**37**
6	عزل تشخيص الفطريات المرافقة لجذور الخيار	**38**
7	الكشف عن العزلات الفطرية الممرضة باستعمال بذور الخيار	**43**
8	القدرة المرضية لعزلات الفطريات على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية	**45**
9	تقييم المقدرة التضادية لعدة تراكيز من EM1 في تثبيط نمو الفطر F.Proliferatum على وسط PDA	
10	تأثير التكامل بين المستحضر الحيوي (EM1) و مخلفات دودة الأرض (Vermicompost) وحامض الهيومك على نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً	**55**
11	تاثير التكامل بين المستحضر الحيوي وحامض الهيومك و مخلفات دودة الأرض Vermicompost على معايير النمو والإنتاج ضد الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً.	**57**

قائمة الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	مراحل تنفيذ التجربة الحقلية في البيت البلاستيكي	85
2	الشكل المظهري والمجهري لاهم أنواع الفطريات المعزولة	40
3	جانب من اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطريات على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية	46
4	النسبة المئوية للتشابه بين عزلة الفطر Fusarium proliferatum isolate	47
5	الشجرة الوراثية للفطر Fusarium proliferatum isolate Doha-1	48
6	النسبة المئوية للتشابه بين عزلة الفطر Rhizoctonia solani	50
7	الشجرة الوراثية للفطر Rhizoctonia solani isolate Duha-1	51
10	النسبة المئوية للتشابه بين عزلة الفطر -1- Macrophomina phaseolina isolate Duba	52
11	الشجرة الوراثية للفطر Macrophomina -1 phaseolina isolate	53
12	تقيم المقدرة التضادية لمستحضر EM1 في تثبيط نمو الفطر F.proliferatum على وسط PDA.	49
13	يمثل صور المختبرية	86
14	صور تمثل مراحل نمو النبات في التجربة الحقلية	87
15	صور تمثل مقارنة بين جذور نبات الخيار المصابة والسليمة	88

1: المقدمة

يعد نبات الخيار (*Cucumis sativus*. L) المنتمي الى العائلة القرعية Cucurbitaceaeواحداً من نباتات الخضر المهمة لقيمته الغذائية، اذ يحتوي كل 100 غم من الثمار الطازجة حوالي 96 % ماء و ثلاثة غم كربوهيدرات واحد غم بروتين و12 سعرة حرارية و واحد ملغم فسفور0.03 ملغم حديد و0.03 ملغم فيتامين B و0.04 ملغم B2 و0.20 ملغم نياسين و ثمانية ملغم حامض اسكوربك (Ajibolaواخرون، 2019). ثمار الخيار تستهلك طازجة في السلطات أو مطبوخة و كذلك تستعمل في التخليل (Sharma وآخرون،2020). كما ان لها استعمالات طبية منها المحافظة على نظارة بشرة الإنسان والتخفيف من الاضطرابات العصبية وتنقية الجسم من السموم ومسكن للصداع ومزيل للظمأ (Sattar واخرون ، 2024). في اوربا، يحتل محصول الخيار المرتبة الثانية من حيث الاهمية الاقتصادية بعد محصول الطماطة (Phani واخرون،2021). تحتل الصين المرتبة الأولى عالمياً في انتاج الخيار و بمعدل انتاج بلغ 70% تلتها تركيا ثم إيران و روسيا. اما في العراق فقد بلغ انتاج الخيار حوالي 405610 طن في عام 2017. و يزرع في الحقول المكشوفة في عروتين ربيعية و خريفية كذلك المحمية (Faostat، 2020). حيث يظهر إنتاج هذه العروات اعتبارا من شهر نيسان وحتى شهر تشرين الثاني على الأكثر ولذلك أصبحت الزراعة المحمية تغطي الفترة من شهر كانون الأول وحتى نهاية شهر نيسان من كل عام.

ويتعرض محصول الخيار للإصابة بعدد من المسببات المرضية من بينها الفطر *Fusarium oxysporum* وكذلك فطر *Rhizoctonia solani*و الفطر *Macrophomina phaseolina* تظهر الأعراض المميزة للمرض اعتماداً على الظروف البيئية وعمر النبات عند الأ صابة، وتظهر أعراض تعفن في قواعد السيقان وقشرة الجذور على النباتات البالغة يتبعها اصفرار المجموع الخضري بعدما تكون قد تمكنت من تدمير المجموع الجذري وتظهر علامات الذبول خلال الأوقات عالية الحرارة من اليوم، كما انها تصيب النباتات في مراحل مختلفة من نموها وتسبب موت النبات بالنهاية (Mahmoud واخرون ,2021) استعملت طرائق المكافحة الحيوية biological control (Van Lenteren و اخرون،2020). اذ تعمل عوامل المكافحة الاحيائية كبدائل لمبيدات الافات، وتستخدم هذه الكائنات كمبيدات حيوية و اسمدة في استدامة وتعزيز انتاج المحاصيل وحمايتها وعادة ما تكون العوامل الاحيائية عبارة عن سلالات

احيائية(EM1) معزولة من التربة (Obrien و Elnahal واخرون، 2022و Fasusi واخرون، 2021) لمكافحة المرض استعمال الاحياء المجهرية المضادة للفطريات والصديقة للبيئة. أن تقانات الحديثة تعد منطلقا للبحث عن أستراتيجيات صديقة للبيئة بعيدا عن الأستخدام المفرط للمبيدات الكيميائية كتطوير تراكيب وراثية أكثر مقاومة للمرضات أو أستعمال مواد فعالة في تحضير النظام الدفاعي للنباتات ضد المرضية حتى في التراكيز الواطئة مثل Humaic acid التي لها القدرة على تنظيم الجذور الحرة فضلا عن دورها المهم في نقل الأشارات الخلوية وتنظيم تعبير جينات في تشكيل الأستجابة والفعاليات الأيضية (Zeng ؛2020). أستخدام مخلفات دودة الأرض يعد سماد قوي وغني بالمواد الأولية والثانوية والنادرة التي يحتاجها النبات بالاضافة الى البكتيريا المفيدة للنبات والتربة ولا يحتوي اي اضافات خارجية .

بناءا على ماسبق هدفت الدراسة الى مايلي:

عزل المسببات المرضية الفطرية المرافقة لمرض تعفن جذور الخيار ووضع الحلول المناسبة لمكافحتها..

وشملت المحاور على مايلي:

1. عزل المسبب المرضي لمرض تعفن جذور وساق الخيار من نباتات خيار تظهر عليها أعراض الأصابة للمرض في مناطق مختلفة من محافظة كربلاء.
2. التشخيص الجزيئي لمسببات مرض تعفن جذور وساق الخيار للعزلة الأكثر أمراضية بواسطة تحليل التتابعات النيوكليوتيدية .
3. أختبار أمراضية العزلات على بذور الخيار مختبريا.
4. أختبار فعالية بعض المواد الصديقة للبيئة مثل معاملة مخلفات دودة الأرض والمستحضر الحيوي EMI وحامض الهيومك أسد في مكافحة مرض تعفن جذور الخيار .

2- مراجعة المصادر

2 -1: موت البادرات و تعفن الجذور للخيار

يعد مرض تعفن جذور الخيار من أكثر الأمراض انتشاراً و ذا أهمية اقتصادية في جميع مناطق زراعة الخيار في العالم وتتباين الخسائر التي يحدثها المرض من حقل لأخر خلال نفس الموسم وفي نفس الحقل من موسم لأخر (Singh واخرون،2017) تسبب الفطريات المحمولة في التربة (Soil-borne fungi) كثيرا من الامراض ولمختلف النباتات فهي المسؤولة عن تعفن البذور (Seeds decay) و سقوط البادرات (Damping – off) وتعفن الجذور (Root –rot) و امراض الذبول (Wilt disease) مؤدية بذلك إلى خسائر كبيرة في النباتات التي تصيبها ، وتعد الامراض الفطرية من اهم المسببات المرضية حيث تمثل80% من امراض المحاصيل (Dayarathne واخرون، 2021) . تحدث الاصابة بمرض تعفن الجذور في مناطق عدة من العالم التي تمتلك ظروف بيئية ملائمة من درجة حرارة ورطوبة عالية نسبياً، تزداد نسبة الاصابة وشدتها في الزراعة المحمية مما يؤثر على القيمة الاقتصادية لمحصول الخيار ويكون المرض اكثر شدة إذا توفرت الظروف البيئية الملائمة (Niu واخرون،2020). تبقى فطريات تعفن الجذور لسنوات عدة في بقايا محصول الخيار المصابة والتربة الملوثة بتراكيب تشتية الفطريات، التي ربما تكون أبواغاً بجدران سميكة مثل الابواغ الكلاميدية (Chlamydospores) للجنس *Fusarium* والخيوط الفطرية والأجسام الحجرية الداكنة للفطر *Rhizoctonia* و *Macrophomina* ، تتحفز هذه التراكيب للإنبات بواسطة إفرازات جذور النباتات العائلة الحساسة كالباذنجان والطماطة والخيار وقد تتحفز ايضاً بوساطة جذور نباتات غير عائلة لها أو تبقى حتى توافر العوائل الحساسة (Washington،1974و Singh،1978). تظهر الأعراض العامة لمرض تعفن جذور الخيار في الحقل كنقص في عدد النباتات الناشئة نتيجة لمهاجمة الفطريات الممرضة للبذور والبادرات الحديثة (Ghoniem وأخرون 2023). وتظهر اعراض المرض على النباتات المصابة بشدة باصفرار الأوراق وتقزم النباتات واختزال المجموع الجذري وتلونه بلون بني وظهور درجات مختلفة من التعفن و تكون جذور ثانوية فوق منطقة الإصابة، و

انخفـاض الحاصـل ويختلـف شـكل البقـع ولونهـا والتقرحـات الحديثـة علـى الجـذر والسـاق باختلاف المسبب المرضي لتعفن جذور الخيار(Hamed واخرون،2022).

2-2: مسببات أمراض تعفن جذور الخيار

1-2-2: الفطر *Fusarium proliferatum*

هـو أحـد مسـببات الأمـراض النباتيـة الفطريـة التـي تصـيب المحاصـيل ويمكـن أن يـؤثر أيضًـا علـى البشـر. وهـو منتشـر فـي جميـع أنحـاء العـالم ويـرتبط بمجموعـة متنوعـة مـن الأمـراض فـي نباتـات المحاصـيل الاقتصـادية الهامـة، مثـل الـذرة والمـوز. يمكـن أن يسـبب عـدوى منتشـرة فـي المرضـى الـذين يعـانون مـن ضـعف المناعـة تتميـز مسـتعمراته علـى وسـط PDAبسـرعه النمـو وبلـون أبـيض مائـل الـى البرتقـالي الشـاحب ويصـيبح داكـن مـع تقدم العمـر ويمكـن ان يكـون صـبغه حمـراء تتكـون بعـد أربعـة أسـابيع أو أكثـر ومـن الفحـص المجهـري للفطـر تميـزت الابـواغ الكونيديـة الكبيـرة بالشـكل القـاربي ذات خليـة قميـة مقوسـة ومسـتدقة وخليـة قاعديـة لا تتميـز الـى خليـة قـدم ولاتكـون مسـتدقة وعـدد الحـواجز يتـراوح مـن (٣-٥) حـاجزاً والسـائد فيهـا ثلاثـة حـواجز مـن الصـفات المـذكورة لهـذا النـوع تتفـق مـع الصفات المثبتة من لدن(Summerellو Leslie , 2006)

Kingdom: Fungi

Division: Ascomycota

Class: Sordariomycetes

Order: Hypocreales

Family: Nectriaceae

Genus: *Fusarium*

Species: F. proliferatum

في الماضي، كان يتم الخلط بين فطر *F. proliferatum* والأنواع المشابهة له من الناحية الشكلية. اليوم، يتم تعريف فطر *F. proliferatum* جيدًا من خلال مورفولوجيا وحالته الشكلية (Gibberella intermedia)، والتحليلات القائمة على الحمض النووي. يتمتع فطر *F. proliferatum* بتوزيع عالمي ونطاق واسع بشكل غير عادي من المضيفين(Yuوأخرون، 2024). إنه مكون متكرر لأمراض تعفن العرانيص في الذرة والقمح، ويسبب أيضًا أمراضًا لنباتات متنوعة مثل الهليون والتين والبصل والنخيل والصنوبر والأرز(Summerellوأخرون ،2011). كشفت التحليلات القائمة على الحمض النووي والتطوري عن مستوى عالٍ من التنوع الجيني داخل فطر *F. proliferatum* ولكنها لم تقدم أي دليل على وجود بنية فرعية مهمة للأنواع بناءً على المضيف أو الأصل الجغرافي. ينتج فطر *F.proliferatum* مجموعة واسعة من المستقبلات النشطة بيولوجيًا، بما في ذلك السموم الفطرية بيوفيريسين والفومونيزين والفوسابروليفرين وحمض الفيوزاريك والفوسارين والمونيليفورمين. إن نطاقها الواسع من المضيفات، وقدرتها على إنتاج مستقبلات بيولوجية نشطة متنوعة، وقابليتها للتحليلات الجينية الانقسامية والجزيئية تجعل *F.proliferatum* نظامًا ممتازًا للدراسات البيولوجية والكيميائية حول بيئة الفطريات، وتفاعلات الفطريات والنباتات.تم وصف *F. proliferatum* لأول مرة باسم Cephalosporium proliferatum في عام 1971 ولكن تم التعرف عليه كنوع مميز داخل *Fusarium* منذ عام 1976 (1976 Nirenberg؛ Leslie and Summerell 2006).

2-2-2 الفطر *Rhizoctonia solani*

يعد الجنس *Rhizoctonia* من الفطريات الممرضة الكامنة في التربة ويشكل النوع *solani* من اكثر الأنواع المنتشرة حول العالم والذي يسبب خسائر فادحة بالمحاصيل وينتقل عن طريق التربة ويهاجم العديد من المحاصيل الزراعية ومنها الخيار و الطماطة والباذنجان مسببا لها تعفن البذور وسقوط البادرات وتعفن الجذور (Molla واخرون، 2020و Heflish واخرون،2021)، سجل هذا النوع من قبل

العالم الألماني Julius kuhn على درنات البطاطا اما الجنس فسجل لأول مرة من قبل الباحث Decandolle في عام 1858 ، يعود الفطر *R.solani* الى :

Division : Basidiomycota

Class : Agaricomycetes

Order : Cantharellates

Genus: *Rhizoctonia*

Species*: solani*

التكاثر اللاجنسي يحدث في الطبيعة التي يعيش فيها على شكل غزل فطري (خضري) او على شكل اجسام حجرية Sclerotia اذ لا يكون الفطر جراثيم كونيدية (Mat Razali واخرون2021،). اما التكاثر الجنسي في بعض الأحيان وتحت ظروف معينة يكون الفطر ابواغ جنسية من نوع Basidiospore والتي اكتشفت لأول مرة من قبل العالمين Prillieux و Delacroiz عام 1891 وعلى أساسه اصبح الفطر تابع الى الفطريات البازيدية Basidiomycota(Ajayi-Oyetunde،2018)

لقد سميه الطور الجنسي للفطر *R.solani* والذي يبدو كنمو زغبي ابيض اللون رقيق على السيقان والأوراق وكذلك التربة الى عدة تسميات ويعرف الان باسم *Thanatephorus cucumeris* وسجل على نبات القطن لأول مرة (Agrios، 2005و Singh،2007) . هذا الطور ينمو في ظروف خاصة من رطوبة وحرارة ويكون ابعاد البوغ البازيدي 6-4 × 8-6 مايكرو ميتر (حسون،2005).

يتصف الفطر *R.solani* باحتوائه على خيوط خضرية تكون خلاياها طويلة تتفرع بشكل زاوية قائمة وهي من الصفات التصنيفية للفطر، وكذلك هناك انقباض واضح قريب منطقة التفرع في نقطة اتصال الخيط الفطري الحديث بالخيط الرئيسي وهي صفة تصنيفية مميزة للفطر، ويوجد بين الخلايا حواجز او عوارض مثقبة تسمح لحركة السايتوبلازم بالمرور من خلية الى خلية أخرى، ان الحالة التشريحية للحاجز

Septalpore وعدد الانوية الخلوية تستعمل من قبل الباحثين في التفريق بين نوع الفطر *R.solani* وباقي الانواع ويكون الغزل الفطري الحديث عديم اللون ويصبح ذا لون بني بتقدم العمر ثم يصبح سميكا، يكون الفطر مجموعة من الخلايا البرميلية الشكل اما الاجسام الحجرية (Sclerotia) فتكون بنية الى سوداء لا تتميز الى قشرة ولب ولها القدرة على مقاومة الظروف البيئية غير الملائمة (العامري،2018).

ينمو الفطر *R.solani* في التربة الطينية والباردة الرطبة (Ritchie وآخرون،2007) وكذلك في التربة الرملية، إن للفطر القدرة على تحمل مدى واسعا من درجات الحرارة يتراوح بين 8 –36مo وان درجة الحرارة المثلى لحدوث الإصابة 24 –32مo والأس الهيدروجيني 9.8 – 4.5 = pH ورطوبة20–75% ، كما ان زيادة الرطوبة بالتربة تزيد من تفشي المرض (الزبيدي،2020)، وتزداد شدة الاصابة بالفطر *R.solani* عندما يتعرض النبات الى الاجهاد الناجم من الشد البيئي والتأثيرات السمية الناتجة من استخدام المبيدات بصورة خاطئة، والاسمدة الكيميائية وخاصة الأسمدة النيتروجينية أو نقص المواد الغذائية وتأثير عمر النبات، إذ إنَ النباتات البالغة تكون أكثر مقاومة للفطر وتأثير العواصف الرملية بالإضافة إلى تعرض العائل للإصابة بالحشرات و الديدان الثعبانية (Prabhukarthikeyan واخرون، 2022و Senapati واخرون،2022).

يصيب الفطر *R.solani* مدى واسع من المحاصيل منها: القمح والشعير والخيار والفلفل و الطماطة والباذنجان والفاصوليا والجزر والقرنفل والقرنبيط و الحمص والبطاطا والبنجر السكري وفول الصويا والتبغ والأرز و غيرها من المحاصيل، وكذلك يصيب أشجار الفاكهة مثل الفستق والمشمش والغابات، وتعد الأشجار من بين الأنواع المضيفة الدائمة للعامل الممرض (Aydin و Unal ,2021). ويصيب الشتلات في مجموعة متنوعة من المحاصيل بما فيها القطن والبطيخ و الفول السوداني والبطاطا و الطماطة والسبانخ وفول الصويا (Demirer Durak وOk , 2019). مسبباً مجموعة متنوعة من الاعراض منها تعفن الساق و الجذور ومنطقة التاج و التقزم وسقوط البادرات، كما وجد ان للفطر *R.solani* في اكثر من 188عائلا نباتيا تعود الى 32عائلة ، تختلف الاعراض التي يسببها هذا الفطر باختلاف العوائل النباتية

وعمر النبات والظروف المحيطة (Agrios،2005). انتشاره الجغرافي واسع يمتد من اسفل القطب الشمالي الى المنطقة الاستوائية، يهاجم بذلك جميع المحاصيل الحقلية المعروفة والاشجار والاعشاب والمحاصيل البستنية والخضر. لقد وجد في دراسة ان الفطر *R. solani* ينتج مادة(PAA) (phenylacetic acid) السامة لنبات الخيار(Kankam واخرون،2021)، وبين الباحث (Abdulridha واخرون 2020) ان الفطر R. solani من الفطريات التي تسبب خسائر في المحصول الخيار وكذلك تحول دون انبات البذور، وكذلك بين الباحثون Al-Surhanee واخرون، (2021) ان الفطر *R. solani* من أكثر الفطريات فتك في الخيار ومن أهم أسباب تعفن بذور الشتلات ويهاجم النبات خلال مراحل نموها المختلفة.

3-2-2 : الفطر *Macrophomina phaseolina*

الفطر *M . phaseolina* وطوره الجنسي (teleomorph) يسمى *Sclerotium bataticola* Taub هو مسبب مرض التعفن الفحمي وامراض أخرى مثل تعفن الساق والجذور ولفحة الشتلات (Marquez واخرون،2021) ويعد مرض التعفن الفحمي Charcoal rot الذي يسببه هذا الفطر من اهم الامراض علما انه يعيش في التربة في المناطق المعتدلة والاستوائية ويصيب العديد من المحاصيل ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة في الانتاج (Campo واخرون، 2020 و Hyder واخرون،2022). وتعتمد شدة الإصابة على الظروف البيئية والمنطقة الجغرافية ،كما انه من الفطريات المحمولة في البذور و التربة Ghosh)soil-borne pathogen واخرون،2018). واعتمد في تشخيص الفطر على الطور البكنيدي والسكلروشي، اذ قام العالم Halsted عام 1890 لأول مرة بوصف الطور السكلروشي للفطر على البطاطا تحت اسم (Dhingra *Rhizoctonia bataticola*وSinclair،1978)، وعرف العالم Tassi عام 1901 الطور البكنيدي وسمى الفطر *M. phaseolina*، على أساس الطور السكلروشي من قبل العالم Taubanhus عام1913، وسجل الفطر *M. phaseoliana* لأول مرة في العراق من قبل العالم (Stevenson) في عام 1945 . يعود الفطر *M. phaseolina* قسم الفطريات الكيسية

Division : Ascomycota

Class : Dothideomycetes

Order : Botryosphaeriales

Family: Botryosphaeriaceae

Genus: Macrophomina

(صالح ، 2020) و يضم جنس Macrophomina نوعا واحدا فقط هو phaseolina(Kumar واخرون ،2023)، تختلف عزلات هذا الفطر بحجم الاجسام الحجرية الصغيرة Microsclerotia التي تكون بلون اسود ملساء كروية الى مستطيلة او غير منتظمة الشكل تنشأ من تجمع الخلايا الفطرية بواسطة مادة الميلانين من50-200 خلية يمكنها ان تنشيء جسما حجريا صغيرا مفردا. و ينتج الفطر Microsclerotia ، حيث تكون جسيمات فطرية صغيرة مستديرة تسمح للفطر بالبقاء في التربة او في البقايا او المخلفات النباتية المصابة لفترة طويلة، يتم تحرير Microsclerotia في التربة بعد موت وتحلل المادة النباتية، يغزو الفطر *M. phaseolina* النبات من خلال الجذور والتاج ويسبب كذلك موت البادرات قبل البزوغ وبعد البزوغ، ومن الاعراض الأكثر شيوعا التي تظهر على النباتات الكبيرة الذبول المفاجيء للنبات وظهور تقرحات على قواعد الساق والجذور عند إزالة القشرة يلاحظ اعداد كبيرة من الاجسام الجحرية Microscleroti (2011,Edraki) يوجد الفطر داخل اغلفة البذرة او سطحها الخارجي بهيئة غزل فطري، ويؤدي ذلك الى عدم القدرة على التمييز بين البذور السليمة و البذور المصابة بالعين المجردة، ويتم التأكد من ذلك عن طريق اختبار انبات البذور على ورق الترشيح (Abdou واخرون،1979). ان لون المستعمرة يتدرج من اللون الأبيض الى اللون البني او الرمادي الداكن بتقدم عمر المستعمرة ، وان الفطر *M. phaseolina* من الفطريات اختيارية التطفل وانه يصيب اكثر من عائل، اذ يصيب اكثر من 500 نوع في العالم (Sanchez واخرون، و Mawar Lodha 2020، و Gomez واخرون،2020). ينمو الفطر *M.*

phaseolina وينتج اعدادا كبيرة من الاجسام الحجرية في المستويات الرطوبة الواطئة (Marquez واخرون، 2021) .

