جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ميسان – كلية العلوم

قسم علوم الحياة

تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والمبيد Beltanol ضد الفطريات المسببه لتعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء (*Vicia faba* L.)

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية العلوم ـ جامعة ميسان، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من الطالبة

آسيا نعمة كاظم

بكالوريوس علوم الحياة 2021

بإشراف

أ.د.علي عبد الواحد قاسم

أ.د. غسان مهدي داغر

شعبان 1446هـ

شباط 2025م

بسم الله الرحمن الرحيم

(قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ)

صدق الله العلي العظيم

سورة البقرة / الاية 32

توصية الأستاذ المشرف

إقر ان إتمام هذا الرسالة المقدمة من قبل الطالبة آسيا نعمة كاظم اجري تحت إشرافي في قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة ميسان كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

اسم المشرف: علي عبدالواحد قاسم

اللقب العلمي:

التوقيع:

التاريخ:

اسم المشرف: غسان مهدي راغر

اللقب العلمي:

التوقيع:

التاريخ:

توصيات رئيس القسم

بناء على التوصيات المقدمة من قبل الأستاذ المشرف أحيل هذه الرسالة إلى لجان المناقشة لدراستها وبيان الراي فيها

اسم رئيس القسم

اللقب العلمي:

التاريخ:

التوقيع:

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعون في أدناه، نشهد أننا قرأنا رسالة الماجستير الموسومة (تقييم كفاءة بعض العوامل الاحيائية والمبيد Beltanol ضد الفطريات المسببه لتعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء *Vicia faba* L.) والتي تقدمت بها الطالبة (آسيا نعمة كاظم) وهي من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة (الفطريات) وبعد أجراء المناقشة وجدت اللجنة أن الرسالة جديرة لنيل الشهادة المذكورة وبتقدير (امتياز)

مصادقة عمادة الكلية

بناءا على الصلاحيات المخولة لنا نصادق على ما جاء في قرار لجنة المناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د تحسين صدام فندي

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

التاريخ: / /2025

الإهداء

إلى رب النور العظيم من أرجو أن يكون علمي وعملي خالص لوجه

الله جل جلالة

إلى معلم الإنسانية سيد المرسلين الحبيب المصطفى (ص)

إلى والدي و والدتي حفظهما الله

إلى سندي في الحياة ... إخوتي واخواتي

إلى كل من تعلمت على أيديهم وساهموا في وصولي إلى هذه المرحلة

اهدي جهدي المتواضع هذا

الباحثة

الشكر والتقدير

الحمدلله رب العالمين والصلاة على محمد وعلى أل بيته الطيبين الطاهرين. الشكر لله عز وجل الذي أنار لي الدرب وفتح لي أبواب العلم وأمدّني بالصبر والإرادة لإتمام هذه الرسالة حمداً طيباً مباركاً يليق بجلاله ومن باب قول المصطفى (ص) (لا يشكر الله من لا يشكر الناس).

لذلك يسرني ويشرفني أن أتقدم ببالغ الشكر والامتنان إلى مشرفيني الافاضل الدكتور علي عبد الواحد قاسم والدكتور غسان مهدي داغر لاقتراحهم موضوع الرسالة ولما قدموه من توجيهات علمية سديدة وافكار متميزة كان لها الأثر البالغ في إظهار رسالتي بالشكل المطلوب.

وأتقدم بالشكر والتقدير إلى عمادة كلية العلوم لما قدمته من تسهيلات لطلبة الدراسات العليا، ووافر الشكر والتقدير إلى رئاسة قسم علوم الحياة وعلى رأسها الدكتور ميثم عبد الكاظم ودكتور صالح حسن جازع وإلى جميع أساتذة ومدرسي وموظفي القسم.

وان من دواعي الفخر والسرور أن اقدم شكري وتقديري الي من ساندني طيلة فتره دراستي زميلاتي في الدراسات العليا واخصص بالشكر ست يقين علي مطشر وزميلاتي حوراء خلف عبود وزهراء علي فنجان وفرح كاظم علوان .

وأخيراً أقدم شكري وامتناني لكل أفراد أسرتي وكل من ساهم ولو بكلمة طيبة لإتمام هذا العمل المتواضع.

الخلاصة

أجريت الدراسة في مختبر الفطريات / كلية العلوم جامعة ميسان حيث تضمنت الدراسة عزل الفطريات من جذور وقواعد سيقان نبات الباقلاء المصابة بمرض تعفن الجذور قواعد السيقان في محافظة ميسان، وتم تشخيص الفطريات مظهرياً وجزئياً. وتم اختبار قدرتها الأمراضية على الوسط الزراعي الصلب (PDA) وفي الأصص البلاستيكية. فضلا عن تقييم فعالية بعض العوامل الكيميائيه والإحيائية والتكامل بينهما في مكافحة الفطريات المعزولة.

تم خلال هذا الدراسة جمع 50 عينة من قواعد السيقان وجذور النباتات المصابة من ثلاثة مناطق في محافظة ميسان هي مركز العمارة والمشرح وكميت، حيث تم عزل وتشخيص 227 عزلة (106عزلة من الأجزاء الغير معقمة و121عزلة من الاجزاء المعقمة). وكان توزيع العينات على النحو التالي 110 عزلة من مركز العمارة والمشرح 78 عزلة وكميت 39 عزلة.

بينت نتائج الدراسة أن الفطر *Rhizoctonia solani* هو أكثر الفطريات ظهوراً وترددا إذ بلغت 86٪ و18.94% على التوالي، تلاه الفطر *Fusarium solani* (نسبة الظهور 82% وتردد 18.06%) ثم الفطر *F.oxysporum* (56% و 12.33% التوالي). بينما أظهر الفطر *Altenaria alternate* وشبه الفطر *Pythium ultimum* اقل نسبة ظهور وتردد مقارنة ببقية الفطريات إذ بلغت 6% و1.32% على التوالي لكليهما.

كما شخصت خلال هذه الدراسة خمسة أنواع من الفطريات لأول مره كمسببات مرضية لمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان في نبات الباقلاء هي *Corynascus sepedonium* و*Mucor circinelloid* و*Myrothecium inundatum* و *Ovatospora pseudomollicella* و*Rhizopus homollicus* .

بينت نتائج الفعالية الانزيمية أن هناك تباينا في قابلية الفطريات الممرضة في افراز الانزيمات، حيث تم اختبار قابلية 6 أنواع فطريات الممرضة والمعزولة خلال الدراسة وذلك بقياس قابليتها على انتاج انزيم السليليز cellulose والبكتنيز pectinase والبروتيز protease ، وبينت النتائج الى قابلية الفطرين *R.solani* و *Macrophomina*

phaseolina على افرازجميع الإنزيمات المدروسة بينهما لوحظ ان الفطرين *F.solani* و *F.oxyosporum* لم يعطي كشفا موجب الإنزيم البكتنيز، وعند الكشف عن تلك الإنزيمات وقياس الفعالية الانزيمية للفطريات المعرضة اظهر الفطر *F.solani* اعلى نشاط إنزيمي للسليليز إذ بلغ 75ملم ، بينما اعطى الفطر *R.solani* اقل نشاط إنزيمي بلغ 25 ملم ، أما إنزيم protease فقد أعطى الفطرين *Aspergillus flaves* و*R.solani* اعلى فعالية انزيمية اذ بلغت 80 ملم لكل منهما ، في حين اظهر الفطرين *F.solani* و *M.phaseolina* اقل نشاط انزيمي اذ بلغ 70.5 ملم لكل منهما، اما انزيم pectinase فقد أعطى الفطر *M.phaseolina* اعلى نشاط انزيمي اذ بلغ 40.5 ملم بينما لوحظ ان الفطرين *F.solani* و *F.oxysporum* لم تعطي كشفا موجبا لهذا الانزيم .

أظهرت نتائج التضاد الفطري بين عامل المقاومة الأحيائية *Trichoderma longibrachiatum* والفطريات الممرضة إلى قدرة الفطر الإحيائي *T. longibrachiatum* على تثبيط الفطريات الممرضة إذ بلغت درجة التضادية 1 حسب مقياس Bell ضد الفطريات *R. solani* و *F. solani* و*F.oxyosporum* ودرجة 2 ضد الأنواع *Macrophomina phaseolina* و*A. flaves* و*A. niger* .

أظهرت نتائج اختبار كفاءة للمبيد البلتانول قدرته على تثبيط نمو الفطريات الممرضة المعزولة من جذور وقواعد السيقان نبات الباقلاء على الوسط الزرعي PDA باستخدام التركيز الموصى بها (1مل/لتر) إذ بلغ معدل التثبيط 100% لجميع الفطريات الممرضة.

بينت خلال هذا الدراسة كفاءة عاملي المكافحة الاحيائية *T. longibrachiatum* والبكتيريا *P.fluorescence* والمبيد بلتانول والتكامل بينهما في مكافحة الفطريات الممرضة في الاصص البلاستيكية حيث وجد ان جميع المعاملات الإحيائية والكيميائية المستخدمة ادت الى خفض النسبة المئوية للإصابة وشدة الإصابة الناتجة من الفطرين *F. solani* و *R. solani* عند مقارنتها بمعاملة الفطرين بمفردهما حيث بلغت نسبة الإصابة وشدتها للفطر *R. solani* هي 91.6% و83.3% على التوالي، اما فطر *F. solani* فقد بلغت نسبة الاصابة وشدتها 83.3% و91.6% على التوالي. تفوقت معاملة *T. longibrachiatum* مع الفطريات الممرضة فقد خفضت نسبة الإصابة وشدتها إلى 0% لكلا الفطرين، تلته معاملة بكتيريا *P. fluorescence* فقد عملت على خفض نسبة الإصابة

وشدتها إلى 0% عند معاملتها مع فطر *F. solani* بينما بلغت نسبة وشدة الإصابة 8.3 و2.08 على التوالي عند معاملتها مع فطر *R. solani* ، بينما كان المبيد الكيميائي اقل كفاءة من بين المعاملات حيث حفض نسبة المئوية الإصابة وشدة الإصابة 25% و 12.5% عند معاملتها مع الفطر الممرض *F.solani* .

قائمة المحتويات

List of Contents

التسلسل	العنوان	الصفحه
	الفصل الاول : المقدمة	
1-1	المقدمة Introduction	1
2-1	الهدف من الدراسة	
	الفصل الثاني : استعراض المراجع	
1-2	الفطريات الممرضة للنبات	5
2-2	الفعالية الانزيمية للفطريات	8
2-3	نبات الباقلاء *Vicia fabae* L.	9
4-2	الأهمية الاقتصادية لمسببات امراض تعفن الجذور	11
1-4-2	الفطر *Rhizoctonia solani*	13
2-4-2	الفطر *Fusarium solani*	15
5-2	استخدام تقانة polymer Chain Reaction (PCR) في تشخيص الفطريات	17
6-2	مكافحة المسببات الامراضية	18
1-6-2	المكافحة الاحيائية	18
1-1-6-2	المكافحة الحيوية باستخدام الفطر الاحيائي *Trichoderma* spp.	19
2-1-6-2	المكافحة الاحيائية باستخدام بكتيريا *Pseudomonas fluorescence*	21
7-2	المكافحة الكيميائية	23
8-2	المكافحة المتكاملة	24
	الفصل الثالث : المواد والطرق	
1-3	الأجهزة والمعدات والمواد المستخدمة Equipment and Instruments	26
2-3	الأوساط الزرعية المستعملة في الدراسة	27

1-2-3	وسط أكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose agar (PDA)	27
2-2-3	وسط الاكار المائي Water Ager (WA)	27
3-2-3	وسط Nutrient Agar (NA) مع Gelatin	27
4-2-3	وسط الكشف عن انزيم السليليز Cellulase	28
5-2-3	وسط الكشف عن انزيم Pectinase	28
3-3	تحضير الكواشف	29
1-3-3	كاشف اليود_حامض الهيدروكلوريك HCl	29
2-3-3	كاشف أنزيم البكتنيز Pectinases	29
4-3	جمع العينات النباتية	30
5-3	عزل الفطريات من العينات النباتية	30
6-3	تشخيص الفطريات الممرضة	31
1-6-3	التشخيص المظهري	31
2-6-3	التشخيص الجزيئي	31
1-2-6-3	استخلاص DNA من الفطريات المعزولة	31
2-2-6-3	الترحيل الكهربائي للـ DNA لناتج PCR	32
7-3	تحضير اللقاح الفطري للفطريات الممرضة وعاملي المقاومة الإحيائية	33
1-7-3	تحضير اللقاح الفطري للفطرين *Rizoctonia solani* و *Fusarium solani* وعامل المقاومة الاحيائي *Trichoderma longibrachiatum*	33
2-7-3	تحضير لقاح العامل الاحيائي *Pseudomonas fluorescence*	34
8-3	اختبار القدرة الامراضية للفطريات الممرضة	34

1-8-3	اختبار القدرة الامراضية للفطريات الممرضة في الاطباق	34
2-8-3	اختبار القدرة الأمراضية للفطريات الممرضة في الأصص	35
9-3	قياس الفعالية الانزيمية للفطريات مختبريا	36
1-9-3	فعالية انزيم protease activity	36
2-9-3	فعالية إنزيم السليليز Cellulase activity	36
3-9-3	فعالية انزيم pectinase activity	36
10-3	تقييم كفاءة عامل المقاومة الحيوية *T.longibrachiatum* والمبيد Beltanol على نمو الفطريات الممرضة في وسط PDA	37
1-10-3	أختبار الكفاءة التضادية لعامل المقاومة الاحيائية *T.longibrachiatum*	37
2-10-3	اختبار الكفاءة التثبيطية للمبيد الفطري Beltanol في نمو بعض الفطريات الممرضة	38
11-3	اختبار كفاءة عاملي المقاومة الأحيائية *Trichoderma longibrachiatum* و*Pseudomonas fluorescens* والمبيد الفطري Beltanol والتكامل بينهما في مكافحة الفطرين *R.solani* و *F.solani* المسببه لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء في الاصص	39
الفصل الرابع : النتائج والمناقشة		
1-4	الوصف المظهري للفطريات	41
2-4	الدراسة المسحية للفطريات	47
3-4	التشخيص الجزيئي للفطريات الممرضة	52
4-4	اختبار القدرة الأمراضية للفطريات الممرضة في الاطباق	63
5-4	اختبار القدرة الامراضية للفطريات الممرضة في الاصص البلاستيكية	64

6-4	اختبار الفعالية الانزيمية للفطريات الممرضة	64
7-4	اختبار التضادية بين عامل المقاومة الإحيائية *T. longibrachiatum* ضد الفطريات الممرضة في الاطباق	70
8-4	اختبار الكفاءة التثبيطية للمبيد الفطري Beltanol ضد الفطريات الممرضة	73
9-4	اختبار كفاءة عاملي المقاومة الاحيائية *T. longibrachiatum* والمبيد Beltanol والتكامل بينهما في مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء في الاصص البلاستيكية	75
	الاستنتاجات	79
	التوصيات	80
	المصادر العربية والانكليزية	81

قائمة الجدول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1-3	جميع الأجهزة والمواد المختبرية المستخدمة	26
2-3	مكونات وسط الكشف عن انزيم السليليز	29
3-3	مكونات وسط الكشف عن انزيم Pectinase	29
3-4	مكونات المواد المستخدمة في تضخيم DNA	31
3-5	تتابع القواعد النتروجينية باستخدام بادئات ITS1 وITS4	32
3-6	برنامج تضخيم الPCR للبادئات ITS1 وITS4	32
3-7	الفطريات الممرضة المستعملة في التجارب	37
3-8	الأنواع الفطرية المعزولة من قواعد السيقان وجذور نبات الباقلاء من ثلاث مناطق في محافظة ميسان	51
3-9	أسماء الفطريات التي تم تشخيصها جزيئيا	52
3-10	الفعالية الأنزيمية وأقطار المستعمرات (ملم) للفطريات المعزولة خلال الدراسة	65
3-11	تقييم كفاءة العوامل الإحيائية والكيميائية والتكامل بينهما في مكافحة الفطريات المسببه لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء في الاصص البلاستيكية.	78

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
1	لفطر *Alternaria Alternate*	41
2	الفطر *F.solani*	42
3	فطر *M.phaseolina*	43
4	فطر *M.circinelloides*	44
5	الفطر *Myrothecium inundatum*	45
6	الفطر *R.solani*	46
7	فطر *R.homollicus*	47
8	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Corynascus sepedonium*	55
9	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Fusarium oxysporum*	56
10	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Fusarium solani*	57
11	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Macrophomina phaseolina*	58
12	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Mucor fragilis*	59

13	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Myrothecium inundatum*	60
14	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Ovatospora pseudomollicella*	61
15	شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Rhizoctonia solani*	62
16	اختبار القدرة الأمراضية للفطرين *F.solani* و*R.solani* على وسط water Agar	63
17	اختبار القدرة الأمراضية للفطرين *F.solani* و*R.solani* على وسط water Agar	63
18	قابلية افراز انزيم Cellulase بواسطة بعض الفطريات الممرضة	66
19	قابلية افراز انزيم protease بواسطة بعض الفطريات الممرضة	67

الفصل الأول

Chapter One

المقدمة

Introduction

1-المقدمة Introduction

تعد الفطريات كائنات حية حقيقية النواة تنتشر على نطاق واسع في البيئة وتتعايش مع الكثير من الكائنات الحية الأخرى حيث يوجد ما يقارب 80% من الفطريات تتعايش مع النباتات، تلعب الفطريات أدوارا مهما في الكثير من المجالات لكنها في ظروف معينة يمكن ان تؤذي مضيفها (Corbu وآخرون، 2023)

وطورت الفطريات استراتيجيات كثيرة لاستعمار النباتات والتي تؤدي الى مجموعة من النتائج التي تتراوح من علاقات المفيدة إلى علاقات ضارة قد تؤدي الى موت المضيف (Doehlemann وآخرون، 2017) وتسبب الفطريات الممرضة للنبات التي تهاجم المحاصيل والخضروات والفاكهة الكثير من الامراض التي تؤدي الى اضرار كبيرة في إنتاجية وجودة المحاصيل وتعتبر مسببات الامراض الفطرية احدى العقبات الرئيسية امام إنتاج الغذاء الصحي (Spanu وآخرون، 2010).

أن الفطريات الممرضة للنباتات والتي تنتقل عن طريق التربة هي المسؤولة عن عدد كبير من الامراض التي تصيب المحاصيل ذات الأهمية الاقتصادية مثل امراض الذبول وسقوط البادرات وتعفن الجذور قواعد السيقان كذلك تعفن البذور مسببة خسائر كبيرة (Katan، 2017) كذلك تعتبر الفطريات المنقولة عن طريق البذور بمثابة مصدر رئيسي لانتشار الأمراض الفطرية ولها أهمية وبائية (Neme وآخرون، 2023).

هناك العديد من العوامل التي تجعل هذه الفطريات التي تنتمي إلى شعبتي الفطريات الكيسية Ascomycota والبازيدية Basidomycota التي تتصرف كمسببات للأمراض التي تنتقل عن طريق التربة من هذا العوامل بقاءها لفترات طويلة من الوقت في التربة عن طريق إنتاج الابواغ المقاومة او غيرها من التراكيب التكاثرية (Coque وآخرون، 2020).

يعتبر نبات الباقلاء *Vicia fabae* من المحاصيل الغذائية المهمة اقتصاديا في جميع انحاء العالم (long، 2022)لاحتوائه على نسبة عالية من البروتين وغنية بالكاربوهيدرات والفيتامينات كذلك المركبات الغذائية فضلا عن احتوائها على عدد من العناصر النشطة بيولوجيا (Etemadi واخرون، 2019) إضافة الى استخدامها كمصدر غذائي مهم لاستهلاك البشري تستخدم البذور الجافة كعلف للحيوانات (Karkanis وآخرون، 2018).

تنتشر زراعة الباقلاء في عدد من دول الشرق وشمال افريقيا وبعض الدول الاسيوية ومنها العراق (Etemadi وآخرون، 2019). ويعتبر الباقلاء من أقدم المحاصيل المنتشرة في اثيوبيا إذ تزرع في مساحات واسعة فيها وتعتبر ثاني أكبر بلد منتج بعد الصين تبلغ المساحة الكلية

المزروعة في العالم بحوالي 2671497 هكتار ويبلغ المعدل العالمي للإنتاج 5669185 طن (FAO، 2020) بينما بلغت المساحة المزروعة في العراق 24703 دونم بمعدل انتاج 1824 كغم/دونم (الجهاز المركزي للإحصاء، 2020).

على الرغم من زراعته الواسعة وأهميته الاقتصادية فإن إنتاجية هذا المحصول منخفضة جدا بسبب العوامل ال احيائية Biotic وللإحيائية Abiotic (Temesgen وآخرون، 2015) وتعتبر الامراض الفطرية من اهم العوامل الحيوية التي تحد من انتاج الباقلاء في معظم بلدان العالم من ضمنها العراق مسببا خسائر اقتصادية كذلك يمكن العوامل اللإحيائية ان تساهم في تطور مرض الجذور مثل مكونات التربة والرطوبة ودرجة الحرارة (Malvick، 2018)

يعد مرض تعفن الجذور Root Rotting من العوائق الرئيسية أمام الزراعة العالمية والذي يؤدي إلى انخفاض إنتاج المحاصيل، ويحدث مرض تعفن الجذور بسبب مجموعة متنوعة من مسببات الأمراض كالديدان الخيطية والبكتيريا والفيروسات وتعتبر الفطريات عاملا مهما في مرض تعفن الجذور (Sraaو Zainab، 2022). يتسبب مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان عن مجموعة من الفطريات التي من أهمها الفطرين *Fusarium solani* و *Rhizoctonia* solani السبب الرئيسي الذي يحد من انتاجيه نبات الباقلاء ويعد الفطر *F. Solani* هو النوع الأكثر انتشارا والذي يكون مسؤول عن خسائر شديدة في المحصول قد تصل نسبتها الى 100% (Yu وآخرون، 2023).

تعتمد السيطرة على هذا المرض بشكل أساسي على المكافحة بالمبيدات الفطريات فهي تلعب دور مهم في مكافحة الفطريات الممرضة (Schreinemachers، 2016) ومع ذلك فإن استخدام مبيدات الفطريات قد تسبب مخاطر على صحة الإنسان وقد تزيد من التلوث البيئي كما انها غير متوفرة بسهولة وذات تكلفة عالية وبسبب هذا المشاكل يحاول الباحثون البحث عن طرق امنة بيئيا لمكافحة هذا المرض من ضمنها استخدام المقاومة المستحدثة والمكافحة الحيوية ودورة المحاصيل كطرق بديلة آمنة بيئيا لزراعة المحاصيل (El-shennawy وآخرون، 2010 ; Gwa وآخرون، 2021).

أن المكافحة الحيوية هي البديل الأفضل والتي تعرف على انها استخدام الكائنات الحية الدقيقة التي تمتلك صفات تضادية ضد المسببات الممرضة وخاصة ضد مسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة (Gwa وEkefan، 2021).

ومن العوامل المستخدمة في المكافحة الاحيائية هي الفطريات والبكتريا الموجودة في التربة والتي بالإضافة الى نشاطها المضاد تكون قادرة على تحفيز استجابات النمو في النبات عن

طريق انتاج عوامل محفزه للنمو او عن طريق التحكم في مسببات الامراض البسيطة، اثبتت العديد من الدراسات انخفاض معدل الإصابة بالأمراض في المحاصيل المختلفة بعد معاملة التربة بمضادات فطرية أو بكتيرية (Smith وآخرون، 1990 ; Bashar، 1994 ; Singh وآخرون، 2002 ; Ahmed، 2011).