وأشارت بعض الدراسات السابقة ان الظروف التي تقلل من حيوية النبات كتعرض النبات الى الاجهاد المائي وارتفاع درجة الحرارة من20-35 م° ونقص خصوبة التربة مهمة لحدوث مرض التعفن الفحمي، وان درجة الحرارة المثالية لحدوث وتطور المرض هي 30-35م0 ، وتزداد الإصابة في التربة ذات النسجة الرملية (Diourte واخرون، 1995و Kendig واخرون،2000). من الآليات التي يستخدمها الفطر في احداث الإصابة غلق الاوعية الناقلة (الخشب واللحاء) بواسطة الاجسام الحجرية والتي تمنع وصول الماء والعناصر المغذية مما يؤدي الى ذبول النبات وموته. كما ينتج الفطر عددا من السموم الفطرية التي تساعده في احداث الإصابة ومنها phomalactone و phomeno و acid phaseolinic و كذلك سم phaseolinone، و Isoasperlin (Amammory و,Matloob،2019). كما ذكر(Mahdizadeh واخرون، 2011) ان سم phaseolinone اكثر أهمية اذ يحدث في النبات المعامل به اعراض مرضية مشابهة للاعراض التي يحدثها الفطر ذاته، كذلك بيّن (Ibrahim واخرون،2024) ان الفطر *M. phaseolina* خفض نسبة انبات البذور بالكامل، وقد اهتم العلماء والباحثين بدراسة هذا المرض وتأثيره الواسع في انتاج المحاصيل الحقلية اذ وجد انه المسبب لمرض التعفن الفحمي (Ronak واخرون،2014).

3-2 المكافحة الاحيائية Biological Control لمسببات امراض النبات.

مع الزيادة المتوقعة في عدد سكان العالم من البشر من المرجح ان تكون حماية المحاصيل الغذائية من الآفات والامراض النباتية أولوية عالية في المستقبل المنظور، اذ تم استخدام طرائق المكافحة الاحيائية في جميع انحاء العالم لأكثر من قرن، مما أدى تطبيقها الى توفير المكافحة المستدامة للآفات الزراعية الرئيسة وتعد بديلا واعدا عن المبيدات الكيميائية (He واخرون،2021) . بالرغم من ان المبيدات الكيميائية تعد من الوسائل الفعالة وذات التأثير السريع في مكافحة الامراض النباتية، الا ان الاثار الجانبية لها مثل ظهور صفة المقاومة في الآفات وتأثيرها على الكائنات غير المستهدفة وغيرها من الاضرار في البيئة دفعت الباحثين في مجال مكافحة الآفات الى تقليل استخدامها

(شـنور،2021). ان الاعتمـاد علـى المـواد الكيميائيـة الفعالـة التقليديـة لحمايـة المحاصـيل الـذي سـاد منـذ منتصـف القـرن العشـرين يواجـه الان تحـدياً لـذلك اسـتوجب اسـتخدام طرائـق بديلـة لحمايـة المحاصـيل تكـون قليلـة الاثـار الجانبيـة واقـل ضـررا للإنسـان وآمنـة بيئيـا وذات تـأثير فعـال فـي السـيطرة علـى المسـببات المرضـية (Sundh و,Eilenberg 2020).

وتعـد منطقـة حـول الجـذور Rhizosphere واحـدة مـن اهـم النقـاط الغنيـة بنشـاط هـذه الكائنـات الدقيقـة التـي اسـتعملت لمكافحـة الممرضـات النباتيـة (Lahlali واخـرون،2021). اذ تعـد هـذه منطقـة اكثـر فعاليـة فـي تحديـد الاحتياجـات الغذائيـة بسـبب النشـاط العـالي لاحيـاء التربـة المجهريـة، لـذا فـان رفـع كفـاءة النبـات لامتصـاص العناصـر المغذيـة يعتمـد بشـكل كبيـر علـى وجـود الاحيـاء الدقيقـة فـي التربـة الحـرة التكافليـة المعيشـة فـي هـذه المنطقـة كـذلك تحتـوي الأسـمدة الحيويـة علـى الكائنـات الحيـة الدقيقـة التـي تسـتعمر منطقـة الجـذور وتسـاعد فـي تعزيـز نمـو النبـات وتحـول العناصـر غيـر القابلـة للـذوبان الـى شـكل قابـل للـذوبان مـن خـلال عمليـات بيولوجيـة مماثلـة لإذابـة الفوسـفات الصـخري وتثبيـت النيتـروجين (Macik واخـرون، 2020و Ozdemir واخـرون، 2020و Seenivasagan و Babalola، 2021).

ان المكافحـة الأحيائيـة Biological Control تعـد جـزء مـن الادارة المتكاملـة للافـات Integrat Pest Mangment (Dimkic واخـرون،2022).وهـي احـد الاجـراءات الوقائيـة لاختـزال شـدة المـرض باليـات مختلفـة مـن خـلال خفـض كثافـة لقـاح المسـبب المرضـي عـن طريـق اضـافة الكائنـات الحيـة الدقيقـة المضـادة وتنشـيطها فـي البيئـة لمكافحـة المسـبب المرضـي (Abdel-Kader- واخـرون،2021)، وتعتبـر المكافحـة الاحيائيـة مـن احـد الطـرق المسـتعملة فـي مكافحـة الافـات ونالـت حيـزا كبيـرا مـن اهتمـام البـاحثين وفقـا للجوانـب الإيجابيـة لهـا فـي البيئـة كونهـا نهجـاً صـديقاً للبيئـة فـي اسـتخدام مجموعـة مـن الكائنـات الحيـة المفيـدة ضـد مسـببات الامـراض مقارنـة مـع المبيـدات الكيميائيـة المسـتعمل للغـرض نفسـه (Manganiello، 2018). وقـد ظهـرت إنجـازات واعـدة فـي مجـال المكافحـة الاحيائيـة خاصـة بعـد الاسـتخدام النـاجح لـبعض عوامـل

المكافحة الحيوية المعادية، ولاسيما، *Pseudomonas spp.* , *Bacillus spp.* , *Burkholderia spp*.و *Trichoderma sp* (. Lahlali واخرون،2022).

بعض الاحياء الدقيقة تنتج مضادات حيوية لقتل مسببات الامراض مباشرة ومن هذه الاحياء اجناس فطرية مثل جنس *Trichoderma.spp* و الجنس *Gliocladium .spp* التي لها القدرة التضادية ضد الفطريات الممرضة للنبات ، كما ان البعض منها يعمل كمنافسين على المواد الغذائية عن طريق اطلاق بعض المركبات او مضادات الميكروبات (Alvindiو Kolodkin ،2020).يمكن للنباتات، الدفاع عن نفسها عن طريق انتاج مركبات لقتل المسببات المرضية او تعزيز نمو الكائنات الدقيقة المفيدة يمكن استخلاص هذه المركبات من النبات واستخدامها مع مضادات الميكروبات او التمثيل الغذائي الذي تنتجه الاحياء المفيدة (Brescia واخرون،2021). كما تعد البكتريا المشجعة لنمو النبات من العوامل الأكثر نجاحا في برامج المكافحة الأحيائية ، واحيانا تعد طريقة بديلة عن استعمال المبيدات الكيميائية (Ghazanfar واخرون2018، و Youseif،2018).

والبكتريا المعززة لنمو النبات Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR)) هي بكتريا التربة تعيش في الجذور والتي تشارك من خلال افرازاتها المختلفة في تعزيز نمو النبات وتطوره يمكن العثور عليها بالمنطقة المحيطة بالجذور(Rhizosphere)، مع الأوراق (Philosphere)، او داخل النبات Indosphere (Vocciante واخرون،2022)، تقوم هذه البكتريا بتعزيز النمو من خلال عدة اليات منها الامتصاص المباشر للعناصر الغذائية، والتنافس على الأوسط الغنية بالمواد الأولية(Silva Diasواخرون،2021) وتثبيت النيتروجين (Pankievicz واخرون،2017)، واذابة الفوسفات غير العضوي (Alori واخرون،2017)، ولها القدرة على انتاج الاوكسينات ومنظمات النمو النباتية وعلى وجه الخصوصIndol Acetic Acid 3- (IAA) (Duca و,Glick،2020)، و Gibberellins Cytokinins(pavlu واخرون،2018) ، و انتاج جزيئات (Radzki siderophore واخرون،2013). وتحفيز المقاومة الجهازية في النبات ضد العديد من المسببات المرضية وإنتاج المضادات الحيوية(Egamberdieva

واخـــرون،2019). وتشـــمل أنـــواع منهـــا جـــنسspp *Azotobacter*و الجـــنس *Azospirillum* spp. وغيرها وتوجد اعداد قليلة لها القدرة على الاختراق الى داخل انسجة الجذور وبذلك تكون اكثر تخصصا،

كذلك وجد ان بكتريا *Bacillus subtilis* و spp *Azospirillum*. إضافة الى ما ذكر لها القدرة على زيادة المساحة السطحية للجذر من خلال تحفيز النبات على تكـــوين شـــعيرات جذريـــة جديـــدة (Papi واخـــرون،2019) كمـــا وجـــد ان بكتريـــا Pseudomonas fluorescans عند اضافتها الى التربة او تغطيس بذور النباتات في معلق المزرعة البكتيرية الى تحفيز المقاومة الجهازية ضد الكثير من الامراض النباتية (Markو Channya، 2016). يعد الفطر spp *Trichoderma*. من احد عوامل المكافحة الأحيائية المهمة لمسببات الامراض النباتية ، لأنه يمتلك خصائص تضادية متنوعة اتجاه المسببات المرضية وله اهمية في تحسين نمو النبات وانتاجة (Xie واخرون،2021) وان ا لفطر يتميز بسهولة عزله و اكثاره و امكانية استعماله في مدى واسع من الظروف المختلفة و تنميته وتحميله على العديد من الاوساط الغذائية رخيصة الـــثمن(Abdullahi واخـــرون،2021) ، ويمتلـــك فطـــر *Trichoderma*.spp القابليـــة على استحثاث المقاومة (Harman و Uphoff،2019)

2-3-1: دور مستحضـــر الأحيـــاء الدقيقـــة الفعالـــة EffectiveMicroorganisms (EM1) في المقاومة الأحيائية

هو محلول يحتوي على مجموعة فعالة من الكائنات الحية الخاملة او الكامنة تعود الـــى اجنـــاس متوافقـــة مـــع بعضـــها وتوجـــد طبيعيـــا فـــي البيئـــة (الكـــيم، 2015و نصـــور واخـــرون، 2021وAL-Mayali,2021). بـــدا اســـتخدامها فـــي اليابـــان منـــذ 30 عامـــا. تستخدم الان على نطاق واسع في العديد من البلدان بهدف انتاج محاصيل زراعية آمنة (Kour واخـــرون،2020). اول مـــن اكتشـــفها العـــالم الياباني Higa Ter فـــي بدايـــة الثمانينـــات اطلـــق عليهـــا EM1 اختصـــارا لكلمتـــي Effective Micro -organisms أي الكائنـــات الدقيقـــة الفعالـــة ويعتبـــر مـــن اهـــم المخصـــبات الحيويـــة المســـتخدمة ولهـــا دوراً نشـيطاً وفعـالاً فـي تحسـين خصـوبة التربـة الزراعيـة ، وهـو مستحضـر آمـن مـن الناحيـة الصـحية، اذ إنّ الاحيـاء الدقيقـة الموجـودة فيـه غيـر معدلـة وراثيـا ولا يحتـوي علـى أي

مبيدات او مواد كيميائية ضارة (A.P.N.A.N, 2005). يعمل هذا المستحضر على تحلل المادة العضوية بشكل اسرع مما يؤدي الى توفرها بكميات كبيرة للجذور، حيث ان النباتات المعاملة بها لديها نمو اسرع، وإنتاج اكبر للأوراق والمحصول وتقليل الإصابة بالافات والامراض وزيادة عملية امتصاص الماء والمغذيات مما يساعد على حركة وتوزيع العناصر الغذائية (Al- Mayali واخرون،2020).

وحسب ما ذكرته مؤسسة EMRO(Eastern Mediterraanean Regional Office) اليابانية وورشة العمل الإقليمية عام 2002 تقوم هذه الاحياء بمجموعة من الوظائف المهمة والمفيدة لزيادة خصوبة التربة، ومنها افراز الانزيمات حيث تقوم بتحليل المواد العضوية المعقدة ومعدنة العناصر الغذائية وتحويلها من الصورة العضوية غير الذائبة الى صورة ذائبة يستطيع النبات الاستفادة منها وامتصاصها واكسدة مركبات الكبريت غير الذائبة وتحويلها الى صورة ذائبة، افراز منظمات النمو النباتية والمضادات الحيوية التي تثبط الكائنات الممرضة للنبات وتساعد على تكوين الدوبال في الترب الزراعية، تحسين بناء التربة عن طريق تجميع حبيبات التربة بربطها مع بعضها بواسطة خيوط هايفات الفطريات والاكتينومايسيتات مما يزيد من درجة تهوية التربة، امداد التربة بأعداد وفيرة من الكائنات الدقيقة المفيدة دون احداث ضرر بالنبات، تثبيت ازوت الهواء الجوي مما يزيد المحتوى النيتروجيني في التربة وتقوم بكتريا الاوتوتروفية بتمثيل ثاني أوكسيد الكاربون مما يزيد الكاربون العضوي، افراز الاحماض التي تذيب العناصر المعدنية الموجودة في التربة مثل املاح الفوسفات الصخري وتحويلها الى املاح فوسفاتية ذائبة وتحرير عنصر البوتاسيوم وغيرها من العناصر المعدنية الموجودة في التربة الزراعية، وأخيرا افراز المواد المخلبية التي تعرف باسم حوامل الحديد Siderophores التي تيسر امتصاص عنصر الحديد المهم للنبات .يحتوي هذا المستحضر على الاحياء المجهرية التي تعود لعدة اجناس من البكتريا الهوائية واللاهوائية مثل بكتريا التمثيل الضوئي Rodopseudomonas spp. التي تفرز مواد مختلفة مثل الاحماض الامينية والكربوهيدرات المشجعة لنمو النبات و بالتازر مع الاحياء الأخرى تزيد من خصوبة التربة وتحسين امتصاص العناصر الغذائية وتقليل حدوث الامراض ، ومن هذه الاحياء Azotobacter و Mycorrhiza و Rhizobium (Prisa، 2019).

كـذلك يحتـوي علـى الخمـائر Yeast التـي تعمـل علـى افـراز مـواد مثـل الفيتامينـات والمـواد العضـوية والمعـادن المخلبـة وتحـافظ علـى نسـبة C/N ممـا يزيـد مـن محتـوى التربـة مـن Humus(الـدبال) ويحسـن مـن نوعيـة الغـذاء النـاتج (Namasivayam واخـرون،2014) و يحتـوي علـى بكتريـا حـامض اللاكتيـك Lactic Acid Bacteria التـي تلعـب دورا معقمـا للتربـة بتثبيطهـا لنمـو الكائنـات الممرضـة وتسـرع مـن تحلـل المـادة العضـوية، كمـا تثـبط actinomycetes الفطريـات والبكتريـا الممرضـة وتتعـايش مـع بكتريـا التمثيـل الضـوئي Photosynthetic bacteria التـي تـؤدي الـدور الـرئيس فـي نشـاط المخصـب الحيـوي حيـث تتمتـع هـذه البكتريـا بالقـدرة علـى النمـو فـي ظـروف بيئيـة مختلفـة وانتاجهـا لعوامـل نمـو مهمـة مثـل الاحمـاض الامينيـة والاحمـاض النوويـة والسـكريات التـي تشـجع نمـو النبـات(Balogunواخـرون،2016)، كمـا يغنـي هـذا المخصـب الحيـوي التربـة بـالميكروفلورا، فهـو يزيـد مـن اعـداد البكتريـا الكليـة و actinomycetes والفطريـات التـي تنـتج gibberellins و Indole acetic acidالتـي تعـزز نمـو الجـذور وامتصـاص العناصـر المهمـه لنمـو النبـات ويحسـن محتـوى الأوراق من العناصر المعدنية

واثبـت العلمـاء ان EM1 قـد عـزز مـن انبـات بـذور الخيـار وحيويتهـا (Siqueiraواخـرون،2020). كمـا وجـد الباحـث(Al-Baldawy واخـرون2021) القـدرة التثبيطيـة العاليـة لمستحضـر الاحيـاء الدقيقـة EM1 ضـد الفطـر *Rhizoctonia solani* ، وبـيّن Kareem و Matloob (2020) فعاليـة الكائنـات الحيـة الدقيقـة EM1 ضـد فطريـات تعفـن الجـذور *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solani* و *Macrophomina phaseolina*

حيـث قلـل نمـو *R. solani* بنسـبة00. 81% كمـا ثـبط نمـو*Oxysporum .F* و *M.phaseolina* الـى 87.96و 80.92%. فـي دراسـة قـام بهـا الباحـث (Olle، 2021)

اسـتخدم فيهـا مستحضـر الاحيـاء الدقيقـة EM1 علـى نبـات الخيـار، لاحـظ زيـادة قطـر الساق وارتفاع اعلى من معاملة السيطرة و زيادة في المحتوى الغذائي

جدول1 : مكونات المستحضر الاحيائي EM1 أوالشركة المصنعة

ت	أنواع الكائنات الحية	الأجناس
1	بكتريا حامض اللاكتيك	Lactobacillus bulgaricus, L. plantarum, L. casei, Streptococcus faecalis, S. lactis, Pediococcus halophilus, Propionibacterium freudenreichi
2	البكتريا الضوئية	Chromatium okenii, Chlorobium Limicola, Rhodopseudomonas sphaereoids, Rhodospirillum robrum, R. capsulatus, R. palustris
3	البكتريا الخيطية او الفطريات الشعاعية البكتريا الضوئية	Nocardia asteroides, Micromonospora chalcea, Streptomyces albus, S. griseus, Streptoverticillum baldaccii, Rhodococcus rhodochrous, Rhodospirillum rubrum
4	الفطريات البكتريا الخيطية او الفطريات الشعاعية البكتريا الضوئية البكتريا الخيطية او الفطريات الشعاعية البكتريا الضوئية	Aspergillus japonicas, A. oryzae, Mucor hiemalis
5	الخمائر	cerevisiae, S. ladis, Candida utilis Sa cchar omyces

4-2- سماد الـ Humic acid

حمض الهيوميك (HA) على الرغم من أنه يعتبر كأسمدة غير أساسية، إلا أن حمض الهيوميك هو أحد المواد العضوية العميقة التي تعزز خصوبة التربة وتحسن تراكم التربة. يتمتع بكفاءة فريدة في تعديل الخصائص الفيزيائية للتربة وقادر على تعزيز نمو النبات من خلال تنشيط الأداء الميكروبي بالإضافة إلى تغيير خصائص التثبيت من الجانب الكيميائي. (Nardiوأخرون،2021)حمض الدبالية هو المنتجات النهائية للنفايات العضوية التي يتم تفكيكها بفعل الميكروبات المحللة ويساهم في التفاعلات الملحوظة التي تحدث في التربة، وبالتالي يجعل التربة أكثر خصوبة من خلال تحسين الحالة الفيزيائية والبيولوجية وتكوين مواد فعالة من النطاق الفسيولوجي. (Gerke ، 2018)أثبتت العديد من التجارب الزراعية أن حمض الهيوميك يؤثر بشكل كبير على أمتصاص العناصر الغذائية والتمثيل الغذائي وأداء النبات.إن التسميد الورقي بالهيومك يزيد من قابلية النبات الاحتفاظ بالماء والتمثيل الضوئي ومضادات اكسدة التمثيل الضوئي، وكذلك الرش الورقي بالهيومك يؤدي الى زيادة طول الجذر ودليل المساحة الورقية، كما يحتوي حامض الهيومك على عدد من المركبات العضوية التي تساعد في زيادة نمو النبات والحاصل وتطوير النظام الجذري (Canellas واخرون, 201 5)، ويعمل على تنشيط أنزيمات وتثبيط أنزيمات أخرى، ويزيد من مقاومة النبات للظروف البيئية القاسية مثل إرتفاع درجة الحرارة والملوحة ويزيد من نفاذية الاغشية الخلوية وتحفيز تفاعلات حيوية عّدة في النبات.(Ampong وأخرون، 2022)

هنالك توجه عالمي في الوقت الراهن لاستخدام الأسمدة العضوية بأنواعها و مصادرها المختلفة للتخفيف قدر الإمكان من الآثار السلبية للأسمدة الكيميائية، و يعتبر حمض الهيومك(Humic Acid)من بين المخصبات العضوية المستخدمة بشكل واسع نظار لفوائده العديدة في تحسين خواص التربة وتأثيره في نمو وإنتاج النبات.(Yang واخرون، 2020)

تتشكل المواد الهيومية بصورة عامة من المادة العضوية النباتية و الحيوانية الموجودة في التربة و تنبع أهميتها من خلال قدرتها على ربط بعض العناصر المعدنية في التربة. مثلاً في الترب الكلسية يقوم الهيومك بربط الكالسيوم و يحد من ارتباطه مع الفوسفور مما يجعل الفوسفور

متاحاً و قابلاً للامتصاص، و في الترب المحمية يقوم الهيومك بالارتباط مع الصوديوم و بالتالي يساعد النبات على تحمل الملوحة (Kalledو Fawy, 2011). إضافةً إلى أن حمض الهيومك يحسن من امتصاص العناصر الغذائية تخفيض رقـ pH التربة وزيادة نشاط أحيائها الدقيقة مما يشجع على تمعدن المواد العضوية الموجودة في التربة و يحولها إلى صورة عناصر قابلة للامتصاص(Subdiaga,2016) (Fahramand , 2014) . بالإضافة إلى تأثيره الإيجابي في الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للتربة مما ينعكس إيجاباً على نمو النبات، حيث يساعد في زيادة نمو الجذور و النمو الخضري ومساحة الورقة (Canellas and 2014 Olivaresو Nardi, 2002) تقوم الأحماض الهيومية بزيادة مقاومة النبات للأمراض بمختلف أنواعها سواء كانت فيزيولوجية أو حشرية أو فطرية، و مقاومة الظروف الجوية السيئة كالحرارة المرتفعة و الصقيع و ذلك من خلال تنظيم حركة امتصاص كل من البوتاسيوم و الفوسفور في النبات .(Canellas وأخرون ،2015).