تعتبر بعض أنواع جنس *Trichoderma* spp. وأنواع جنس البكتيريا *Pseudomonas* من أهم عوامل المكافحة الحيوية والأكثر شهرة وفعالية حيث تستخدم بشكل واسع في السيطرة على مسببات الأمراض النباتية التي تنتقل عن طريق التربة كما أنها تتميز بسهولة عزلهما من التربة وسرعة النمو والإكثار على الأوساط الزراعية فضلا عن العلاقات التكافلية Symbiosis التي تكونها مع جذور النباتات وبالتالي تحفيز المقاومة الجهازية للنباتات (El komy وآخرون، 2015 ; Dutta وآخرون، 2022)

يتميز الفطر *Trichoderma longibrachiatum* بدوره المعروف في تقليل تأثيرات مسببات الأمراض وحفض شدة المرض كما لها تأثير فعال في امتصاص المواد الغذائية مما يؤدي إلى تحسين نمو النبات وزيادة الكتلة الحيوية فضلا عن إنتاج المضادات الحيوية (Alshimaysawe، 2018) ، واثبت العديد من الدراسات إمكانية *Trichoderma* spp. كعوامل حيوية مضادة ضد العديد من مسببات الأمراض النباتية (Houssien وآخرون، 2010 ; Gwa وآخرون، 2019). ان حوالي 90% من عوامل المكافحة الحيوية الفطرية ضد مسببات الأمراض تنتمي الى سلالات مختلفة من *Trichoderma* spp. (Hermosa، 2011)

وجد ان البكتيريا *Pseudomonas fluorescence* الأكثر استغلالا لمكافحة الحيوية لمسببات الأمراض النباتية التي تنقل عن طريق التربة (Vanitha واخرون، 2014)، حيث وجد البكتيريا *P. fluorescence* تثبط نمو مسببات الأمراض عن طريق استعمار الجذور وإنتاج المضادات الحيوية واستخلاب الحديد عن طريق إنتاج siderophores وتحريض المقاومة الجهازية (Thakurواخرون، 2023).

نظرا لعدم وجود دراسات سابقة حول عزل وتشخيص فطريات الممرضة لجذور وقواعد سيقان نبات الباقلاء ومكافحتها كيمياوية واحيائية في محافظة ميسان ارتئينا القيام بهذه الدراسة وشملت المحاور الآتية:

- عزل وتشخيص الفطريات من قواعد سيقان وجذور نبات الباقلاء المصابة بالتعفن
- التشخيص المظهري والجزيئي للفطريات المعزولة
- اختبار القدرة الإمراضية لبعض الفطريات المعزولة
- دراسة تأثير المبيدات الفطرية البلتانول على النمو الشعاعي للفطريات المعزولة
- دراسة الكفاءة التضادية للعاملين الاحيائيين *Trichoderma longibrachiatum* والبكتيريا *Pseudomonas fluorescens*

الفصل الثاني

استعراض المراجع

2-استعراض المراجع

2-1: الفطريات الممرضة للنبات

تمثل الفطريات واحد من أهم الاحياء المتواجدة في النظام البيئي والتي تضم مجموعة واسعة من الأنواع بعضها كبيرة والاخرة مجهرية وتنتشر في جميع أنحاء العالم وتتأقلم مع مختلف الظروف البيئية (foundation CK-12، 2019)، وتعد التربة الموطن الرئيسي لها لقدرتها على انتاج وحدات تكاثرية مثل يمكنها البقاء في التربة لمدة طويلة مما يجعلها مهيمنه على باقي الاحياء المجهرية، ووجد الكثير من الفطريات تكون علاقات تكافلية مع جذور النباتات في التربة (Aimeur، 2016)

وخلال عمليات التطور تشكلت علاقة معقدة وعالية التخصص بين النباتات والفطريات مما خلق نمطا من التبادل والتطور المشترك بينهما ومع التشخيص المستمر لأنواع جديدة من الفطريات متعايشة او متطفلة مع البناتات (Quintanilha-peixoto وآخرون، 2019)، فتعتبر بعض الأنواع الفطرية من المسببات الرئيسية للكثير من الأمراض النباتية بسبب امتلاكها العديد من الانزيمات المحللة فضلا عن السموم الخطيرة (Attitalla، 2010).

ان الأمراض النباتية التي تسببها الفطريات الممرضة لها تاثير ضار على النباتات وما يترتب عليها من فقدان المحاصيل والتقليل من جودتها وانتاجيتها مما يؤدي الى سوء التغذية والمجاعات في الكثير من دول العالم (Strange وScott، 2005). تستخدم الفطريات الممرضة للنباتات سلوكيات عديدة لاستعمار النبات والتسبب في المرض، فبعض هذا الفطريات تقتل النبات من خلال إفراز السموم القاتلة وتتغذى على الخلايا الميتة ويدعى هذا السلوك بـnecrotrophs ، اما البعض الآخر من الفطريات يستعمر الأنسجة النباتية الحية ويستخدم استراتيجيات معينة لمنع موت الخلايا النباتية ومعالجة ايض البنات لصالحها ويدعى هذا السلوك بـbiotrophs (Doehlemann وآخرون، 2017).

تمتلك معظم الأنواع الفطرية الممرضة للنبات مدى عائلي ضيق من الأنواع النباتية فبعضها تقتصر على اصابة نوع واحد أو عدد قليل من الأنواع النباتية وهناك انواع أخرى من الفطريات لها مدى عائلي واسع من الأنواع النباتية مثل الفطر *Fusarium oxysporum* التي تصيب انواع مختلفة من المحاصيل (Borah وآخرون، 2017).

تسبب الفطريات الكثير من الأمراض للنبات من ضمنها anthracnose وتبقع الأوراق leaf spot والصدأ rust والذبول wilt واللفحة blight والتقرح فضلا عن تعفن الجذور (Iqbal وآخرون، 2018). تعد منطقة Rhizosphere منطقة غنية بالكثير من الفعاليات الايضية الناتجة عن تواجد الكثير من الاحياء المجهرية من ضمنها الفطريات لذلك تعتبر واحد من أكثر المناطق الديناميكية على وجهة الأرض (Philippot وآخرون، 2013) ويشكل جزء من الشبكة الغذائية المعقدة، وتعتبر المصدر الرئيسي للتنوع ونشاط الاحياء المجهرية في المناطق المجاورة للجذر (Mendes وآخرون، 2013). اوضحت العديد من الدراسات التي تم اجراءها على الاحياء المجهرية الموجودة في منطقة الرايزوسفير ودورها الرئيسي في استعمار منطقة الجذر من ضمنها دراسة المجتمع المايكروبي لنبات الباقلاء (Xu وآخرون، 2009).

ويعتبر مرض تعفن الجذور Root Rot Disease من أهم الأمراض النباتية الشائعة والمهمة اقتصاديا بحيث تؤدي إلى تقليل جودة وغلة المحاصيل الزراعية وبالتالي يسبب خسائر كبير فهي تمثل تهديد خطير في جميع أنحاء العالم. ويعتمد الضرر الذي يحصل في النبات على عدة عوامل منها العامل المسبب وقابلية المضيف الدفاعية طبيعة المحاصيل والظروف البيئية المتمثلة بدرجة الحرارة المثلى لنمو العامل الممرض ورطوبة التربة (Bodah، 2017).

ان مرض تعفن الجذور تسببه مجموعة واسعة من المسببات الأمراضية من ضمنها البكتيريا والفطريات، وتعتبر الفطريات من أكثر المسببات الأمراضية شيوعا وانتشارا لانتاجها بعض التراكيب المقاومة التي تبقى لفترة طويلة في التربة من ضمنها الاجسام الحجرية، اما تعفن الجذور المتسبب عن البكتيريا يحدث بدرجة اقل، يتأثر هذا المرض بالعوامل البيئية التي يمكن ان تزيد من حدته. تم تصنيف العديد من أنواع تعفن الجذور بالاعتماد على المسبب المرضي والاعراض التي تظهر على البنات، فيعتبر تعفن الجذور الرطب *Rhizoctonia* root rot الناتج من الإصابة بفطر *Rhizoctonia solani* من أكثر الامراض شيوعا وتكرارا في العديد من المحاصيل مثل التبغ والتوت والطماطة والبازلاء فضلا الباقلاء بحيث يهاجم المحاصيل خلال مراحل التطور المبكر ، اما بالنسبة لتعفن الجذر *Fusarium* root rot الناتج من الإصابة بانواع من جنس *Fusarium* spp. يعد مرض شائع يصيب العديد من المحاصيل ويسبب لها التقزم والموت ويتميز هذا المرض بوجود بقع سوداء على الجذر ويمكن ان يتطور المرض

ويصيب سيقان البناتات، كما يعتبر مرض تعفن الجذر الأسود Black root rot الناتج بشكل أساسي من فطر *Thielavio psisbasicola* والذي يصيب مجموعة واسعة من النباتات حيث يصيب أكثر من 200 نوع من النباتات، يتميز هذا المرض بتعفن الجذور والسيقان وسقوط البادرات، والمضيف الأساسي لهذا المرض التبغ والجزر و القطن والباقلاء (Williamson-Benavides و Dhingra، 2021).

يحدث تعفن الجذور بسبب مجموعة واسعة من الفطريات والتي تصيب مدى واسع من العوائل، ففي العائلة الصنوبرية فتعتبر *Heterobasidion annosum* و *Armillaria ostoyae* و *Phellinus sulphurascens* هي المسببات الرئيسية لتعفن الجذورها (Cleary وآخرون، 2011)، اما بالنسبة للنباتات المعمرة فيعتبر الفطر *Rosellinia necatrix* المسبب الرئيسي لعفن الجذور الابيض White root rot (Haralson، 2013)، بينما العائلة البقولية فيعتبر مرض تعفن الجذور الناتج عن مجموعة من مسببات الأمراض المستوطنة في التربة من أكثر الأمراض انتشارا وأهمية وأحد الاسباب الرئيسية في الحد من إنتاج البقوليات في جميع أنحاء العالم، تعتبرالعديد من أنواع .*Fusarium* spp مسببات رئيسية الأمراض تعفن الجذور في البقوليات (Zitnick-Anderson وآخرون، 2020)، فضلا عن *F.oxysporum* و *R. solani* و *Macrophomina phaseolina* و *Pythium ultimum* و *Sclerotinia sclerotiorum* و *Sclerotium rolfssi* التي تعتبر مسببات رئيسية لامراض تعفن جذور البقوليات (pena وآخرون، 2013). كما وجد ان العديد من اجناس .*Aspergillus* spp و.*Alternaria* spp و.*Curvularia* spp و.*Rhizopus* spp و.*Penicillium* spp يمكن ان تسبب التعفن في العديد من المحاصيل لكنها تحدث بنسب قليلة (Serrano وآخرون، 2012).

تعود قدرة الفطريات الممرضة للنبات والمسببه تعفن الجذور وقواعد السيقان إلى قابليتها على إنتاج وحدات تكاثرية لها القابلية على البقاء في التربة لسنوات عديدة وتحملها مختلف الظروف البيئية إضافة إلى امتلاكها قدرة تنافسية عالية مع الكائنات الأخرى الموجودة في منطقة Rhizosphere (Lamichhane وآخرون، 2017)، فضلا عن قدرتها على إفراز الانزيمات المحللة لجدار الخلية النباتية والسموم بحيث تلعب دورا

كبير في أحداث الاصابة واجهاد النبات مما يؤثر سلبيا على النبات المضيف (Yang وآخرون، 2020).

2-2: الفعالية الانزيمية للفطريات

تلعب الفطريات دور مهم في تحلل النسيج النباتي بسبب إنتاجها مجموعة واسعة من الانزيمات المحللة للكاربوهيدات والسكريات النباتية إلى مركبات بسيطة يسهل امتصاصها من قبل الفطريات، تتباين الانزيمات المحللة بين الأنواع الفطرية حسب نوع تغذيتها ومكان تواجدها (Kubicek وآخرون، 2011).

يتركب جدار الخلية البناتية بشكل أساسي من ثلاثة طبقات رئيسية متمثلة بجدار الخلية الابتدائي والصفيحة الوسطى وجدار الخلية الثانوي، تتكون هذا الطبقات من السليلوز وسكريات غير سليلوزية والبكتين وبروتينات ومركبات الفينولية (Kumar وآخرون، 2016)، تعتمد قدرة الفطريات في تحلل النسيج النباتي على عدة عوامل منها درجة الحرارة ورطوبة التربة والمواد الغذائية المتوفرة (Shortle وDudzik،2012)، إضافة الى مقاومة النبات للمسببات الامراضية من خلال انتاج مواد مضادة للفطريات تثبط عمل الانزيمات الفطرية المحللة (Yang وآخرون، 2016).

تمتلك الفطريات الواطئة مثل الفطريات الكتريدية والاحياء البيضية الشبيه بالفطريات قدرة ضئيلة جدا على تحلل اللكنين المكون الأساسي لجدار الخلايا النباتية لذلك تعتبر من الفطريات التي تسبب امراض النبات بنسب قليلة أي انها تقتصر على خلايا النباتات غير الملكننة (Daniel، 2016)، اما الفطريات البازيدية والكيسية تمتلك قدرة عالية في تحلل الكنين لذلك تعتبر من المسببات الرئيسية لإمراض النبات (Edwards وآخرون، 2008).

ان اهم الانزيمات التي تفرزها الفطريات الممرضة للبنات هي Pectinase وChitinase وCellulase وProtease، إضافة إلى أنزيم Hemicellulase وPhospholipase وAmylase التي تلعب دور مهم في تحليل مكونات جدار الخلايا النباتية مما يؤدي إلى تدمير الخلايا وبالتالي لها دور مهم في تطور القدرة الأمراضية للفطريات كما أن أنزيم β-galactosidase يعمل على تحليل Lactose أحد مكونات جدران الخلايا النباتية مما يؤدي تليين النسيج النباتي (Felix وآخرون، 2018).

وجد Ogorek (2016) ان جنس *Fusarium* spp. له القابلية على انتاج انزيمي Cellulase وChitinase المحلل السليلوز وللكاتين على التوالي، والمكونه لجدران الخلايا النباتية وتاثيرها على استقرار الاغشية الخلوية. بينما لاحظ Janusz وآخرون (2017) قابلية جنس *Rhizoctonia* spp. على افراز عدد من الانزيمات التي لها تأثير كبير في تحلل جذور بنات الذرة من بينها انزيم Cellulase التي تلعب دور مهم في تحلل جدار الخلايا النباتية. إضافة الى الانزيمات المحللة فالفطريات الممرضة للنبات تفرز أيضا السموم الفطرية التي يمكن ان تلعب دور رئيسي في تطور الامراض النباتية مما يؤثر سلبا على النباتات المضيفة (Yang وآخرون، 2020)، وتعرف السموم الفطرية بانها مستقلبات ثانوية منخفضة الوزن الجزيئي يمكن ان توثر على النبات وتنتج امراض محددة مثل الذبول وتثبيط النمو وتبقع وشحوب الأوراق واصفرارها(Jajic وآخرون، 2019).

ان آلية عمل السموم الفطرية وتأثيرها على البنات معقدة وتعمل بشكل أساسي على غشاء الخلية والمايتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء وبالتالي تدمير الخلية النباتية او يمكنها التدخل في عملية التمثيل الغذائي للنبات وبالتالي تأثيرها على العمليات الحيوية التي يقوم بها النبات (Shang وآخرون، 2016)، إضافة الى ذلك فإنه يمنع تخليق البروتينات والاحماض النووية في النبات مما يؤدي الى اضطراب في العمليات الحيوية للنبات وبالتي موت الخلايا و ممكن ان تؤدي الى موت النبات (Zeilinger وآخرون، 2016).

3-2: نبات الباقلاء *Vicia fabae* L.

يعتبر نبات الباقلاء مصدر غذائي مهم يحتوي على الكثير من العناصر الغذائية المفيدة للإنسان لما تملكه من أثار صحية وغذائية مفيدة له حيث تحتوي على نسبة عالية من البروتينات مقارنة بالمحاصيل الأخرى كما يحتوي على نسبة مرتفعة من اللايسين وهو حمض اميني مهم للإنسان (Robinson وآخرون، 2019). وأنها مصدر غني بالكربوهيدرات والفيتامينات والمعادن وتحتوي كذلك على العديد من المركبات النشطة بيولوجيا ومنها المركب dihydroxyphenylalanine3,4-1 الذي يمكن استخدامه في علاج مرض Parkinson . في السنوات الأخيرة زاد الاهتمام بنبات الباقلاء لفوائده الصحية والغذائية وتطوير الأطعمة المختلفة المخصبة بالجزيئات الحيوية التي تكون ذات وظائف وقيم غذائية صحية (Dhull وآخرون، 2022).

أن نظام دمج نبات الباقلاء في انظمة تناوب المحاصيل المختلفة يقلل من حدوث مسببات الأمراض التي تنقلها التربة ونيماتودا حوصلة الحبوب *Heterdera avenae* (Landry وآخرون، 2016) كما تلعب جذور الباقلاء دور مهم في تحسين خصوبة التربة من خلال العلاقات التكافلية مع بكتيريا الرايزوبيوم *Rhizobium* Bacteria التي تعمل على تثبيت النتروجين الضروري لتحسين خصائص التربة (Jensen وآخرون، 2010)، إضافة الى قابليتها على اذابة الفسفور غير القابل للذوبان في التربة وبالتالي تحسين البيئة المادية للتربة وزيادة النشاط المايكروبي للتربة (Mir وآخرون، 2021).

تتأثر جودة جذور الباقلاء بعدة عوامل منها نوعية التربة والمناخ والعوامل الزراعية وتعتبر العوامل الحيوية ومنها الأمراض الفطرية هي المسؤول الرئيسي عن فقدان المحصول بحيث يمكن أن تسبب خسائر قد تصل إلى 15% أو الى 80% عندما تكون الظروف ملائمة للإصابة، من اهم الامراض الفطرية التي تسبب خسائر كبير في هذ المحصول هي امراض التبقع ولفحة الاسكوكايتا وصدأ الباقلاء ومرض تعفن الجذور وقواعد السيقان (Barlog وآخرون، 2018)

أن نبات الباقلاء من أقدم المحاصيل في العالم ونظرا للقيمة الغذائية الفائقة حيث يمثل اهم المحاصيل المنتجة عالميا وفي السنوات الأخيرة حظيت زراعته باهتمام كبير في معظم دول العالم منها الولايات المتحدة الامريكا وكندا واوربا كما أنه يعتبر من أفضل المحاصيل بسبب قدرتها على النمو في معظم الظروف المناخية مثل تغير المناخ والاحتباس الحراري فضلا على تكيفها على نطاق واسع من التربة (Singh وآخرون، 2013).

يستغرق نمو إنبات بذور الباقلاء 10_14 يوما في ظل ظروف النمو المثالية وتستغرق وقت أطول عندما تكون درجة حرارة التربة باردة وجافة، ينمو النبات بمعدل طول 30-130 سم وذلك بالاعتماد على النمط الوراثي بشكل أساسي وعندما يصل النبات إلى طول 30 سم تقريبا ينتج ازهار أولية، ان حوالي 25% من الازهار تنتج قرون والتي تحتوي على 3-6 بذور في كل قرن (Etemadi وآخرون، 2015).

يصاب نبات الباقلاء بالعديد من الأمراض التي تعتبر من أهم العوامل الحيوية التي تحد من انتاجيته حيث يتعرض لأكثر من 100 مسبب مرضي (El-Mehy وآخرون،

2022) وتعتبر الفطريات من أهم وأكبر المسببات الأمراضية التي تؤثر على جميع أجزاء نبات الباقلاء في جميع مراحل النمو (Mulugeta وآخرون، 2019)

ومن أهم الأمراض الفطرية التي تصيب نبات الباقلاء والتي تحد من انتاجيته مرض بقعة الشوكولاتة الذي يسببه فطر *Botrytis fabae*، الصدأ الذي يسببه فطر *Uromyces fabae* وتعفن القدم الذي يسببه *Fusarium avenaceum* وتعفن الجذر الأسود الذي يسببه فطر *Fusarium solani* (Bekele وآخرون،2003)

أن مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان من أهم الأمراض التي تصيب نبات الباقلاء والتي يسببها الفطرين *Rhizoctonia solani* و*Fusarium solani* التي تعتبر من اهم الفطريات الرئيسية التي تسبب هذ المرض إضافة للعديد من الفطريات الاخرى مثل الفطر *F.oxysporum* والفطر *Sclerotinia* spp. وشبيه الفطريات *Pythium* spp. (Abdelaziz وآخرون، 2023).

2-4: الأهمية الاقتصادية لمسببات امراض تعفن الجذور

تم استخدام مصطلح تعفن الجذور Rot Rooting على نطاق واسع للإشارة إلى مجموعة من الأمراض التي تتميز في المقام الأول بتلين ونخر الجذور والتيجان والسيقان مما يؤدي إلى ظهور مجموعة واسعة من الأعراض مثل تبقعات الجذر التي تختلف في الحجم واللون وتنعيم طرف الجذر وتحويله إلى اللون البني وتقليم الجذر وتسوسه (Hamon وآخرون، 2011).

من الصعب اكتشاف أعراض مرض تعفن الجذر لأن الضرر يكون غير مرئي يحدث تحت سطح الأرض وعندما تظهر الأعراض على سطح النبات فإن المحصول يتأثر بشكل كبير ومن الصعب معالجته (Bodah، 2017). مع تقدم المرض تظهر الاعراض فوق الأرض بما في ذلك اصفرار الأوراق وذبولها وتوقف نمو البنات وانخفاض إنتاجية المحاصيل وزيادة فقدانها بسبب الموت المبكر للنبات (Ramalingam، 2020).

تعد أمراض الجذور من العوامل الرئيسية التي تحد من انتاجية العديد من المحاصيل ولا تزال تشكل تهديد عالميا خطيرا أمام الزراعة، يحدث المرض بسبب مجموعة متنوعة من مسببات الأمراض كالبكتيريا والفيروسات التي تعتبر من مسببات الامراض

الأقل شيوعا إضافة الى الفطريات التي تعتبر من مسببات الأمراض الرئيسية لمرض تعفن الجذور (Bergm ، 2014 ; Williamson-Benavide وDhingra، 2021). إضافة إلى ذلك يمكن للطفيليات والديدان الخيطية ان تلعب دور مهم في الاصابة من خلال تسهيل دخول مسببات الأمراض الأخرى، كما تمثل مسببات الامراض الفطرية تهديد خطير للزراعة فإضافة إلى تأثيرها على غلة المحاصيل الزراعية فهي تؤثر بشكل كبير على جودة المحاصيل مسببة اضرار كبيرة مؤديه إلى خسائر اقتصادية كبيرة قد تصل إلى 1 مليار دولار سنويا على مستوى العالم (Volova وآخرون، 2018)، وتتراوح الخسائر التي تسببها مسببات الأمراض الفطرية ما بين الخسائر البسيطة إلى خسائر كبيرة قد تصل إلى فقدان الحقول الكاملة بالاعتماد على العامل المسبب وقابلية المضيف والظروف البيئية. تعتبر *Rhizoctonia* root rots و*Fusarium* root rots و*Phoma* root rots وBlack root rots من أكثر إمراض تعفن الجذور الفطرية تأثيرا (Bodah، 2017).

تعتبر مسببات الأمراض الفطرية التي تنتقل عن طريق التربة من أهم العوامل التي أمراض تعفن الجذور كما إن وجود بعض التراكيب التكاثرية منها الابواغ الساكنة والابواغ الكلاميدية التي تكونها الفطريات والتي تعزز قدرتها على البقاء في التربة لفترة طويلة وانتشارها على نطاق واسع مما يجعل إدارتها صعبة إلى حد ما (Moretti وآخرون، 2008)، كذلك يمكن للعوامل اللإحيائية ان تساهم في تطور تعفن الجذور مثل مكونات التربة والعناصر الغذائية (Malvick، 2018) .

من أهم مسببات الأمراض الفطرية التي تسبب تعفن الجذور مسببه تدمير كبير للمحاصيل هي *R. solani* و*Macrophomina* phaseolina و *F.solani* و *F. Oxysporum* و *F. moiliforme* (Islam وآخرون، 2013).

تعتبر البقوليات المضيف الأكثر شيوعا لمسببات أمراض تعفن الجذور إضافة إلى إصابة نباتات أحادية الفلقة وثنائية الفلقة والحبوب وأشجار الفواكهة والدرنات بأمراض التعفن (Gaulin وآخرون، 2007). يعتبر مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان من أكثر الامراض شيوعا وانتشار بين نباتات العائلة البقولية والذي تسببه بعض الفطريات المستوطنة في التربة (Matloob، 2019)، ان المرض يؤثر كما ونوعا على إنتاجية النبات (Sharma وآخرون، 2013).