2-5-مخلفات دودة الأرض Vermicompost

دودة الأرض تعد أكثر الديدان الحلقية أنتشاراً حيث توجد في الارض الرطبة والغنية بالمواد العضوية وتعيش كذلك في أنفاق عمودية أو مائلة تبطنها الدودة بماده مخاطية تفرزها غدد خاصة في الجلد يتراوح طول الدودة من 1سم الى اربعة سم تتراوح أطوالها في أفريقيا وأستراليا. تستخدم دودة الأرض فى عمل الكومبوست وهو سماد مغذى جداً للتربة ذو خصائص ممتازة أثبتت البحوث العلمية جدوى استخدام ديدان الأرض كتقنية معالجة للعديد من مجاري النفايات إلى جانب إنتاج الأسمدة العضوية. تؤدي عملية التسميد بالديدان إلى التحويل البيولوجي لمجرى النفايات إلى منتجين مفيدين، الكتلة الحيوية لديدان الأرض والسماد الدودي(Joshi وأخرون،2015). يمكن استخدام الأول كمصدر للبروتين بينما يعتبر السماد الدودي منتجًا ممتازًا لأنه متجانس وله جماليات مرغوبة ومستوى منخفض من الملوثات وله هرمونات نمو النبات ومستوى أعلى من إنزيمات التربة وسكان ميكروبي أكبر ويميل إلى الاحتفاظ بمزيد من العناصر الغذائية لفترة أطول دون التأثير سلبًا على البيئة(Kiyasudeen واخرون، 2016). تستهلك ديدان الأرض أثناء تناول النفايات العضوية والتربة المعادن الثقيلة من خلال أمعائها وكذلك من خلال جلدها، وبالتالي تركيز المعادن الثقيلة

فـي أجسـامها. اسـتخدام ديـدان الأرض لتثبيـت النفايـات وإنتـاج السـماد الـدودي لنمـو النباتـات وتراكم المعادن الثقيلة. مجلة العلوم الأمريكية. (2005)

اسـتعملت كطرائـق المقاومـة الحيويـة biological control Aboutorabi. اذ تعمـل عوامـل المكافحـة الاحيائيـة كبـدائل لمبيـدات الافـات، وتسـتخدم هـذه الكائنـات مـن ضـمنها مخلفـات دودة الأرض تـدوير المخلفـات العضـوية المنزليـة ومخلفـات المـدن المسـببة للتلـوث البيئـي وتحويلهـا الـى سـماد عضـوي عـالي الجـودة يحتـوي علـى عناصـر غذائيـة ضـرورية للتربـة والنبـات وهـو مـا يطلـق عليـه سـماد الـدود Vermicompost الـذي يغنـي عـن نسـبة كبيـرة مـن الاسـمدة الكيمياويـة الضـارة والمكلفـة.زيـادة إنتـاج المحاصـيل التـي تكـون عاليـة الجـودة وآمنـة صـحيا وبيئيـا خاليـة مـن الملوثـات ويعيـد مـذاقها للطبيعـة . زيـادة مسـامية وتهويـة التربـة مـن خـلال الأنفـاق التـي تحفرهـا الدودة.تحسـين الحالـة الخصـوبية للتربـة وزيـادة العناصـر الغذائيـة الجـاهزة فيها.معادلـة درجـة حموضـة التربـة .pH كمبيـدات حيويـة و اسـمدة فـي اسـتدامة وتعزيـز انتـاج المحاصـيل وحمايتهـا وعـادة مـا تكـون العوامـل الاحيائيـة عبـارة عـن سـلالات احيائيـة معزولـة مـن التربـة (Elnahal واخرون، 2022و Fasusiواخرون،2021) .

2-6: مدى الترابط بين التشخيص المظهري والتشخيص الجزيئي للفطريات

2-6-1: التشخيص المظهري للفطريات

ان أسس التشخيص المظهري في الفطريات يعتمد بشكل رئيسي على الطور اللاجنسي بالدرجة الأساس (Weberو Webster, 2007) . اضافة الى الخصائص المظهرية كالابواغ الكونيدية والأجسام الحجرية ، وبالرغم من أن العديد من بلدان العالم تفتقر الى التعريف الدقيق للفطريات وهذا مايعكس الرأي العالمي بأن أكثر من 90 % من أنواع الفطريات مازال غير معروف حتى الأن ويحتاج الى الكشف عنها (Hawksworthوأخرون ، 1995) (Maggi واخرون،2013) أن تصنيف الدقيق للفطريات من الأمور الضرورية جدا لأهميتة في تشخيص المسبب المرضي وكذلك معرفة طرائق انتشار المرض ومعرفة تأثير العوامل البيئية المختلفة علية من أجل الوصول الى إدارة كفؤة للمرض وكيفية التعامل معه وطرائق الوقاية والعلاج (Schisler،وأخرون،2012).

أشارت العديد من الدراسات بأن الصفات المظهرية (Morphological characteristics) لايمكن الأعتماد فقط عليها في تشخيص الفطريات وخصوصا في التشخيص على أساس النوع لأنها لاتعطي نتائج دقيقة أحيانا وفي الغالب لايعتمد عليها من قبل العديد من الباحثين لكونها تحتاج الى خبرة كافية في مجال تصنيف الفطريات وخاصة عند العمل مع المجاميع الفطرية المتشابهة الى حد كبير، إضافة الى الحاجة للوقت والمجهود الكبير ،كما إن أحجام وأشكال وألوان الأبواغ والمستعمرات الفطرية ممكن أن تتأثر بعوامل بيئية منها الضوء والحرارة (Hung، وآخرون،2016) (Zang،وآخرون،2012)

وبالرغم من ذلك فأن العديد من المختصين في تصنيف الفطريات مازال يعتمد التشخيص المظهري كأساس أولي في تشخيص الفطريات في معظم دول العالم إذ اعتمدت التراكيب المجهرية التي ينتجها الفطر *Fusarium sp* والخصائص المظهرية و المزرعية في تشخيص المظهري ،إذ تشمل الخصائص المجهرية حجم وشكل الكونيديا ونسبة الطول الى العرض وعدد الحواجز وتراكيب الخلية الطرفية وشكل الخلية القاعدية ووجود الأبواغ الحرشفية Chlamydospores أو عدمها ولون المستعمرات ومظهرها وكذلك يمكن أستخدام أوساط زرعية انتقائية معينة لهذا الغرض اعتمدت طرائق عديدة للتشخيص المظهري أهمها (Summerel،وآخرون،2003).

لعزلات الفطر *Fusarium sp* وبالاعتماد على شكل الخيط الفطري والحامل الكونيدي والفيالايد ووجود وشكل الأبواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia والصغيرة Microconidia.

2-6-2 : التشخيص الجزيئي Molecular ldentification

أسهمت دقة وكفاءة العديد من تقانات التصنيف المعتمدة في علم الأحياء الجزيئي Molecular biology في دراسة الاختلافات الوراثية بين العديد من الكائنات الحية ومنها الفطريات إضافة الى التخلص من سلبيات الطرائق التقليدية والقديمة (Giantsis،وآخرون،2017)(Stanis،وآخرون،2016) وتعد تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase Chain Reactio)(PCR) واحدة من التقنيات الجزيئية المعتمدة على استهداف وتضخيم منطقة معينة من جين الكائن الحي للكشف عن العلاقات الوراثية المختلفة بين

أنواع الفطريات والتي يمكن من خلالها دعم نتائج التشخيص المظهري للفطريات (AL-Sanae ، وآخرون ، 2016)

استخدمت هذه التقنية من قبل العديد من الباحثين في تشخيص العديد من الفطريات مثل الفطر (*Fusarium sp*) (Alhussaini وآخرون،2016)و (Alaei وآخرون ،2012)

نظراً لأهمية التصنيف الدقيق للفطريات فإن التشخيص الجزيئي يهدف الى الكشف الدقيق وتشخيص عزلات الفطريات بأستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وتحديد تسلسل القواعد النايتروجينية لنواتج الحامض النووي المضاعفة (PCR Amplifled products) من الفطريات المعزولة بهدف معرفة أوجة التشابة والأختلاف الوراثي بين هذه العزلات الفطرية على مستوى النوع أذ أن هذه تقنية تعتمد على دراسة DNA لغرض التشخيص الدقيق كذلك تظهر مدى التباين الوراثي ما بين الأنواع المدروسة بأستخدام البصمة الوراثية عن طريق أستخدام Random Polymerase Chain reaction (RAPR) (PCR) وتقنية تحليل تباين أطوال قطع التقيد Restriction Fragment Length Polymorphicm (RFLP) (Martinواخرون، 2005).

إن معظم طرائق علم التشخيص الجزئي المعتمد على الأحماض النووية تستخدم تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لزيادة عدد جزيئات الحامض النووي الى حدا كبير وبالتالي تضخم تسلسل القواعد النايتروجينية في شريط الفطر الممرض يعتمد مبدأPCR على تضخيم قالب حامض نووي رايبوزي منقوص الأوكسجين بأستخدام البادئات الأصطناعية ويتم تدوير الخليط بين درجتي حرارة متباينتين على أقل درجة حرارة عالية من أجل تغيير شكل DNA ذي اللولب المزدوج الى جزيئات أحادية الخليط ودرجة حراراة منخفضة من أجل التمهيد لتهجين الى القالب ولتمكين أنزيم البوليميريز من تطويل وتضخيم البادئ البرايمر أذ تعمل كل دورة حرارة انظريا على مضاعفة كمية تسلسل القواعد النايتروجينية أن الكشق عن الأختلافات في التسلسل بأستخدام يتضمن غالبا تصميم وأستخدام كواشف قليل النيوكلوتيدات والتي تعمل على تضخيم المتغير المطلوب مما يعطي نتيجة أكثر كفاءة من مجرد إجراء تضخيم غير منضبطة للتسلسل (PCR)أن تفاعل البوليمرات المتسلسل (PCR) هو تقنية تعتمد على دراسة الحامض النووي DNA لغرض التشخيص الدقيق وتحديد السلالة الممرضة فيها إذ تتم من خلال معرفة بعض صفات الوراثية في DNA التوافق الذاتي لمجاميع الغزول الفطرية Mycelial

Compatibility Groups(MCG) إضافة الى التغاير بين السلالات المختلفة باستخدام تقانة Arvanitis).Reptitve_PCR (Rep_PCR) وآخرون،2014).

يعد تشخيص أنواع سلالات فطريات .*Fusarium* spp من اصعب أنواع التشخيص وفقا للخصائص المظهرية والمجهرية وذلك لتشابة العديد من صفات .إن اختلاف سلوك عزلات الفطرات *Fusarium* spp قد يعطي مؤشر عن الأختلافات الوراثية لذلك من الضروري إجراء امراضية المسبب على اساس تطور المرض وبأستخدام أصناف مختلفة للعائل بالتزامن مع التحليل الجزيئي و لكون الفحص المظهري والمجهري أصبح غير معتمد في أغلب بلدان العالم لانها تحتاج وقت أكبر وخاضع لتحيز ومعرض للأخطاء أضافة الى تشابة الكثير من الفطريات في الصفات المظهرية على الوسائط الزرعية مع صعوبة تشخيصها مجهريا والتي قد لاتعطي أدلة كافية وقاطعة للتفرق بين أنواع الأجناس الفطرية من بينها *Fusarium* spp ولأهمية التشخيص في تصنيف الفطريات أعتمدت طرائق عدة لكن أكثرها دقة وحداثة هو التشخيص الجزيئي الذي يكون ذا حساسية وتخصصية عاليتين (Arie وآخرون، 2019).

3: المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1: الأجهزة والادوات والمواد المستخدمة في أجراء التجارب .

جدول2:الأجهزة والمعدات المختبرية التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ.

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	الحاضنة Incubator	Memmert	Germany
2	الثلاجة Refrigerater	L.G	Korea
3	ميزان الكتروني حساس Sensitive Balance	Sartorius	U.K
4	جهاز التعقيم البخاري Autoclave	LabTech	Japan
5	أوراق ترشيح Filter paper	BioBasic Inc	Korea
6	شاش	Local morkd	-
7	جهاز المجهر المركب Compund light microscope	Olympus	Japan
8	اطباق بتري Petri Dishes	Afco	Jordan
9	دوارق زجاجية مختلفة الاحجام Flasks	Unisonics LTD	England
10	فرن كهربائي Electrical oven	Memmert	Germany
11	الهود Hood	-	-
12	PCR Test Tube	Super ester (India)	-
13	الملقط + مقص+قطن	-	-
14	Slider and cover	Whatman 4	England
15	ثاقب فلين Cork Borer	-	China

جدول3: المواد التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ.

ت	المادة	الشركة المصنعة	المنشأ
1	Potato Dextrose Agar (PDA)	HIMEDIA-India	India
2	Agar-Agar	HIMEDIA-India	India
3	هايبوكلورات الصوديوم (القاصر) Sodium hypochlorite	Glorox Original	Iraq
4	كحول	-	Iraq
5	Tetracycline	Samarra	Iraq
6	Formalin	-	India

2-3 المسح الحقلي.

اجري المسح الحقلي للموسم 2023-2024 جدول(4) في محافظة كربلاء للمناطق التالية (الوند -الصلامية -مصطفى خان - الإبراهيمية) للفترة من 2023/9/10 الى 2023/11/5. جمعت العينات التي ظهرت عليها اعراض الإصابة بمرض تعفن الجذور المتمثلة بالذبول واصفرار الاوراق وضعف عام في النمو مع ملاحظة وجود تعفنات ذات لون بني على الجذور الرئيسة والفرعية وذلك بقلع النبات بصورة عشوائية الواقعة ضمن تقاطع الأقطار لكل موقع. فحصت النباتات السليمة والمصابة بعدها وضعت في اكياس (بولي اثلين). وعلمت وتم حفظها في الثلاجة عند درجة حرارة 4 م لحين عزل الفطريات المرافقة للجذور من كل عينة.

جدول4: تاريخ جمع العينات في محافظة كربلاء المقدسة التي شملها المسح.

ت	المنطقة	عمر النبات	نوع زراعة	الصنف	تاريخ أخذ العينات	عدد العينات
1	الصلامية	مرحلة الأثمار	مكشوفة	محلي	2023/9/10	10
2	مصطفى خان	مرحلة الأثمار	مكشوفة	محلي	2023/9/27	7
3	الابراهيمية	مرحلة الأثمار	مكشوفة	محلي	2023/10/28	5
4	الوند	مرحلة الأثمار	مكشوفة	محلي	2023/11/5	6

3-3 عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نباتات الخيار.

اجريت عملية العزل من عينات نبات الخيار التي ظهرت عليها اعراض الإصابة في اليوم التالي مجمع العينات، اذ جلبت النباتات الى المختبر وتم غسل الجذور المصابة بالماء الجاري لإزالة الاتربة لمدة خمسة دقائق، وقطعت الى أجزاء صغيرة بطول0.5 سم، وعقمت سطحيا بتغطيسها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) لمدة ثلاثة دقائق، بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقتين وضعت على ورق الترشيح لحين جفاف العينة، ونقلت القطع بواسطة ملقط المعقم الى اطباق بتري بواقع أربعة قطع في كل طبق (قطر الطبق 9 سم) يحتوي على الوسط الزرعي(Potato Dextrose Agar (PDA المعقم بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة 121مْ وضغط 1 جو ولمدة15 -20 دقيقة والمضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بعد عملية التعقيم، حضنت الاطباق في الحاضنة تحت درجة 25±1 م° لمدة ثلاثة ايام، بعدها فحصت الفطريات المرافقة ونقيت بنقل قطع صغيرة من اطراف الخيوط الفطرية ووضعت في مركز طبق بتري يحتوي على وسط PDA وحضنت الاطباق لمدة أربعة ايام في الحاضنة وفحصت تحت المجهر المركب وشخصت الفطريات لمستوى الجنس والنوع بعد ظهور النموات الفطرية و اعتمادا على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها باستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة(Summerell و Lesile ,2006) من قبل أ.د عبد الزهرة جبار علي وتم حساب نسبة الظهور للفطريات التي ظهرت وفقا للمعادلة الاتية:

$$\text{النسبة المئوية للظهور} = \frac{\text{عدد العينات التي يظهر فيها الجنس او النوع}}{\text{عدد العينات الكلي}} \text{ X } 100$$

$$\text{النسبة المئوية للتردد} = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي لعزلات جميع الفطريات}} \text{ X } 100$$

وفقا الى Ragasinghe واخرون 2009.

3-4: حفظ العزلات الفطرية:

حفظت عزلات الفطر *F. proliferatum* و *R. solani* و *M. phaseolina* في انابيب اختبار حاوية على وسط زرعي(PCA) مستخلص البطاطا 20غم والجزر20غم و16 غم أكار معقم بجهاز المؤصدة، ووضعت الانابيب بصورة مائلة لحين التصلب بعدها لقحت الانابيب بإضافة قرص0.5 سم اخذ من حواف المستعمرة للفطريات أعلاه بعمر خمسة أيام، وضعت الانابيب في الحاضنة عند درجة حرارة 25±1م° لمدة سبعة أيام بعد اكتمال النمو وضعت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 م°.

3-5: الكشف عن العزلات المرضية للفطريات *Rhizoctonia solani* و *Fusarium proliferatum* و *Macrophomina phaseolina* باستعمال بذور الفجل على الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA)

تم اختبار 10 عزلات من الفطر *Fusarium sp* وثمان عزلات من الفطر *R. solani* وخمس عزلات من الفطر *M. phaseolina* وحسب طريقة(Campbellواخرون،2013) ، تم تحضير اطباق بتري قطر 9سم تحتوي على الوسط الزرعي PDA معقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة واضيف المضاد الحيوي Tetracycline الى الوسط، تم تلقيح الاطباق من مركزها بعد تصلب الوسط بقرص0.5 سم مأخوذة من حواف مستعمرة الفطريات *Fusarium sp* و *R. solani* و *M. phaseolina* بعمر خمسة أيام ، بعدها حضنت الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±1 م° لحين ظهور النمو المستعمرات الفطرية ، بعدها استخدمت بذورالخيار بعد

تعقيمها سطحيا بمحلول هايبو كلورات الصوديوم (كلور حر 1%) والتي تم اختبار مقدرة انباتها سابقا وبشكل دائري قرب حافة الطبق و بمعدل 10 بذور للطبق، بواقع ثلاث مكررات لكل عزلة، فضلا عن معاملة السيطرة (بدون فطر ممرض) حضنت الاطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 25±1م° بعد سبعة ايام اخذت النتائج بحساب النسبة المئوية للإنبات وحسب المعادلة الاتية:-

$$\text{النسبة المئوية للأنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة في المعاملة}}{\text{العدد الكلي للبذور في المقارنة}} \times 100$$

3- 6: التشخيص الجزيئي Molecular ldentification

استهدفت العزلات الفطرية الممرضة التي كانت اكثر امراضية من كل من الفطريات *Rhizoctonia sp* و *Fusarium sp* و *Macrophomina sp* والمعزولة من حالات تعفن جذور الخيار وفقا لضراوتها العالية في اختبار المقدرة الامراضية وقدرتها على احداث المرض .لدراسة التركيب الجيني والوراثي ومقارنتها مع جينوم العزلات العالمية ، شخصت عن طريق تحليل تسلسل قواعد الحامض النووي (DNA) ، اذ ارسلت نواتج الـ PCR الى شركة Macrogen في كورية الجنوبية لغرض تحديد التتابع النيوكلوتيدي للمنطقة الجينية Internal Transcribed Spacer (ITS) وبعد استلام التتابعات النيوكلوتيدية للعزلات الفطرية ، حللت التتابعات باستخدام برنامج Basic Local Aligment Search Tool (BLAST)لمقارنتها مع البيانات المتوافرة في المركز الوطني لمعلومات التقنية الحيوية National Center For Biotecnology Information (NCBI) ضمن بنك الجينات الالكتروني التي تعود للعزلات الفطرية نفسها والتي تم تشخيصها عالميا.

سجلت العزلة الفطرية التي لم تطابق اي من التتابعات النيوكلوتيدية 100% في NCBI ، كما اجريت التحاليل النيوكليوتيدية باستعمال برنامج MEGA X الاصدار 11 لتحليل العزلات ورسم شجرة القرابة بين كل من هذه العزلات والعزلات المشابهة لها المسجلة بمركز NCBI ضمت شجرة الاصول الوراثية phylogenetic tree من النوع ضم الجوار Neighbor joining التي تم بناؤها من التسلسل الجزيئي النيوكليوتيدي لمنطقة ITS العائدة لكل من العزلات .

3-7: اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطر *Fusarum spp* على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي .

اختبرت القدرة المرضية لسبعة عزلات فطرية . ثلاث منها تعود لانواع مختلفة للفطر *Fusarum spp* وهي (DH1 و DH4 و DH7) وثلاث عزلات من الفطر Rhzoctonia solani وهي (DH12 و DH14 و DH17) وعزلة واحدة من الفطر Macrophomina sp وهي (DH21) التي أظهرت مقدرة تثبيطية عالية في اختبار الامراضية على بذور الخيار في المختبر

. اذ تم اختبارهذه العزلات الفطرية على بادرات الخيار بعمر 10 أيام . إذ عقمت البذور سطحياً وجففت على أوراق ترشيح معقمة ثم زرعت في أصص بلاستيكية بقطر 15 سم يحوي كل منها 1 كغم تربة مزيجية معقمة . وبعد عشرة أيام من الانبات لوثت الأصص بعزلة الفطر النامية على بذور الدخن مسبقا . و خلطت جيداً مع التربة باستعمال 10 غم / أصيص حول البادرة وقرب الجذور . أما معاملة المقارنة فقد تركت نباتات الخيار بدون معاملة بالفطر . نفذت التجربة بواقع أربع مكررات . ثم حسبت النسبة المئوية لمرض تعفن الجذور بعد 14 يوم من المعاملة بالفطر .

وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة للمجموع الجذري وفقا للدليل المرضي المكون من5 درجات وكما يلي:

0= نبات سليم .

1=أصابة الشعيرات الجذرية .