وجدت إحدى الدراسات التي تم اجراها على نبات الباقلاء من قبل المركز العالمي للبحوث في اثيوبيا ومصر والسودان واليمن، ان امراض تعفن الجذور والذبول الوعائي هو من اهم المشاكل التي يتعرض لها هذا المحصول التي تسبب خسائر قد تصل الى 100% عند توفر الظروف الملائمة (Vance وGraham، 2003).

2-4-1: الفطر *Rhizoctonia solani*

يعتبر الفطر *R. solani* من أهم مسببات الأمراض الفطرية التي توجد في التربة وتنتشر على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم مسببه العديد من الأمراض التي تصيب مجموعة واسعة من المحاصيل منها الباقلاء، الحمص، الفاصوليا، الرز، الطماطة والبطاطا (Ajayi-Oyetundea وBradlley، 2018 ; Alshimaysawe، 2018).

وصف جنس *Rhizoctonia* لأول مرة من قبل العالم De candolle عام 1815، اما النوع *R.solani* فقد تم اكتشافه عند فحص درنات البطاطا من قبل العالم الألماني Julius Kuhn عام 1855 (Singh، 2007). ينقسم الفطر *R. solani* إلى نوعين بالاعتماد على عدد الانوية في الغزل الفطري، فالغزل الفطري الذي يحتوي على أنوية متعددة Multinucleate يعرف طورها الجنسي ب *Thanatephorus cucumeris* اما الغزل الفطري الذي يحتوي على نواتين dinucleate يعرف طورها الجنسي ب *Ceratobasidium particolum* (Alexopoulos، 1996 ; Wu وآخرون، 2003)

ينمو الفطر في التربة او في المضيف على هيئة غزل فطريات او أجسام حجرية Sclerotia (مفرد Sclerotium) والتي تعرف بأنها تجمعات للغزل الفطري والتي يمكن أن تبقى في التربة لسنوات عديدة فهي تمتاز بقابليتها على تحمل الظروف البيئية غير المناسبة، كما يمكن للفطر ان يكون ابواغ بازيدية Basidospores والتي تمثل الطور الجنسي لل *R.solani* حيث وصف لأول مرة من قبل العالمين Prillein وDelacroiz عام 1891 (Webber وWebester ، 2007).

هناك عدة صفات تصنيفية ساعدت بشكل كبير في تصنيف وتسمية فطر *R. solani* من اهمها لون المستمرة على الأوساط الزراعية التي تكون محددة باللون الأبيض او يمكن أن يتراوح لونها من البني الفاتح في المستعمرات الفتية او اللون البني في المستعمرات القديمة، وإن اي مستعمرة فطرية تظهر بالوان أخرى فأنها لا تصنف *R.*

solani لذلك يعتبر لون المستعمرة صفة تصنيفية ثابتة، إضافة إلى ذلك فأن اقطار الغزل الفطري يمكن أن تختلف باختلاف مستعمرات العزلة الواحد بالاعتماد على مكونات الوسط الزرعي و عمر المستعمرة كذلك درجة الحرارة، كما أن اقطار الغزل الفطري لل *R.solani* تتراوح بين 5-14 مايكرومتر وهي تعتبر صفة تصنيفية أيضا فاذا كان قطر الغزل الفطري اقل من 5 او اكثر من 14 فلا يمكن اعتباره يعود للجنس *Rhizoctonia* (Verma و Kaminski، 1985).

يتميز الغزل الفطري بأنه يتكون من خلايا متعددة متفرعة تنشأ هذا التفرعات بالقرب من الحواجز الطرفية للخلية الفطرية والتي تتفرع بشكل قائم تقريبا مع تخصر هذا الخلايا من منطقة نشوء التفرعات ، كما أن الغزل الفطري يكون مقسم بحواجز برميلية Dolipore septum تسمح بالتبادل السايتوبلازم و الانوية و المايكوندريا، ان الحواجز septalpore و عدد الانوية الخلوية تستعمل كصفة تشخيصية من قبل الباحثين، كذلك تكوين الأجسام الحجرية التي منظمة و متغايرة في الحجم و الشكل حيث تتراوح ما بين كروية صغيرة ذات قطر اقل من 1 ملم إلى قشور رقيقة يكون قطرها عدة سنتمترات تقريبا (Conway وBlazier ، 2004).

أوضح Singh وآخرون (2011) ان تطور الفطر وانتشاره يتأثر بشكل كبير بالعوامل البيئية إذ ان درجة الحرارة المثلى لنموه هي 25م° وان تغيير درجة الحرارة إلى اقل من 15م° او أكثر من 30م° يؤدي إلى تقليل النمو. كما أن درجة الدالة الحامضية (pH) المثلى هي 4.5 إلى 9.8 ونسبة الرطوبة التي يفضلها الفطر تتراوح بين 20%-70% لذلك تنتشر بشكل واسع في التربة الطينية الثقيلة والرطبة (Anne وآخرون، 2002).

يسبب فطر *R. solani* مجموعة متنوعة من الأمراض للنباتية من ضمنها تعفن البذور وموت البادرات وتقرح الساق من خلال أصابتها قبل وبعد البزوغ (Akber وFang، 2024). يخترق الفطر انسجة النبات المختلفة من خلال تكوين وسائد الإصابة cushions Infectionذات الشكل قببي او بواسطة اعضاء الالتصاق Appressoria او يمكن ان يخترق الجذور عن طريق الفتحات الطبيعية مباشرة دون ان يحتاج لتراكيب إصابة او من خلال الجروح والتشققات (Saksena، 1971).

تم تشخيص العديد من السلالات للفطر من خلال مجاميع الاندماج السايتوبلازمي Anastomosis وتقنيات PCR وتصيب *R. solani* نباتات مختلفة حسب مجاميع الاندماج السايتوبلازمي (Wang وآخرون، 2022).

أوضح Prabhukarthikeyan (2020) قدرة الفطر *R.solani* على إفراز العديد من الانزيمات المحللة للسليلوز واللكنين التي تساعد على تحلل جدران الخلايا النباتية وبالتالي تحدد قابلية الفطر على أحداث الاصابة، من أهم هذه الانزيمات هي Pectinase، Cellulase، Phosphatase، Methylesterase .

2-4-2: الفطر *Fusarium solani*

سجل جنس *Fusarium* لأول مرة من قبل العالم Fires عام 1812 (Booth, 1971) اما النوع *F. Solani* لقد وصف الأول مرة من قبل العالم Von Martius في 1842 عند تشخيصه لدرنات البطاطا(Schroers، 2016) ، اما في العراق فقد سجل لأول مرة عام 1952 من قبل Allison .

يعتبر الفطر *F. solani* هو أحد مسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق التربة والتي تصيب العديد من الأنواع النباتية المختلفة (Coleman، 2015). يحتوي جنس *Fusarium* على أكثر من 70 نوعا وان *F. solani* هو الأكثر شيوعا وانتشارا من بين الأجناس تليه الانواع *F. oxysporum* و *F. Verticillioded* و *F. moniliforme* (AL-Hatmi، 2016)

صنف الفطر طوره اللاجنسي سابقا ضمن الفطريات الناقصة Deuteromycota والصف Hyphomycetes وشبه رتبة Moniliales وشبه عائلة Tuberculariaceae وحاليا صنف ضمن شعبة الكيسية Ascomycota والصف Pyrenomycetes والرتبة Hypocrales وعائلة Nectriaceae (Weber وWebster، 2007).

يتميز الفطر *F. Solani* باحتواءه على ثلاثة أنواع من الابواغ اللاجنسية هي الكونيديا الكبيرة Macroconidia والكونيديا الصغيرة Microconidia والابواغ الكلاميدية Chlamydospores، تم استخدام أشكال وأحجام الابواغ في تشخيص ووصف انواع *Fusarium* إضافة إلى شكل الخلية القاعدية basal cell وموقع الابواغ في الغزل الفطري (Ponukumati وآخرون، 2019 ; Hoh، 2022).

تنتشر العديد من انواع *Fusarium* في التربة بهيئة ابواغ كلاميدية Chlamydospores التي تمتاز بتحملها للظروف البيئية القاسية وهي المسؤولة عن أحداث الاصابة الأولية (Anyanga وآخرون،2016)، وعند توفر الظروف البيئية

المناسبة يتكون الغزل الفطري والذي يكون مسؤول عن اختراق وتعفن الجذر وبالتالي أحداث الاصابة (Anon، 2011). هناك العديد من الصعوبات التي واجهت الباحثين في تشخيص ووصف الأنواع الخاصة بجنس *Fusarium* لذلك تم الاعتماد على بعض القواعد من ضمنها شكل ولون المستعمرة على الأوساط الزرعية كما أنه استخدم اوساط زرعية قياسية وظروف حضن خاصة (stepien، 2023).

ينمو الفطر *F. solani* بصورة مترممة في التربة او على بقايا النبات والمواد العضوية المتحللة ويمكن أن تصبح متطفلة انتهازية على النسيج الحي للنبات مسببا مجموعة من الأمراض التي تصيب الجذر مسببه تعفنه (Pan وآخرون، 2023) إضافة إلى ذلك قدرتها على اصابة أجزاء أخرى من النبات مثل السيقان والبذور والاوراق والثمار مسببه انخفاض في كمية المحاصيل (Senthil-Kumar وIrulappan، 2021) .

أوضح Akrami (2015) ان الفطر *F.solani* له مدى عائلي واسع فهو يصيب مجموع واسعة من العوائل من خلال اختراق جذورها عن طريق القمم النامية او عن طريق الجروح فتغزوا الجذر وتنتشر بين خلايا قشرة الجذر ويساعدها في ذلك عدد من الانزيمات المحللة.

يخترق الفطر *F.solani* النبات عن طريق القمم النامية للجذور او من خلال اماكن نشوء الجذور الثانوية أو من خلال الجروح التي تحدثها النيماتودا او حبيبات التربة وينتشر الفطر داخليا بين خلايا قشرة الجذر وصولا الى اوعية الخشب حيث يفرز الفطر الانزيمات المحللة للسيليلوز والبكتين وبالتالي اعاقة صعود الماء والمواد الغذائية داخل النبات مما يؤدي الى اصفرار وذبول النبات وعند الإصابة الشديدة تودي الى موت النبات (ميخائيل وآخرون، 1981).

ان القدرة الأمراضية للفطر *F.solani* تعود إلى إفراز ها العديد من السموم الفطرية والانزيمات المحللة بحيث تعمل هذا الانزيمات على تفكيك المواد الكاتينية والسليلوزية في جدران الخلايا او تحلل الصفيحة الوسطية للبرنكيما الخشب للاوعية الناقلة، من ضمن هذا الانزيمات Chitinase وCellulase وPolygalacturonase والتي تلعب دور مهم في أحداث الإصابة (Soleha، 2022).

تحدث الإصابة بانواع من جنس *Fusarium* spp. في درجات الحرارة مختلفة لكن درجة الحرارة المثلى لنموه هي 28م، وينمو الفطر جيداً عند درجات حموضة تتراوح

ما بين 5-9 (كاظم والجنابي، 2013). ويعد الفطر *F. solani* أحد المسببات الممرضة للنبات المهمة اقتصادياً فهو يسبب الكثير من الامراض ومنها مرض تعفن البذور وموت البادرات والجذور، حيث يصيب البذور مسبباً تعفنها وبالتالي عدم قدرتها على الإنبات كما يهاجم البادرات مسبباً موتها، ويصيب الجذور ويسبب تعفنها أيضاً، واحياناً تظهر على الجذور بقع سوداء أو متعفنة، أما أنسجة الساق فتظهر باللون البني أو الأسود وتنتشر الإصابة بسرعة من قاعدة الساق منتقله الى الأجزاء العليا من النبات حتى يصبح الساق ضعيف لا يقوي على حمل أجزاء النبات الأخرى فتسقط البادرة وتموت، في النباتات المتقدمة في العمر تقتصر الإصابة على الجذور مسببه تعفنها وبالتالي موت النبات (Nicoli وآخرون، 2013).

في العراق يعتبر الفطر *F.solani* من أكثر الفطريات المنتشرة والمتواجدة في تربة والتي تسبب تعفن الكثير من محاصيل الزراعية المزروعة في العراق مسبب موت البادرات وايضا يصيب جذور النباتات البالغة مسبب تعفنها ويسبب تعفن جذور وقواعد السيقان في البزاليا والباقلاء (الجبوري، 2002).

5-2: استخدام تقانة polymer Chain Reaction (PCR) في تشخيص الفطريات

تعد PCR من أهم التقانات المستخدمة في العلوم البيولوجية وعلوم الطب وتعتبر من أهم أكثر التقانات المستخدمة في التشخيص الكثير من الكائنات الحية من خلال تضخيم تسلسلات معينة من الحمض النووي DNA وهي طريقة حساسة للغاية في التشخيص (Zhu وآخرون، 2020).

اول من استخدم تقانة PCR عالم الكيمياء Kary Mullis عام 1983 والحاصل على جائزة نوبل (Mullis وآخرون، 1986). واجهة العلماء صعوبات كثيرة في التشخيص المظهري للفطريات لوجود التشابة في الطرز المظهري بين الكثير من الأنواع كما أن الاعتماد على المظهر الخارجي لا يعكس العلاقات التطورية بين الأنواع، لذلك لجأ العلماء في الأوان الأخيرة إلى استخدام الطرق الجزيئية في تصنيف الفطريات (Bills وآخرون، 1999).

إضافة إلى أن التشخيص المظهري يحتاج إلى الكثير من الوقت والجهد والخبرة العالية لتشخيص الأنواع قريبة الشبة (Raja، 2017)، قد تتغير الصفات المظهرية في

الفطريات لعدد عوامل منها طبيعة ونوع الوسط الزرعي وعامل الرطوبة والضوء والتي تؤدي إلى تغيير في أحجام وأشكال الابواغ والمستعمرات الفطرية (Calhim وآخرون، 2018).

استخدمت تقنية PCR في تشخيص الكثير الفطريات اعتمادا على التغاير في التركيب الجيني لتتابع النيوكليوتيدات في الكروموسوم والتي على أساسها تم التمييز بين الأجناس والأنواع المتشابهة مظهريا (Khot وFredricks ، 2009).

أصبح العلماء يمتلكون الكثير من المعلومات الوراثية الفطرية المخزونة في بنك الجينات Gene bank المتضمنة معلومات تتابع القواعد النيتروجينية التي لها أهمية كبيرة في الدراسات الجينية (Khan وBhadanria ، 2018).

تعد منطقة النسخ البينية Intragenic Transcription Space (ITS) منطقة مهمة لتشخيص وتصنيف الفطريات، وهي عبارة عن تسلسل من القواعد النيتروجينية لل DNA وتظهر هذا المنطقة اختلافات كبيرة التي على أساسها يتم تحديد الأنواع (Schochوآخرون، 2012).

2-6: مكافحة المسببات الامراضية

يستخدم العديد من وسائل المكافحة للتخلص من المسببات المرضية ومن اهمها المكافحة الكيميائية بأستخدام المبيدات وهي طريقة مهمة في مقاومة الممرضات على مختلف العوائل النباتية ولكن لكثرة وتكراراستخدامها ظهرت سلالات مرضية مقاومة لبعض المبيدات الكيميائية ولها تأثير على الحشرات والكائنات المجهرية النافعة فضلا عن خطورتها على صحة الانسان (Al-Musawi، 2012) هنالك عدة استراتيجيات معتمدة في مكافحة أمراض الجذور المتسببة عن الفطرين *R.solani* و *Fusarium* spp. منها تعقيم التربة وزراعة اصناف مقاومة والدورات الزراعية وكذلك أستخدام المبيدات الفطرية (Matloob وAL-Baldawy ، 2020).

2-6-1: المكافحة الاحيائية

في الأونة الأخيرة حظيت المكافحة احيائية اهتمام كبير من قبل علماء كثيرين في جميع أنحاء العالم، تعرف المكافحة الاحيائية بأنها استخدام عوامل احيائية تحتوي على خلايا حية لكائنات حية او منتجاتها الثانوية كبديل آمن و صديق للبيئة (O'Callaghan،

2016) و تعتبر المكافحة الاحيائية بديلا فعالا في مكافحة مجموعة من مسببات الأمراض النباتية (Heimpel، 2017) حيث يمكن اختيار عزلات عالية الفعالية ضد مسببات الأمراض الفطرية و التي يمكن تنميتها و تكاثرها على الأوساط الزرعية، ويعرف تطبيق الكائنات الحية المضادة المنتخبة و المنتجة بكميات كبيرة المكافحة البيولوجية المعززة(Van Lenteren، 2018)

تمتلك المكافحة الإحيائية الكثير من الصفات التي تجعلها متفوقة على المكافحة الكيميائية كونها لا تؤثر على توازن الأحياء في النظم البيئية، إضافة إلى ذلك انها تلعب دور مهم في تنظيم التفاعلات البيوكيميائية biochemical والفسيولوجية Physiological في النبات (Davies، 2004 ; Agrios، 2007)

تستخدم الكائنات الحية المنتخبة كعوامل مكافحة بايلوجية آليات مختلفة من ضمنها تفاعل الكائنات الحية بشكل مباشر مع النبات عن طريق تحفيز المقاومة الجهازية دون التأثير على العامل الممرض المستهدف أو تتنافس مع العامل الممرض على الموقع والغذاء او يمكن أن تتفاعل بشكل مباشر مع العامل الممرض من خلال التطفل المفرط وإنتاج مجموعة واسعة من المضادات التي تمتلك دورا فعالا في السيطرة على العديد من مسببات الأمراض النباتية (Köhl، 2019)

من المعروف ان هناك مجموعة من الكائنات تنتج سموم فطرية قد يكون لها دور فعال المكافحة الحيوية لكنها تسبب مخاطر كبيرة على البشر والحيوانات مثل السموم العصبية Botulinum neurotoxin (BONT) حيث تم استبعاد الكائنات الحية المنتجة لهذا النوع من السموم (Nguyen وآخرون، 2024).

اثبتت المكافحة الإحيائية قدرتها في القضاء على الكثير من المسببات الأمراضية الموجودة في التربة اهمها مسببات الأمراض الفطرية المسببه لتعفن جذور وقواعد السيقان (Ptaszek وآخرون، 2023).

2-6-1-1: المكافحة الحيوية باستخدام الفطر الاحيائي *Trichoderma* spp.

يعتبر جنس *Trichoderma* من الفطريات الخيطية التكافلية حظيت باهتمام كبير بسبب بامتلاكها آليات تضادية في جوانب متعددة ضد العديد من مسببات الأمراض النباتية المختلفة كما أنها تمتاز بسرعة نموها على الأوساط الزراعية وانتاجها اعداد

هائلة من الابواغ وسهولة عزلها وعدم احتياجها إلى متطلبات غذائية غير موجودة إضافة إلى امتلاكها آليات مختلفة للمكافحة الإحيائية (Harman وآخرون، 2015)

لذلك تم استخدامها كعوامل احيائية فعالة ومنخفضة التكلفة وأمنة على البيئة لكونها ذات تأثير منخفض على توازن التربة والكائنات الحية كما أنها تعزز عمليات النمو والإنتاج للنباتات وتعزز امتصاص المغذيات من التربة وكفاءة استخدام الأسمدة (Sood، 2020)

تم عزل فطر .*Trichoderma* spp لأول مرة عام 1794 من التربة والمواد العضوية المتحللة من قبل العالم الألماني Person (Persoon، 1794).

يعود *Trichoderma* إلى الفطريات الناقصة لأنها لا تمتلك طور جنسي بعد ذلك اكتشف الطور الجنسي لها وصنفت ضمن الفطريات الكيسية Ascomycotina رتبة Hypocreals جنس Hypocreals spp (Alexopulus، 1996).

ان اول من اكتشف .*Trichoderma* spp كعامل مقاومة إحيائي العالم Weindling من خلال عدة دراسات متتالية في عقدي الثلاثينيات والأربعينات من القرن الماضي (Wells، 1988).

تمتلك انواع *Trichoderma* أنشطة مختلفة للسيطرة على مسببات الأمراض بما في ذلك قدرتها على التطفل والتنافس على مجموعة واسعة من الفطريات المسببة لأمراض الجذور وإنتاج مجموعة واسعة من المضادات الحيوية فضلا عن إنتاجها العديد من المستقلبات ذات التأثير الكبير على تحفيز المقاومة الجهازية والموضعية للنبات مما يؤدي إلى نموه بشكل جيد وتحمله الإجهادات (Sood، 2020). كما انه أنواع هذا الجنس تعمل نشاط على زيادة نشاط عدد من الهرمونات الدفاعية في النبات منها Salicylic acidوEthylene و Jasmonic acid وكذلك استحثاث المقاومة الجهازية في النبات ضد المسببات الامراضية (Martinez-Medina وآخرون، 2010). كما ذكر Haggag وآخرون (2006) ان الفطر الاحيائي *Trichoderma* له قدرة عالية على التعرف على الفطر الممرض وسرعة كبيرة لمهاجمته وإيقاف نموه وذلك لقابليته على انتاج انزيمات Proteases و Srineprotase التي تثبط عمل انزيمات المسبب المرض وبالتالي ايقاف دورة الحياته.

يضم جنس *Trichoderma* حوالي 89 نوعا اعتمادا على قدرتها على تكوين الابواغ وعلى شكل الابواغ الكونيديا وطريقة حملها (Samuels, 2006)، من الأنواع المعروفة والمستخدمة في المكافحة الإحيائية *T. harzianum*، *T. Viride* ، *T. Virns*، *T. longibrachiatum* ، *T. konimgii* ، *T. atrovride* و *T. citrinoviride* (Guzman وآخرون، 2023)

وجد Darvin وآخرون (2013) ان الأنواع *T. longibrachiatum* و *T. harzianum* و *T. viride* قد ثبط نمو الفطر *Sclerotium rolfsii* واوضحت النتائج ان النوع *T. longibrachiatum* كان له كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطر الممرض.

لقد وضحت دراسات سابقة إمكانية الفطر *T. longibrachiatum* في مكافحة بعض الأمراض التي تصيب العائلة الباذنجانية بواسطة الفطرين الممرضين *Verticillium dahlia* و *Phialophora cyctaminis* (العربي وآخرون، 2017).

كما أوضح Yuan واخرون (2019) قدرة الفطر الإحيائي *T. longibrachiatum* على إنتاج الأحماض Salicylic acid وJasmonic acid وEthylone، ولاحظ أيضا عند زراعة نبات الخيار في تربة ملوثة بهذا الفطر *T. longibrachiatum* تحسن طول الجذر والوزن الطري وارتفاع النبات.

بينما لاحظ Yu Du(2020) قدرة فطر *T. longibrachiatum* في مكافحة العديد من أمراض التعفن في العديد من المحاصيل والتي تسببها الفطريات *R. solani* و *S. rolfsii* و *P. aphanidermatum*.

2-1-6-2: المكافحة الاحيائية باستخدام بكتيريا *Pseudomonas fluorescence*

تعتبر بكتيريا *P. fluorescence* سالبة لصبغة لكَرام وعصوية الشكل، متعددة الأسواط واجبارية التهوية لكنها في بعض الأحيان تستخدم النترات بدل من الأوكسجين في عملية التنفس الخلوي كمستقبل نهائي للإلكترون وتنمو عند درجة حرارة مثالية 24-30مº (David، 2018)

توجد بكتيريا *P. fluorescence* في التربة المحيطة بجذور النباتات وان بعض انواع هذا البكتيريا قادر على اختراق انسجة الجذر فهي تعمل على حمايته من العديد من

الأمراض باستخدام آليات مختلفة منها قدرتها على التنافس مع المسببات الأمراضية على المواد الغذائية الأولية وإنتاج العديد من المواد التي تعمل بشكل مباشر او غير مباشر في كبح المسببات الأمراضية، إضافة إلى قدرتها على منع الآثار الضارة للعوامل البيئية (Abdelmoteleb وآخرون، 2022).

تعد بكتيريا *Pseudomonas* من الكائنات الحية المشجعة لنمو النبات (PGPR) plant Growth promotion Rlizobacterial لذلك تم استخدامها بشكل كبير في المكافحة الإحيائية (Verma وآخرون، 2007)، فضلا عن لامتلاكها العديد من الاليات التي تعمل على تثبيط المسببات المرضية الفطرية فهي تنتج العديد من الانزيمات مثل chitinase, 1,3-β glucanase وهذه الانزيمات تعمل على تحطيم الجدار الخلوي لمسببات الأمراضية (جاسم، 2007)

إضافة الى ذلك فهي تنتج مدى واسع من المضادات الحيوية التي تلعب دورا فعالا في مقاومة العديد من الأمراض التي تصيب النباتات كذلك تحد من اضرار المسببات الأمراضية كما أن هذه البكتريا تعمل على تحسين نمو النبات ، كما تمتلك بكتيريا *P. fluorescence* إمكانية في تكوين مركبات Siderophores، هذه المركبات لا تسمح بنفاذية الحديد خلال جدران الخلايا لمسببات الأمراضية، كما أنها تنتج العديد من الهرمونات النباتية مثل Cytokinin، Auxin،Gibberellin هذا الهرمونات تساعد في زيادة معدل نمو النبات (Hariprasad وآخرون، 2014).

لاحظ ان استخدام بكتيريا *P. fluorescence* عند زراعة المحاصيل سيزيد من معدل النمو الخضري وزيادة المحصول من خلال إنتاجها الأحماض الأمينية والفيتامينات والهرمونات النباتية (Mishra وآخرون، 2023 ; Chakraborty وآخرون، 2024)، كذلك تساعد في امتصاص المواد المذابة والمعادن منها الفسفور P فهي تعمل على اذابة الفسفور غير القابل للذوبان وامتصاصه ويعتبر هو سبب رئيسي في زيادة انتاجية المحاصيل في الأراضي الزراعية المعالجة بكتيريا *P. fluorescence* ، فضلا عن زيادة القدرة الامتصاصية للمعادن الأخرى مثل البوتاسيوم K والمغنيسوم Mg والحديد Fe والمنغنيز Mn كما تعمل على تثبيت النتروجين في التربة ولها القابلية على إنتاج منظمات النمو مثل Indole acetic acid (IAA) وتحفيز النبات على تكوين تفرعات جذرية جديدة مما يزيد من المساحة السطحية للجذر (Lobo وآخرون 2022). وجد ان سلالات مختلفة من *P. fluorescence* تنتج المضاد الحيوي Diacetyl-2,4

phloroglucind (DAPG)، يتميز هذا المضاد بقدرته على كبح نشاط على مجموعة واسعة من الفطريات التي تصيب الجذور (Landa، 2002).

أكدت العديد من الدراسات قدرة *P. fluorescence* في تحفيز المقاومة الجهازية للعائل ضد العديد من المسببات المرضية، كما لاحظ زيادة في نشاط أنزيم Peroxidase الذي يرتبط بشكل مباشر مع المقاومة المستحدثة (Anwar، 2011)، أوجد Sarmiento-lopez وآخرون (2022) انه عند غمر بذور النباتات في العالق البكتيري لبكتيريا *P. fluorescence* او اضافتها إلى التربة يعمل على تحفيز المقاومة الجهازية ضد المسببات الأمراضية.

2-7: المكافحة الكيميائية

تعد المكافحة الكيميائية من الوسائل القديمة التي استخدمت في مكافحة مدى واسع من المسببات الأمراضية الموجودة في التربه بعض هذا المبيدات يكون متخصص لممرض واحد والبعض الاخر يعمل على مدى واسع من المسببات الامراضية (Pathak وآخرون، 2022).

اثبتت العديد من المبيدات الفطرية كفاءتها العالية في مكافحة الكثير من مسببات الأمراض الفطرية التي تسبب تعفن الجذور في محاصيل مختلفة مثل *F.oxysporum* و *R. solani* و *F. solani* (Maitloo وآخرون، 2013). كما أنه العديد من المبيدات الكيميائية التي ثبتت امكانيتها في مكافحة العديد من المسببات الأمراضية الفطرية مثل Topsin-M وVitavax وRizolex وCarbindazim وMedazim (Poussio وآخرون، 2021).

تصنف المبيدات الفطرية fungicides حسب تأثيرها على المسببات الأمراضية فقد تكون وقائية protectant او قد توقف نشاط المسبب المراض fungistaic وربما تكون قاتلة fungicidal، هناك مبيدات تخلط مع التربة لمقاومة المسببات المرضية الموجودة في التربة (Mclaughlin وآخرون، 2023).

يعتبر Beltanol مبيد وقائي جهازي وهو أحد المبيدات التي تشتق من مجموعة Quinoline يستعمل بشكل سائل او صلب في مكافحة فطريات التربة التي تسبب تعفن الجذور وأمراض الذبول الوعائي (AL-Machi, 2014).

اثبت المبيد Beltanol كفاءته العالية بسبب المادة الفعالة Hydroxyquinoline والتي تتميز بقدرتها العالية في مكافحة مدى واسع من المسببات الأمراضية الفطرية التي تصيب النبات ويعود تأثير هذا المادة إلى قدرتها في أحداث خلل في نفاذية الغشاء الخلوي وخروج محتويات الخلية وبالتالي حدوث تشوهات في الخلايا الفطرية، كذلك تعمل على تثبيط إنتاج الأجسام الحجرية وأنباتها (De sonza، 2021). إضافة إلى ذلك اثبت مبيد Beltanol قدرته في التفاعل مع النحاس وتكوين مركبات مخلبية داخل الأنسجة النباتية مما يسهل دخوله إلى المسبب المرض وبالتالي قتله او تثبيطه (الخفاجي، 2020).

على الرغم من التأثير الضار للمكافحة الكيميائية الا انها تمتاز بنتائجها السريعة وسهولة تطبيقها على بيئات مختلفة إذا تم استخدامها بالشكل الصحيح وبالجرعات الموصى بها (AL-Musawi، 2012).

2-8: المكافحة المتكاملة

تعرف المكافحة المتكاملة بأنها الدمج بين طرق مكافحة المسببات الأمراضية كالطرق الإحيائية والكيميائية وفي الأونة الاخير حظيت هذا الطريقة باهتمام كبير في مجال المكافحة (التميمي، 2019). استخدمت العوامل الإحيائية بجانب المبيدات الكيميائية للوصول إلى طريقة متكاملة للمكافحة الفعالة، ان إمكانية الدمج تعود إلى قدرة العوامل الإحيائية في تحمل تراكيز مختلفة من المبيدات الكيميائية (Anand وآخرون 2009).

تتأثر المكافحة المتكاملة بعدة عوامل منها الاستراتيجيات الخاصة بالزرع وإنتاج المحاصيل بطريقة تقلل من خسائر المحصول وتكون آمنة وأقل تأثير على البيئة وتقليل التأثير الضار الناتج من الطرق التقليدية ذلك فهي تعتبر نظاما مثاليا للكثير من المحاصيل (Dara، 2019)

اثبت Antonelli وآخرون (2013) الكفاءة العالية للمكافحة المتكاملة في السيطرة على العديد من مسببات الأمراض الفطرية المستوطنة في التربة والتي تصيب مدى واسع من المحاصيل الاقتصادية.

ان الجمع بين عامل المقاومة الإحيائي *P. fluorescence* وبعض المبيدات الكيميائية خفض من نسبة الاصابة لتعفن الجذور وقواعد السيقان لنبات الباقلاء بنسبة 100%.

وجد الليثي (1999) ان التكامل بين .*Trichoderma* spp وبعض المبيدات أدى إلى كبح نمو المسببات الامراضية مثل .*Pythium* spp والفطريات *F. oxysporum* و *F. solani* و *R. solani* المسببة لمرض تعفن جذور البازلا.

الفصل الثالث

المواد وطرق العمل

3-المواد وطرق العمل

3-1: الأجهزة والمعدات والمواد المستخدمة Equipment and Instruments

الجدول (1): جميع الأجهزة والمواد المختبرية المستخدمة

ت	اسم الجهاز	اسم الشركة (المنشا)
1	Autoclave	Hirayama(Japan)
2	Benzen Burner	Hirayama(Japan)
3	Biosafety Cabinet	Lab Tech(France)
4	Distiller	Germany
5	GC-MS 2010 Ultra	Shimadzu(Japan)
6	Incubator	Human lab(Korea)
7	Light microscope	Olympus (Japan)
8	Magnetic stirrers	Heidolph (Germany)
9	Micropipettes	Dragon(China)
10	Oven	Memmert (Germany)
11	PH-meter	HANNA(Romania)
12	Refrigetor	VESTEL(Poland)
13	Sensitive Balance	Sartorius (Germany
14	Petri dishes	Bio zek medical . (Holland)
15	Filter papers	Whatman (UK)
16	Slides and cover slides	Superestar (India)
17	Gloves	Broche (Malaysia)
18	Cotton	China
19	Flasks	Iso Lab (Germany)
20	Disposable syringes	Superestar (China)
21	Wire loop	Himedia (India)
22	Paraffin	China
23	Eppindroff 2ml	Bio neer (Korea)
24	Water bath	Memmert (Germany)

2-3: الأوساط الزرعية المستعملة في الدراسة

1-2-3: وسط أكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose agar (PDA)

حضر الوسط حسب توصيات الشركة المصنعة وذلك بإذابة 39 غم من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر المعقم في دورق زجاجي وأغلقت فوهاتها بسدادات من القطن ثم عقم الوسط بعد اذابته بصورة جيدة بجهاز المؤصدة Autoclave تحت درجة حرارة 121م° وضغط 15 باوند/انج2 لمدة 30 دقيقة وبعد انتهاء التعقيم تركت لتبرد وقبل ان يتصلب اضيف للوسط المضاد البكتيري Tetracyclin بمقدار 250 ملغم /لتر، ثم صب الوسط في اطباق بتري معقمة. استخدم هذا الوسط في تنمية وحفظ عزلات الفطريات الممرضة وعوامل المقاومة الاحيائية.

2-2-3: وسط الاكار المائي Water Ager (WA)

حضر water Agar من 20غم من Agar و1000مل من الماء المقطر وعقمت باستخدام جهاز Autoclave كما في الفقرة السابقة وبعد تبريد الوسط إضيف إليه المضاد الحيوي tetracycline بمعدل 250 ملغم/لتر ثم صب في اطباق زجاجية معقمة. استخدم هذا الوسط في اختبار القدرة الامراضية للفطريات الممرضة.

3-2-3: وسط Nutrient Agar (NA) مع Gelatin

حضر وسط NA مع Gelatin حسب طريقة Hankin وAnagnostakis (1980)، حيث حضر هذا الوسط من اذابة 20 غم NA مع 0.8 % Gelatin كما تم تحضير محلول الجيلاتين 8% تم تعقيمهم بشكل منفصل، بعد انخفاض درجة حرارتهما وقبل تصلب الوسط اضيف محلول الجيلاتين إلى NA وGelatin بمعدل 5 مل لكل 100 مل من الوسط الزرعي وتم ضبط درجة الاس الهيدروجيني pH الى 7.4 وذلك باستخدام حامض الهيدروكلوريك المخفف 1% وهيدروكسيد الصوديوم 5%. استخدم هذا الوسط لغرض الكشف عن قدرة الفطريات الممرضة على إفراز أنزيم protease.

3-2-4: وسط الكشف عن انزيم السليليز Cellulase

حضر وسط السليليز حسب طريقة Mandels وآخرون(1975) ويتكون الوسط من المواد التالية (جدول2):

جدول (2) مكونات وسط الكشف عن انزيم السليليز

اسم المادة	الكمية (غم\لتر)
Urea	0.3
MnSO4.H2O	0.16
KH2PO4	2
(NH4)2SO4	1.4
MgSO47H2O	0.3
CaCl2	0.3
FeSO4.7H2O	0.04
ZnSO4.7H2O	0.14
CoCl2	0.02
Peptone	0.8
CMC	10
Agar	20
distilled water	1 litter

بعد اذابة جميع المواد في الماء المقطر عقم الوسط بجهاز المؤصدة كما ذكر في الفقرة 3-2-1 بينما اليوريا عقمت بإمرار محلولها المائي عبر Millipor قطر 0.22 مايكرون وبعد إن برد الوسط أضيف إليه محلول اليوريا المعقم. استخدم هذا الوسط لغرض الكشف عن قدرة الفطريات الممرضة على إفراز أنزيم السليليز.

3-2-5: وسط الكشف عن انزيم Pectinase

حضر هذا الوسط حسب طريقة Hankin وAnagnostakis (1975) ويتكون الوسط من المواد الآتية (جدول3):

جدول (3) مكونات وسط الكشف عن انزيم Pectinase

اسم المادة	الكمية (غم\التر)
KH2PO4	0.4
FeSO4.7H2O	0.0007
CaCl2	2
(NH4)2SO4	2
MnSO4	1
ZnSO4	0.07
CuSO4	0.05
Na2HPO3	5
MgSO4	0.01
Yeast extract	1
Agar	20
Pectin	5

بعد اذابة جميع المواد في الماء المقطر عقم هذا الوسط بالمؤصدة Autoclave كما ذكر في الفقرة 1-2-3 وبعد انتهاء التعقيم ترك الوسط ليبرد وتم ضبط درجة الاس الهيدروجيني pH(7). استخدم هذا الوسط لغرض الكشف عن قدرة الفطريات الممرضة على إفراز أنزيم pectinase.

3-3: تحضير الكواشف

3-3-1: كاشف اليود_حامض الهيدروكلوريك HCl

حضر كاشف ايودين حامض الهيدروكلوريك (HCl-Iodine Solution) من 500 مل من 2% يوديد البوتاسيوم مع 1% يود و100 مل حامض HCl (1عياري) بدلالة وزن/حجم (Yeoh وآخرين، 1984)، استخدم هذا الكاشف للكشف عن انزيم السليليز على الاطباق الزرعية.

3-3-2: كاشف أنزيم البكتنيز Pectinases

حضر الكاشف بشكل محلول مائي لمادة Cetyl trimethyl ammonium bromide وبتركيز 1%. استخدم هذا الكاشف للكشف عن انزيم البكتنيز.

3-4: جمع العينات النباتية

تم جمع 50 عينة لجذور نبات الباقلاء المصابة بمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان والتي ظهرت عليها اعرض المرض المتمثلة بتعفنات سيقان النبات مع تلون الجذور بلون بني غامق من مناطق مختلفة من محافظة ميسان شملت مركز العمارة والمشرح وكميت من الفترة 1\12\2023 الى الفترة 1\4\2024 ووضعت بأكياس نايلون معقمة لنقلها الى المختبر وتم الاحتفاظ بها في الثلاجة على درجة حرارة 4 م° لغرض عزل وتشخيص الفطريات الممرضة في اليوم التالي.

3-5: عزل الفطريات من العينات النباتية

تم زراعة العينات في مختبر الفطريات في كلية العلوم / جامعة ميسان. بعد إزالة الاتربة من العينات غسلت بالماء الجاري لمدة نصف ساعة لإزالة بقايا الاتربة ونقلت الى أوراق ترشيح معقم لتجفيفها. قطعت العينات باستخدام مشرط معقمة الى قطع صغيرة (0.5 – 1 سم). قسمت العينات الى قسمين قسم بدون تعقيم (لعزل الفطريات الخارجية) وقسم تم تعقيمه (لعزل الفطريات الداخلية) بواسطة هايبوكلوريت الصوديوم (كلور 2%) لمدة 3 دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم ثلاثة مرات لإزالة اثار التعقيم ونقلت الى أوراق ترشيح لتجفيفها. بعد ذلك نقلت خمس قطع منها الى اطباق بتري زجاجية حاوية على وسط PDA، بمعدل طبقين لكل عينة حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25م° وبعد 5 أيام من الحضن فحصت العينات لملاحظة النمو الفطري، وبعد ظهور المستعمرات الفطرية حسبت النسبة المئوية لظهور وتردد الفطريات وفق المعادلات:

$$\text{النسبة المئوية للظهور} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها الفطر}}{\text{عدد العينات الكلية}} \times 100\%$$

$$\text{النسبة المئوية للتردد} = \frac{\text{عدد عزلات الفطر}}{\text{عدد العزلات الكلية}} \times 100\%$$

3-6: تشخيص الفطريات الممرضة

3-6-1: التشخيص المظهري

لدراسة الفطريات المعزولة وتشخيصها بشكل دقيق، تم تنقية العزلات الفطرية بواسطة تحضير مزارع جديدة على الوسط PDA، حضنت الاطباق على درجة حرارة 25م° لمدة 5 أيام للحصول على عزلات نقية من الفطريات المعزولة ثم شخصت بالاعتماد على الصفات المظهرية من حيث لون وشكل المستعمرة وخواص سطحها قاعدتها، تم دراسة الصفات المجهرية من خلال عمل شرائح زجاجية حاوية على جزء من مستعمرة فطرية وتصبيغها باستخدام صبغة اللاكتوفينول وفحصت للخيوط الفطرية والكونيدات من حيث أشكالها ابعادها وقابلتها على تكوين الابواغ الكلاميدية Chlamydospore والصفات المجهرية للغزل الفطري وشكل الأبواغ الكونيدية والحامل الكونيدي والتراكيب الأخرى التي تكونها باستعمال المجهر الضوئي على قوة تكبير (x40, x10 , x100) وذلك بالاعتماد على Parmeter وWhitny (1970). وSinclair (1982) وGarcia وآخرون (2006) وLeslie وSummerell (2006).

3-6-2: التشخيص الجزيئي

3-6-2-1: استخلاص DNA من الفطريات المعزولة

تم استخلاص الحمض النووي DNA من الفطريات المعزولة من قواعد وجذور نبات الباقلاء والمنماة على وسط (PDA) لمدة 7 أيام عند 22-25 درجة مئوية، تم استخراج الحمض النووي للفطريات باستخدام تعليمات البروتوكول التي توفرها المجموعة (Presto™ Mini gDNA Yeast Kit / Genaid / Taiwan). جدول(4) يوضح المواد المستخدمة في تضخيم الحمض النووي DNA

جدول (4): المواد المستخدمة في تضخيم DNA

Reagents	Volume µl
Master Mix	13 µl
Primer forward	3ul
Primer reverse	1 µl
DNA template (30-100ng)	4 µl
Free water	6 µl
Total	25 µl

جدول(5): تتابع القواعد النتروجينية باستخدام بادئات ITS1 وITS4

Primers	Primers Sequences	length
ITS1	5′-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3′	19 Base
ITS4	5′-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3′	2o Base

جدول (6): برنامج تضخيم الPCR للبادئات ITS1 وITS4

Step		Temp.	Time	Cycle
Initial Denaturation		95	5.00 min.	1 time
	Denaturation	95	0.30 sec.	35 cycle
	Annealing	56	0.30 sec.	
	Extension	72	1.00 min.	
Final Extension		72	10.00 min.	1 time

3-6-2-2: الترحيل الكهربائي للـ DNA لناتج PCR

اجريت التجارب الخاصة بعملية الترحيل الكهربائي حسب طريقة (1989) Sambrook وفق الخطوات التالية :-

1 - وزن 1 غم من هلام الاكاروز وتمت إذابته في 100 مل من TBE buffer ليصبح التركيز 1x

2 - تم تسخين المزيج بجهاز Microwave الى ان يذوب المزيج بصورة جيدة ثم ترك المزيج ليبرد الى درجة حرارة 40-50م. ثم اضيف اليه 0.5 مايكرولتر من صبغةEthidium bromide

3 – تم تحضر قالب الترحيل الكهربائي وربط المشط comb في احدى نهايتيه لعمل حفر داخل الاكاروز ثم صب محلول الهلام المحضر وبعدها ترك ليتصلب في درجة حرارة الغرفة ومن ثم رفع المشط والقطع المطاطية واعيد القالب لجهاز الترحيل في مكانه المخصص وغمر بمحلول TBE الى ارتفاع 2-3 ملم تقريبا.

4 - مزج 5 مايكرولتر من الـ DNA التي تم مضاعفتها في الPCR و 2مايكرولتر من صبغة Bromo Phenol Blue و ووضع المزيج في حفر الاكاروز .

5 - تم ربط اقطاب جهاز الترحيل الكهربائي الى مجهر القدرة وضبطت قوة التيار الكهربائي على 75 فولت وثم ترك الهلام حوالي 30 دقيقة ، بعد ذلك نلاحظ خروج فقاعات هوائية وهذا يدل على بدء عملية الترحيل الكهربائي .

6 – بعد تحرك الصبغة الى نهاية هلام الاكاروز تم فحص الهلام تحت الاشعة الفوق البنفسجية لملاحظة وجود ال DNA وتم تصوير النتائج باستخدام الكاميرا.

بعد عملية تضخيم منتج PCR بعملية الترحيل الكهربائي تم أرسال ناتج التضخيم الى شركة Macrogen الكورية لغرض تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية في النظم الجينية ITS1-ITS2 المستخدمة ثم مطابقتها لدى بنك الجينات الدولي NCBI وتسجيلها.

3-7-1: تحضير اللقاح الفطري للفطريات الممرضة وعاملي المقاومة الإحيائية

3-7-1: تحضير اللقاح الفطري للفطرين *Rizoctonia solani* و *Fusarium solani* وعامل المقاومة الاحيائي *Trichoderma longibrachiatum*

حضر لقاح الفطرين *R. solani* و *F. solani* وعامل المقاومة الإحيائية *T. longibrachiatum* الذي تم الحصول علية من مختبرات كلية الزراعة/جامعة ميسان حسب طريقة Dewan (1989) وذلك باستخدام بذور الدخن المحلي *Panicum miliacem L.*، إذ تم غسل البذور بصورة جيدة لأزالة الشوائب والاتربة ثم نقعت بالماء لمدة 3 ساعات. وزعت البذور في دوارق حجم 250مل بمعدل 100غم/دورق، ثم عقمت بجهاز المؤصدة Autoclave كما في فقرة 1-2-3، بعد اكتمال التعقيم تركت لتبرد ثم لقحت بمعدل خمسة أقراص (5ملم) لكل دورق من حواف المستعمرات الفطريات الممرضة الفتية وعامل المكافحة الاحيائي كل على انفراد وبعمر 7 أيام، حضنت الدوارق لمدة 14 يوم بدرجة حرارة 25م° مع مراعاة رجها كل يومين لمنع تكتلها وتوزيع اللقاح الفطرية.

3-7-2: تحضير لقاح العامل الاحيائي *Pseudomonas fluorescence*

تم الحصول على بكتيريا *P. fluorescence* من الدكتور ضياء سالم الوائلي / كلية الزراعة / قسم وقاية النبات / جامعة البصرة. تم تحضير اللقاح باستعمال وسط Nutrient Broth ووزع في دوارق زجاجية حجم 250 مل، تم تعقيم الوسط بجهاز Autoclave، حضرت سلسلة من التخافيف (10^{-1}-10^{-9}) أنابيب معقمة، زرع اللقاح البكتيري المخفف 10^{-6} ، 10^{-7} ، 10^{-8} ، 10^{-9} في اطباق زرعية حاوية على وسط NB بطريقة الانتشار لحساب العدد الكلي للمستعمرات باستخدام جهاز عد المستعمرات البكتيريا Colony counter Bacterial counter وبمعدل 1 مل لقاح /طبق حسب المعادلة التالية :

عدد البكتيريا في 1 مل = معدل عدد المستعمرات النامية × مقلوب التخفيف

وبالاعتماد على المعادلة تم استخدام التركيز 10^{-8} وحدة تكوين المستعمرة لكل مل

3-8: اختبار القدرة الامراضية للفطريات الممرضة

3-8-1: اختبار القدرة الامراضية للفطريات الممرضة في الاطباق

تم اختبار القدرة الامراضية للفطريات *F.solani* و*R.solani* المعزولة من جذور نبات الباقلاء المصابة بمرض تعفن جذور وقواعد السيقان باستخدام Water Agar (Christensenوآخرون، 1988)، زرعت بذور الباقلاء المعقمة سطحيا بالهايبوكلورات الصوديوم (كلور 2%) بواقع بذرتين لكل طبق ثم اضيف العالق الفطري (حضر من وضع 5 أقراص من المستعمرة الفطرية في 5مل من الماء المقطر المعقم) وبمعدل ثلاثة مكررات لكل عزلة فطرية مع ترك ثلاثة معاملات للمقارنة تحتوي على بذور الباقلاء ثم وضعت الاطباق في الحاضنة لمدة 7 أيام تحت درجة حرارة 25مº، وبعد سبع أيام تم حساب نسبة االمئوية للتثبيط حسب معادلة Abbot الواردة في شعبان والملاح (1993):

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

3-8-2: اختبار القدرة الأمراضية للفطريات الممرضة في الأصص

عقمت تربة مزيجية بجهاز Autoclave في حرارة 121م° وضغط 5 باوند/انج2 لمدة ساعتين ثم تركت ليوم واحد وبعدها تم تكرار العلمية في اليوم التالي وبعد أن بردت التربة وزعت على الاصص البلاستيكية (القطر 15سم والارتفاع 25سم) بواقع 1000غم من التربة لكل اصيص، تم اضافة اللقاح الفطري للفطرين *R. solani* و *F. solani* الذي تم تحضيره حسب فقرة 3-7-1 بنسبة 0.5% (وزن/وزن) وكلا على انفراد وبمعدل ثلاثة اصص لكل عزلة مع ترك ثلاثة مكررات للمقارنة والمضاف إليها بذور الدخن المعقمة فقط بنسبة 0.5%(وزن/وزن) وبعد ثلاثة أيام زرعت بذور بنات الباقلاء المعقمة سطحيا بواقع 5 بذور لكل أصيص. وبعد 45 يوم تم دراسة اعراض المرض المتمثلة بوجود تبقعات على قواعد السيقان وذبول الأوراق وحساب النسبة المئوية للإصابة بحسب الدليل المرضي التالي:

0 = الجذور سليمة

1 = تلون او تعفن المجموعة الجذري بنسبة 1-25%

2 = تلون او تعفن المجموعة الجذري بنسبة 26-50%

3 = تلون او تعفن المجموعة الجذري بنسبة 51-75%

4 =تلون او تعفن المجموعة الجذري بنسبة 76-100% وموت النبات

وحسبت شدة الإصابة لكل معاملة حسب معادلة Mckinney (1923) الواردة في الوائلي (2004).