2=أصابة الشعيرات الجذرية والجذور.

3=أصابة الشعيرات الجذرية والساق.

4=موت النبات.

وقد حسبت النسبة المئوية لشدة الأصابة حسب معادلة (Mckinney1923)

8-3 تحضير لقاح الفطريات *Rhizoctonia solani* و *Fusarium proliferatum* و *Macrophomina phaseolina*

استعمل بذور الدخن المحلي *Panicum milliaceum* لغرض تحضير اللقاحات الفطرية وحسب طريقة((Dewan ،1988)، اذ تم غسل بذور الدخن جيدا بالماء لإزالة الشوائب والأتربة عنها، غمرت بالماء ونقعت لمدة ست ساعات وتركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد منها، ووضع 50غم في دوارق زجاجية سعة 250مل وعقمت الدوارق لمدة ساعة واحدة في جهاز المؤصدة وبعد 24 ساعة عقمت مرة أخرى ثم تركت الدوارق لتبرد، لقحت الدوارق بوضع خمسة أقراص بقطر0.5 سم من الوسط الزرعي PDA الذي يحتوي على نموات الفطريات *F. proliferatum* . و *R. solani* و *M. phaseolina* كل على انفراد، وحضنت الدوارق تحت درجة حرارة 25±1 م° لمدة 15 يوما مع التحريك كل ثلاثة أيام لضمان التهوية وتوزيع لقاح الفطريات على جميع بذور الدخن.

9-3 تقييم المقدرة التضادية لمستحضر الاحياء الدقيقة الفعالة Effective microorganisms (EM1): في تثبيط نمو الفطر *F. proliferatum* *R. solani* و*M.phaseolina* على وسط PDA .

تم تفعيل محلول EM1 الاساسي الخامل المبينة محتوياته في الجدول بخلطه مع المولاس (الدبس) وماء دافئ معقم خال من الكلور بنسبة خمسة مل من محلول EM1جدول(1) الخامل وخمسة مل من المولاس و90 مل ماء معقم خال من الكلور ووضع في عبوة بلاستيكية محكمة الغلق و تم وضعه في مكان دافئ بعيدا عن اشعة الشمس لمدة 20 يوما في درجة حرارة بين 30 - 40 مْ وخلال هذه الفترة تم فتح العبوة اكثر من مرة لتسريب الغاز وتكوين طبقة من الراسب في قاع العبوة حسب ما أشار له (Higa , 1998)، اضيف 1 و 3 و 5و10 و 15% من محلول EM1 المفعل الى دورق زجاجي سعة 100مل واكمل الحجم الى 100مل من الوسط الزرعي PDA كل تركيز بمفرده، وبعدها صب المزيج في اطباق بتري وبعد التصلب لقحت بقرص قطر0.5 سم من عزلات ممرضة **للفطر *F. proliferatum*** و*R. solani* و *M. phaseolin* بعمر خمسة أيام في مركز الطبق بواقع ثلاثة مكررات لكل عزلة مع تنفيذ معاملة مقارنة، وذلك بتلقيح مركز الطبق بعزلات **الفطر *F. proliferatum*** **(F.p)** و *R. solani* (R. s)و *M. phaseolin* (M. p) فقط، وضعت الأطباق في الحاضنة

فـي درجـة حرارة لمـدة 25±1 م° سبعة أيـام وتم قياس قطر المستعمرة والنسبة المئوية للتثبيط على أساس معاملة المقارنة لتقييم كفاءة المستحضر EM1 وحسب المعادلة الاتية:-

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{قطر المستعمرة بالمقارنة} - \text{قطر المستعمرة بالمعاملة}}{\text{قطر المستعمرة بالمقارنة}} \times 100\%$$

3-10: تقويم تأثير التكامل بين المستحضر الحيوي (EM1) و مخلفات دودة الأرض (Vermicompost) وحامض الهيومك ضد مرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً

بناءاً على نتائج التجارب المختبرية وتجارب البيت البلاستيكي تم اختيار بعض المعاملات التي أثبتت فاعلية جيدة ضد الفطر الممرض *F.proliferatum* لتنفيذها حقلياً في بيت بلاستيكي تم تعقيم تربته بالبسترة الشمسية وتم تنفيذ التجربة (الشكل 1) وفق تصميم القطاعات الكاملة التعشية RCBD. وقد أجريت التجربة في حقل في منطقة الحسينية بتاريخ 2023/3/15

أذ تم أعداد الأرض بقلب التربة وعزقها وتسويتها جيداً وأجراء كل عمليات الخدمة المطلوبة لزراعه المحصول في أرض لم يتم زراعة محصول الخيار فيها واجراء عمليات الري المنتظم وتم تقسيم الارض الي قطاعات مروز والمسافة بين مرز وآخر 60 سم وكل خط يحتوي 15شتلات خيار يعمر شهر وبمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة. أضيف لقاح الفطر الممرض F.p محملاً على بذور الدخن المحلي الى المعاملة التي تتطلب لقاح الفطر بنسبه 10غم /نبات .أما معاملة مخلفات دودة الأرض Vermicompost بمعدل 300مل/نبات ، أما معاملة المستحضر الحيوي EMIفقد أضيف قبل أضافه الفطر الممرض بخمسة أيام أذ تم أضافة 300مل /النبات .أما حامض الهيومك فقد تم رش النباتات حتى البلل وذلك باضافة 5مل /نبات

وقد تم حساب النتائج ضمن معاير النمو والحاصل منه الزراعة لتقدير نسبة وشدة الأصابة بمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر F.p بأستخدام الدليل المرضي ومعادلة Mckinney وضمت التجربة المعاملات الآتية وبثلاث مكررات لكل معاملة.

1. تربة معقمة فقط (Control)
2. التلويث بالفطر الممرض *F.proliferatum فقط* (*F.p.* only)

3. إضافة المستحضر الحيوي (EM1) بتركيز 5 %و بحجم 300 مل / نبات والتلويث بالفطر الممرض (F.p.+EM1)

4. إضافة مخلفات دودة الأرض (Vermicompost) بتركيز 5 %و بحجم 300 مل / نبات والتلويث بالفطر الممرض(F.p.+Vermi)

5. اضافة حامض الهيومك بتركيز 0.001 وبمعدل 5 مل / نبات والتلويث بالفطر الممرض (F.p.+Humi)

6. إضافة (EM1) بمعدل 150 مل / نبات + (Vermicompost) بمعدل 150 مل / نبات والتلويث بالفطر الممرض (F.p.+EM1+Vermi)

7. إضافة (EM1) بمعدل 150 مل / نبات + حامض الهيومك بمعدل 5 مل / نبات والتلويث بالفطر الممرض (F.p.+EM1+Humi)

8. إضافة حامض الهيومك بمعدل 5 مل / نبات + (Vermicompost) بمعدل 150 مل / نبات والتلويث بالفطر الممرض (F.p.+Vermi+Humi)

9. معاملة التكامل إضافة (EM1) بمعدل 100 مل / نبات + (Vermicompost) بمعدل 100 مل / نبات + حامض الهيومك بمعدل 5 مل / نبات والتلويث بالفطر الممرض (F.p.+EM1+Vermi + Humi).

10. وتم أستخدام المبيد بنتانول كمقارنة للمعاملات السابقة وأستخدام بالجرعة الموصى بها وهي 0.001.

وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة للمجموع الجذري وفقا للدليل المرضي المكون من5 درجات وكما يلي:

0= نبات سليم .

1=أصابة الشعيرات الجذرية .

2=أصابة الشعيرات الجذرية والجذور.

3=أصابة الشعيرات الجذرية والساق.

4=موت النبات.

وقد حسبت النسبة المئوية لشدة الأصابة حسب معادلة Mckinney(1923) كما يلي:

$$\text{شدة الأصابة} = \frac{\text{مجموع(عدد النباتات المصابةX درجتها)}}{\text{أعلى درجة أصابة X العدد الكلي للنباتات المفحوصة}} \times 100$$

11-3 التصميم و التحليل الأحصائي

استعمل التصميم تام التعشية(Complete randomized design (CRD لجميع التجارب التي اجريت تحت ظروف مسيطر عليها التجارب المختبرية وتجارب البيوت البلاستيكية، بينما تم تحليل التجارب الحقلية باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وحللت البيانات (RCBD (Randomized Complete Block Design ببرنامج Genstst Analysis System (GAS) ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي .L.S.D تحت مستوى معنوية 0.05.(Al-Rawi, K.M., Khalafallah ، 2000).

4- النتائج والمناقشة

4-1: العزل والتشخيص

4 -1-1- المسح الحقلي لمرض تعفن جذور الخيار.

بينت نتائج المسح الحقلي في الجدول (5) في حقول نبات الخيار في بعض مناطق الحسينية/ كربلاء انتشار ظاهرة مرض تعفن الجذور في جميع المناطق التي شملها المسح الحقلي وبنسبة إصابة تراوحت بين 28%-48% وشدة إصابة 20 % - 37.7% ،اذ بلغت اعلى نسبة إصابة 48.07% وقد يعزى سبب ارتفاع نسبة الإصابة في هذه الحقول نتيجة تكرار زراعة محصول الخيار فيها او زراعة محاصيل أخرى تعود الى العائلة الباذنجانية نفسها في الحقول، مما يؤدي الى تراكم اللقاح الفطري للمسببات المرضية وخاصة الاجسام الحجرية sclerotia التي تبقى في التربة لمدة طويلة، وبقايا العائل وملائمة الظروف البيئية خاصة درجات الحرارة المناسبة لنمو الفطريات الممرضة وممارسة عمليات العزق والتعشيب التي تؤدي الى عمل جروح في الجذور مما يسهل عملية غزو الفطريات، وكذلك تباينت شدة الإصابة اعتمادا على عمليات خدمة المحصول والتربة والري المنتظم وسبل المكافحة واختلاف العوامل البيئية من درجة الحرارة والرطوبة التي لها تأثير كبير في زيادة اللقاح الفطري .

جدول(5) المسح الحقلي لمرض تعفن جذور الخيار في بعض مناطق محافظة كربلاء.

ت	المنطقة	نسبة الأصابة %	شدة الأصابة %
1	كربلاء-الصلامية	%48.07	%37.7
2	كربلاء- الأبراهيمية	%38.46	%24
3	كربلاء-الوند	% 29	%23.46
4	كربلاء-مصطفى خان	%28	%20

سجلت أعلى نسبة لشدة الإصابة في الصلامية/كربلاء أذ بلغت 37.7 % تلاها24 % في منطقة الابراهيمية وقد يعزى سبب ارتفاع نسبة الإصابة الى عدم الاهتمام بزراعة المحصول وكذلك عدم الاهتمام بالعمليات الزراعية مثل الزراعة المتكررة وعدم انتظام الري والتسميد غير المتوازن أو نوعية السماد ونوعية الترب وتراكم اللقاح الفطري بسبب الزراعة المتكررة للمحصول وعدم استخدام الدورات الزراعية أن

أمراض تعفن جذور الخيار مهددة لزراعة المحصول في العديد من دول العالم لذلك يتم للجوء الى الإدارة المتكاملة للمكافحة.

4 -1-2:عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور نباتات الخيار المصابة.

أظهرت نتائج العزل والتشخيص جدول (6) وجود عدد من الفطريات تم عزل وتشخيص العديد من الأنواع الفطرية التابعة لستة أجناس من جذور الخيار وهي *Alternaria sp, Aspergillus spp, Fusarium spp , Macrophomina sp* *Rhizoctonia sp* ، *Pythium sp* و كانت السيادة لانواع الفطر *Fusarium spp* أذ بلغ معدل ظهوره في العينات 85% وبمعدل نسبة تكرار 47.3 % وقد يعزى السبب في ذلك الى تراكم أبواغ الفطر وخاصة الأبواغ الكلاميدية التي تبقى حية في التربة لمدة سنوات حتى بغيات العائل وعدم أتباع عمليات الخدمة من أسمدة ودورات زراعية وحراثة عميقة وكذلك استعمال بذور ملوثة بالفطر وعدم إستخدام الأصناف المقاومة واتفقت هذه النتائج مع ما ذكره (Al Mousawi وjuber, 2012) .

جدول (6) :عزل تشخيص الفطريات المرافقة لجذور الخيار .

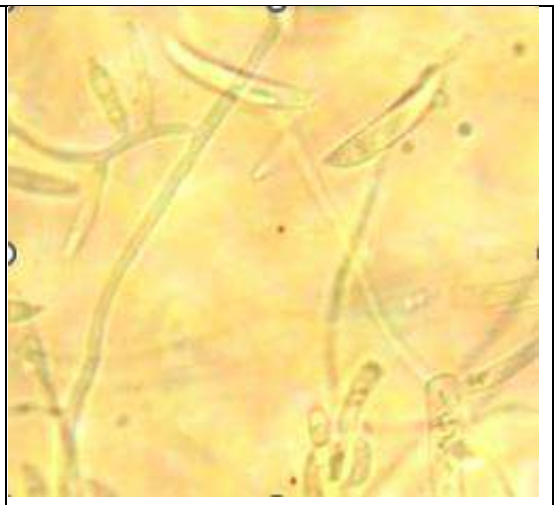
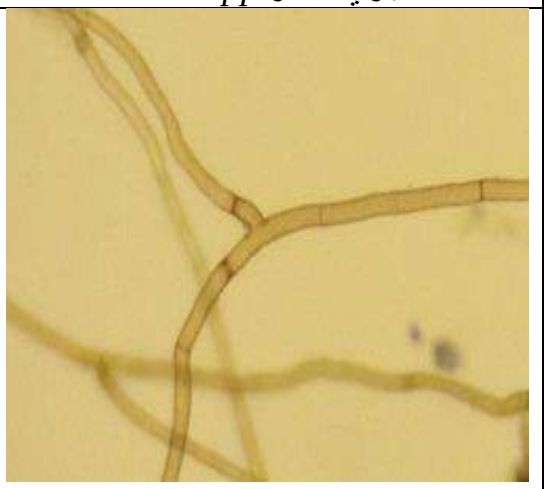
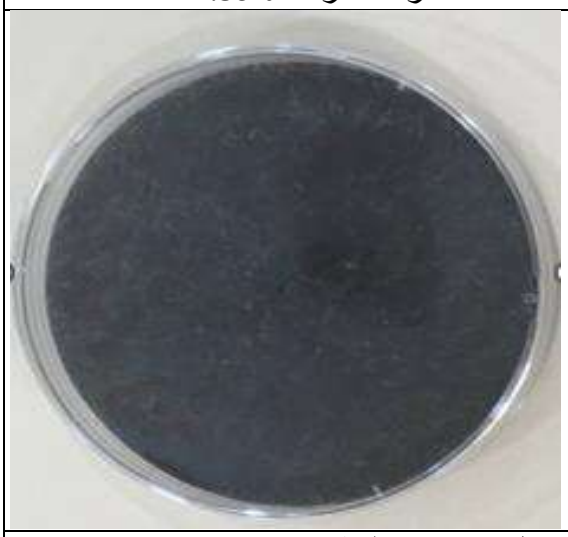
ت	الفطر	الظهور%	التكرار%
1	*Fusarium spp*	85.0	47.13
2	*Rhizoctonia sp*	61.4	32.10
3	*Macrophomina sp*	45.3	8.22
4	*Pythium sp*	21.6	5.16
5	*Alternaria spp*	13.4	4.12
6	*Aspergillus spp*	12.0	4.22

4-2: التوصيف المظهري لأهم العزلات الفطرية المعزولة من الجذور.

معظم هذه الفطريات تمتلك القدرة على أنتاج الوحدات التكاثرية بأعداد كبيرة وقدرتها على اجتياز الظروف غير الملائمة ، أظهرت أنواع الفطر *Fusarium spp* غزلاً فطرياً أبيضاً الى وردي برتقالي الى رمادي اللون على الوسط الزرعي (الشكل1) كما أظهر الفحص المجهري تكوين الفطر ثلاثة أنواع من الأبواغ , أبواغ كونيدية صغيرة Microconida أهليليجية بعضها أسطوانية الى بيضوية تنتج من Monophilides طويلة تحمل جانبياً على غزل فطري هوائي وأبواغ كونيدية كبيرة Macroconida مغزلية غير متماثلة متغايرة في أبعادها ومقسمة 3-4 خلايا بحواجز والنوع الثالث من الأبواغ هو الأبواغ الكلاميدية التي تنتج مفردة أو بشكل أزواج في فروع جانبية صغيرة أو وسط الغزل الفطري وجاءت هذه النتائج مطابقة لما ذكره Leslie وSummerell (2006).

بينما تميزت عزلات الفطر *R.solani* بوجود تفرع قرب الحاجز الطرفي للخلايا في الغزل الفطري الحديث وتخصر الفروع وتكوين حواجز قرب نقطة نشوء الفرع وهي من الصفات الأساسية الثابتة التي تميز هذا النوع كما تميزت العزلتان التابعتان لهذا النوع بنموهما السريع على الوسط الزرعي PDA وذات لون تدرج بين البني الفاتح الى البني الداكن وكونت على الوسط الزرعي أجساماً حجرية متباينة في الشكل والحجم وأظهرت قابليتها على تكوين خلايا برميلية تتجمع مع الخيوط الفطرية لتكون الأجسام الحجرية وأن خلايا الخيط الفطري تحتوي على أكثر من ثلاثة أنوية (الشكل1) وهذه الخلايا فيها تباين في العرض و الطول حسب نوع العزلة وأن هذه الصفات جاءت مطابقة لما ذكرة (Parameter وWhetney , 1970) و(Sneh وآخرون, 1996).

في حين تميزت عزلات الفطر *M.phaseolina* على الوسط الزرعي بلونها البني الداكن الى الأسود كونت العزلات جميعها أجساماً حجرية سوداء اللون كانت غير منتظمة الشكل وتراوحت بين الأهليليجي الى البيضوي (الشكل1) وتميز الفطر بتكوينه فروع هوائية مرتفعة قليلاً عن سطح الطبق بعد سبعة أيام الحضن (Barnett وHunter , 1972 وWheeler , 1975)

	
الشكل المجهري للفطر *Fusarium spp*	شكل مستعمرة الفطر *Fusarium spp*
	
الشكل المجهري للفطر *R.solani*	شكل مستعمرة الفطر *R.solani*
	
الشكل المجهري للفطر *M.phaseolina*	شكل مستعمرة الفطر *M.phaseolina*

الشكل1: الشكل المظهري والمجهري لاهم أنواع الفطريات المعزولة

4-3: اختبار المقدرة الامراضية

4-3-1 : اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات الممرضة باستعمال بذور الخيار على الوسط الزرعي PDA

أظهرت النتائج (جدول 7) ان جميع العزلات الفطرية أحدثت خفضاً معنوياً في نسبة إنبات البذور، كما لوحظ ان هناك تفاوتًا واضحًا في بين العزلات الفطرية، قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت أعلى نسبة للإنبات (86%)، أما في العزلات الفطرية ذات فعالية التثبيط العالية، فنجد انخفاضًا كبيرًا في نسبة الإنبات، على سبيل المثال، نلاحظ عند تحليل الجدول وفقًا لانخفاض النسب المئوية للإنبات، أن فطر *Fusarium proliferatum* و *Rhizoctonia solani* (DH7 وDH14) يبرزان كأحدى الفطريات الأكثر ضراوةً على نسبة انبات البذور، اذ ثبطا نسبة الانبات بنسبة 100% مما يعكس عدم قدرة البذور على الإنبات في ظل وجود هذه العزلات الفطرية، يلي ذلك عزلات فطرية اخرى كان لها تأثير حاد ايضاً مثل DH4 و DH17 اللتان سجلتا نسبة انبات قدرها 4%، كما لوحظ ايضاً ان بعض العزلات الفطرية مثل DH1 وDH12 لا تقل تأثيراً عن العزلتين السابقتين وبنسبة انبات بلغت 5%، في حين تباينت باقي العزلات الفطرية في تأثيرها على نسبة الانبات اذ تراوحت من 12-43%. ان اختلاف تأثير الفطريات على نسبة الإنبات يتم بناءً على عدة عوامل بيئية وبيولوجية، كل نوع من الفطريات يمتلك خصائص فريدة تحدد كيفية تأثيره على نسبة انبات البذور، بعض الفطريات مثل *Fusarium*و*Rhizoctonia*، تُعرف بقدرتها العالية على تعفن الجذور، مما يؤثر سلبًا على قدرة البذور على مواصلة نشاط الفعاليات الانزيمية والحيوية داخل البذرة من اجل حصول الانبات (Kraft واخرون،2000).

إحدى العوامل المهمة ايضاً هي السموم التي تنتجها الفطريات، هذه السموم يمكن أن تعطل العمليات الخلوية الأساسية مثل التنفس والتمثيل الضوئي، مما يمنع البذور من الإنبات بشكل سليم (Mukanga واخرون 2010). اما فيما يخص الظروف البيئية فهي تلعب دورًا حاسمًا في كيفية تفاعل الفطريات مع البذور، الرطوبة ودرجة الحرارة ونوع التربة يمكن أن يؤثر بشكل كبير على قدرة الفطريات على التكاثر والإصابة مما يزيد او يقلل من نسبة انبات البذور، عندما تكون الظروف رطبة، يمكن أن تزداد احتمالية إصابة البذور، بينما قد تقل في الظروف الجافة (Shah وآخرون،2022). بالإضافة إلى ذلك، نوع البذور نفسها يمكن يؤثر على مدى تعرضها للإصابة بالفطريات، بعض الأنواع تكون أكثر مقاومة للإصابة، بينما تكون

أخرى أكثر عرضة لها (Bodah، 2017). صحة وجودة البذور قبل الزراعة تلعب أيضًا دورًا مهمًا في ذلك، حيث تكون البذور ذات الجودة العالية أكثر قدرة على التغلب على تأثيرات الفطريات (Alamri وآخرون، 2012). بناءً على هذه العوامل، يمكن فهم لماذا تؤثر أنواع مختلفة من الفطريات بشكل مختلف على نسبة الإنبات، مما يبرز أهمية إدارة الفطريات في الزراعة لتحسين الإنتاجية وتقليل الخسائر

كما تشير النتائج واستنادًا إلى البيانات المعروضة في الجدول 6، تشير النتائج إلى وجود تباين كبير في تأثير العزلات الفطرية على نسبة التثبيط ، حيث لوحظ ان بعض العزلات كانت هي الأكثر فعالية في نسبة التثبيط مثل DH1 وDH4 وDH7 وDH12 وDH14 وDH17 وDH21 والتي سجلت نسب قدرت بـ 94.18% و95.34% و100% و94.18% و100% و 95.34% و95.34%، مما يبرز قدرتها العالية على تثبيط العمليات الحيوية التي تحدث في البذور خلال عملية الانبات، في حين لوحظ ان باقي انواع العزلات الفطرية أثرت ايضاً على نسبة التثبيط بنسب متفاوتة تراوحت من 62.29- 86.04.

وبناءً على هذه النتائج، لوحظ أن الفطريات المنتمية إلى جنس *Fusarium* و *Rhizoctonia* و *M. phaseolina* تمتلك قدرة عالية على تثبيط إنبات البذور، ربما يُعزى ذلك إلى احتمالية وجود مركبات سامة تنتجها هذه الفطريات، مما يؤثر سلبًا على البذور ويعيق عملية إنباتها، وهذا يشير إلى أن بعض الأنواع الفطرية قد تكون ذات قدرة ممرضة تؤدي إلى تدهور صحة النبات من خلال تأثيرها على عملية إنبات البذور كما أن الدراسة تسلط الضوء على أهمية تحديد العزلات الفطرية الضارة وتطوير استراتيجيات فعالة لإدارة الأمراض الفطرية في الزراعة (AL-Hujazy وSameer ، 2018).

جدول7: الكشف عن العزلات الفطرية الممرضة باستعمال بذور الخيار

ت	الفطر	رمز العزلة	نسبة الانبات (%)	نسبة التثبيط (%)
1	*Fusarium solani*	DH1	5	94.18
2	*Fusarium solani*	DH2	32	62.79
3	*Fusarium oxysporum*	DH3	24	72.09
4	*Fusarium oxysporum*	DH4	4	95.34
5	*Fusarium oxysporum*	DH5	18	79.06
6	*Fusarium oxysporum*	DH6	30	65.11
7	*F. proliferatum*	DH7	0	%100
8	*F. proliferatum*	DH8	12	86.04
9	*Fusarium sp*	DH9	43	%50
10	*Fusarium sp*	DH10	22	74.41
11	*Rhizoctonia solani*	DH11	32	62.79
12	*Rhizoctonia solani*	DH12	5	94.18
13	*Rhizoctonia solani*	DH13	24	72.09
14	*Rhizoctonia solani*	DH14	0	%100
15	*Rhizoctonia solani*	DH15	18	79.06
16	*Rhizoctonia solani*	DH16	30	65.11
17	*Rhizoctonia solani*	DH17	4	95.34
18	*Rhizoctonia solani*	DH18	12	86.04
19	*M.phaseolina*	DH19	32	62.79
20	*M.phaseolina*	DH20	24	72.09
21	*M.phaseolina*	DH21	4	95.34
22	*M.phaseolina*	DH22	32	62.79
23	*M.phaseolina*	DH23	24	72.09
24	Control		86	0.00
L.S.D $_{0.05}$			3.20	7.08

4-3-2: اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطريات الممرضة على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية

بينت النتائج الخاصة باختبار المقدرة الامراضية على بادرات الخيار (جدول8) والشكل (3) بأن جميع العزلات الفطرية المختبرة أظهرت مقدرة امراضية واسعة بإصابة جميع النباتات المزروعة وبنسبة إصابة مئوية بلغت 100% لجميع العزلات الفطرية مقارنة بمعاملة السيطرة التي كانت 0.00%. بينما عند حساب النسبة المئوية لشدة الإصابة تميزت العزلة الفطرية (DH7) بامتلاكها ضراوة مرضية شديدة تفوقت معنويا على مقدرة العزلات الأخرى اذ سجلت اعلى نسبة مئوية لشدة المرض بلغت 72.4% لعزلات الفطر *Fusarium sp* في حين سجلت العزلتين 43.4% و 33.6% على التوالي . بينما تميزت العزلة الفطرية (DH14) من الفطر *Rhizoctonia solani* اعلى شدة إصابة بلغت 62.5%. في حين سجلت العزلتين الاخريتين 43.5 % و 35.6% على التوالي. في حين سجلت عزلة الفطر(DH21) *M.phaseolina* شدة إصابة مرتفعة بلغت 65.6% . لذا تم اختيار العزلة *Fusarium sp (DH7)* لاجراء التجارب الحقلية اللاحقة.

جدول (8) القدرة المرضية لعزلات الفطريات على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية

ت	الفطر	رمز العزلة	النسبة المئوية للمرض	النسبة المئوية لشدة الإصابة
1	*Fusarium solani*	DH1	100	33.6
2	*Fusarium oxysporum*	DH4	100	43.5
3	*Fusarium proliferatum*	DH7	100	72.4
4	*Rhizoctonia solani*	DH12	100	35.6
5	*Rhizoctonia solani*	DH14	100	62.5
6	*Rhizoctonia solani*	DH17	100	43.5
7	*M.phaseolina*	DH21	100	65.6
8	Control		%0.00	0.00
	L.S.D عند مستوى 5%			10.65

كل رقم في جدول يمثل ثلاث مكررات

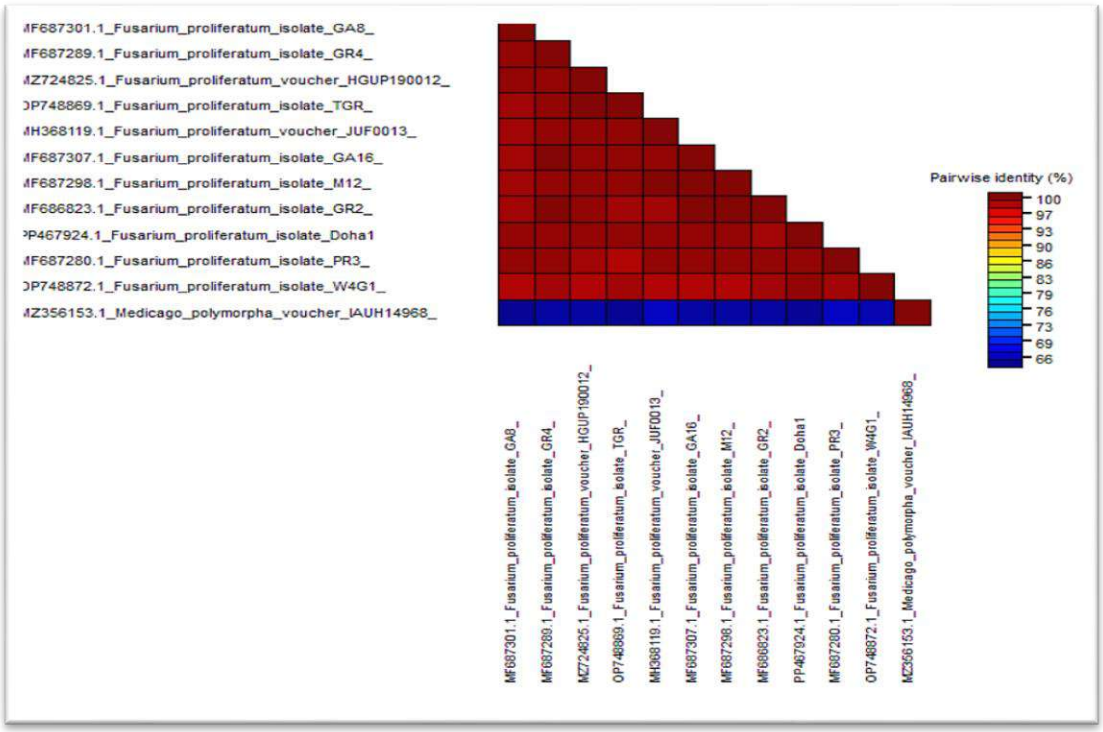
أختبار المقدرة الأمراضية في السنادين البلاستيكية

أ-نبات سليم ب-نبات مصاب بالفطر *R.solani* ج- نبات مصاب بالفطر *Fusarium* د- نبات مصاب بالفطر M. *.phaseolina*

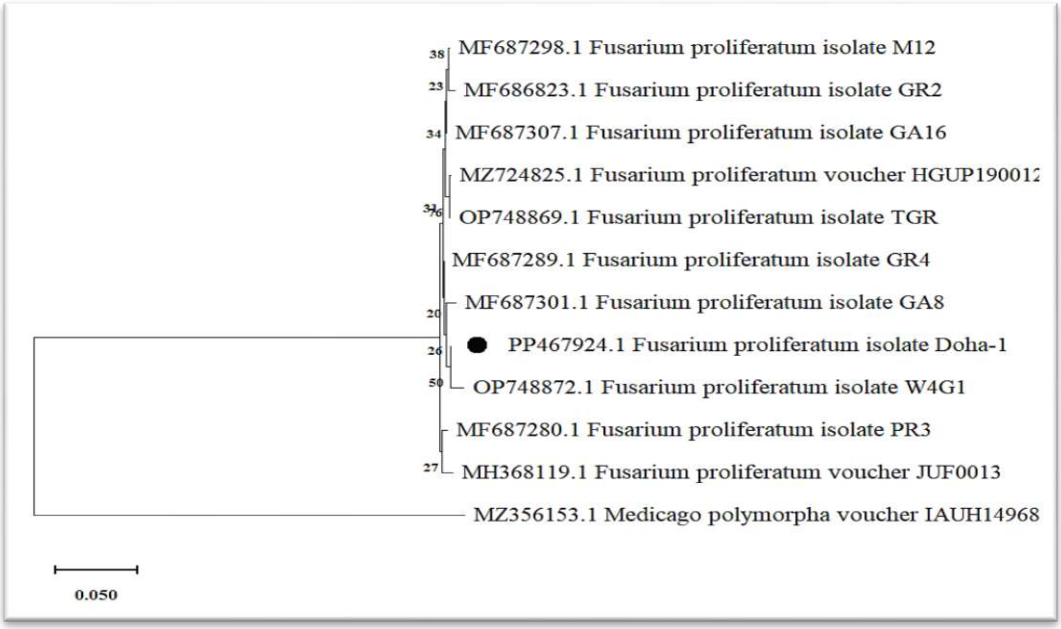
الشكل2: جانب من اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطريات على بادرات الخيار المزروعة بالاصص البلاستيكية

4-4: التشخيص الجزيئي Molecular Identification

اكدت نتائج تحليل التتابع النيوكليوتيدي لعزلة الفطر(*Fusarium* sp (DH7 التي تم عزلها حالات تعفن جذور الخيار والتي تميزت بشدة ضراوتها في احداث مرض تعفن الجذور على الخيار فقد اظهرت نتائج تحليل التتابع النيوكليوتيدي التأكيد بان العزلة تعود للفطر *Fusarium proliferatum* وهذا يعد تسجيل اول لهذا النوع كمسبب لمرض تعفن الجذور على نبات الخيار في العراق. اذ تم تسجيل العزلة الفطرية في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوي (NCBI) وتحت الرمز الخاصة (**PP467924.1**). اذ حققت التسلسلات النيوكليوتيدية الجزيئية اعلى نسبة تطابق تراوحت ما بين 99.82 – 99.46 % مع المنطقة الجينية ITS (شكل3) عند مقارنتها مع التسلسلات النيوكليوتيدية المكافئة المسترجعة من بنك الجينات في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية (NCBI) بأستخدام برنامج الـ (BLAST). كما أُجريت التحاليل النيوكليوتيدية باستعمال برنامج (MEGA) لتحليل العزلات ورسم شجرة القرابة (شكل4) بين هذه العزلة والعزلات المشابهة لها المسجلة بمركز (NCBI) حيث تم بناؤها من التسلسل الجزيئي النيوكليوتيدي لمنطقة ITS العائدة لكل من العزلات .



شكل (3): النسبة المئوية للتشابه بين عزلة الفطر *Fusarium proliferatum* isolate Doha-1 (محددة بنقطة ذات لون اسود) والعزلات العالمية المناظرة لنفس الفطر بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA. وقد تم انشاء هذا الشكل باستعمال برنامج Sequence Demarcation Tool version1.2



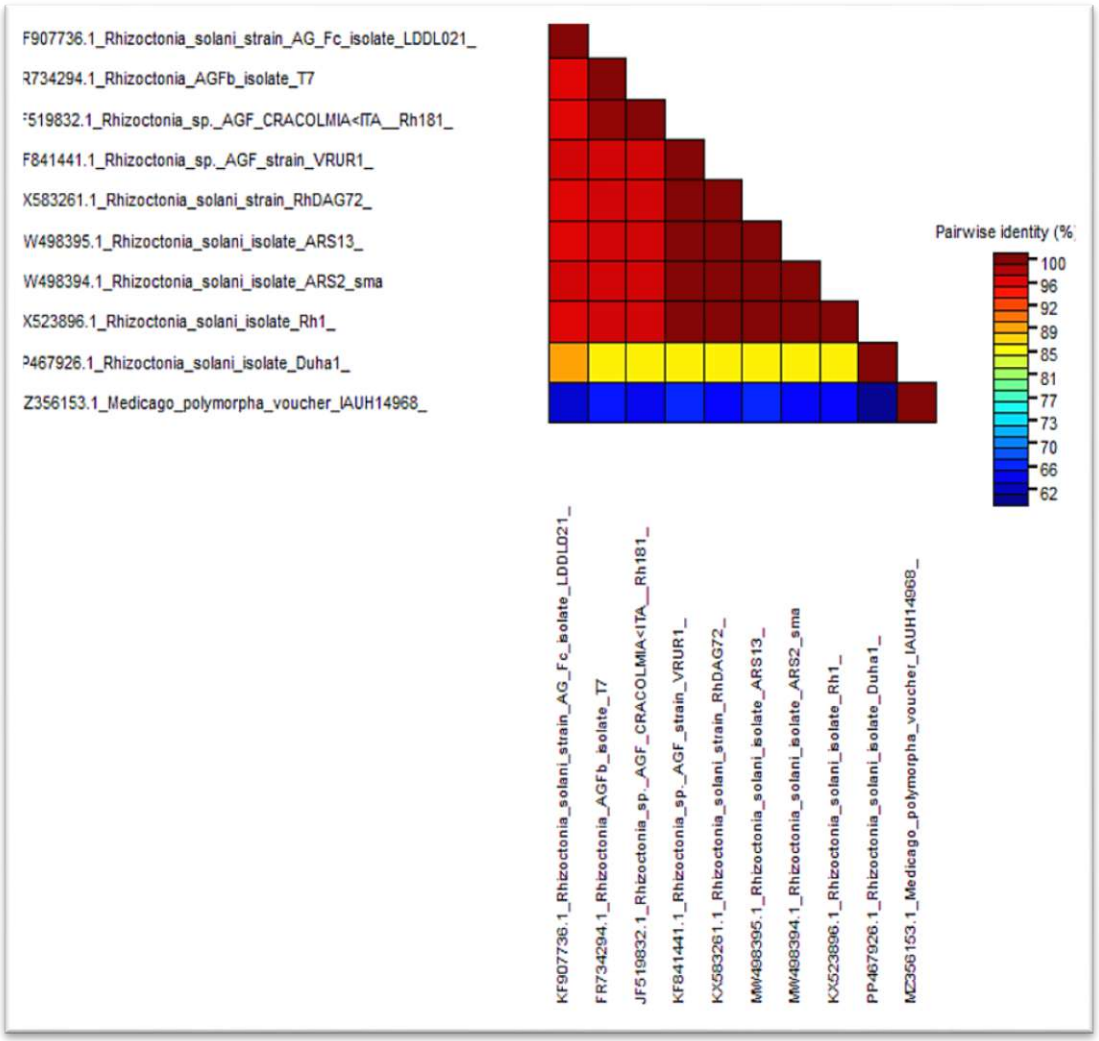
شكل (4): الشجرة الوراثية للفطر *Fusarium proliferatum* isolate Doha-1 (محددة بنقطة ذات لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات Gen Bank. ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining.

نظراً لأهمية التصنيف الدقيق للفطريات فإن التشخيص الجزيئي يهدف الى الكشف الدقيق وتشخيص عزلات الفطريات بأستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وتحديد تسلسل القواعد النايتروجينية لنواتج الحامض النووي المضاعفة (PCR Amplifled products) من الفطريات المعزولة بهدف معرفة أوجه التشابه الأختلاف الوراثي بين هذه العزلات الفطرية على مستوى النوع أذ أن هذه تقنية تعتمد على دراسة DNA لغرض التشخيص الدقيق كذلك تظهر مدى التباين الوراثي ما بين الأنواع المدروسة بأستخدام البصمة الوراثية عن طريق إستخدام (PCR) (RAPR) Random Polymerase Chain reaction وتقنية تحليل

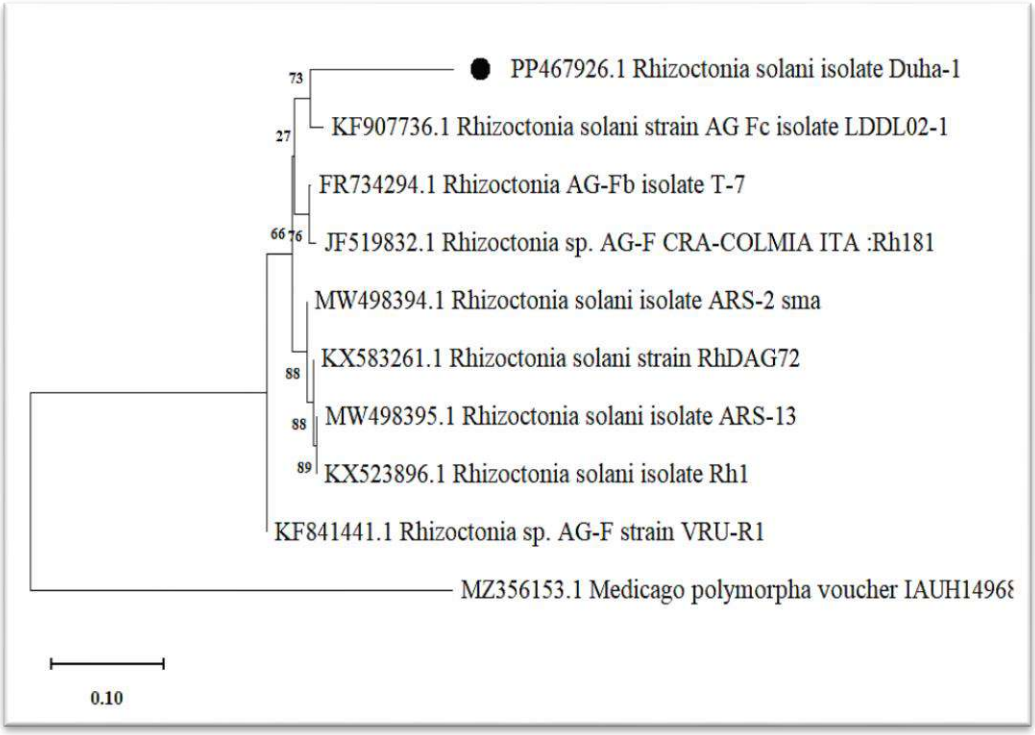
تباين أطوال قطع التقيد (RFLP) Restriction Fragment Length Polymorphicm (Arvanitis وآخرون،2014).

استخدمت هذه التقنية من قبل العديد من الباحثين في تشخيص العديد من الفطريات مثل الفطر Fusarium sp (Alhussaini وآخرون،2016)(Alaei وآخرون ،2012) لان الصفات المظهرية على الوسائط الزرعية مع صعوبة تشخيصها مجهريا والتي قد لا تعطي أدلة كافية وقاطعة للتفرق بين أنواع الأجناس الفطرية من بينها Fusarium spp ولأهمية التشخيص في تصنيف الفطريات أعتمدت طرائق عدة لكن أكثرها دقة وحداثة هو التشخيص الجزيئي الذي يكون ذا حساسية وتخصصية عاليتين (Bryan وآخرون،2018).

بينما اكدت نتائج تحليل التتابع النيوكليوتيدي لعزلة الفطر(*Rhizoctonia solani* DH14) التي تم عزلها حالات تعفن جذور الخيار والتي تميزت بشدة ضراوتها في احداث مرض تعفن الجذور على الخيار فقد اظهرت نتائج تحليل التتابع النيوكليوتيدي التأكيد بان العزلة تعود للفطر *Rhizoctonia solani* . اذ تم تسجيل العزلة الفطرية في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوي (NCBI) وتحت الرمز الخاصة (**PP467926.1**) . اذ حققت التسلسلات النيوكليوتيدية الجزيئية اعلى نسبة تطابق تراوحت ما بين 99.82 – 99.46 % مع المنطقة الجينية ITS (شكل5) عند مقارنتها مع التسلسلات النيوكليوتيدية المكافئة المسترجعة من بنك الجينات في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية (NCBI) بأستخدام برنامج الـ (BLAST) كما أُجريت التحاليل النيوكليوتيدية باستعمال برنامج (MEGA) لتحليل العزلات ورسم شجرة القرابة (شكل6) بين هذه العزلة والعزلات المشابهة لها المسجلة بمركز (NCBI) حيث تم بناؤها من التسلسل الجزيئي النيوكليوتيدي لمنطقة ITS العائدة لكل من العزلات.