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{مجموع عدد النباتات المصابة في كل درجة x درجة الإصابة}}{\text{عدد النباتات المفحوصة x اعلى درجة}} \times 100\%$$

$$\text{النسبة المئوية للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات في معاملة المقارنة – عدد النباتات في المعاملة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100\%$$

3-9: قياس الفعالية الانزيمية للفطريات مختبريا

تم اختبار ستة انوع من الفطريات (جدول 6) التي عزلت خلال الدراسة واختبار فعاليتها على إفراز الانزيمات على الأوساط الصلبة، وهذا الانزيمات السليليز Cellulase والبكتنيز Pectinase والبروتيز protease

3-9-1: فعالية انزيم protease activity

تم تحضير وسط انزيم protease حسب فقرة 3-2-3، صب الوسط في اطباق بلاستيكية ثم لقحت بأخذ قرص من كل مستعمرة من الفطريات الممرضة باستخدام ثاقب فليني وبعمر 7 أيام وحضنت بدرجة حرارة 25م° لمدة 5 أيام، يتم الكشف على الانزيم من خلال تكوين هالة حول المستعمرة الفطرية.

3-9-2: فعالية إنزيم السليليز Cellulase activity

تم تحضير وسط السليليز كما في الفقرة 3-2-4، صب الوسط في اطباق بلاستيكية ثم لقحت بأخذ قرص من كل مستعمرة من الفطريات الممرضة وبعمر 7 ايام، قبلَ وصول النمو إلى حافة الطبق تم إضافة كاشف السليليز بمعدل 4 مل/طبق ولمدة 3-5 دقائق ثم سكب بعدها المحلول من الطبق وتم الاستدلال على فعالية هذا الانزيم بتكوين هالة صفراء حول المستعمرة.

3-9-3: فعالية انزيم pectinase activity

تم تحضير وسط انزيم pectatelyase حسب فقرة 3-2-5، صب الوسط في اطباق بلاستيكية ثم لقحت بأخذ قرص من كل مستعمرة من الفطريات الممرضة وبعمر 7 أيام وحضنت بدرجة حرارة 25م° لمدة 5 أيام، يتم الكشف على الانزيم بعد إضافة كاشف trimethyle

ammonium bromide تم الاستدلال على فعالية هذا الانزيم بتكوين هالة شفافة حول المستعمرة.

جدول (6): الفطريات الممرضة في التجارب

ت	الفطريات الممرضة
1	***Aspergillus flaves***
2	***A. niger***
3	***Fusarium solani***
4	***Fusarium oxysporum***
5	***Macrophomina phaseolina***
6	***Rhizoctonia solani***

3-10: تقييم كفاءة عامل المقاومة الحيوية T.longibrachiatum والمبيد Beltanol على نمو الفطريات الممرضة في وسط PDA

3-10-1: أختبار الكفاءة التضادية لعامل المقاومة الاحيائية T.longibrachiatum

استعملت طريقة الزرع المزدوج لاختبار قدرة عاملي المقاومة الإحيائية *T. longibrachiatum* ، حيث قسم الطبق الحاوية على وسط PDA المعقم إلى قسمين متساويين من قاعدة الطبق، ثم لقح مركز القسم الأول من الطبق بمستعمرة قطرها 0.5 سم مأخوذة من عامل المقاومة *T. longibrachiatum* والقسم الثاني تم تلقيحه بالفطريات الممرضة (جدول 6) بمعدل ثلاثة مكررات لكل عزلة مع ترك ثلاثة مكررات تحتوي على الفطر الممرض فقط، ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25م° وبعد 5 ايام حسبت درجة التضادية وفق مقياس Bell واخرين (1982) المكونة من خمس درجات وكما يلي:

الدرجة	الوصف
1	الفطر المقاومة الاحيائية يغطي كل الطبق
2	الفطر المقاومة الاحيائية يغطي ثلثي الطبق
3	الفطر المقاومة الاحيائية والفطر الممرض يغطي كل منهما نصف الطبق
4	الفطر الممرض يغطي ثلثي الطبق
5	الفطر الممرض يغطي كل الطبق

3-10-2:اختبار الكفاءة التثبيطية للمبيد الفطري Beltanol في نمو بعض الفطريات الممرضة

استعمل المبيد Beltanol لمعرفة تأثيره في نمو الفطريات الممرضة وحسب التركيز الموصى بها، حضر الوسط الغذائي PDA وعقمت بجهاز Autoclave كما مر سابقا بعد التعقيم ترك الوسط ليبرد وقبل أن يتصلب اضيف المبيد الكيميائي وحسب التركيز الموصى بها (1مل لكل لتر) ورج بصورة جيدة بعد ذلك صبت في إطباق زرعية معقمة، بعد تصلب الأوساط لقحت باقراص من مستعمرات الفطريات الممرضة (جدول 6) بعمر 5-7 ايام وبمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة، حضنت الأطباق تحت درجة الحرارة 25م° وبعد ذلك تم قياس النمو الإشعاعي للفطريات الممرضة بأخذ معدل قطرين متعامدين لكل طبق. حسبت النسبة المئوية للتثبيط حسب معادلة Abbott الوارد في شعبان والملاح(1993) وكما يلي:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل قطر المستعمرة في المقارنة} - \text{معدل قطر المستعمرة في المعاملة}}{\text{معدل قطر المستعمرة الفطرية في المقارنة}} \times 100\%$$

11-3: اختبار كفاءة عاملي المقاومة الأحيائية *Trichoderma longibrachiatum* و*Pseudomonas fluorescens* والمبيد الفطري Beltanol والتكامل بينهما في مكافحة الفطرين *R.solani* و *F.solani* المسببه لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء في الاصص

استعملت تربة مزيجية وعقمت كما في فقرة 3-8-2، وزعت التربة المعقمة في الاصص البلاستيكية (قطرها 15سم والارتفاع 10سم) بكميات متساوية.

أضيف لقاح الفطريات الممرضة المحملة على بذور الدخن المحلية إلى جميع المعاملات بنسبة 0.5% وزن / وزن لكل اصيص إلى جميع المعاملات التي تتطلب إضافة وخلطها جيدا مع التربة مع سقي لمدة ثلاثة أيام، ثم اضيف لقاح عامل المقاومة الإحيائي إلى جميع المعاملات التي تتطلب إضافة ثم خلطت مع التربة بشكل جيد وبنسبة 0.5% (وزن/ وزن).

اما بالنسبة إلى اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* فقد تم وضع بذور الباقلاء المحلية في محلول اللقاح البكتيري لمدة 6 ساعات بعد ذلك تم زراعة هذا البذور بمعدل 4 بذور لكل اصيص في المعاملات التي تتطلب ذلك. اما بالنسبة للمبيد الفطري Beltanol فقد تم إضافته حسب التركيز الموصى بها 1مل / لتر بعد ثلاثة أيام من إضافة لقاح الفطريات الممرضة. تركت ثلاثة معاملات بدون إضافة تم استخدامها كعوامل سيطرة. نفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل معاملة وقد تضمنت التجربة المعاملات الاتية:

1. معاملة السيطرة (control)
2. معاملة الفطريات الممرضة *R.solani* و*F.solani* كلا على حدة (Fs , Rs)
3. معاملة الفطر الممرض كلا على حدة مع عامل المقاومة الاحيائي للفطر *T.longibrachiatum* (Tl+Fs وTl+Rs)
4. معاملة الفطر الممرض كلا على حدة مع عامل المقاومة الاحيائي للبكتيريا *P.fluorescens* (Pf+Rs وPf+Fs)
5. معاملة الفطر الممرض كلا على حدة + المبيد الفطري Beltanol (Bel+Rs وBel+Fs)

6. معاملة الفطر الممرض كلا على حدة مع الفطر *T.longibrachiatum* والبكتيريا *P.fluorescens* (Tl+Pf+Rs وTl+Pf+Fs)
7. معاملة الفطر الممرض كلا على حدة مع الفطر المكافح *T.longibrachiatum* والمبيد الفطري Beltanol (Tl+Bel+Rs وTl+Bel+Fs)
8. معاملة الفطر الممرض كلا على حدة مع البكتيريا *P.fluorescens* والمبيد الفطري Beltanol (Pf+Bel+Rs وPf+Bel+Fs)
9. معاملة الفطر الممرض كلا على حدة مع الفطر *T.longibrachiatum* و*P.fluorescens* والمبيد الفطري Beltanol (Tl+Pf+Bel+Rs وTl+Pf+Bel+Fs).

تم سقي النباتات وإضافة الأسمدة بالكميات المناسبة وبعد 45 يوم من الزراعة تم حساب نسبة الإصابة وشدتها في جميع المعاملات حسب المذكورة في الفقرة 3-11

الفصل الرابع
النتائج والمناقشة

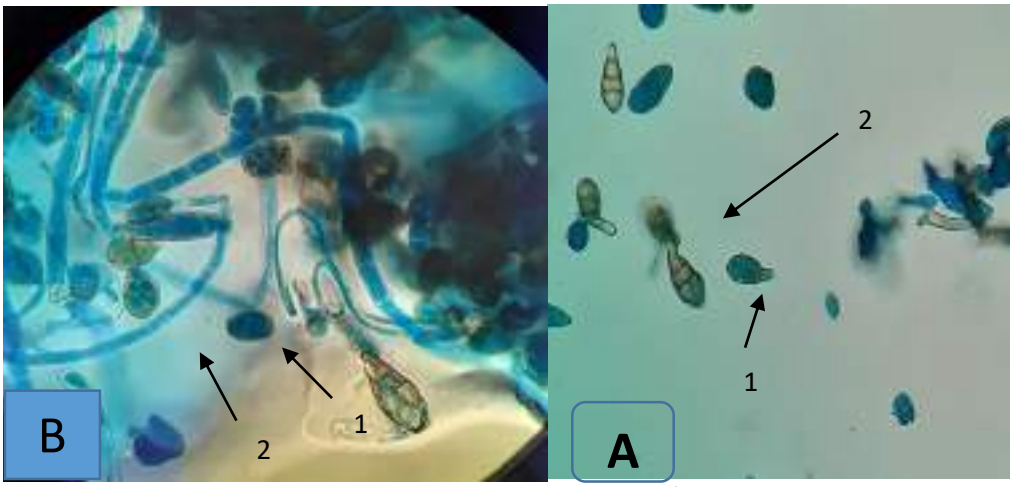
4-النتائج والمناقشة

4-1: الوصف المظهري للفطريات

***Alternaria alternata* (Fr.) Keissler., Beihefter Zum Botanischen Centtralbatt 29:433.(1912)**

المستعمرات ذات شكل صوفي، لونها بني إلى أسود، مسطحة، حوافها منتظمة، تنمو خلال 5-7 أيام. الخيوط الفطرية مقسمة، بنية سمكها 3.6 4.6 مايكرون. الحامل الكونيدي قائم، مقسم، قد يكون متفرع، ذو لون بني، أبعادة 75-85 × 4.5 3.5 مايكرون، يحمل في نهايته سلسلة مكونة من 3-8 كونيدات، بنية داكنة، أبعادها 18-30 × 6.5-15.5 مايكرون، النهاية العليا منها ضيقة وحاوية على عنق قصير، بعضها تكون أنبوب إنبات Gem Tube ، وتحتوي على حواجز طولية وعرضية . يتميز هذا النوع بوجود ابواغ كلاميدية، خلايها كروية الشكل، شفافة، قطرها 5.5-10.5 مايكرون. تطابق هذا الوصف مع ما ذكره (Thomas وآخرون، 2018).

تم الحصول على فطر *Alternaria alternate* من العينات المعقمة في جميع المناطق المدروسة.



شكل(1): الفطر *Alternaria Alternate*

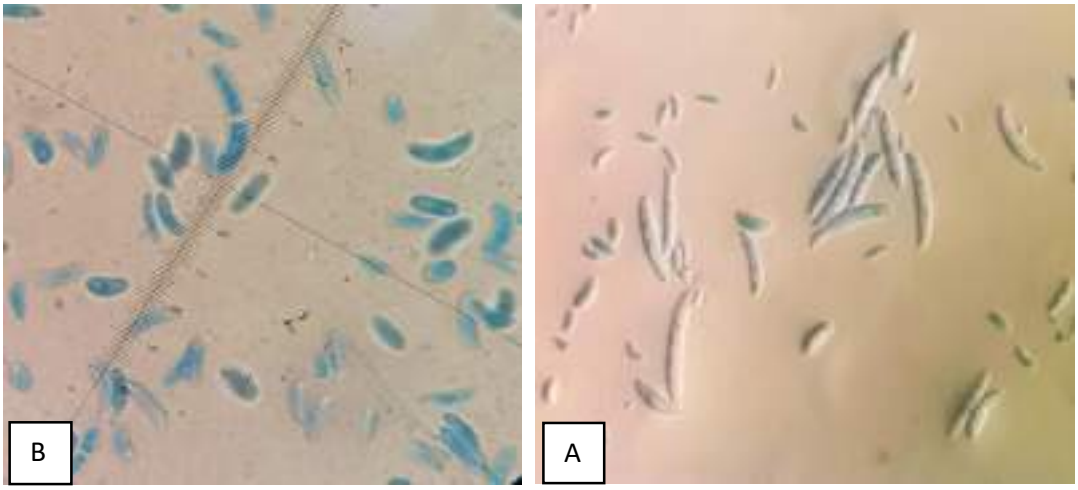
A: 1– تكوين أنبوب الانبات 2- منطقة اتصال الكونيدات

B: 1- الابواغ الكلاميدية 2- الخيط الفطري المقسم

Fusarium solani (Mart.) Sacc. Michelia 2(7):296 (1881)

اظهرت نتائج الفحص المظهري إن المستعمرات قطنية ذات حدود منتظمة لونها ابيض قد تتحول إلى اللون الوردي او الأخضر، تنمو خلال 7 ايام او أكثر، الخيوط الفطرية شفافة مقسمة، الحامل الكونيدي شفاف بسيط تحمل في نهاية الكونيديا التي توجد على نوعين، الابواغ الكبيرة Macroconidia ابعادها 4.5-6.2 x 31.5-58.5 مكونة من خلايا قمية منحنية قليلا ومعقوفة وخليتين مركزيتين أسطوانة عادة ما تتكون من 3-5 خلايا، اما الابواغ الصغيرة microconidia ابعادها 2.7-4.5 x 8.5-16.5 فتتكون من 1-2 خلية وعادة ما تكون مفردة. تم وصف هذا العزلة من قبل sacc(1881) ويطلق عليها اسم *Nectria haematococca* في حالة Telomorpha (Barreto وآخرين، 2003).

يتميز هذا النوع عن بقية الأنواع التابعة إلى جنس *Fusarium spp* من خلال عدد من الصفات المظهري والمجهرية منها أشكال وأحجام الكونيدات، فلوحظ بأن الكونيدات الكبيرة في هذا النوع أكبر من تلك الموجودة في بقية الأنواع كما يتم تمييزها على اساس معدل نموها العالي على الأوساط الزرعية (Raghu وآخرون، 2016) .



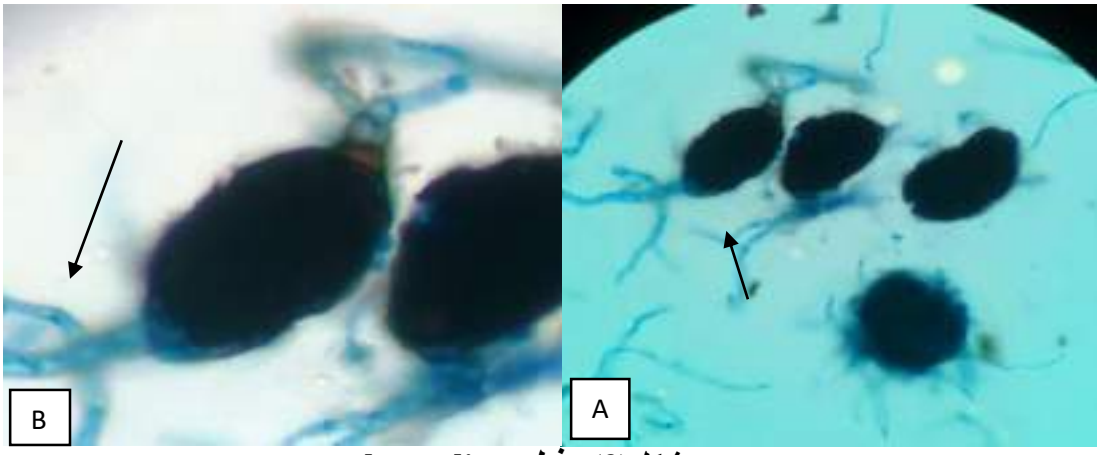
شكل (2): الفطر *F.solani*

A: الكونيدات الكبيرة

B: الكونيدات الصغيرة

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid. (1947)

المستعمرات سوداء ، الخيوط الفطرية شفافة ذات جدران رقيقة ، بنية اللون ، مقسمة ، متفرعة ، تتشكل الفروع من الخيوط الرئيسية بشكل قائم مع تخصرات عند منطة منشا التفرع ، الاجسام الحجرية عبارة عن كتلة مدمجة من الخيوط الفطرية المتصلبة ، كروية او بيضوية ، لونها بني في المستعمرات الفتية و تتحول الى اللون الأسود عند التقدم بالعمر ، متجانسة في الحجم . الحاملات الكونيدة شفافة، ضيقة قميا اقطارها 12-22×2-5 مايكرون ، الكونيدات شفافة مستطيلة /، أحادية الخلية كما موضح في الشكل (3). توافقت هذا الصفات مع ما وجده Almomani وآخرون، 2013 وLakhran وآخرون (2018) عزل هذا النوع من العينات المعقمة والغير معقمة من مركز العمارة والمشرح و العينات المعقمة فقط من كميت .



شكل(3): فطر *M.phaseolina*

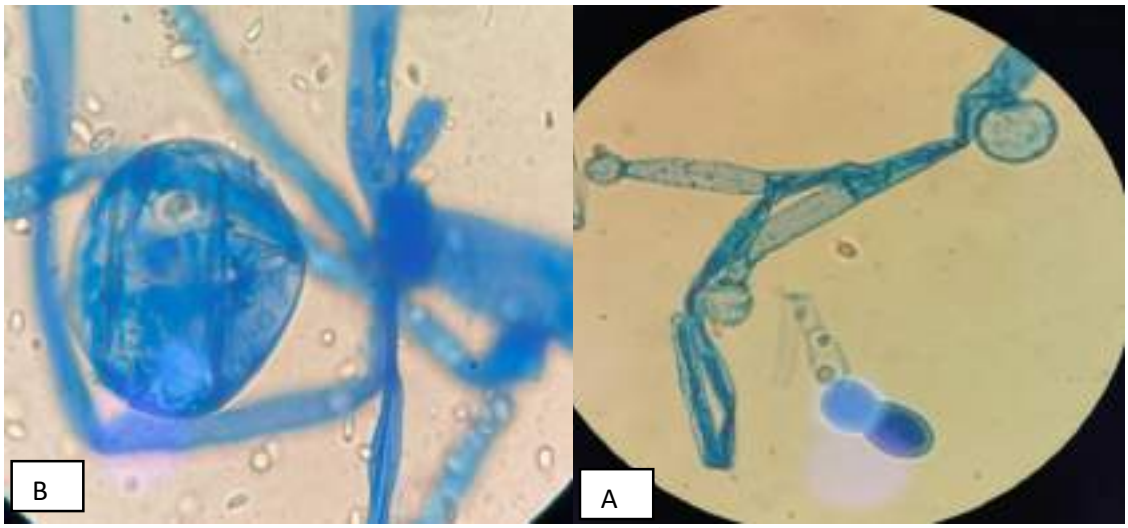
A: الاجسام الحجرية

B: تفرعات الخيط الفطري

Mucor circinelloides Tieghem (1875)

المستعمرات ذات لون اصفر في البداية تتحول إلى اللون الرمادي الفاتح عند تقدم المستعمرة في العمر، حاملة الحافظة البوغية تكون شفافة بيضوية ذات جدار أملس ابعادها 4.6-7×3.5-5 مايكرون، في الغالب متفرعة مع تفرعات طويلة مستقيمة تفرعات قصيرة تصبح دائرية (ملفوفة)، لا تكون أبواغ كلاميدية، الحوافظ البوغية يتراوح قطرها 20-80 مايكرون مع حافظة بوغية صغيرة غالبا ما تحتوي على جدار مستمر.

يمكن تمييز *M. circinelloides* عن الأنواع الأخرى من .*Mucor* spp من خلال تكوين حامل الحافظة البوغية كروية قصيرة ومتفرعة. تم عزل هذا الفطر من المناطق المعقمة والغير معقمة من منطقتين هما مركز العمارة والمشرح.



شكل (4): فطر *M.circinelloides*

A: الحامل الكونيدي

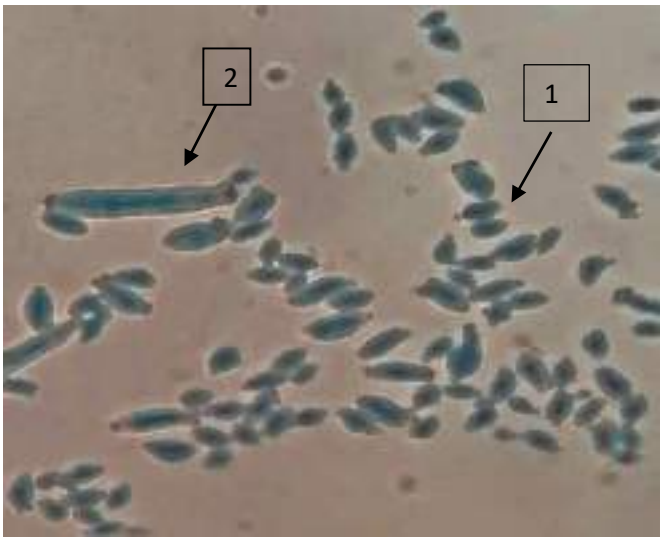
B: الحافظة البوغية

Myrothecium inundatum Tode, Fung. Mecklend. Sel. (Lüne burg) 1:25 (1790)

المستعمرات مرتفعة، لونها ابيض إلى برتقالي. الخيوط الفطرية شفافة، مقسمة، سطحها ناعم ونادرا ما تكون متفرعة على شكل حشية ثمرية تتكون من خلايا شفافة غير منتظمة إلى متساوية الاقطار قطرها 4-10 مايكرون. الحامل الكونيدي متشابكة، شفافة، متفرعة مع جدران مظلمة تحت phialides وعادة ماتكون ملساء خشنة قليلا في القاعدة. الابواغ خضراء قصيرة ذات شكل قضيبي عادة ما يكون كلا الطرفين مستديرين ابعادها 1.4×1.5-2 مايكرون، كما موضح في الشكل (5)

تطابق هذا الوصف مع ما توصل إلية Chen وآخرون (2016)، أما العالم Link فقد قدم وصفا واضحا له في عام 1809. درس Nicot وOlivry (1961) جنس *Myrothecium* كانواع شائعة في التربة، فهي كائنات مترممة توجد في التربة او تكون من المسببات الامراضية النباتية

الضعيفة (Ellis وEllis، 1985 Watanabe ; ، 1994)، تم عزل هذا النوع من من العينات المعقمة والغير معقمة من مركز العمارة والمشرح.