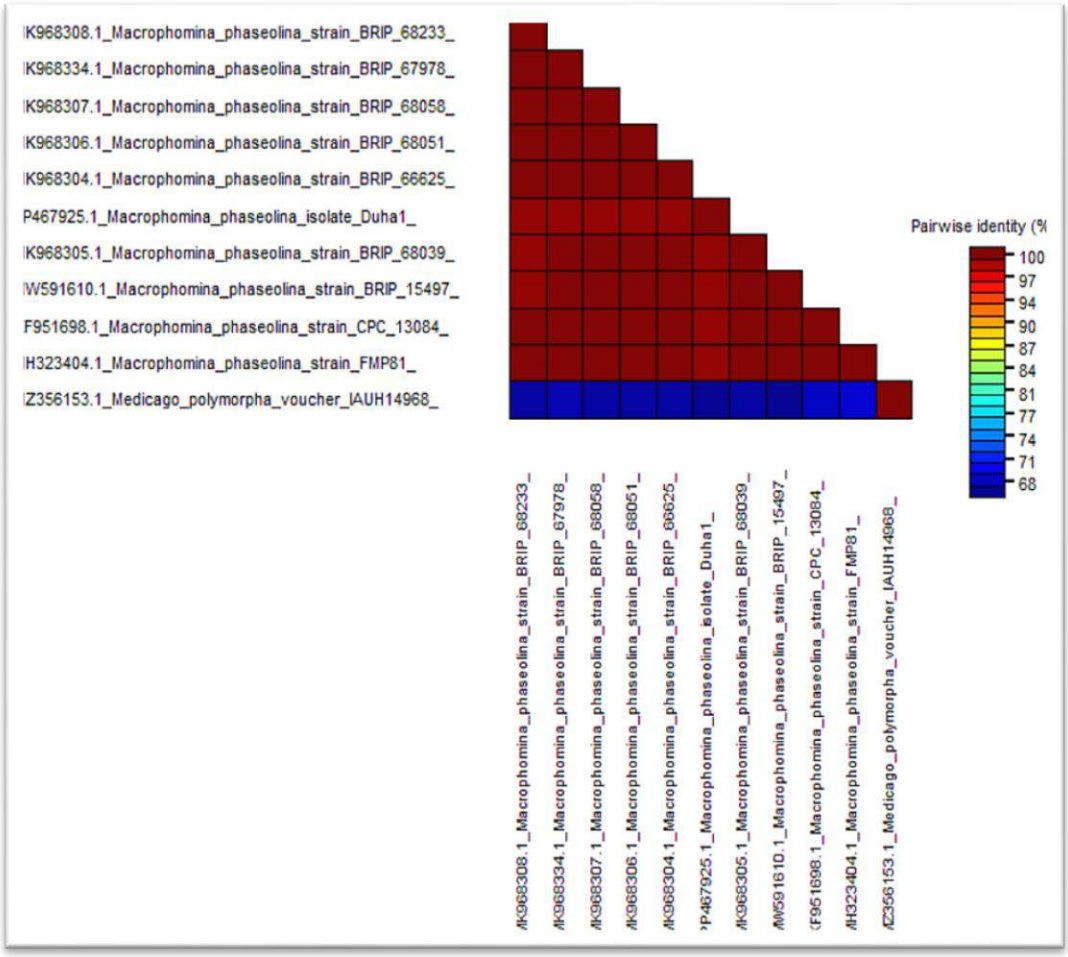
شكل (5): النسبة المئوية للتشابه بين عزلة الفطر *Rhizoctonia solani* isolate Duha-1 (محددة بنقطة ذات لون اسود) والعزلات العالمية المناظرة للفطر نفسه بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA. وقد تم انشاء هذا الشكل بإستعمال برنامج Sequence Demarcation Tool version1.2



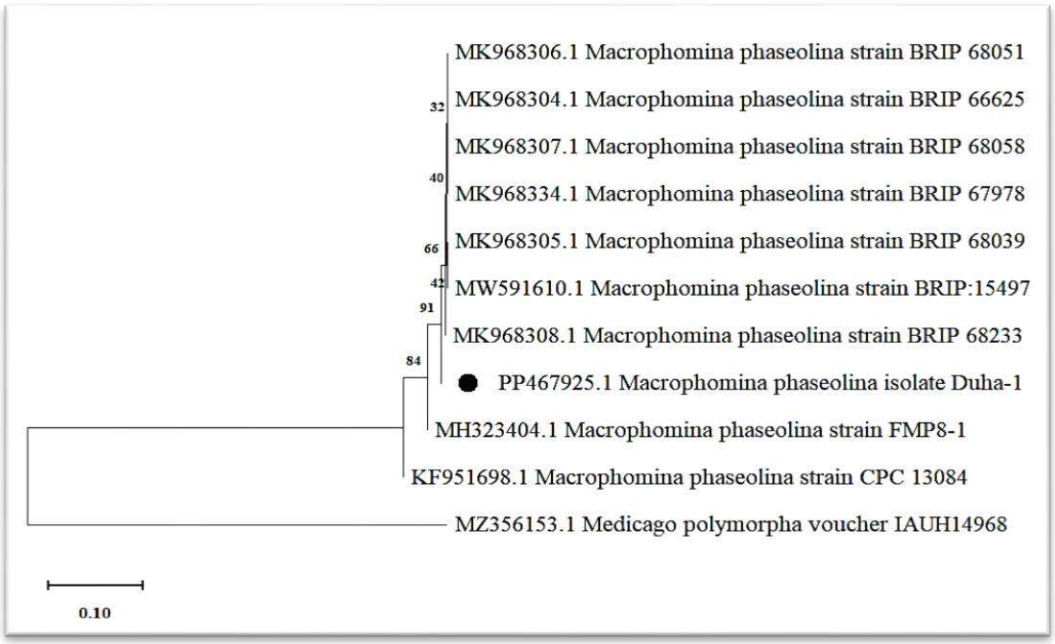
شكل (6): الشجرة الوراثية للفطر *Rhizoctonia solani* isolate Duha-1 (محددة بنقطة ذات لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-rDNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات Gen Bank. ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining

في حين اكدت نتائج تحليل التتابع النيوكليوتيدي لعزلة الفطر (*M.phaseolina* DH21) التي تم عزلها حالات تعفن جذور الخيار والتي تميزت بشدة ضراوتها في احداث مرض تعفن الجذور على الخيار. فقد اظهرت نتائج تحليل التتابع النيوكليوتيدي التأكيد بان العزلة تعود للفطر *M.phaseolina* . اذ تم تسجيل العزلة الفطرية في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوي (NCBI) وتحت الرمز الخاصة (**PP467925.1**) . اذ حققت التسلسلات النيوكليوتيدية الجزيئية اعلى نسبة تطابق تراوحت ما بين 99.82 – 99.46 % مع المنطقة الجينية ITS (شكل7) عند مقارنتها مع التسلسلات النيوكليوتيدية المكافئة المسترجعة من بنك الجينات في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية (NCBI) بأستخدام برنامج الـ (BLAST)

كمـا أُجريـت التحاليـل النيوكليوتيديـة باسـتعمال برنـامج (MEGA) لتحليـل العـزلات ورسـم شـجرة القرابـة (شـكل8) بـين هـذه العزلـة والعـزلات المشـابهة لهـا المسـجلة بمركـز (NCBI) حيـث تـم بناؤهـا مـن التسلسـل الجزيئـي النيوكليوتيـدي لمنطقـة ITS العائـدة لكـل من العزلات



شكل (7) النسبة المئوية للتشابه بين عزلة الفطر -1- *Macrophomina phaseolina* isolate Duha محددة بنقطة ذات لون اسود والعزلات العالمية المناظرة لنفس الفطر بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة -ITS DNA. وقد تم انشاء هذا الشكل باستعمال برنامج Sequence Demar cation Tool version1.2

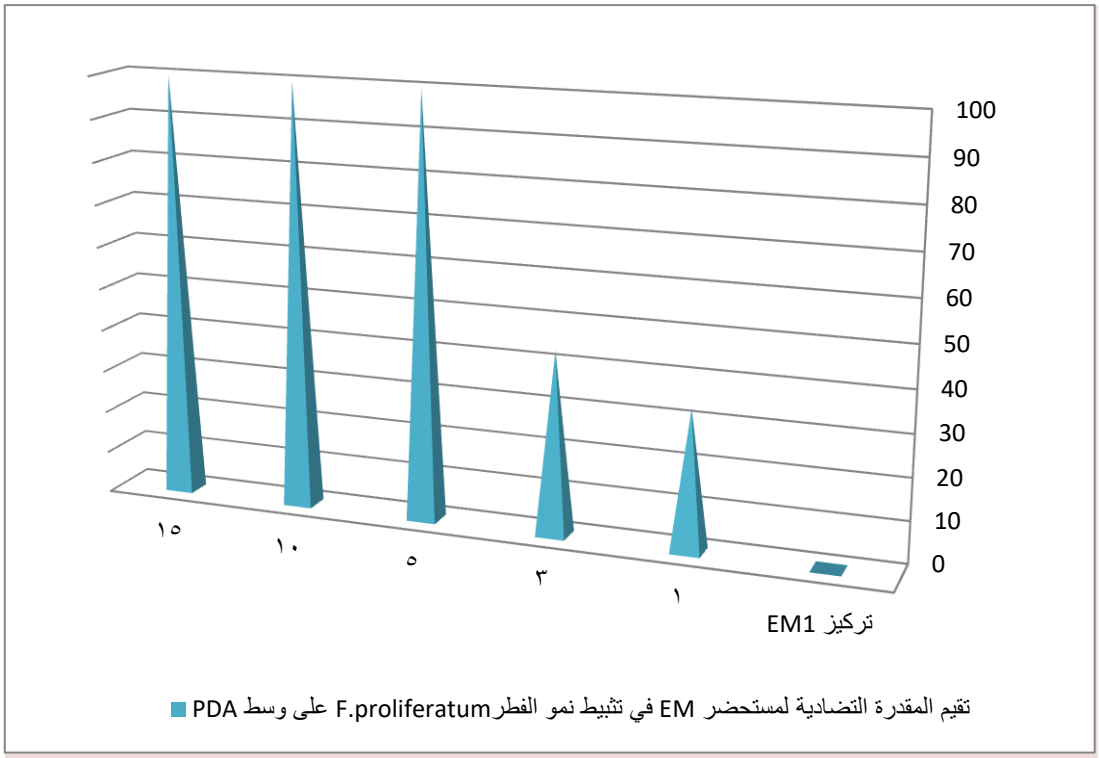


شكل (8) الشجرة الوراثية للفطر Macrophomina phaseolina isolate -1 Duha (محددة بنقطة ذات لون اسود والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها النايتروجينية لمنطقة ITS-1DNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية للفطر نفسه الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات Gen Bank ان المسافات الوراثية تم حسابها باستخدام طريقة neighbor-joining

4- 5: تقييم المقدرة التضادية لعدة تراكيز من مستحضر الاحياء الدقيقة الفعالة Effective microorganisms EM1)) في تثبيط نمو الفطر *Fusarium proliferatum* على وسط PDA

يبين شكل (9) نتائج الاختبار قابلية مستحضر الاحياء الدقيقة EM1 في تثبيط نمو الفطر *Fusarium proliferatum* على الوسط الزرعي PDA بنسب متباينة. اذ اظهر المستحضر الاحياء الدقيقة EM1 اعلى تأثير عند تراكيز 5 و10 و15 % اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 100% بالمقارنة مع معاملة الفطريات بمفردها (المقارنة) والتي بلغت نسبة التثبيط 0.00% . بينما سجل التركيز 1% و3% نسبة تثبيط بلغت 33.33% و43.33% على التوالي . اذ تم اختيار التركيز 5% واستعماله بالتجارب الحقلية.

شكل (9) تقيم المقدرة التضادية لمستحضر EM1 في تثبيط نمو الفطر *F.proliferatum* على وسط PDA.



6-4:تأثير التكامل بين المستحضر الحيوي (EM1) ومخلفات دودة الأرض (Vermicompost) وحامض الهيومك ضد مرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً.

أظهرت نتائج التجربة الحقلية بان جميع المعاملات المختبرة قد أدت الى خفض شدة الإصابة وبنسب متباينة. اذ سجلت معاملة التكامل بين جمع عوامل المكافحة (EM1+Vermi + Humi) اعلى نسبة تثبيط لشدة الإصابة بمرض تعفن جذور الخيار اذ بلغت 6.66% مقارنة بمعاملة الممرض فقط التي بلغت 77.77% فأنها سيطرت على المسبب المرضي وحجمت توسع الإصابة بشكل كبير (جدول9). بينما سجلت معاملتي Vermi وHumi المرتبة الثانية من خفض شدة الإصابة اذ بلغت 9.33 و15.33% على التوالي تلتها معاملتي التوليفة (*F.p.*+EM1+Vermi) و(*F.p.*+EM1) معدل شدة إصابة بلغت 16.66% و22.22% على التوالي. في حين تفوقت معاملة حامض الهيومك وVERM على بقية المعاملة المنفردة بتخفيض شدة الإصابة بلغت 53.33% مقارنة بمعاملة الممرض فقط التي بلغت 77.77% .

أظهرت نتائج التجربة الحقلية بان جميع المعاملات المختبرة قد أدت الى خفض نسبة التثبيط وبنسب متباينة. اذ سجلت معاملة التكامل بين جمع عوامل المكافحة (EM1+Vermi + Humi) اعلى نسبة مئوية للتثبيط بمرض تعفن جذور الخيار اذ بلغت 15.56% مقارنة بمعاملة الممرض فقط التي بلغت 22.23% فأنها سيطرت على المسبب المرضي وحجمت توسع الإصابة بشكل كبير (جدول9). بينما سجلت معاملة التوليفة بين المستحضر الحيوي ومخلفات دودة الأرض المرتبة الثانية من خفض نسبة التثبيط اذ بلغت 31.11 % تلتها معاملتي التوليفة بين المستحضر الحيوي وحامض الهيومك ومعاملة مخلفات دودة الأرض وحامض الهيومك بمعدل تثبيط بلغت33.33% و28.89% على التوالي، بينما نسبة التثبيط لمعاملة حامض الهيومك مع الفطر الممرض 40% في حين تفوقت معاملة Vermi على بقية المعاملة المنفردة بخفض نسبة التثبيط بلغت 56.55% مقارنة بمعاملة الممرض فقط التي بلغت 22.23% .

جدول (9) تأثير التكامل بين المستحضر الحيوي (EM1) و مخلفات دودة الأرض (Vermicompost) وحامض الهيومك على نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً.

ت	المعاملات	النسبة المئوية للإصابة	النسبة المئوية لشدة الإصابة	نسبة المئوية للتثبيط
1	(Control)	0.00	0.00	0.00
2	(*F.p.* only)	100	77.77	22.23
3	(*F.p.*+EM1)	33.33	16.66	16.67
4	(*F.p.*+Vermi)	44.44	15.33	29.11
5	(*F.p.*+ Humi)	22.22	9.33	12.89
6	(*F.p.*+EM1+Vermi)	55.55	22.22	33.33
7	(*F.p.*+ EM1+ Humi)	77.77	46.66	31.11
8	(*F.p.*+ Vermi + Humi)	88.88	53.33	35.55
9	(*F.p.*+EM1+Vermi + Humi)	95.88	6.66	89.22
10	المبيد الكيميائي Bentanol	0.00	0.00	0.00
	$L.S.D_{0.05}$	12.18	10.08	

كل رقم بالجدول يمثل معدل ثلاث مكررات

ان تفوق توليفة عوامل المكافحة المكونة من حمض الهيوميك (Humic Acid) ، والكائنات الحية الدقيقة الفعالة (Effective Microorganisms - EM1) ، والفيرميكومبوست

(Vermicompost)في تثبيط فطر *Fusarium proliferatum* المسبب لتعفن جذور الخيار يعزى إلى تضافر الآليات المتعددة لهذه العوامل. تؤدي هذه التوليفة دورًا تكامليًا في تحسين صحة التربة والنبات، مما يحد من قدرة الفطر على النمو والانتشار،الكائنات الحية الدقيقة الفعالة (EM1) تلعب دورًا محوريًا في تقليل نشاط الفطريات الممرضة و هذه الكائنات تُنتج مركبات مضادة للفطريات، مثل الإنزيمات والمضادات الحيوية الطبيعية، التي تعيق نمو الفطر وتقلل من انتشاره و علاوة على ذلك، تشارك هذه الكائنات في منافسة الفطر على الموارد الغذائية والمساحة الحيوية، مما يُضعف فرصته في التكاثر كما تُعزز الكائنات الحية الدقيقة من صحة الجذور عن طريق تحسين امتصاص المغذيات وتنشيط النمو (Keswani وآخرون، 2019).

أما الفيرميكومبوست، فهو مصدر غني بالمغذيات العضوية والمركبات الحيوية التي تُثبط نمو الفطريات يحتوي الفيرميكومبوست على أحماض عضوية وإنزيمات تُسهم في تحسين التهوية وبنية التربة، مما يقلل من مستويات الرطوبة الزائدة التي تُعتبر ضرورية لنمو الفطريات الممرضة كما يعزز الفيرميكومبوست من تكاثر الكائنات الحية الدقيقة المفيدة، مما يدعم البيئة الحيوية حول الجذور ويزيد من مقاومة النبات للضغوط الحيوية (Simsek-Ersahin، 2015). حامض الهيوميك يُعد محفزًا مهمًا لتحسين الخصوبة البيولوجية والكيميائية للتربة، إذ يزيد من توافر العناصر الغذائية ويُحسن من قدرة التربة على الاحتفاظ بالرطوبة، وهو ما يُضعف الظروف الملائمة لنمو الفطريات بالإضافة إلى ذلك، يساهم حمض الهيوميك في تعديل درجة الحموضة (pH) للتربة ورفع استجابة النبات المناعية من خلال تحفيز إنتاج المركبات الدفاعية مثل الفيتوألكسينات، مما يجعل الجذور أقل عرضة للإصابة بالفطر (Sangeethaو Singaram ,2020). عند استخدام هذه العوامل في توليفة واحدة، يتم تحقيق تآزر بين تأثيراتها تعمل التوليفة على تحسين البيئة الفيزيائية والكيميائية والحيوية للتربة بشكل متكامل، مما يُثبط نشاط الفطر بشكل أكثر فعالية مقارنة باستخدام كل عامل بمفرده هذا التآزر يخلق ظروفًا غير مواتية لنمو الفطر من جهة، ويُعزز مناعة النبات الطبيعية من جهة أخرى (Sopheak وآخرون، 2021).

فيما يتعلق بالفطر *Fusarium proliferatum*، يعتمد هذا الممرض على وجود بيئة غنية بالمغذيات ورطبة للتكاثر تعمل التوليفة على تعطيل هذه المتطلبات من خلال تقليل الرطوبة وتحسين التوازن الغذائي في محيط الجذور، بالإضافة إلى تثبيط نمو الفطر بواسطة

المركبات المضادة المنتجة بالتالي، تُعد هذه التوليفة نهجًا مستدامًا لإدارة الأمراض الفطرية في الخيار وتحقيق إنتاجية محسنة (Ehis-Eriakha وAdetunji ، 2022) .

4-7:التكامل بين المستحضر الحيوي (EM1) ومخلفات دودة الأرض (Vermicompost) وحامض الهيومك على معايير النمو والإنتاج ضد الاصابة بمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقلياً

بينت النتائج جدول (10) أن جميع المعاملات قد حققت زيادة معنوية في معايير نمو نباتات الخيار المتمثلة بالوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والحاصل الكلي قياساً بمعاملة بالفطر الممرض أذ بلغ الوزن الطري لمعاملة الفطر وحده 78.02 غم والوزن الجاف 16.57 غم /للنبات والحاصل الكلي 0.74 غم وبذلك تكون النتائج متطابقة مع تجربة الأصص، تليها معاملة الاحياء الدقيقة EMI - الفطر الممرض *F.p*. أذ بلغت 121.40 و30.86 و1.33 غم للوزن الطري والجاف والحاصل الكلي على التوالي ومعاملة Humi - الفطر الممرض *F.p*. أذ بلغت 117.22 غم و29.00 غم و1.29 كغم / نبات على التوالي. و حققت معاملة التكامل بين مخلفات دورة الارض Veronicampos ومستحضر الاحياء الدقيقة EMI وحامض الهيومك Humic acid سقياً للنباتات الملوثة تربتها باللقاح الفطري حيث تفوقت معنوياً واظهرت زيادة ملحوظة في الوزن الطري أذ بلغت 172.62 غم /نبات وبلغ الوزن الجاف 61.50 غم /نبات أما الحاصل الكلي فقد بلغ 2.86 غم ، وهذا يدل على التوافق بين مخلفات دودة الأرض vermicompost ومستحضر الاحياء الدقيقة EMI وحامض الهيومك Humic acid والتربة الملوثة بالفطر *F.p* . تليها معاملتي مخلفات دودة الأرض وحامض الهيومك للتربة الملوثة بالفطر*F.p*. اذ بلغ معدل الوزن الطري 159.00 و 151.88 غم بينما بلغ معدل الوزن الجاف (54.98 و48.76 غم) والحاصل الكلي (2.35 و1.89 كغم/نبات) على التوالي. اما معاملة الفطر الممرض لوحده فقد بلغ معدل الوزن الطري والجاف والحاصل الكلي (78.02غم و16.57غم و 0.74 كغم /نبات) على التوالي. أما معاملة السيطرة فقد بلغت 106.23 و 24.91 و 1.24 للوزن الطري والجاف والحاصل الكلي على التوالي.

جـــدول (10) التكامـــل بـــين المستحضـــر الحيـــوي (EM1) و مخلفـــات دودة الأرض (Vermicompost) وحـــامض الهيومـــك علـــى معـــايير النمـــو والإنتـــاج ضـــد الاصـــابة بمرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *F.proliferatum* حقليا.

ت	المعاملات	الوزن الطري للنبات بالغرام	الوزن الجاف للنبات بالغرام	وزن الحاصل للنبات الواحد كغم/نبات
1	(Control)	106.23	24.91	1.24
2	(*F.p.* only)	78.02	16.57	0.74
3	(*F.p.*+EM1)	121.40	30.86	1.33
4	(*F.p.*+Vermi)	132.47	35.58	1.53
5	(*F.p.*+ Humi)	117.22	29.00	1.29
6	(*F.p.*+EM1+Vermi)	151.88	48.76	1.89
7	(*F.p.*+ EM1+ Humi)	140.36	41.09	2.18
8	(*F.p.*+ Vermi + Humi)	159.00	54.98	2.35
9	(*F.p.*+EM1+Vermi + Humi)	172.62	61.50	2.86
	L.S.D $_{0.05}$	11.784	8.233	0.476

أن سبب تفوق معاملة مخلفات دودة الأرض ومستحضر الأحياء الدقيقة وحامض الهيومك بسبب تواجد هذه الاحياء المجهرية ذات الفعالية الكبيرة في منطقة الرايزو سفير التي تلعب دوراً كبيراً في تغذية النبات على لمحصول الخيار ونموه وتطوره وكذلك لها دور في تحسين أمتصاص المواد الغذائية وإنتاج المضادات الحيوية واستحثاث المقاومة الجهازية (Olle، 2021)، أما بالنسبة لأضافة حامض الهيوميك فله تأثير أيجابي على محصول الخيار من خلال زيادة المحصول من الكربوهيدرات والبروتين والعناصر الغذائية (Mora وأخرون,2010).

ان استخدام توليفة من الفيرميكومبوست، وحمض الهيوميك، والكائنات الحية الدقيقة الفعالة (Effective Microorganisms - EM1) يُظهر تأثيرًا واضحًا في تثبيط نمو فطر *Fusarium proliferatum* على نبات الخيار، مما أدى إلى تحسين الوزن الجاف والرطب وزيادة الحاصل يُمكن تفسير هذا التأثير من خلال فهم الدور التكميلي لكل عنصر من هذه

التوليفة في تحسين البيئة الزراعية وتعزيز نمو النبات و يُعتبر الفيرميكومبوست مصدرًا غنيًا بالمغذيات العضوية والعناصر الدقيقة اللازمة لنمو النبات ووجوده في التربة يُحسن بنية التربة والتهوية، كما يُقلل من مستويات الرطوبة الزائدة التي تخلق بيئة مواتية لنمو الفطريات الممرضة، علاوة على ذلك يحتوي الفيرميكومبوست على مركبات طبيعية مثل الأحماض العضوية والإنزيمات التي تُعزز النشاط الحيوي للكائنات الدقيقة المفيدة، مما يحد من نشاط الفطر الممرض هذا الدعم يحفز نمو الجذور ويزيد من امتصاص العناصر الغذائية، ما يُسهم بشكل مباشر في زيادة الوزن الجاف والرطب للنبات (Jankauskienė وآخرون، 2022).

حمض الهيوميك يلعب دورًا إضافيًا من خلال تحسين خصوبة التربة وزيادة توافر العناصر الغذائية للنبات، مثل النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم كما أنه يعمل على تعزيز قدرة النبات على تحمل الإجهاد الحيوي والبيئي من خلال تحفيز إنتاج المركبات الدفاعية الطبيعية بفضل تأثيره على تحسين امتصاص المياه والمغذيات، يُسهم حمض الهيوميك في دعم العمليات الفسيولوجية للنبات وزيادة نمو الأنسجة النباتية، ما ينعكس إيجابيًا على الوزن والحاصل (Mohammed، 2024).

الكائنات الحية الدقيقة الفعالة تُضيف بُعدًا حيويًا مهمًا للتوليفة من خلال إنتاجها للإنزيمات والمضادات الحيوية الطبيعية، تُثبط هذه الكائنات نشاط الفطريات الممرضة مثل *Fusarium proliferatum*. إضافة إلى ذلك، تُعزز الكائنات الحية الدقيقة التوازن الميكروبي في منطقة الجذور، مما يُقلل من تأثير الفطر ويُحسن كفاءة نمو النبات بشكل عام تنافسها مع الفطر على العناصر الغذائية والمساحة الحيوية يُضعف من قدرة الفطر على التكاثر والانتشار(Rasheed وآخرون، 2020).

التأثير التكاملي لهذه التوليفة يعزز من قدرة النبات على امتصاص العناصر الغذائية والماء بكفاءة أكبر، ما يؤدي إلى تحسين العمليات الفسيولوجية للنبات وزيادة إنتاجية الأنسجة النباتية هذا التأثير يُسهم بشكل مباشر في زيادة الوزن الجاف والرطب، بالإضافة إلى تحسين الحاصل الكلي للنبات و قدرة التوليفة على تقليل الضغوط المرضية وتحسين الظروف البيئية للنبات تُشكل نهجًا مستدامًا وفعّالًا لإدارة الأمراض وزيادة الإنتاجية في الزراعات الحديثة (Shehata وآخرون، 2016).

5: الاستنتاجات والتوصيات

5-1: الاستنتاجات :

1. أن الفطر Fusarium أكثر ظهوراً من بقية الفطريات .
2. سجلت معاملة التكامل في جميع عوامل المكافحة الأحيائية (VermicompostوEMIوHumic acid) أعلى نسبة تثبيط لشدة الأصابة لمرض تعفن جذور الخيار.
3. كفاءة حامض الهيومك في مكافحة المسببات المرضية.
4. معاملة التكامل بين جميع عوامل المكافحة الأحيائية بتحقيق زيادة في معايير النمو لنبات الخيار.

5-2: التوصيات

1. اعتماد مستحضر الاحياء الدقيقة EM1 بتركيز 5% في مكافحة ضد مسببات مرض تعفن جذور الخيار لأنها صديقة للبيئة كذلك لزيادة نمو النبات وانتاجه وتعتبر كبدائل للمبيدات الكيميائية الضارة بالبيئة .
2. اعتماد مخلفات دودة الأرض في مكافحة مسببات مرض تعفن جذور الخيار لانها تعتبر آمنه للبيئة كذلك تساعد في نمو النبات وانتاجه وتعتبر كبدائل للمبيدات الكيميائية الضارة بالبيئة .
3. اعتماد برامج مكافحة متكاملة تستعمل فيها مستحضر الاحياء الدقيقة EM1 ومخلفات دودة الأرض والهيومك أسد ضد المسببات المرضية القاطنة في التربة والتي تهاجم محاصيل اقتصادية اخرى.
4. تقييم كفاءة مستحضر الاحياء الدقيقة EM1 ومخلفات دودة الأرض والهيومك أسد ضد مسببات ممرضة اخرى كامنة في التربة تسبب نفس المرض او امراض اخرى .
5. الأستمرار في البحث عن احياء دقيقة اخرى لها فعالية عالية في السيطرة على مسببات الامراض المتوطنة في الترب العراقية.

6- المصادر

6-1- المصادر العربية

البهادلي، علي حسين، مجيد متعب ديوان، ومنصور الراوي وكامل سلمان جبـــر (1980). تعقيم البيوت البلاستيكية باستعمال الطاقة الشمسية المؤتمر العلمي الأول لعلوم الحياة . بغداد 21-24 نيسان.

حسون، ابراهيم خليل (2005). المكافحة البايلوجية والكيميائية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا. *Rhizoctonia solani* أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة .جامعة بغداد.

العامري، ايلاف قحطان عباس (2018). المكافحة المتكاملة لبعض مسببات تعفن جذور البطيخ *Cucumis melon L*. في محافظة بابل. رسالة ماجستير. جامعة الفرات الأوسط التقنية/الأقسام الزراعية/ قسم تقنيات المقاومة الاحيائية.

الزبيدي، احمد عبد الرسول كريم (2020). فاعلية بعض عزلات الاندوفايت من الفطريات والبكتريا في مكافحة مرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطرين *Pythium phanidermatum*.

صالح، سارة وليد عبد (2020). تقييم فعالية بعض العوامل الاحيائية واكاسيد الزنك والمغنيسيوم النانوية في استحثاث مقاومة السمسم *Sesamum indicm* ضد الفطر*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid مسبب مرض التعفن الفحمي. رسالة ماجستير .كلية الزراعة. جامعة بغداد. و *Rhizoctonia solani*. رسالة ماجستير . كلية الزراعة. جامعة بغداد.

شنور، شيماء بعد الأمير محمد (2021). المكافحة المتكاملة المراض جذور الفلفل *Capsicum annum*المتسببة عن الفطرين *Fusarium solani* و*Macrophomina phaseolina* في محافظة بابل. رسالة ماجستير. جامعة الفرات الأوسط التقنية/الأقسام الزراعية/ قسم تقنيات المقاومة الاحيائية.

الكيم، فنن عارف عبدالله (2015). تقويم كفاءة بعض العوامل الأحيائية والمستحثات الكيميائية في مقاومة مرض خناق بادرات القطن المتسبب عن الفطر Kühn *Rhizoctonia solani* . رسالة ماجستير. جامعة الفرات الأوسط.

6-2- المصادر الأجنبية

A.P.N.A.N. (2005). (Asia-Pacific Natural Agriculture Network). EM Application Manual for APNAN Countries, 2nd ed., ,91

Ab Rahman, S. F. S., Singh, E., Pieterse, C. M., and Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. Plant Science, 267, 102-111.

Abd Al-Qader, Z. A., & Thanoon, A. H. (2024). Molecular Identification of *Rhizoctonia solani* Isolated from Cucumber (*Cucumis sativus* L.) and Its Biological Control. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1371, No. 3, p. 032007). IOP Publishing.

Abdou, Y. A., S.A. EL-Hassan and H.K. Abbas. (1979). Seed transmission and pycnidial formation in sesam wilt disease caused by Macrophomina Phaseoli (Maubl) Ashby. Agricultural Research. Review. 57(2):63-69.

Abdul aziz, A. R., M. Elahi, I. Sadek, and N. M. Ahmed . 2018 . Economics of post emergence herbicides for control of weeds in wheat . Egyptian Journal of Agricultural Research, 96(1): 267-273.

Abdullah, A. A., and Al-Juboory, H. H. (2020). Isolation of the fungus Fusarium solani causing cucumber root rot disease and its morphological and molecular identification. Int. J. Agricult. Stat. Sci. Vol, 16(1), 1959-1966.

Abdullahi, N., Dandago, M. A., and Yunusa, A. K. (2021). Review on Production of Single-Cell Protein from Food Wastes. Turkish

Journal of Agriculture- Food Science and Technology, 9(6), 968- 974.

Abdulridha, E. M., Al-tememe, Z. A., and Ismail, W. M. (2020). Impact of extracts for garlic, eucalyptus and castor in inhibiting growt *Rhizocton solani* kuhn caused root rot disease of tomatoes and diagnosed isolate with PCR technique. EurAsian Journal of BioSciences, 14, 5261-5265 .

Agarwal, P., Vibhandik, R., Agrahari, R., Daverey, A., & Rani, R. (2024). Role of root exudates on the soil microbial diversity and biogeochemistry of heavy metals. Applied Biochemistry and Biotechnology, 196(5), 2673-2693.

Agrios, G.N. (1997). Plant Pathology. 4th Ed. Academic PressInc. New York. P 635.

Akber, M. A., & Fang, X. (2024). Research Progress on Diseases Caused by the Soil-Borne Fungal Pathogen *Rhizoctonia solani* in Alfalfa. Agronomy, 14(7), 1483..

Al- Mayali, A. A., J. Jassim and Madeha. (2020). Effect of Bio-fertilizer, Organic Matter, Nano Zinc Oxide and Interaction on the Yield its Components and Oil Yield for Sunflower Plant *Helianthus annuus* L. Indian Journal of Ecology 47 Special Issue (12): 275-280.

Al- Mayali,A,A,H. (2021). Effect of algae and Bio-fertilizers on some growth characteristics and yield of wheat *Triticum aestivum* L. Journal of Kerbala for Agricultural Sciences Issue (2), Volume (8).

Al Mousawi, M. A. and K. S. Juber.2012. Isolation and identification of the Ecthogen causing root and stem rot disease on cowpea and evaluation of the Azotobacter vinelandii efficacy for controlling the disease under labrotary condetions. The Iraqi Journal of Agricultural Sciences –43(2): 67-75.

Alaei, H. Amir, H. M. and Ali D. 2012. Molecular characterization of the rDNA-ITS sequence and a PCR diagnostic technique for pileolaria terebinthi, the cause of pistachio rust. Phytopathologia Mediterranea, 51: 488-495.

Alamri, S. A., Hashem, M., Hafez, E. E., Moustafa, Y. S., Alrumman, S. A., and Taha, T. H. (2012). The efficiency of two new formulated biofungicides in the control of damping-off and root rot of cucumber and improving the plant defence system. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45(14), 1673-1691.

Al-Baldawy, M. S. M., Matloob, A. A., and Almammory, M. K. (2021). Effect of Plant Extracts and Biological control agents on *Rhizoctonia solani* Kuhn.In IO Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 735, No. 1, p. 012079). IOP Publishing.

AL-Hujazy, A. F., and Sameer, S. H. (2018). Effect of some biological agents and chemical fungicides to induce systemic resistance in cucumber plants against *Fusarium oxysporum*. Sp. cucumerinum. Journal of Kerbala for Agricultural Sciences, 5(3), 23-39.

Alhussaini, M. S., Moslem, M. A., Alghonaim, M. I., Al-Ghanayem, A. A., Al-Yahya, A. A., Hefny, H. M., and Saadabi, A. M. (2016). Characterization of Cladosporium species by Internal Transcribed Spacer-PCR and microsatellites-PCR.

Aliza, 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 Malays, 43: 89-94.

Almeida, Á. M., Sosa-Gomez, D. R., Binneck, E., Marin, S. R., Zucchi, M. I., Abdelnoor, R. V., and Souto, E. R. (2008). Effect of crop rotation on specialization and genetic diversity of *Macrophomina phaseolina*. Tropical Plant Pathology, 33, 257-264.

Alori, E.T.; Glick, B.R. and Babalola, O.O.(2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. Front. Microbiol., 8, 971.

Ampong, K., Thilakaranthna, M. S., and Gorim, L. Y. (2022). Understanding the role of humic acids on crop performance and soil health. Frontiers in Agronomy, 4, 848621.

Arvanitis, M., Ziakas, P. D., Zacharioudakis, I. M., Zervou, F. N., Caliendo, A. M., and Mylonakis, E. (2014). PCR in diagnosis of invasive aspergillosis: a meta-analysis of diagnostic performance. Journal of clinical microbiology, 52(10), 3731-3742.

Asad, S. A. (2022). Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma against fungal* plant diseases-A review. Ecological Complexity, 49, 100978.

Attia, M. S., El-Wakil, D. A., Hashem, A. H., and Abdelazi (2022). Antagonistic effect of plant growth- promoting fungiagainst *fusariumwiltdiseasein* tomato: in vitro and in vivo study. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1-19.

Ayala-Doñas, A., Cara-García, M. D., Talavera-Rubia, M., and Verdejo-Lucas, S. (2020). Management of soil-borne fungi and root-knot nematodes in cucurbits through breeding for resistance and grafting. Agronomy, 10(11), 1641.

Aydın, M. H. (2022). *Rhizoctonia solani* and its biological control. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 9(1), 118-135..

Aydın, M.H., Unal, F., (2021). Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Kühn isolates isolated from pistachio (Pistacia vera L.) saplings in Siirt province, Turkey. Turkish Journal of Agricultural Research, 8(1): 18-26.

Bhale, U.N.(2012). Physiological studies of fungicide resistan And sensitive *Fusarium axysporum* f. sp. spinaciae. I nternational joumal Ayurveda and Herbal Medicine. 2(1), 171-175.

Bodah, E. T. (2017). Root rot diseases in plants: a review of common causal agents and management strategies. Agric. Res. Technol. Open Access J, 5, 555661.

Brescia, F.; Vlassi, A.; Bejarano, A.; Seidl, B.; Marchetti Deschmann, M.; Schuhmacher, R. and Puopolo, G.(2021). Characterisation of the antibiotic profile of Lysobacter capsici AZ78, an effective biological control agent of plant pathogenic microorganisms. Microorganisms , 9, 1320.

Campbell, C. K., and Johnson, E. M. (2013). Identification of pathogenic fungi. John Wiley & Sons.

Campo, S., Martín-Cardoso, H., Olivé, M., Pla, E., Catala-Forn. M., Martínez-Eixarch, M., and San Segundo, B. (2020). Effect of root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi on growth, productivity and blast resistance in rice. Rice, 13(1), 1-14.

Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., and Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. Scientia horticulturae, 196, 15-27..

Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., and Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. Scientia horticulturae, 196, 15-27.

Dackman, C., Jansson, H. B., and Nordbring-Hertz, B. (2021). Nematophagous fungi and their activities in soil. In Soil biochemistry (pp. 95-130). CRC Press..

Dayarathne, M.C.; Mridha, A.U.; Wang, Y.(2021). Diagnosis of Fungal Plant Pathogens Using Conventional and Molecular Approaches. In Diagnostics of Plant Diseases; IntechOpen: London, UK.

Demirer Durak, E., and Ok, F. (2019). Determination of anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* kühn isolates from tomato (Solanum lycopersicum) in lake van basin, Turkey.

Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović, M., Degrassi, G., and Fira, D. (2022). Plant-associated Bacillus and Pseudomonas antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms-A review. Physiological and Molecular Plant Pathology, 117, 101754.

Dewan MM, Sivasithamparam K (1988) Occurrence of species of *Aspergillus and Penicillium* in roots of wheat and ryegrass and their effects on root rot caused by Gaeumannomyces graminis var. tritici. Australian Journal of Botany 36, 701-710

Diourte , M., J. L Starr, M. I. Jeger, J.P. Stack, and D.T. Rosenow .(1995). Charcoal rot (*Macrophmina phaseolina*) resistance and the effects of stress on disease development in Sorghum . Plant Pathology. 44 : 196 – 202.

Dongzhen F., L. Xilin, C. Xiaorong, Y. Wenwu, H, Yunlu, C. Yi, C. Jia, L.Zhimin, G. Litao, W. Tuhong, J. Xu and Chunsheng, G. .(2020). *Fusarium* species and *Fusarium oxysporum* species complex genotypes associated with yam wilt in south- central china.front. Microbiol. 11,1964-1975.

Dongzhen, F., Xilin, L., Xiaorong, C., Wenwu, Y., Yunlu, H., Yi, C., ... and Chunsheng, G. (2020). *Fusarium* species and *Fusarium oxysporum* species complex genotypes associated with yam wilt in South-Central China. Frontiers in microbiology, 11, 1964.

Edraki, V., and Banihashemi, Z. (2011). Phenotypic diversity among isolates of *Macrophomina phaseolina* and its relation to pathogenicity.

Edraki, V., and Banihashemi, Z. (2011). Phenotypic diversity among isolates of *Macrophomina phaseolina* and its relation to pathogenicity.

Egamberdieva, D., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S. D., Mishra, J., and Arora, N. K. (2019). Salt-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for enhancing crop productivity of saline soils. Frontiers in microbiology, 10, 2791.

Ehis-Eriakha, C. B., and Adetunji, C. O. (2022). Recent Advances in Application of Biostimulants Derived from Beneficial Microorganisms: Agriculture and Environmental Perspective. Agricultural Biotechnology, 47-88.

Elnahal, A.S., El-Saadony M.T., Saad A.M., Desoky E.S.M., El-Tahan A.M., Rady M.M., and El-Tarabily K.A (2022). The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture: A review. European Journal of Plant Pathology, 162(4): 759-792.

FAO (2020). Statistical databases. Statistics Division. Food and Agriculture Organization (FAO), Rome ,Italy . http://faostat.fao.org/. Links.

Fasusi, O.A., Cruz C., and Babalola O.O .(2021). Agricultural sustainability: microbial biofertilizers in rhizosphere management Agriculture, 11(2): 163.

Gebretsadkan, A., Araya, A., Fitiwy, I., Yohannes, T., and Kalayu Z. (2020). Effect of pesticidal weed extracts an soil solarization on soil health and management of onion white rot (Sclerotium cepivoru Archives of Phytopathology and Plant Protection, 53(13- 14), 625-639.

Gerke, J. (2018). Concepts and misconceptions of humic substances as the stable part of soil organic matter: A review. Agronomy, 8(5), 76.

Ghazanfar, M. U., Raza, M., Raza, W., and Qamar, M. I. (2018). *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. Plant Protection, 2(3).

Ghoniem, H., Fawzy, R., Elhabaa, G., and Ahmed, G. A. (2023). Effectiveness of Selected Biological Agents, Chemical Inducers, and Fungicides in Managing Cucumber Root Rot Disease caused by *Rhizoctonia solani*. Egyptian Journal of Crop Protection, 18(2), 1-23.

Ghosh, T. A. N. M. A. Y., Biswas, M. K., Guin, C. H. I. R. A. N. J.I. B., and Roy, P. R. A. D. I. P. T. A. (2018). A review on characterization therapeutic approaches and pathogenesis of *Macrophomina phaseolina*. Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol, 19, 72-84.

Gomez, A. O., De Faveri, J., Neal, J. M., Aitken, E. A., and Herrington, M. E. (2020). Response of strawberry cultivars inoculated with *Macrophomina phaseolina* in Australia. International Journal of Fruit Science, 20(sup2), 164-177.

Goswami, B. K., Bhuiyan, K. A., and Mian, I. H. (2010). Morphological and pathogenic variations in the isolates of *Rhizoctonia solani* in Bangladesh. Bangladesh Journal of Agricultural Research, 35(3), 375-380.

Hamid, B., Zaman, M., Farooq, S., Fatima, S., Sayyed, R. Z., Baba, Z. A., ... and Suriani, N. L. (2021). Bacterial plant

biostimulants: a sustainable way towards improving growth, productivity, and health of crops. Sustainability, 13(5), 2856.

Hanafy, S. A., El-Mohammady, M. M. S., Abdel-Wahab, A.,and Mohamed, M. I. (2024). Alleviating adverse effects of soil salinity stress on growth, biochemical composition and yield of cucumber by using humic acid and chitosan as foliar application. Zagazig Journal of Agricultural Research, 51(3), 427-459.

Hariharan, G., and Prasannath, K. (2021). Recent advances in molecular diagnostics of fungal plant pathogens: a mini review. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 10, 600234.

Harman, G. E., and Uphoff, N. (2019). Symbiotic root- endophytic soil microbes improve crop productivity and provide environmental benefits. Scientifica, 2019.

Heflish, A. A., Abdelkhalek, A., Al-Askar, A. A., and Behiry, S. I. (2021). Protective and curative effects of *Trichoderma asperelloides* Ta41 on tomato root rot caused by *Rhizoctonia solani* Rs33. Agronomy, 11(6), 1162.

Heydari, A., and Pessarakli, M. (2010). A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. Journal of biological sciences, 10(4), 273-290.

Higa, T. (1998). Effective Microorganisms, concept and recent advances in technology. In Proceedings of the Conference on Effective Microorganisms for a sustainable agriculture and environment. 4th International Conference on Kyusei Nature Farming, Bellingham-Washington USA. pp. 247-248.

Hoffmann, E., Schönherr, K., and Hampp, R. (1996). Regeneration of plant cell protoplasts under microgravity: investigation of protein patterns by SDS-PAGE and immunoblotting. Plant cell reports, 15, 914-919.

Hofny, H. H. A., Mohamed, A. A., and El-Fawy, M. M. (2022). Improving resistance of tomato plants against *Fusarium* root rot disease using biocontrol agents. Archives of Agriculture Sciences Journal, 213-227.

Hopkins, D. L. and Elmstrom, G. W.(1976). Effect of soil pH and nitrogen source on *Fusarium* wilt of watermelon on land previously cropped in watermelons. P. Florida State Hortic. Soc. 89,141-143.

Huang, L. Q., Niu, Y. C., Su, L., Deng, H., and Lyu, H. (2020). The potential of endophytic fungi isolated from cucurbit plants for biocontrol of soilborne fungal diseases of cucumber." Microbiological research 231: 126369.

Hussein, A. N., Al-Janabi, H. J. K., Al-Janabi, J. K. A., and Al-Shujairi, A. R. S. (2024). Identification and characterizations of a few species of *Fusarium* infecting cucumber in greenhouse conditions. Journal of Applied and Natural Science, 16(1), 209-220.

Hyder, S., Gondal, A. S., Rizvi, Z. F., Iqbal, R., Hannan, A., and Sahi, S. T.(2022). Antagonism of selected fungl specis against *Macrophomin phasioleina* (TASSI) goid, c ausing charcoal rot of mungbean Pak. J. Bot, 54(3), 1129-1138.

Ibrahim, I. A., and Al-Juboory, H. H. (2024, July). Isolation and Identification of Cucumber Root Rot-Associated Fungi and Assessment of Their Pathogenicity. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1371, No. 3, p. 032024). IOP Publishing.

Jain, A., Sarsaiya, S., Wu, Q., Lu, Y., and Shi, J. (2019). A review of plant leaf fungal diseases and its environment speciation. Bioengineered, 10(1), 409-424.