شكل (5): الفطر *Myrothecium inundatum*

1- الكونيدات الصغيرة 2- الكونيدات الكبيرة

Rhizoctonia solani kunh (1858)

أظهرت نتائج التصنيف المظهري لفطر *Rhizoctonia solani* مستعمرات ذات نمو متشعب ابيض اللون في المستعمرات الفتية قد تتحول إلى اللون البني الفاتح في المستعمرات المتقدمة في العمر. أما نتائج الفحص المجهري فقد بينت وجود خيوط فطرية مقسمة يتراوح لونها بين البني الفاتح او الغامق يبلغ قطرها 4.5-7.5 مايكرون، تتميز الخيوط الفطرية بوجود تفرعات جانبية قرب الحواجز ذات تخصرات عند قاعدة التفرع كما لوحظ وجود الأجسام الحجرية Sclerotia التي تكون غير منتظمة الشكل ذات لون بني متمايزة في الشكل.كما هو موضح في الشكل (6)

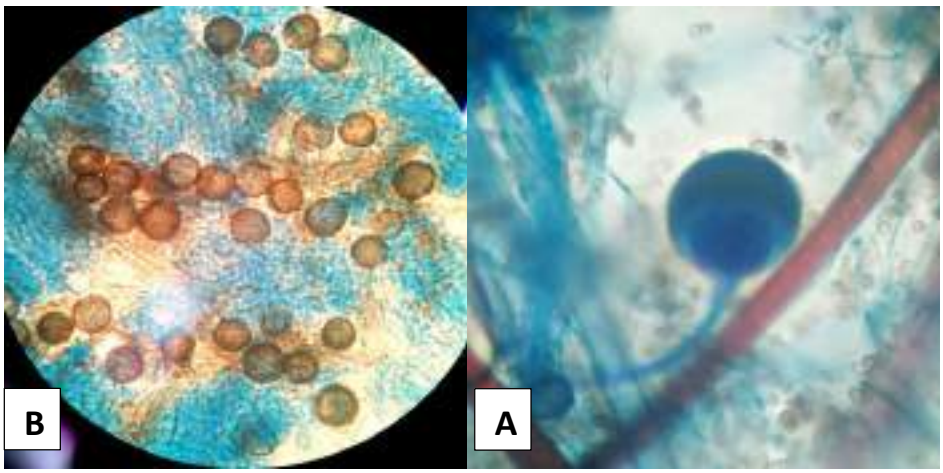
جاءت هذا النتائج متفقة مع Bradley وAjayi-Oyetundea (2018). تم عزل هذا الفطر في جميع المناطق المدروسة .

شكل (6): الفطر *R.solani*

A: الاجسام الحجرية B: الخيط الفطري المقسم

***Rhizopus homollicus* Hesselt and J.J. Ellis, Mycologia 53:419. 1961**

المستعمرات بيضاء اللون تتحول بعدها إلى اللون الرمادي مع تكوين عدد من الابواغ، الخيوط الفطرية متفرعة، حوامل الحوافظ البوغية منتظمة الشكل والحجم، كروية أو بيضوية قصيرة، ناعمة إلى شبه ناعمة، تنشأ في الغالب من الخيوط الفطرية اقطارها 5-8×4.5-7.5 مايكرون، الحوافظ البوغية كروية او شبه كروية غالبا ما تكون خالية من الطوق لكنها في بعض الأحيان تحتوي طوق صغير، الابواغ الكونيدية قليلة العدد، منفردة أو تكون في سلاسل قصيرة لونها اصفر إلى بني اقطارها 7-33×7-62 مايكرون.جاء هذا الوصف مطابقا لما ذكره (Chakrabrty وآخرون، 2024).عند عزل هذا الفطر من التربة أو مصادر بيئة أخرى لوحظ ان *R. homollicus* يشابه كثيرا *R. microsporus* في الصفات العامة خصوصا في حامل الحافظة البوغية، الحافظة البوغية وفي درجة الحرارة المثلى للنمو (Schipper، 1984).



شكل (7): فطر *R.homollicus*

A: الحامل البوغية B: الابواغ

4-2: الدراسة المسحية للفطريات

تم خلال هذا الدراسة جمع 50 عينة من قواعد السيقان وجذور النباتات المصابة بمرض تعفن قواعد السيقان والجذور من ثلاثة مناطق من محافظة ميسان هي مركز العمارة، المشرح، كميت.

لقد تم عزل وتشخيص 227 عزلة على نحو 106عزلة من الأجزاء غير المعقمة و121عزلة من الاجزاء المعقمة، وكان توزيع العينات على النحو التالي 110 عزلة من مركز العمارة والمشرح 78 عزلة وكميت 39 عزلة إذا لوحظ تفوق عدد العزلات الفطرية في موقع العمارة مقارنة الموقعين الآخرين. وبينت الدراسة ان الفطر *Rhizoctonia solani* هو أكثر الفطريات ظهورا وترددا تلاه الفطر *Fusarium solani* ثم الفطر *F.oxyosporum*، بينما اظهر الفطرين *Alternaria alternate* و*Pythium ultimum* اقل نسبة في الظهور والتردد (جدول 8).

تم تشخيص 42 عزلة من الفطر *R.solani* بنحو 33 عزلة من الأجزاء المعقمة و12 عزلة من الأجزاء غير المعقمة حيث ظهر في جميع المواقع المدروسة، وسجل أعلى نسبة ظهور إذ بلغت 86% بتردد 18.94%. يعتبر الفطر *R. solani* من أهم الأنواع الموجودة ضمن جنس *Rhizoctonia* وهو أحد المسببات الأمراضية النباتية المنقولة عن طريق التربة والذي صنف كممرض مدمر للكثير من المحاصيل المهمة اقتصاديا ومنها نبات الباقلاء (Ajayi-Oyetundea وBradley ، 2018)، حيث أوضح العديد (El-Ammari، 2017 ; Abdelaziz وآخرون،

2023) قدرة *R. solani* على التسبب في أحداث أمراض التعفن والتخميد في نبات الباقلاء حيث يؤثر على الخصائص المظهرية للنبات الناتج عن تدهور الجذر وبالتالي تقليل امتصاص الماء والمعادن. كما إشارة Sallam وآخرون (2021) إلى أن الفطر *R. solani* يمكن أن يسبب تعفن نبات الباقلاء لنسبة قد تصل إلى 80%. كما وجد الحياوي (2022) ان فطر *R. solani* هو أكثر أنواع الفطريات شيوعا في إصابة نبات الباقلاء.

تم عزل وتشخيص نوعين من جنس *Fusarium* هما الفطر *F. solani* والفطر *F.oxysporum*، إذ بلغت عدد عزلات النوع الأول 41 عزلة (26 عزلة من الأجزاء المعقمة و15 عزلة من الأجزاء الغير معقمة) حيث ظهرت في جميع المناطق المدروسة وكانت نسبة الظهور 82% بتردد 18.06%، بينما النوع الثاني تم تشخيص 28 عينة (20 عزلة من الأجزاء المعقمة و8 عزلات من الأجزاء الغير معقمة) إذ بلغت نسبة الظهور 56% بتردد 12.33%. يعتبر جنس *Fusarium* أحد المسببات الامراضية الرئيسية للعديد من النباتات ذات الأهمية الاقتصادية والزراعية، حيث يمكن لجنس *Fusarium* استعمار جذور النباتات (Ploetz، 2015)، حيث قام الباحث Yu وآخرون (2023) بتحديد اجناس فطر *Fusarium* ضمن المسببات الرئيسية المسببه لامراض تعفن الجذور في نبات الباقلاء.

كما تم تشخيص وعزل النوع من الفطر *Macrophomina phaseolina* إذ بلغت عدد العزلات 21عزلة (18 عزلة من الأجزاء المعقمة و3 عزلات من الأجزاء الغير معقمة)، ظهرت في موقعين مركز العمارة والمشرح اما كميت فقد ظهرت في الأجزاء الغير معقمة حيث كانت نسبة الظهور 42% بتردد 9.25%.

ينتشر الفطر *M.phaseolina* في جميع انحاء العالم ينتقل عن طريق التربة ويؤثر على الكثير من أنواع النباتات ويسبب امراض مختلفة مثل تعفن السيقان والجذور وتعفن الفحم ولفحة الشتلات، حيث يمكن ان تسبب خسائر كبيرة من ضمنها نبات الباقلاء (Singh وآخرون، 2021). قام العالم Abdel-lateif وآخرون (2023) بعزل *M.phaseolina* من جذور نبات الباقلاء المصابة بمرض تعفن جذور وسيقان نبات الباقلاء.

كما تم عزل وتشخيص نوعين من جنس *Aspergillus* في هذا الدراسة هما *A.flaves* و*A.niger*، إذ بلغ عدد العزلات للنوع الأول 14 عزلة (3 عزلات من الأجزاء المعقمة و11 عزلة من الأجزاء الغير معقمة) ظهرت في منطقتي المشرح وكميت في الأجزاء المعقمة والغير

معقمة أما في مركز العمارة فقد ظهرت في الأجزاء الغير معقمة فقط، حيث بلغت نسبة الظهور 28% بتردد 6.16% أما *A.niger* فقد تم عزل 17 عزلة (4 عزلات في المناطق المعقمة و13 عزلة في الأجزاء الغير معقمة) وظهرت في جميع المناطق المدروسة، إذ بلغت نسبة الظهور 34% بتردد 7.48%. يعتبر جنس *Aspergillus* من الفطريات التي تحد من إنتاجية الكثير من المحاصيل الزراعية المختلفة مما تعتبر تهديد خطير لسلامة الامن الغذائي في جميع انحاء العالم، اغلب أنواع *Aspergillus* تنتشر في غالبية البيئات الإحيائية لكن تبقى التربة هي الموطن الرئيسي لهذا الأنواع. قام Neme وآخرون (2023) بعزل الفطر *Aspergillus spp* كإحد المسببات الرئيسية لمرض تعفن قواعد السيقان والجذور لنبات الباقلاء.

أما جنس *Rhizopus* فقد تم تسجيل نوعا واحدا *Rhizopus homollicus* إذ كانت عدد العزلات 17 عزلة 15 عزلة من الأجزاء الغير معقمة وعزلتين من الأجزاء المعقمة) ظهرت في مركز العمارة والمشرح على الأجزاء المعقمة والغير معقمة أما كميت فقد ظهرت على الأجزاء الغير معقمة فقط، حيث بلغت نسبة الظهور 34% بتردد 7.48%. عزل الفطر *R. homollicus* لأول مرة من التربة في Guatemala في عام 1956 بعدها تم عزلة في الهند من عينات التربة في مساحات مختلفة (Hesseltine, 1961) ولم يتم عزلة من جذور وقواعد سيقان الباقلاء. بينما جنس *Mucor* فقد تم تسجيل نوعين *M.circinelloides* و *M.fraili* اذ بلغ عدد عزلات النوع الأول 14 عزلة ظهرت في موقعين المشرح ومركز العمارة، حيث كانت نسبة 28% بتردد 6.16% أما النوع الثاني كانت عدد العزلات 8 عزلة حيث ظهرت في جميع المناطق المدروسة في الأجزاء الغير معقمة إذ بلغت نسبة الظهور 16% بتردد 3.52%. ينتشر جنس *Mucor* على نطاق واسع في الطبيعة وتعتبر التربة الموطن الأساسي لها كذلك تتواجد على البناتات وعلى بقايا الأجزاء المتحللة من النباتات ، حيث تم تحديد *M.Circinelloides* كإحد العوامل الممرضة المسببة لتعفن الجذور من قبل Zhou وآخرون (2023) . ولم يتم تحديد هذا الفطر على قواعد وسيقان نبات الباقلاء المصابة بالتعفن. بينما *M.fragilis* تم عزلة كإحد الفطريات الممرضة التي تسبب تعفن الجذور في نباتات العائلة البقولية (Khan، 2022).

كما تم تسجيل 7 عزلات تعود الى الفطر *Myrothecium inudatum* (5 عزلات من الأجزاء الغير معقمة وعزلتين من الأجزاء المعقمة) ظهرت في موقعين فقط مركز العمارة والمشرح إذ بلغت نسبة الظهور 14% بتردد 3.08% ، يعتبر جنس *Myrothecium* احد الفطريات الرمية

التي تتواجد في التربة وتكون من المسببات الأمراضية الضعيفة للنبات كما أنها تنتج كميات وفيرة من الانزيمات المحللة والسموم الفطرية الامر الذي يجعلها كمسببات أمراضية (Chen وآخرون، 2016)، لم يتم تحديد فطر *M. inudatum* كمسبب مرضي لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان النباتات . تم تسجيل5 عزلات من نوع *Ovatospora pseudomollicella* (4عزلات من الأجزاء الغير معقمة وعزلة واحده من الأجزاء المعقمة) حيث بلغت نسبة الظهور 10% بتردد 2.20%. يعتبر الفطر *Ovatospora pseudomollicella* احد الفطريات الرمية التي تتمكن من تحلل الخشب وان قدرة هذا الأنواع على إفراز أنزيم السليليز يمكن أن يجعلها كمسبب مرضي للنباتات (Al-hussani وآخرون، 2022).

كما تم عزل وتشخيص فطر *Corynascus sepedonium* حيث بلغت عدد العزلات 6 عزلات (4 عزلات من الأجزاء الغير معقمة وعزلتين من الأجزاء المعقمة)، إذ بلغت نسبة الظهور 12% بتردد 2.64. تم عزل الفطر *Corynascus sepedonium* من العديد من جذور النباتات والتربة البحرية كما يتميز هذا الفطر على إنتاج الانزيمات المحللة لجدران الخلايا النباتية (Doveri، 2016)

أما الفطرين *Alternaria alternata* و*Pythium ultimum* فقد سجلت اقل نسبة ظهور مقارنة ببقية الأنواع الفطرية. فقد كانت نسبة الظهور 6% بتردد 1.32%، فقد سجل كلا الفطرين 3 عزلات وظهرت في الأجزاء المعقمة. يعتبر فطر*A. altenarea* من الفطريات التي تهاجم مجموعة واسعة من المنتجات الزراعية في العديد من مناطق العالم ويسبب مجموعة مختلفة من الأمراض لمحاصيل مختلفة (Troncosoو Tiznado، 2014)، تم تشخيص فطر *A. altenarea* كإحد الفطريات المنقولة بالتربة والمسببة لعفن قواعد وجذور نبات الباقلاء (Al-Jaradi وآخرون، 2018). يعتبر جنس *Pythium* من الفطريات الشائعة الانتشار في التربة ويهاجم الكثير من النباتات العشبية وخاصة في موسم البارد ويسبب أمراض التعفن، وتم عزل الفطر *Pythium ultimum* كإحد المسببات الفطرية لتعفن قواعد السيقان والجذور لنبات الباقلاء (Yu وآخرون، 2023).

جدول(8): الأنواع الفطرية المعزولة من قواعد السيقان وجذور نبات الباقلاء من ثلاث مناطق في محافظة ميسان

التردد %	الظهور %	المجموع	كميت		المشرح		مركز العمارة		الانواع المعزولة
			الجذور المعقمة	الجذور الغير معقمة	الجذور المعقمة	الجذور الغير معقمة	الجذور المعقة	الجذور غير المعقة	
1.32	6	3	1	-	1	-	1	-	*Alternaria alternata*
6.16	28	14	2	2	1	3	-	6	*Aspergillus flaves*
7.48	34	17	1	3	1	4	2	6	*A. niger*
2.64	12	6	-	-	1	1	1	3	*Corynascus sepedonium*
18.06	82	41	4	3	7	5	15	7	*Fusarium solani*
12.33	56	28	6	1	6	4	8	3	*F. oxyosporum*
9.25	42	21	4	-	5	1	9	2	*Macrophomina phaseolina*
6.16	28	14	-	-	2	3	4	5	*Mucor circinelloides*
3.52	16	8	-	2	-	2	-	4	*M.fragilis*
3.08	14	7	-	-	1	2	1	3	*Myrothecium inundatum*
2.20	10	5	-	-	-	1	1	3	*Ovatospora pseudomollicella*
1.32	6	3	1	-	2	-	-	-	*Pythium ultimum*
18.94	106	53	5	3	14	4	12	5	*Rhizoctonia solani*
7.48	34	17	-	1	1	6	1	8	*Rhizopus homollicus*
100		227	24	15	42	36	55	55	Total

3-4: التشخيص الجزيئي للفطريات الممرضة

أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي المبينة في الجدول (9) تطابق التشخيص المظهري مع التشخيص الجزيئي ل 8 أنواع فطرية التي عزلت من قواعد السيقان والجذور لنبات الباقلاء في ثلاثة مناطق لمحافظة ميسان، حيث تراوحت نسبة التطابق بين % 100-98.40 للفطريات المشخصة بعد مقارنتها مع العزلات الموجودة في بنك الجينات. أن التشخيص الجزيئي للفطريات والذي يعتمد على تتابع تسلسل القواعد النتروجينية في شريط DNA هي أكثر الطرق استخداما في الوقت الحاضر كونها تعطي تشخيصا دقيقا وواضحا للأنواع الفطرية بالمقارنة مع طرق التشخيص المظهري، كما انها تؤدي الى تجاوز الصعوبات التي تواجه الباحثين في التصنيف المظهري لانها تصنف الفطريات على أساس الصفات الوراثية المحملة على المورثات والخاصة لكل نوع من أنواع الفطريات (Weber، 2009 ; Demirel وآخرون، 2013).

جدول(9): أسماء الفطريات التي تم تشخيصها جزيئيا

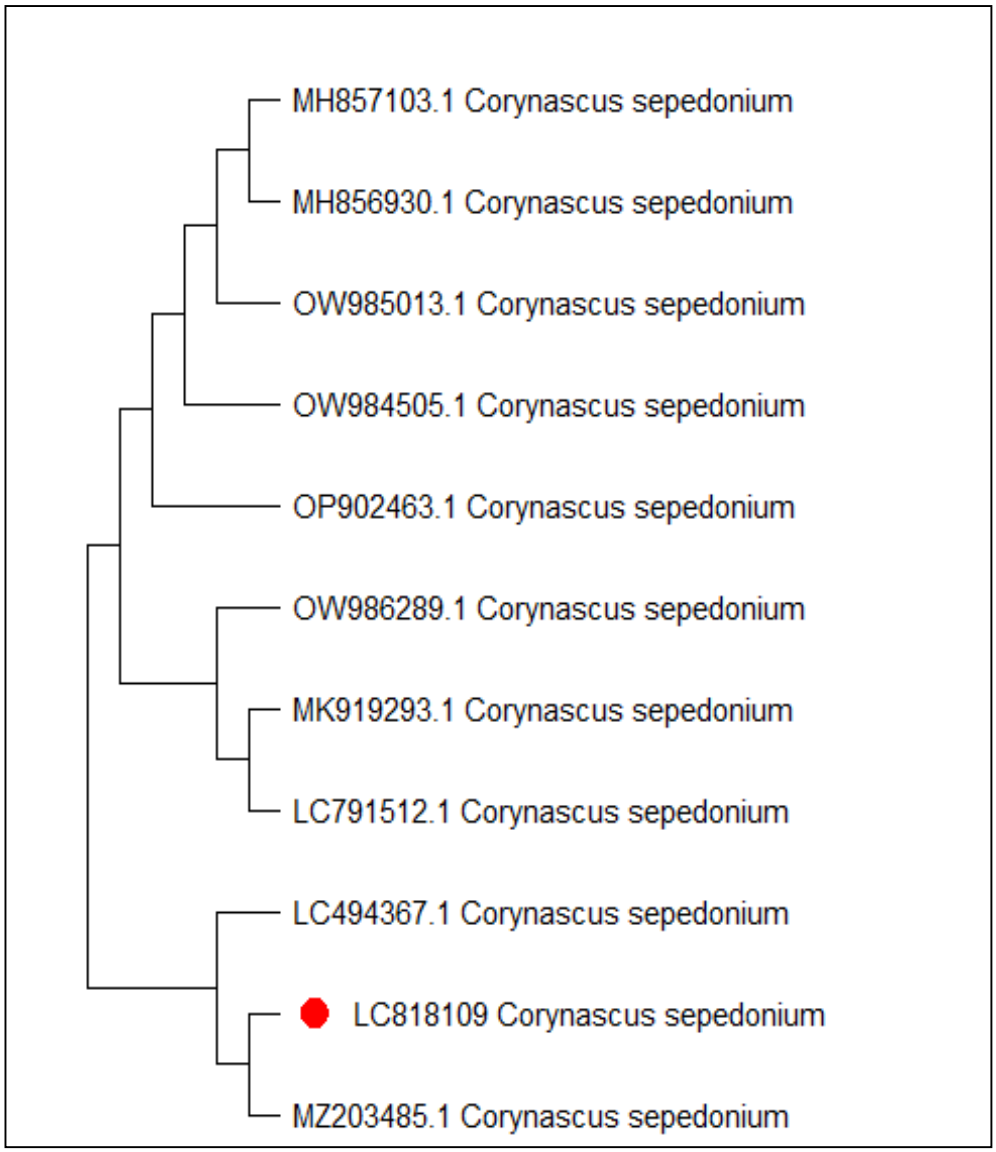
Phenotypic identification	Molecular identification	Number of references	GenBank sequence accession numbers	Percentage Identification %
Corynascus sepedonium	*C. sepedonium*	MZ203485.1	LC818109	99.05
Fusarium oxysporum	*F. oxysporum*	OP962344.1	LC818113	99.67
F. solani	*F. solani*	MN857747.1	LC818106	99.97
Macrophomina phaseolina	*M. phaseolina*	MT127390.1	LC818112	98.48
Mucor fragilis	*M. fragilis*	MT319766.1	LC818110	100
Myrothecium inundatum	*M. inundatum*	MT077159.1	LC818111	100
Ovatospora pseudomollicella	*O. pseudomollicella*	MW242833.1	LC818108	98.90
Rhizoctonia solani	*R. solani*	AF153786	LC818107	98.40

أظهرت الدراسة الحالية، العزلتين *M. inundatum* و *M. fragilis* تطابق بنسبة 100٪ مع العزلات المحفوظة في GenBank و *C. sepedonium* و *F. oxysporum* و *F. solani* أعطت أكثر من 99٪. في حين أظهرت العزله *C. sepedonium* مطابقة مع السلالة المرجعية MZ203485.1 بنسبة 100% (الشكل 8)، بينما أظهر Sharma وآخرون (2013) أن العديد من عزلات *C. sepedonium* (HSH29, FMR 5593) أعطت 98-99% مع *C. verrucosus* (MTCC 6490) التي تشكل فرعًا شقيقًا في الشجرة التطورية بينما أظهرت عزلات أخرى قيمة تمهيد بنسبة 83% تشكل فرعًا مميزًا. ان تشخيص الفطر *F.solani* و *F.oxysporum* بالاعتماد على الخصائص المظهرية يتطلب خبرة كبيرة (Rezaee وآخرون، 2018)، لذلك يتطلب استخدام طرق متقدمة ودقيقة وسريعة لتحديد أنواع *Fusarium*، وتعد PCR من أهم التقنيات لتحديد الفطريات المسببة للأمراض النباتية على المستوى الجزيئي (Yang وآخرين، 2016). اشار التحليل الجزيئي لكلا الفطرين *F. oxysporum* و*F. solani* إلى وجود اختلافات جينية واسعة النطاق بين العزلات، إضافة الى ذلك اكتشفت التمايز داخل الأنواع وإضافة النيوكليوتيدات أو إزالتها في منطقة ITS بين العزلات (Nirmaladevi وآخرون، 2016 ; Mnati وآخرون، 2021)، حيث اظهر الفطر *F. oxysporum* تشابه بنسبة 100٪ مع العديد من السلالات مثل OP962344.1 وOR879163.1 وOR879157.1 (الشكل 9)، أما الفطر *F. solani* فقد أظهرت تشابها (100٪) مع MN857747.1 وMT509567.1. كما وجد أن العزله *M. phaseolina* أنها متطابقة مع السلالات المرجعية MT127390.1. بينما وجد Mnati وآخرون (2021) أن عزلاتهم أعطت اختلافًا وراثيًا يتراوح بين 94٪ -99٪، مع العديد من العزلات المسجلة سابقًا في GenBank. لذلك، تم إرسال عزلتنا إلى GenBank (NCBI) وتسجيلها تحت رقم الوصول: LC818112.