Jankauskienė, J., Laužikė, K., and Kavaliauskaitė, D. (2022). Effects of vermicompost on quality and physiological parameters of cucumber (Cucumis sativus L.) seedlings and plant productivity. Horticulturae, 8(11), 1009.

Joshi, R., Singh, J., and Vig, A. P. (2015). Vermicompost as an effective organic fertilizer and biocontrol agent: effect on growth, yield and quality of plants. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 14, 137-159.

Kankam, F., Larbi-Koranteng, S., and Adomako, J. (2021). *Rhizoctonia* disease of potato: Epidemiology, toxin types and management. Egyptian Journal of Phytopathology, 49(1), 197-209.

Kareem, F. H., and Matloob, A. A. (2020). Efficiency of some of bio-formulas against fungi caused sunflower root rot disease. Int. J. Agricult. Stat. Sci. Vol, 16(1), 1485-1493.

Kendig, S., J.Rupe and H.Scott .(2000). Effect of irrigation and soil water stress on densities of *Macrophomina phaseolina* in soil and roots of two cultivares. Plant Disease, 84: 895 – 900.

Keswani, C., Singh, H. B., et al. (2014). Antagonistic Potential of Microorganisms and Their Role in Disease Suppression. Biological Control, 68, 54-70.

Khan, I. H., Javaid, A., and Ahmed, D. (2021). *Trichodermaviride* Controls *Macrophomina phaseolina* through its DN disintegration and Production of Antifungal Compounds. Int. J. Agric. Biol, 25(4), 888-894.

Kiyasudeen S, K., Ibrahim, M. H., Quaik, S., Ahmed Ismail, S., Ibrahim, M. H., Quaik, S., and Ismail, S. A. (2016). Vermicompost, its applications and derivatives. Prospects of organic waste management and the significance of earthworms, 201-230.

Kour D, Rana K L, Yadav A N,…and Saxena A. K (2020). Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability Biocatalysis and Agricultural Biotechnology vol 23 101487.

Kraft,j.M.Haware,M.P.Halila,H.et al.(2000). Soil borne diseases and their control .Kluwer Academic Publishers, Dordrecht,Netherlands.

Kumar, P., and Dubey, R. C. (Eds.). (2023). *Macrophomina phaseolina*: ecobiology, pathology and management. Elsevier .pp. 357.

Kyuchukova, M. A., Büttner, C., Gabler, J., Bar-Yosef, B., Grosch, R., and Kläring, H. P. (2006). Evaluation of a method for quantification of *Pythium aphanidermatum* in cucumber roots at different temperatures and inoculum densities/Evaluierung einer Methode zur Quantifizierung von *Pythium aphanidermatum* in Gurkenwurzeln bei verschiedenen Temperaturen und Inokulumdichten. Journal of Plant Diseases and Protection, 113-119.

Lahlali, R. Ezrari ,S.Radouane ,N.Kenfaoui ,J.Esmaeel ,Q.Hamss,H Belabess, Z and Barka, E,A.(2022). Biological Control Plant Pathogens: A Global Perspective . Microorganisms ,10,596.

Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., ... and Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. Microorganisms, 10(3), 596.

Lahlali, R.; Ibrahim, D.S.S.; Belabess, Z.; Kadir Roni, M.Z.; Radouane, N.; Vicente, C.S.L.; Menéndez, E.; Mokrini, F.; Barka, E.A. and Galvão de Melo e Mota, M.; et al. (2021). High-throughput moleculatechnologies for unraveling the mystery of soil microbial community: Challenges and future prospects. Heliyon , 7, e08142.

Lakshman, D. K., Jambhulkar, P. P., Singh, V., Sharma, P., and Mitra, A. (2016). Molecular identification, genetic diversity, population genetics and genomics of *Rhizoctonia solani*. Perspectives of Plant Pathology in genomic era, 55-89.

Macik, M.; Gryta, A. and Frac, M .(2020). Biofertilizers in agriculture, An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. Adv. Agron., 162, 31–87.

Mahdizadeh, V., Safaie, N., and Goltapeh, E. M. (2011). Diversity of *Macrophomina phaseolina* based on morphological and genotypic characteristics in Iran. The Plant Pathology Journal, 27(2), 128-137.

Mahmoud, A. F., and Abdalla, O. A. (2021). Biological control of fungi associated with damping-off and root rot disease of

cucumber (*Cucumis sativus* L.). Archives of Phytopathology and Plant Protection, 54(13-14), 870-885.

Manganiello, G., Sacco, A., Ercolano, M. R., Vinale, F., Lanzuise S., Pascale, A., ... and Woo, S. L. (2018). Modulation of tomato response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metaboli harzianic acid. Frontiers in microbiology , 9, 1966 .

Maral-Gül, D., and Eltem, R. (2024). Evaluation of Bacillus isolates as a biological control agents against soilborne phytopathogenic fungi. International Microbiology, 1-15.

Mark, W. A., and Channya, K. F. (2016). Control of Colletotrichum capsici (pathogen of brown blotch of cowpea in the savanna) using garlic oil. International Journal of Research, 22.

Marquez, N., Giachero, M. L., Declerck, S., and Ducasse, D. A. (2021). *Macrophomina phaseolina*: General characteristics of pathogenicity and methods of control. Frontiers in Plant Science, 12, 634397.

Martin, K. J., and Rygiewicz, P. T. (2005). Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. BMC microbiology, 5, 1-11.

Martyn, R. D., and Hartz, T. K. (1986). Use of soil solarization to control Fusarium wilt of watermelon. Plant Dis. 70,762-766.

Mat Razali, N., Hisham, S. N., Kumar, I. S., Shukla, R. N., Lee, M., Abu Bakar, M. F., and Nadarajah, K. (2021). Comparative genomics:insights on the pathogenicity and lifestyle of

Rhizoctonia solani. International journal of molecular sciences, 22(4), 2183.

Matloob, A. A. (2019). Efficiency of some biological control agents and plant extracts against *Fusarium solani* causing agent of damping off disease on tomato. Plant Arch, 19(2), 937-42.

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. 145-141-45.

Miguel-Ferrer, L., Romero-Arenas, O., Andrade-Hoyos, P., Sánchez-Morales, P., Rivera-Tapia, J. A., and Fernández-Pavía, S. P. (2021). Antifungal activit *Trichoderma harzianum* and T. koningiopsis against *Fusarium solani* in seed ger vigor of Miahuateco chili seedlings. Revista mexicana de fitopatología, 39(2), 228-247.

Mckinney, H. H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. journal of agricultural research.26-pp.195.

Moradian, Z., Rahdan, A., and Bazmakani, R. (2024). Germination Responses and Phenolic Compounds of Securiger securidaca L. Seeds under Drought and Salinity Stress Conditions. Agrotechniques in Industrial Crops

Mohammed, A. A. (2024). Effct of Humic acid on growth and yield of cucurbits: a review article. Iraq journal of agricultural research, 28(1).

Mukanga, M; J Derera; P Tongoona and Laing, M.D.(2010). A survey of preharvest ear rot diseases of maize an associated mycotoxins in south and central Zambia. Int. J. Food Microbiol. , (141):213–221.

Namasivayam, S.; Shunmugaraj, M.; bharani, R.; and Francis A. (2014). Evaluation of phytotoxicity of effective microorganism (em) treated distillery industry effluent. biosciences biotechnology research asia, vol. 11(2),p587-59.

Nardi, S., Schiavon, M., and Francioso, O. (2021). Chemical structure and biological activity of humic substances define their role as plant growth promoters. Molecules, 26(8), 2256.

Nicolau, M. C. M., Checchio, M. V., de Moura Gonçalves, F. C., Souza, L. A., Gratão, P. L., de Oliveira Cantão, F. R., and Carvalho, R. F. (2024). Interaction of the Selenium and Silicon with Hormones in Drought Stress Response. In Metals and Metalloids in Plant Signaling. pp. 215-240.

Niu, B., Wang, W., Yuan, Z., Sederoff, R. R., Sederoff, H., Chiang, V. L., and Borriss, R. (2020). Microbial interactions within multiple-strain biological control agents impact soil-borne plant disease. Frontiers in Microbiology, 11, 585404.

Nnadi, N. E., and Carter, D. A. (2021). Climate change and the emergence of fungal pathogens. PLoS pathogens, 17(4), e1009503..

Okpani, F., Orji, K., and Umekwe, P (2023). A review on the benefits, techniques, constraints and solutions to cucumber production in southeastern Nigeria. Nigerian Journal of Scientific Research, 22: 183-189.

Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., and Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 33, 1-16.

Olle, M. (2021). The Influence of Effective Microorganisms on the Growth and Nutrient Content of Tomato Transplant In Biol. Life Sci. Forum (Vol. 1). s Note: MDPI stays neu- tral with regard to jurisdictional claims in published maps and insti- tutional affiliations.

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, 105204.

Pankievicz, V.C.S.; Irving, T.B.; Maia, L.G.S. and Ané, J.(2017). Are we there yet? The long walk towards the development of efficient symbiotic associations between nitrogen-fixing bacteria and non- leguminous crops. BMC Biol., 17, 99.

Papi, N., Kafilzadeh, F., and Fazaeli, H. (2019). Use of Jerus alemarticho keaerial partsas forage in fat-tailed sheep diet. Small Ruminant Research, 174, 1-6.

Paul, E. A. (2016). The nature and dynamics of soil organic matter: Plant inputs, microbial transformations, and organic matter stabilization. Soil Biology and Biochemistry, 98, 109-126.

Pavl ˚u, J.; Novák, J.; Koukalová, V.; Luklová, M.; Brzobohatý, B. and Cern ˇ ý, M.(2018). Cytokinin at the crossroads of abiotic stress signaling Pathways. Int. J.Mol. Sci., 19, 2450.

Pham, D., Sivalingam, V., Tang, H. M., Montgomery, J. M., Chen, S. C. A., and Halliday, C. L. (2024). Molecular Diagnostics for Invasive Fungal Diseases: Current and Future Approaches. Journal of Fungi, 10(7), 447.

Phani, V., Khan, M. R., and Dutta, T. K. (2021). Plant-parasitic nematodes as a potential threat to protecte agriculture: Current status and management options. Crop Protection, 144, 105573.

Pinzari, F., Ceci, A., Abu-Samra, N., Canfora, L., Maggi, O., and Persiani, A. (2016). Phenotype MicroArray™ system in the study of fungal functional diversity and catabolic versatility. Research in microbiology, 167(9-10), 710-722.

Prabhukarthikeyan, S. R., Parameswaran, C., Sawant, S. B., Naveenkumar, R., Mahanty,A., Keerthana U.,. and Rath, P. C. (2022). Comparative Proteomic Analysis of *Rhizoctonia solani* Isolates Identifies the Differentially Expressed Proteins with Roles in Virulence. Journal of Fungi, 8(4), 370.

Prisa, D. (2019). Improvement quality and content of pepper and chilli nitrates influenced by the effectivemicroorganisms.American

Academic Scientifi Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences, 53(1), 176-181.

Rahman, M. Z., Ahmad, K., Bashir Kutawa, A., Siddiqui, Y., Saad,N., Geok Hun, T., and Hossain, M. I.(2021). Biology, diversity, detection and management of *Fusarium oxysporum* f. sp. Niveum causing vascular wilt disease of watermelon (Citrullus lanatus): a Review. Agronomy. 11(7), 1310.

Rao, Y., Zeng, L., Jiang, H., Mei, L., and Wang, Y. (2022). *Trichodermaa trovirideLZ*42release volatileorganic compounds promoting plant growth and suppressing *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings. BMC microbiology, 22(1), 1-12.

Richardson, M. D., and Warnock, D. W. (2012). Fungal infection: diagnosis and management. John Wiley & Sons.

Rasheed,S.M.,Ahmed,J.M.,din,o.M.,and fareeq,S.R.(2020).effect of Humic acid and Em1 fertilizers on growth and yield of two cucumber cultivars (cucumis sativsl.) under plastic humic conditions .Journal of duhok University ,23(2),78-89.

Ronak Aboutalebi, Alireza Dalili, Siavash R ayatpanah and Abasali Andarkhor.(2014). Evaluation of Sunflower Genotypes Against Charcoal Rots Disease In vitro and In vivo Condition. World Applied Sciences Journal 31 (4): 649-653.

Safaa, A. Y., El-Metwally, M. M., Gabr, S. A., and Al-Ghadir, A. H. (2013). New strategy for managing damping-off and root rot disease of cucumber caused by *Rhizoctonia solani* by seed soaking in formula of antioxidant with micronutrients. J Plant Pathol Microb, 4(9), 1-5.

Salek M., H., Hatami, A., Hazbei Pour, S., Zarea, M. J. and Nourollahi, K. .2018. Evaluation of antifungal activity of cinnamon essential oil on control of *Fusarium solani* fungi under in-vitro and in-vivo condition, Journal of Novel Researches on Plant Protection, 921:147-162

Sangeetha, M., and Singaram, P. (2020). Role of Humic Acid in Enhancing Plant Growth and Resistance Against Diseases. Agricultural Research Journal, 57(3), 234-242.

Sardar, M., Behdani, M. A., Eslami, S. V., and Zamani, G. H. R.(2024). The effect of manure and humic acid fertilizer on ions concentrations in cotton. Gossypim hirsutum, 491-505.

Sarkar, M., Upreti, R., and Kumar, S. (2022). Current Status of Tomato (Solanum Lycopersicum L.) Diseases and Their Management. Diseases of Horticultural Crops (pp. 465-521). Apple Academic Press.

Seenivasagan, R. and Babalola, O,O. (2021). Utilization microbialconsortia as biofertilizers and biopesticides for the production of feas agricultural product. Biology,10:111.

Senapati, M.Tiwari, A. Sharma,N. Chandra, P. Bashyal, B.M. Ellur, R, K. Bhowmick, P, K. Bollinedi, H.Vinod, K.K Singh, A,K. and Krishnan, G,S. (2022). *Rhizoctonia solani* Kühn Pathophysiology: Status and Prospects of Sheath Blight Disease Management in Rice. Frontiers in plant science.13.

Sharma, V., Sharma, L., and Sandhu, K. S. (2020). Cucumber (*Cucumis sativus* L.). Antioxidants in vegetables and nuts-Properties and health benefits, 333-340.

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), 682.

Simsek-Ersahin, Y. (2015). Suggested Mechanisms Involved in Suppression of *Fusarium* by Vermicompost Products. In Organic Amendments and Soil Suppressiveness in Plant Disease Management (pp. 331-351). Cham: Springer International Publishing.

Singh, H. B., Singh, A., Sarma, B. K.and Upadhyay, D. N. (2014). *Trichoderma viride* 2% WP (Strain No. BHU-2953) formulation suppresses tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* F. Sp. Lycopersici and chilli damping-off caused by *Pythium aphanidermatum* effectively under different agroclimatic conditions. International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology. 7(2), 313-320.

Singh, P. K., and Kumar, V. .(2014). *Fusarium* wilt of chrysanthemum- problems and prospects. PlantPathology Quarantine. 4(1), 33-42.

Singh, R. S. (1978). Introduction to principles of plant pathology. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi. pp. 390.

Singh, V. K., Singh, A. K., and Kumar, A. (2017). Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. 3 Biotech, 7(4), 1-10.

Siqueira, M.F.B.; Sudré, C.P.; Almeida, L.H.; Pegorerl, A.P.RandAkiba,F.(2020). Influence of Effective Microorganismson Seed Germination and Plantlet Vigor of Selected Crops. 2012.

Stevenson, A. C. (1945). Complex potentials in two-dimensional elasticity. Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences, 184(997), 129-179.

Sulaiman, M. A., and Bello, S. K. (2024). Biological control of soil-borne pathogens in arid lands: A review. Journal of Plant Diseases and Protection, 131(2), 293-313.

Sopheak, T. I. T. H., Tith, S., and Duangkaew, P. (2021). the influence of vermicompost on growth, yields, and disease occurances of cucumbr plant Cucumis sativus L.) in the greenhouse conditIon (doctoral dissertation, Silpakorn(University).

Summerell , B . A . and Leslie , J. F. (2006). The *Fusarium* Laborator manual. pp. 388.

Summerell, B. A., Leslie, J. F., Liew, E. C., Laurence, M. H., Bullock, S., Petrovic, T., ... and Burgess, L. W. (2011). *Fusarium* species associated with plants in Australia. Fungal Diversity, 46, 1-27.

Summerell, B. A., Salleh, B. and Leslie, J. F.(2003). A utilitarian approach to *Fusarium identification*. Plant Disease, 87: 117-128.

Thanoon, A., and Abd Al-Qader, Z. A. (2024). Effect of Bio Control Agents on Controlling Root Rot and Damping-off Disease of Cucumber Seedlings Caused by *Rhizoctonia solani*. NTU Journal of Agriculture and Veterinary Science, 42.

Van der Putten, W. H., Bardgett, R. D., Bever, J. D., Bezemer, T. M., Casper, B. B., Fukami, T., ... and Wardle, D. A. (2013). Plant–soil feedbacks: the past, the present and future challenges. Journal of Ecology, 101(2), 265-276.

Van Lenteren, J. C., Alomar, O., Ravensberg, W. J., and Urbaneja, A. (2020). Biological control agents for control of pests in greenhouses. Integrated pest and disease management in greenhouse crops, 409-439.

Weinmann, M., Bradáčová, K., and Nikolic, M. (2023). Relationship between mineral nutrition, plant diseases, and pests. In Marschner's Mineral Nutrition of Plants (pp. 445-476). Academic Press..

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.

Yang, F., and Antonietti, M. (2020). Artificial humic acids: sustainable materials against climate change. Advanced Science, 7(5), 1902992.

Youseif, S. H. (2018). Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria and their effects on the growth of maize plants under greenhouse conditions. Annals of Agricultural Sciences, 63(1), 25- 35.

Yu, H., Hwang, S. F., and Strelkov, S. E. (2024). The Host Range of *Fusarium proliferatum* in Western Canada. Pathogens, 13(5), 407.

Zanne, A. E., Abarenkov, K., Afkhami, M. E., AguilarTrigueros, C. A., Bates, S., Bhatnagar, J. M., ... and Treseder, K. K. (2020). Fungal functional ecology: bringing a traitbased approach to plant- associated fungi. Biological Reviews, 95(2), 409-433.

Zeng, Q., Wang, X., Liu, X., Huang, L., Hu, J., Chu, R., ... Dong, H. (2020). Mutual interactions between reduced Fe-bearing clay minerals and humic acids under dark, oxygenated conditions: hydroxyl radical generation and humic acid transformation. Environmental science & technology, 54(23), 15013-15023.

Zhang, Y., Li, S., Li, H., Wang, R., Zhang, K. Q., and Xu, J. (2020). Fungi–nematode interactions: Diversity, ecology, and biocontrol prospects in agriculture. Journal of Fungi, 6(4), 206.

Zhao, S., Du, C. M., and Tian, C. Y. (2012). Suppression of *Fusarioxysporum* and induced resistance of plants involved in the biocontrol of Cucumber *Fusarium* Wilt by Streptomyces bikiniensis HD-087. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28, 2919-2927.

Zin, N. A., 'Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences, 65(2), 168-178.

7: الملاحق

الشكل 10: مراحل تنفيذ التجربة الحقلية في البيت البلاستيكي

أ- تحضير الاطباق

ب- معاملة السيطرة

ت- فطر *Macrophomina phaseolina*

ث- فطر *Fusarium proliferatum*

ج- فطر *Aspergillus sp.*

ح- فطر *Rhizoctonia solani*

شكل (11) يمثل صور المختبرية

أ- مرحلة الانبات

ب- تجربة الامراضية في السنادين

ت- النباتات في البيت البلاستيكي

ج- النبات في مرحلة التزهير

ث- النبات في مرحلة الاثمار

شكل (12) صور تمثل مراحل نمو النبات في التجربة الحقلية

أ- جذر نباتى مصاب

ب- مراحل إصابة النبات

شكل (13) صور تمثل مقارنة بين جذور نبات الخيار المصابة والسليمة

Abstract

The study aimed to control cucumber root rot disease .using vermicompost, effective microorganisms (EM1), and humic acid under field conditions. The results of the field survey confirmed the spread of cucumber root rot disease in the surveyed areas, with an infection rate ranging from 0.48% to 23.46% and a severity rate between 28% and 38%.Several fungal species associated with root rot disease were isolated and identified, with Fusarium spp. being the most frequently occurring pathogenic fungus, followed by Rhizoctonia solani and Macrophomina phaseolina. The results showed that all tested isolates of Fusarium spp. were pathogenic, leading to a significant reduction in the germination percentage of cucumber seeds compared to the control treatment. The results also demonstrated the ability of the EM1 microorganism preparation to inhibit the growth of the pathogenic fungus Fusarium proliferatum on PDA medium, with the highest inhibitory effect observed at concentrations of 5%, 10%, and 15%, where the inhibition percentage reached 100%. The results of the field experiment showed that all tested treatments led to a reduction in disease severity to varying degrees. The treatment combining all control factors (EM1 + Vermicompost + Humic acid) recorded the highest inhibition of cucumber root rot disease severity, reaching 6.66% compared to the pathogen-only treatment, which had a severity of 77.77%. This combined treatment effectively controlled the pathogen and significantly limited the spread of the infection. The treatment combining the bioproduct and vermicompost ranked second in reducing disease severity, achieving 13.33%. This was followed by the treatments combining the bioproduct with humic acid and vermicompost with humic acid, with disease severity rates of 22.22% and 26.66%, respectively. The

bioproduct treatment outperformed the other single treatments, reducing disease severity to 46.66% compared to the pathogen-only treatment, which had a severity of 77.77%.

Integration treatments by adding the (EM1 + Vermicompost + Humic acid) to field soil not contaminated with pathogenic fungal inoculum also contributed to achieving a noticeable increase in the studied growth indicators of cucumber plants, namely height and fresh and dry weight. And the total return. The plant was 175.67 cm tall and had a fresh and dry weight of 2.753 kg (680.33). The total yield was 9.99 kg compared to the control treatment, as the plant height was 149.67 cm, the fresh weight was 1,760 kg, the dry weight was 440.00 g, and the total yield was 6.55. This indicates the efficiency of the (EM1 + Vermicompost + Humic acid) in stimulating systemic resistance in plants and increasing growth parameters.

Kerbala University of
College of Agriculture
Plant Protection

Molecular characterization of some fungiCauses of cucumber root rotand their control using environmentally friendly agentsIn the holy Karbala province

A Thesis submitted to the Council of the collge of Agriculture / Kerbala University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master Degree Sciences in Agriculture Plant Protection

By
Duha Ayed Abd Hazaa Al Masoudi

Supervised by
Prof. Dr. Abdal Zahra Jabbar Al Muhammadawi

1446 A.H **2024 A.D**