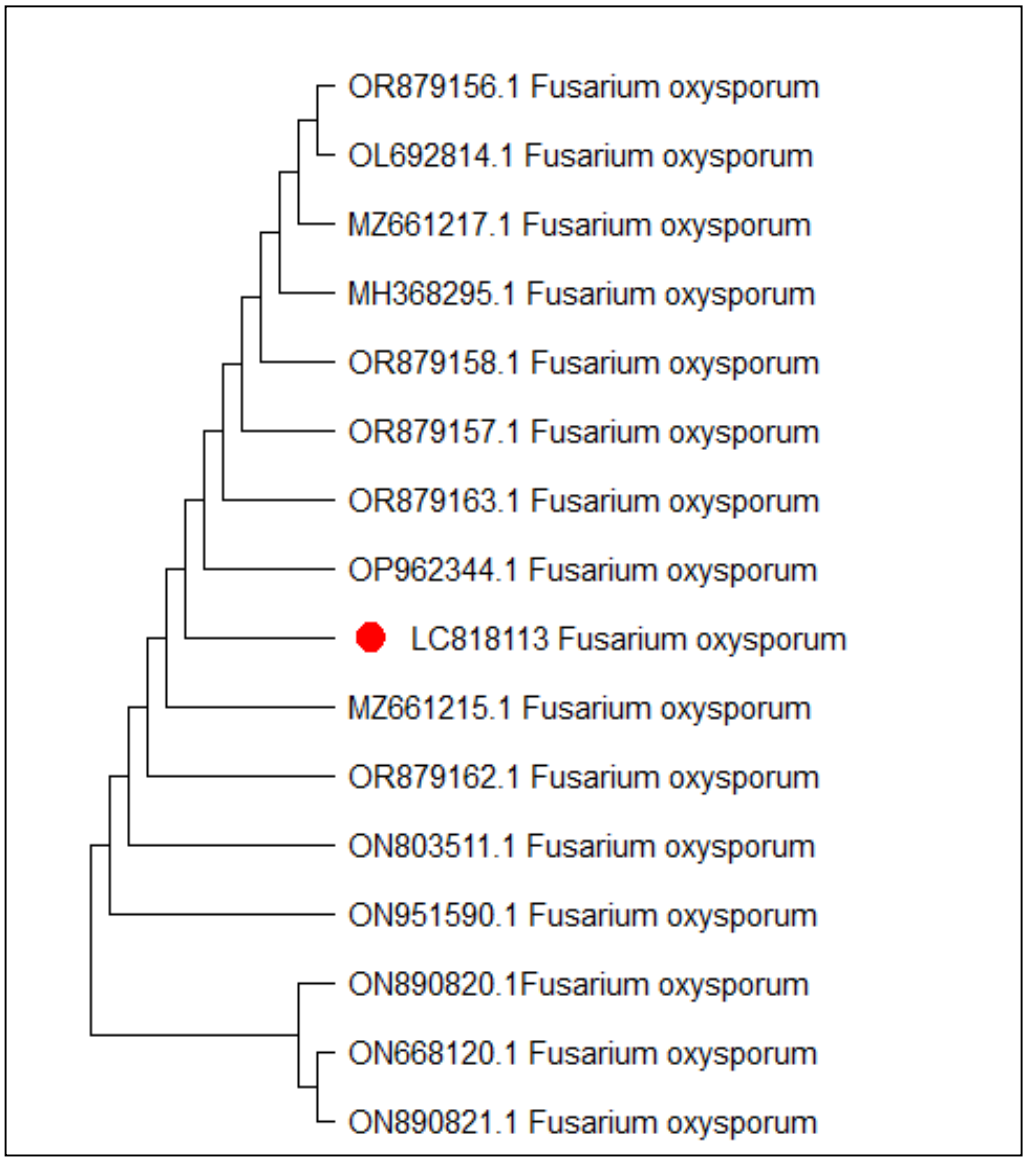
أظهر الفطر *M. fragilis* تطابق بنسبة 100٪ مع العديد من السلالات المرجعية (FJ904925.1 وMT319766 وMT319765) (الشكل 12). أن العديد من عزلات *M. fragilis* كانت متطابقة مع سلالات NCBI المرجعية. ومع ذلك، كانت عزلة *M. fragilis* الخاصة بنا متطابقة مع معظم العزلات المحفوظة في بنك الجينات، وبالتالي تتفق مع Khan وJavaid (2022). علاوة على ذلك، تعد الدراسات الجزيئية تقنية دقيقة للتمييز بين *M. fragilis* والأنواع الأخرى (Almiman، 2024)، وخاصة *M. variicolumellatus* (Walther وآخرون، 2019).

يتألف *Myrothecium* من عدة أنواع، والفطر *M. inundatum* هو النوع النموذجي (Rennbergen وkeinatth، 2020). إن الدراسات الجزيئية لمزيد من عزلات *M. inundatum* ضرورية للغاية لإزالة الشكوك حول تصنيفها. حيث وجدنا العزلة *M. inundatum* أظهرت تشابه بنسبة 100٪ مع كل من OP761606.1 وMK024176.1 (الشكل 13).

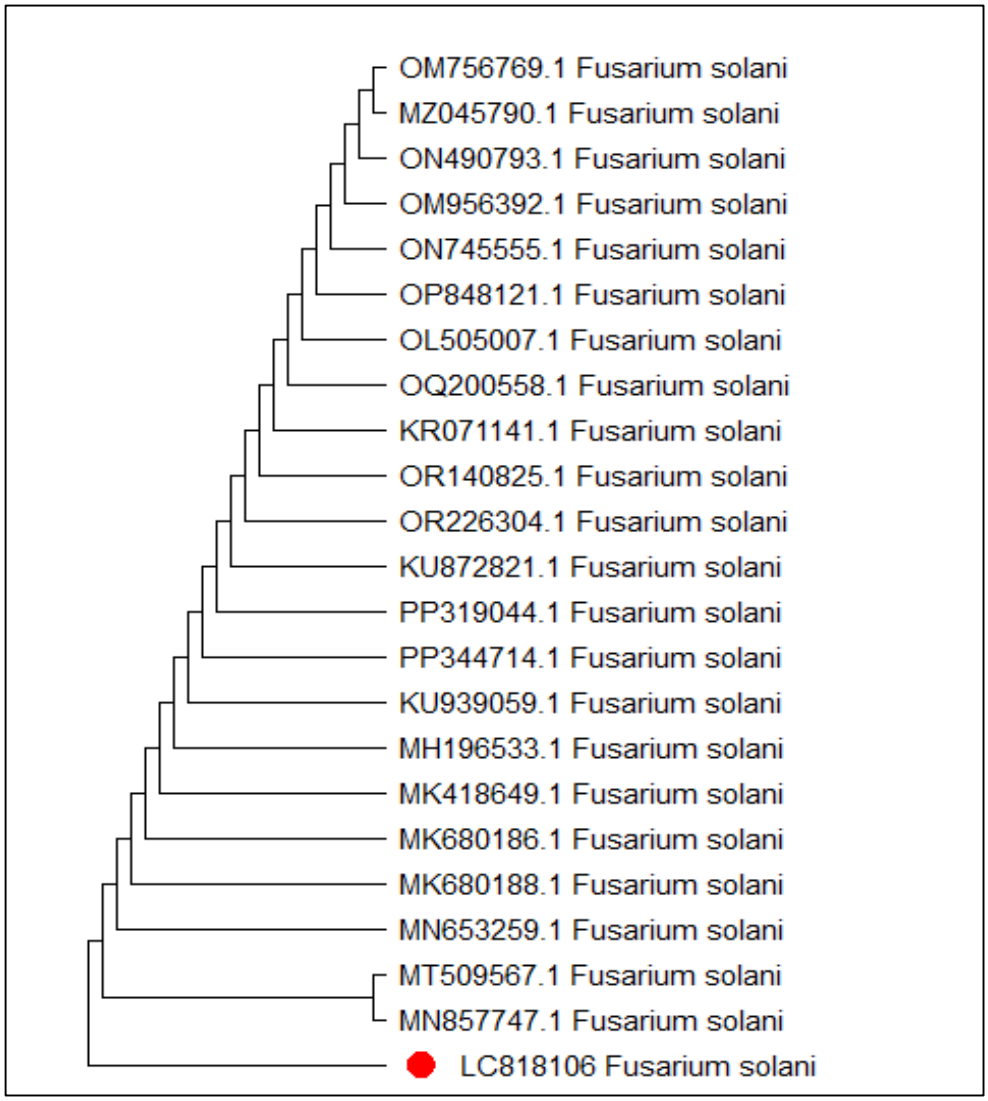
ينتمي جنس *Ovatospora* إلى عائلة Chaetomiaceae ويحتوي على تسعة أنواع (Wang وآخرون، 2024). تم تسجيل *O. pseudomollicella* لأول مرة في العراق بواسطة Alhussani وآخرون (2022). أشارت *O. pseudomollicella* إلى تشابه بنسبة 100٪ مع السلالات المرجعية MW251835.1 وMW242833.1 (الشكل 14). أخيرا، أظهرت سلالتنا *R. solani* تشابها بنسبة 100٪ مع العديد من السلالات مثل AF153786 وMH014991.1 وAF153788.1 ، وهذا النتيجة لا تتفق مع AL-Fadhal وآخرون (2019) أظهرت العديد من الدراسات أنه يمكن استخدام طريقة تفاعل البوليميراز المتسلسل وإنزيمات التقييد للتشخيص الدقيق لمسببات الأمراض مثل فطريات تعفن الجذور (Scandiani وآخرون، 2011)، إضافة إلى ذلك، استخدم بادئات عالمية لتصنيف الفطريات المختلفة. استخدام مناطق ITS1 وITS2 المحاطة بجين SrDNA 5.8 مناسبة لتحديد الأنواع الفطرية ذات أهمية البيئية(Rezaee وآخرون، 2018; Ali وآخرون 2019). يتم تحديد الأنواع الفطرية في تسلسل سانجر عن طريق إجراء بحث BLAST للتسلسل الموجود في قاعدة بيانات تسلسل GenBank الواسعة (Mukuma، 2016).



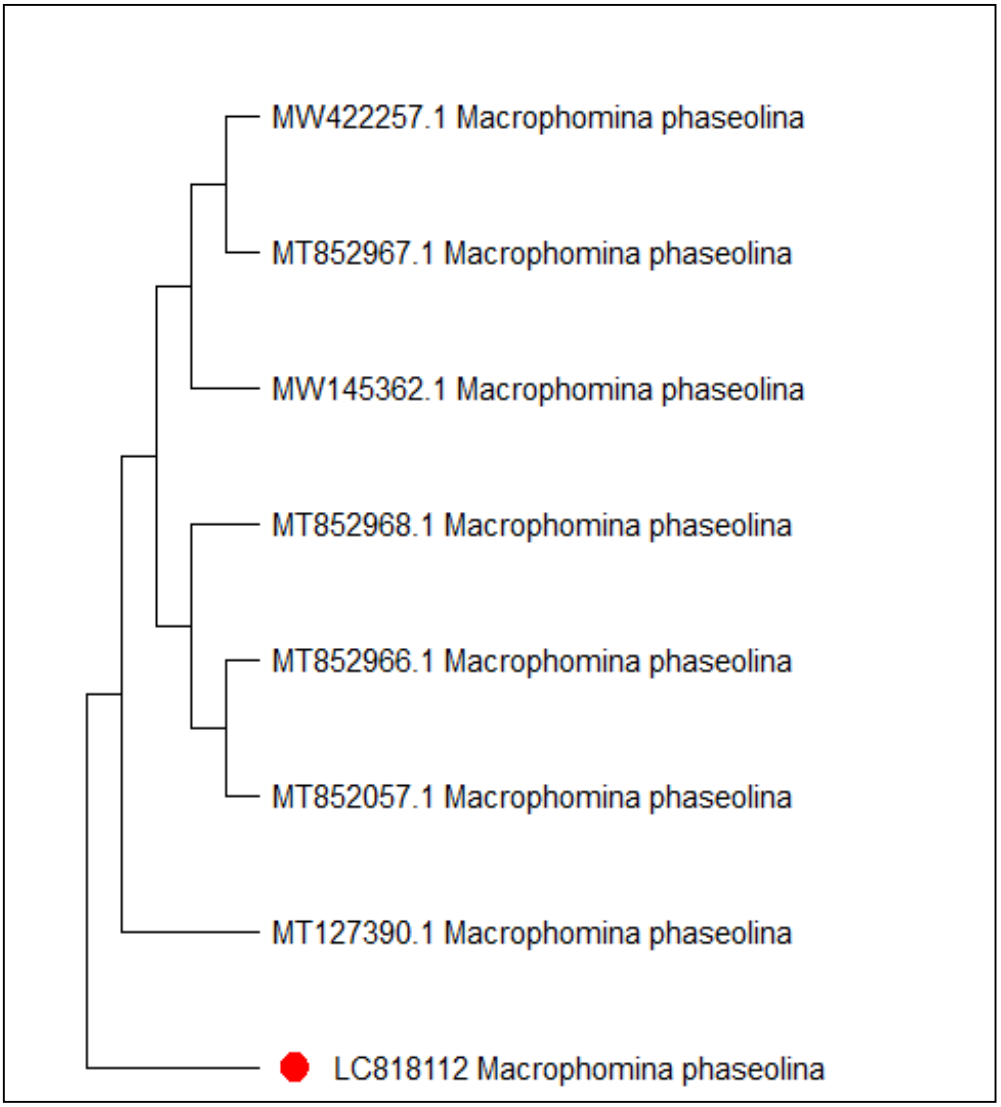
شكل(8): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Corynascus sepedonium*



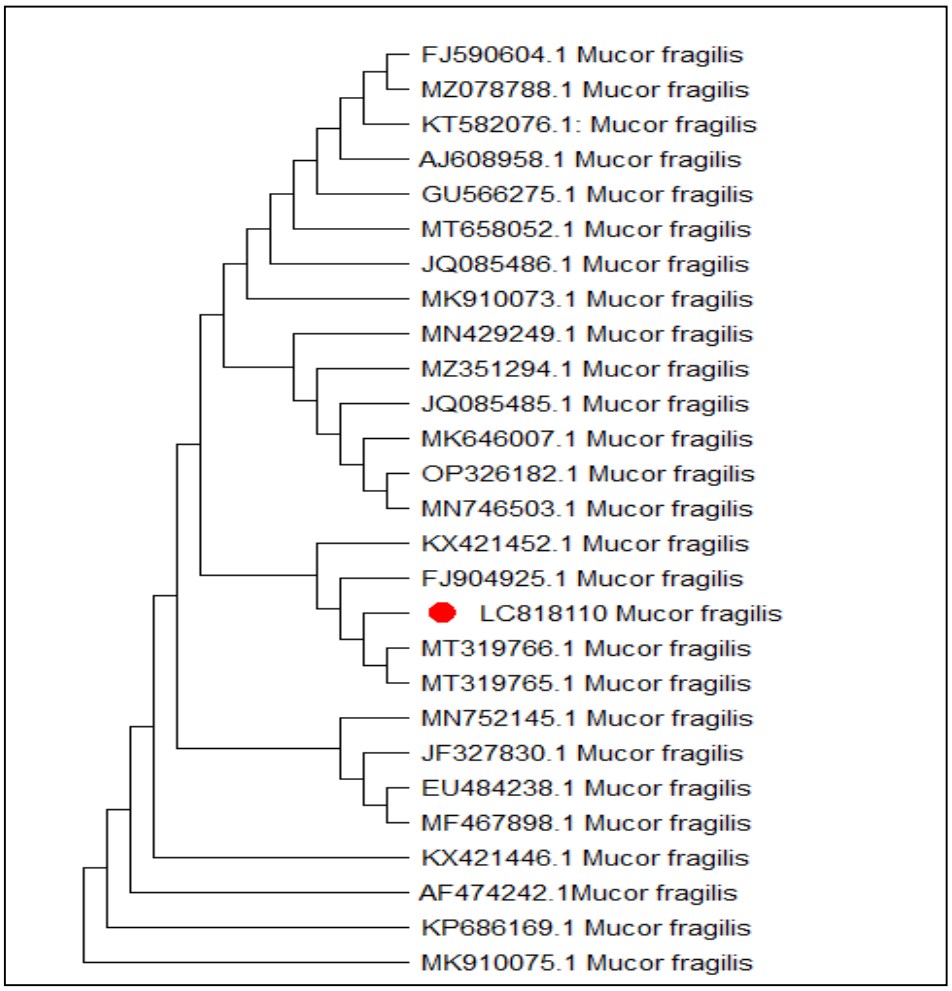
شكل(9): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Fusarium oxysporum*



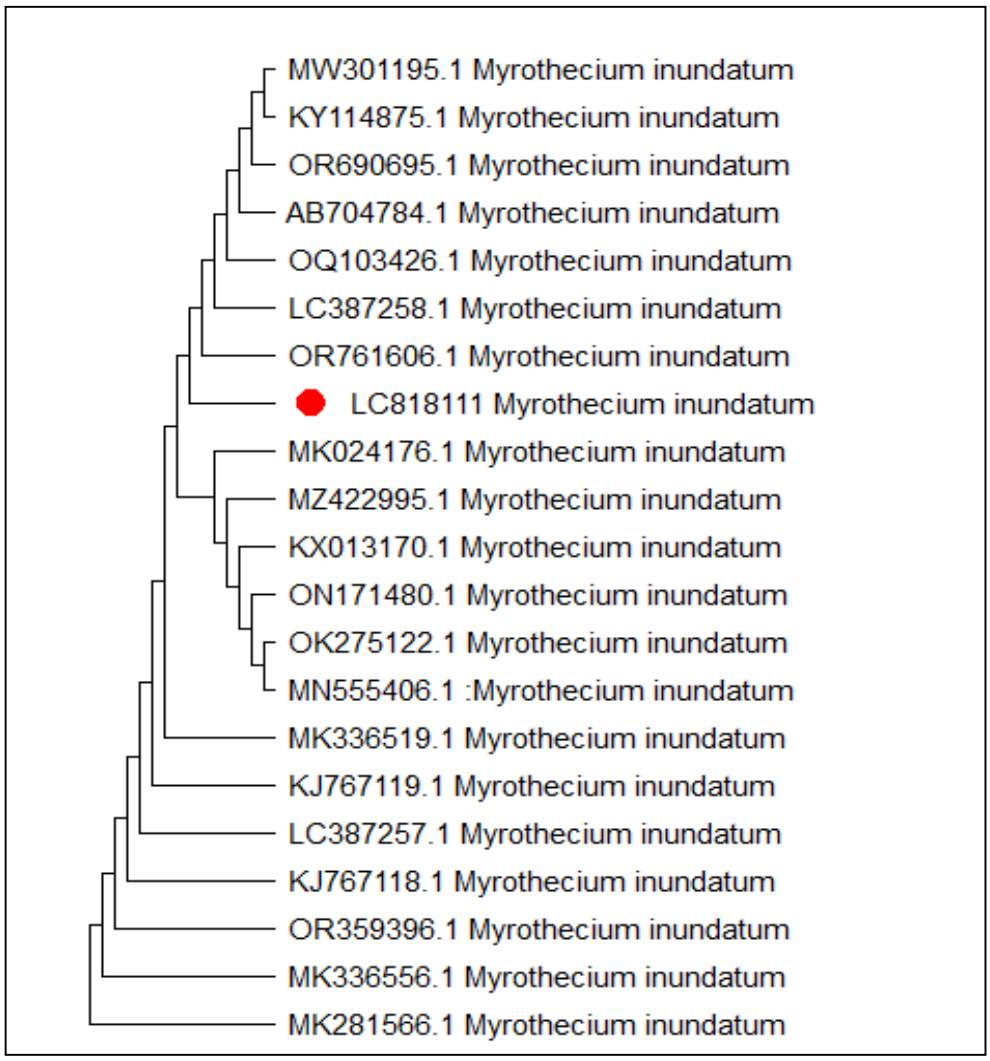
شكل(10): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Fusarium solani*



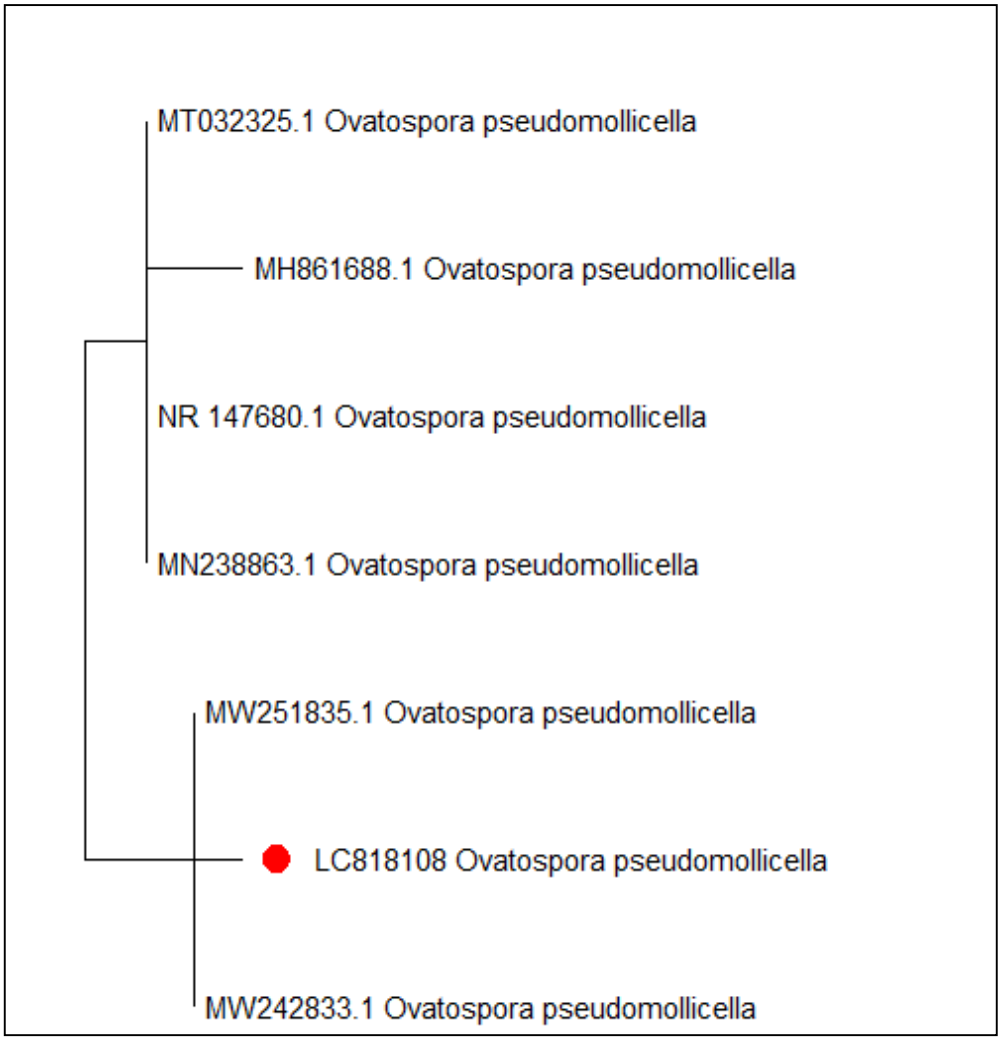
شكل(11): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Macrophomina phaseolina*



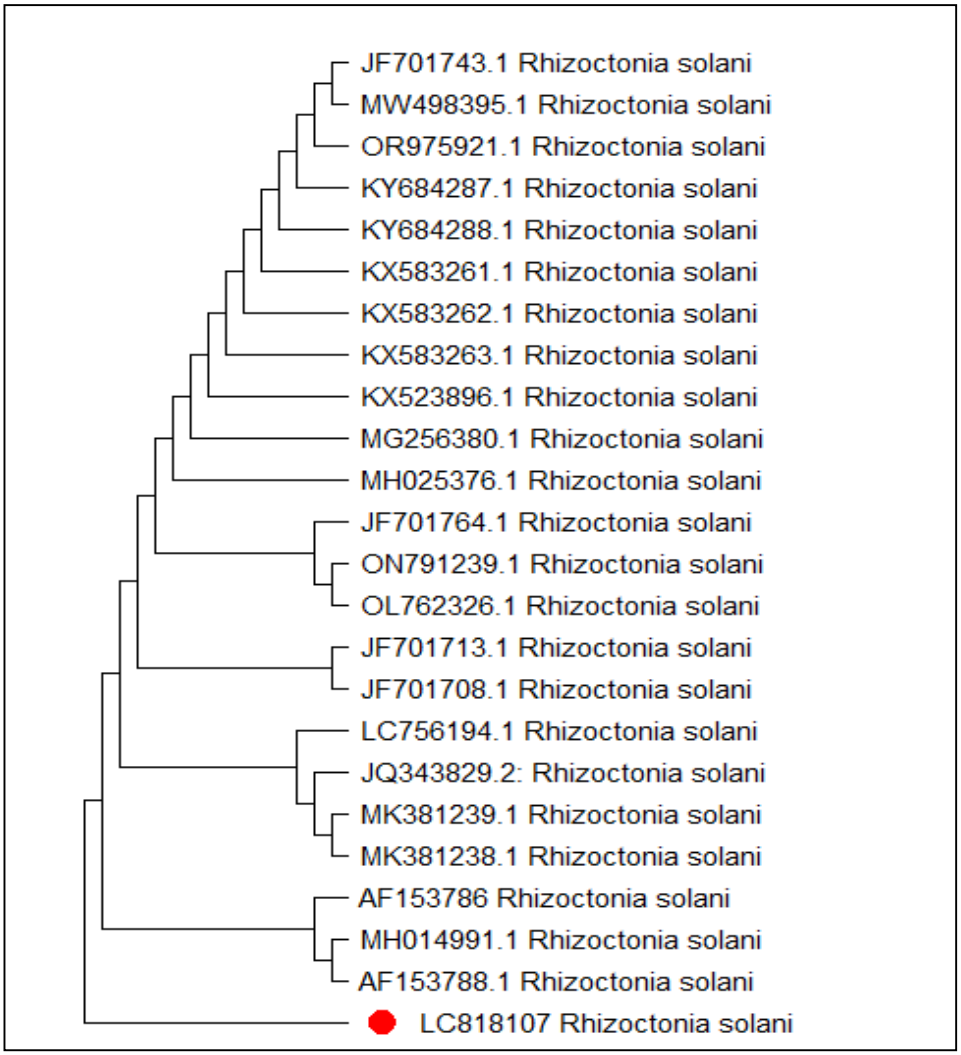
شكل(12): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Mucor fragilis*



شكل(13): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Myrothecium inundatum*



شكل(14): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Ovatospora pseudomollicella*



شكل(15): شجرة النشوء والتطور بناء على نتائج تسلسل القواعد النتروجينية *Rhizoctonia solani*

4-4: اختبار القدرة الأمراضية للفطريات الممرضة في الاطباق

أظهرت نتائج القدرة الأمراضية للفطرين *R. solani* و*F.solani* المعزولين من قواعد وجذور نبات الباقلاء المصابة بمرض تعفن قواعد السيقان والجذور على وسط Water Agar، تفوق الفطر *F. Solani* على الفطر *R. Solani* في خفض نسبة الإنبات لبذور الباقلاء، إذ بلغت نسبة التثبيط 100% *F. Solani* أما *R. Solani* فقد بلغت نسبة التثبيط 91.6%.

شكل (16): اختبار القدرة الأمراضية للفطرين *F.solani* و*R.solani* على وسط water Agar

4-5: اختبار القدرة الأمراضية للفطريات الممرضة في الاصص البلاستيكية

أظهرت نتائج القدرة الأمراضية للفطرين *R. solani* و *F.solani* في الاصص البلاستيكية والتي تم عزلها من قواعد السيقان والجذور نبات الباقلاء المصابة بمرض التعفن قابليتها في أحداث الاصابة لقواعد السيقان وجذور نبات الباقلاء، حيث بلغت النسبة المئوية للإصابة وشدة الاصابة للفطر *F.solani* والفطر *R.solani* هي 91.6% و83.3 على التوالي. تعود قدرة الفطرين في إصابة العديد من العوائل النباتية إلى طبيعتها التطفلية وإنتاجها العديد من الانزيمات والسموم التي تلعب دور مهم في تحليل جدران الخلايا النباتية واختراق انسجة قواعد السيقان والجذور والنمو داخلها مما يؤدي إلى عرقلة وصول المواد الغذائية والماء والأملاح إلى المجموع الخضري وبالتالي تثبيط نمو وانتاجية النبات (الغزالي، 2022 ; المشهداني، 2022).

كما أوضح Perincherry وأخرين (2019) سبب اختلاف النسبة المئوية للإصابة وشدة الإصابة بين المسببات الفطرية يعود إلى نوعية وكمية الانزيمات والسموم التي تنتجها هذا الفطريات والتي تعمل على أضعاف إلية الدفاع في النبات. ان القابلية العالية لفطر *Fusarium* spp. في الإصابة يعود إلى قابليتها العالية على إفراز مواد ايضية سامة مثبطة لنمو البنات إضافة إلى الانزيمات التي تحلل البكتين والسموم التي تزيد من خطر الإصابة، إضافة إلى طبيعته التطفلية والسموم والانزيمات المحللة لجدران الخلايا التي ينتجها هذا الفطر مما يسمح لها الدخول والنمو داخل الأنسجة الوعائية مما يسبب عرقلة في وصول الماء والأملاح للإجزاء الهوائية للنبات (دخيل، 2021). يعتبر الفطر *R. solani* من الفطريات الأكثر إصابة وامراضية لجذور نبات الباقلاء بسبب قدرتة العالية على افراز الكثير من النواتج الايضية ذات الكفائة العالية في الإصابة ومن ضمنها الانزيمات وهذا ما اكدت عليه دراسات عديدة ومنها ما توصل إليه Abdelrhim وآخرون، (2023) حيث أوضح قابلية بعض عزلات *R.solani* على انتاج انزيمي السليليز والبكتينيز والبروتيز.

4-6: اختبار الفعالية الانزيمية للفطريات الممرضة

تم اختيار قابلية 6 انواع من الفطريات المعزولة من جذور وسيقان النباتات المصابة بتعفن السيقان والجذور أثناء الدراسة لقياس فعاليتها الانزيمية خارج الخلويه Exocellular Enzymes على الأوساط الصلبة (جدول 10) ظهرت النتائج ان جميع الفطريات المدروسة لها القابلية على

إفراز إنزيم السليليز وإنزيم البروتيز بينما ظهرت تفاوتاً في مقدرتها على انتاج إنزيم البكتنيز (شكل 18,17, 19) .

بينت النتائج قابلية *R.solani* و *M. macrophomina* على افرازها جميع الإنزيمات المدروسة بينهما *F.solani* و*F.oxyosporum* لم يعطي كشفا موجب الإنزيم البكتنيز

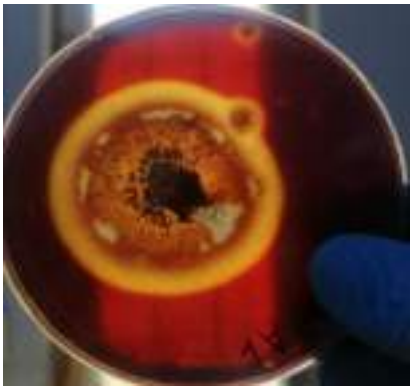
وعند الكشف عن تلك الإنزيمات وقياس الفعالية الانزيمية للفطريات المعرضة ظهر *F.solani* اعلى نشاط إنزيمية لانزيم السليليز اذ بلغ 75 ملم تلاه الفطر *A. niger* و *M. macrophomina* و *F. oxysporum* حيث بلغ النشاط الإنزيمي 64 و62 و61 ملم على التوالي في حين اظهر *R.solani* اقل نشاط إنزيمي حيث بلغ 25 ملم أما إنزيم البكتنيز فقد أعطى الفطر *A.flaves* اعلى نشاط انزيمي اذ بلغ نشاطه 42 ملم تلاه الفطريات *M. phaseolina* و*R.solani* و*A.niger* اذ بلغ نشاطهم 40.5 ملم و32 ملم و28 ملم على التوالي وبينما الفطر *F.solani* والفطر *F. oxysporum* فلم يظهر أي نشاط إنزيمي لانزيم البكتنيز. وعند قياس الفعالية الانزيمية لانزيم البروتيز فقد اوجد ان جميع الفطريات أعطت كشفا موجبا لهذا الانزيم اذ اعطى الفطر *A.niger* والفطر *R.solani* اعلى نشاط انزيمي اذ بلغ نشاطهم 80 ملم لكليهما.

جدول(10): الفعالية الأنزيمية وأقطار المستعمرات (ملم) للفطريات المعزولة خلال الدراسة

cellulase		pectinase		Protease		الفطر
ف أ	ق م	ف أ	ق م	ف أ	ق م	
49	43	42	34	80	67	*A.flaves*
64	56	27	23	77.5	66	*A.niger*
61	58	-	-	73.5	50	*F.oxysporum*
75	55.5	-	-	70.5	41.5	*F.solani*
62	58	40.5	33	70.5	49.5	*M.phaseolina*
25	22	32	21	80	59	*R.solani*

ق م: تمثل قطر المستعمرة (ملم) للفطريات المختبرة.

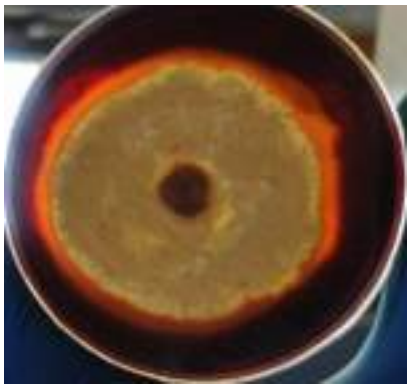
ف أ: تمثل الفعالية الأنزيمية (ملم)



R.solani

F.solani

F.oxysporum



M.phaseolina

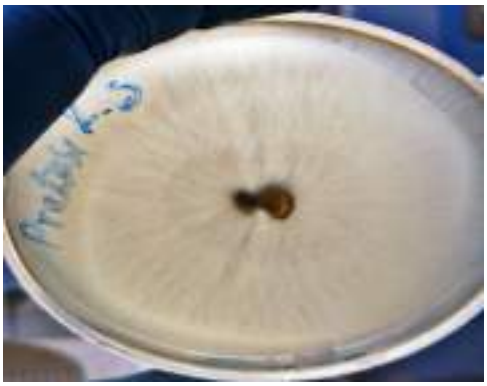
A.flaves

A.niger

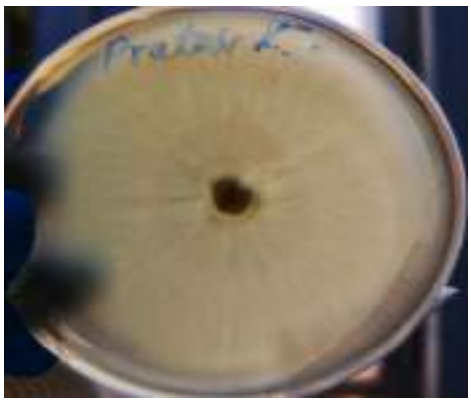
شكل (17): قابلية افراز انزيم Cellulase بواسطة بعض الفطريات الممرضة

R.solani

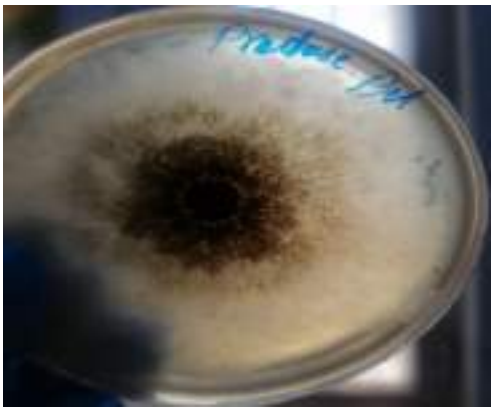
F.solani



F.oxysporum



M.phaseolina

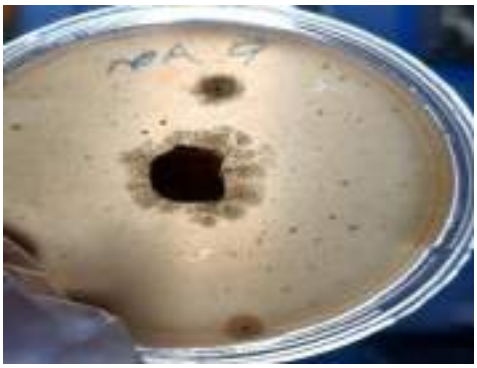


A.flaves

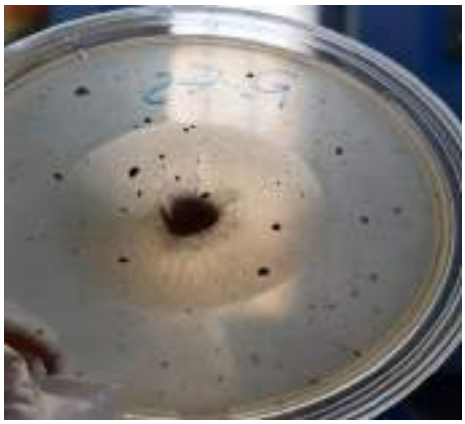
A.niger

شكل (18): قابلية افراز انزيم protease بواسطة بعض الفطريات الممرضة

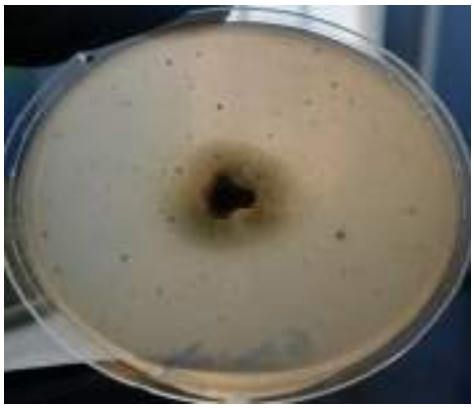
R.solani



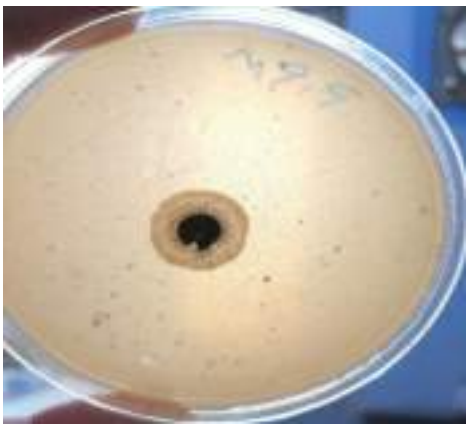
F.solani



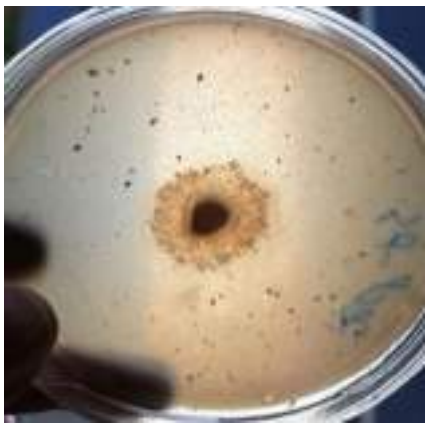
F.oxysporum



M.phaseolin



A.flaves



A.niger

شكل (19): قابلية افراز انزيم pectinase بواسطة بعض الفطريات الممرضة

اوضحت الكثير من الدراسات قدرة الفطريات الممرضة التي تصيب جذور النباتات وخصوصا جذور نبات الباقلاء على افراز الكثير من الانزيمات التي تعمل على تحليل جدران ومحتويات خلايا الجذور (Gawade وآخرون، 2017). ووجد ان هناك علاقة موجبة بين شدة إمراضيه الفطر او نسبة الإصابة العالية له وبين افراز انزيمات المحللة ومنها السليليز والبكتينيز والبروتيز (Mezzomo وآخرون، 2019) حيث وجد ان لها دور مهم في أحداث الاصابة لأنها تعمل على تحطيم جدران خلايا النبات وبالتالي تتمكن الخيوط الفطرية من غزو انسجته (Araceli واخرون، 2016 ; Bandare وآخرون، 2018).

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إلية المادح (2013) حيث أوضح قابلية بعض عزلات *R.solani* على انتاج انزيم السليليز والبكتنيز، كما أوضح Mondal وآخرون (2013) قابلية *R.solani* في انتاج انزيم البروتيز. بينما لوحظ وجود اختلافات في قابلية عزلات الفطر *R.solani* على افراز الكثير من الانزيمات و منها السليليز وقد تكون بكميات قليلة (Misra وآخرون، 2023).

كما اتفقت نتائج القدرة الانزيمية لفطر *Fusarium* مع ما توصل إليه Singh (2011) الذي بين قابلية الفطرين *F.solani* و*F.oxysporum* في انتاج انزيم السليليز الذي يعمل على تحطيم جدران الخلايا النباتية، كما أوضح Lozovaya وآخرون (2006) ان الفطر .*Fusarium* spp يفرز عدد من الانزيمات من ضمنها البروتيز والتي لها تأثير مباشر في عملية اختراق الانسجة النباتية، بينما أوضح الباحثين Purnchandra وSaritha (2015) قابلية جنس *Fusarium* على انتاج انزيم البكتنيز الذي يعمل على تحليل مادة البكتين التي تعتبر المكونات الأساسية لجدار الخلية النباتية. ووجد ان أنواع كثيرة من جنس *Fusarium* انتجت كميات كبيرة كم انزيمي البكتينيز والبروتيز ادت الى تحطيم جدران خلايا الجذور (Dendouga وآخرون، 2016) . ووجد Dehghanpour-Farashah وآخرون (2019) ان جميع عزلات *Fusarium* كان لها القابلية على افراز انزيمي السليليز والبكتينيز وأشاروا الى وجود علاقة موجبة بين تحطم جدران الخلايا النباتية وامراضية تلك العزلات ، مما يجعل الخيوط الفطرية قادرة على اختراق الانسجة الداخلية للنبات المصاب. ولوحظ ان الفطر *F.oxysporum* له قدرة كبيرة على انتاج انزيم البكتينيز عندما يكون فطر داخلي (Sunitha وآخرون، 2013). وأشار Noureddine وآخرون (2014) الى وجود اختلاف كبيرة بين عزلات مختلفة لهذا الفطر عزلت من مناطق مختلفة في قابليتها على افراز انزيم البكتينيز فلوحظ ان بعض العزلات لا تمتلك القدرة على افراز

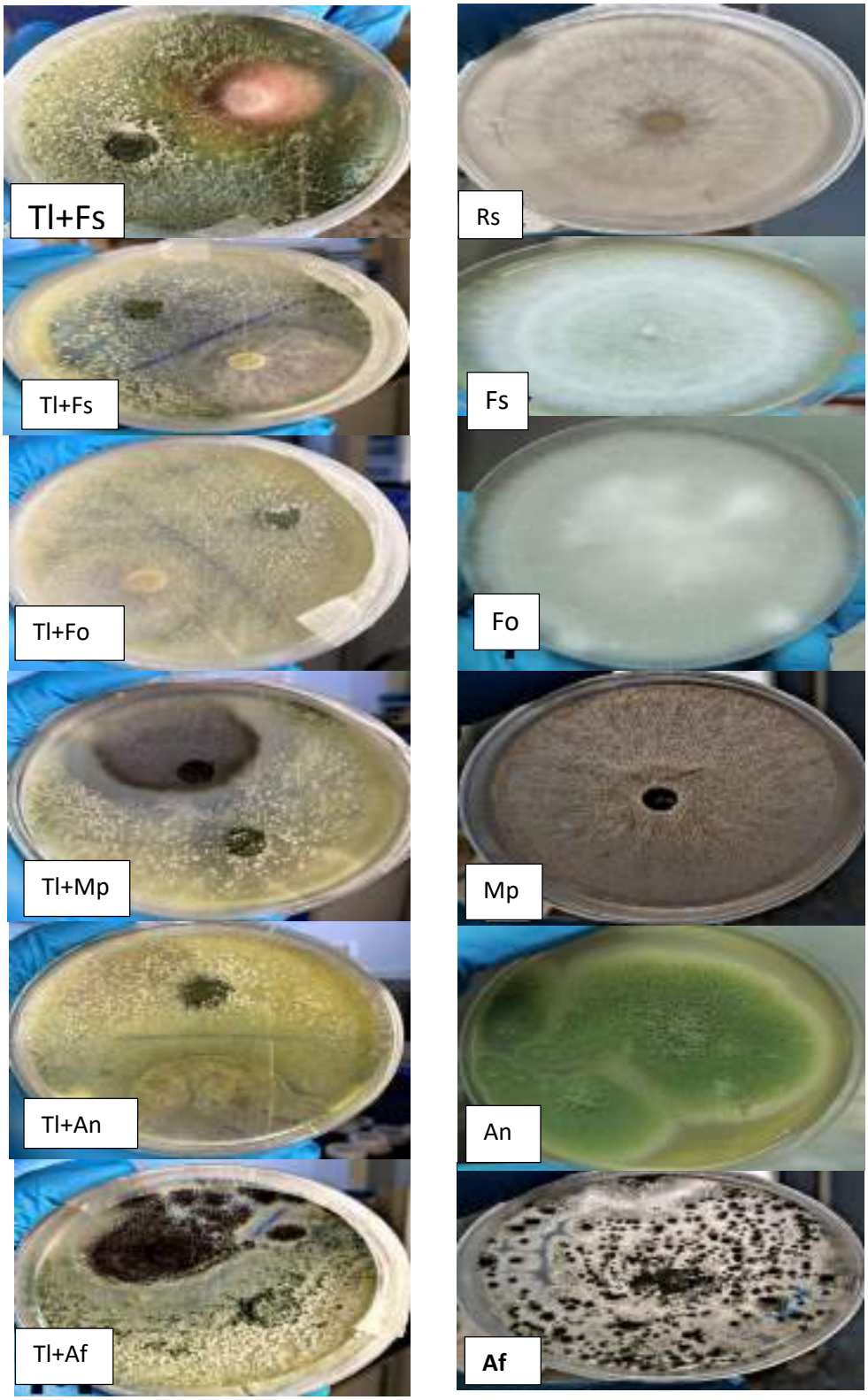
هذا الانزيم. من جهة أخرى وجد ان العزلات المختلفة للفطر *F. solani* أظهرت أيضا قابلية مختلفة في افراز انزيمات مختلفة من ضمنها السليليز و البكتينيز و البروتيز (Hussein وآخرون، 2020) وقد يعود سبب هذا الاختلافات الى ضراوة العزلة فالعزلة شديدة الضراوة تمتلك قابلية كبيرة على افراز الانزيمات المحللة (Noureddine وآخرون، 2014) او يعود الى تأثير البيئة او نوع النبات ومقاومته (EL-Sayed وآخرون 2020) ، او بسبب التغايرات الجينية او تأثير بعض المواد الموجودة في بيئة هذه الفطريات ومن ضمنها المركبات الكيميائية التي تفرزها الاحياء المجهرية الأخرى كالفطريات والبكتيريا (Zhao وآخرون، 2024 ; Rhouma وآخرون، 2024) . وهذا يتفق مع دراسة Mezzomo وآخرون، 2019 الذين أشاروا الى ان عزلات عديدة للفطرين *F. solani* و*F. oxysporum* أظهرت اختلافات كبيرة في قابليتها على افراز الانزيمات المحللة للأنسجة النباتية والتي من ضمنها السليليز والبكتينيز.

4-7: اختبار التضادية بين عامل المقاومة الإحيائية *Trichoderma longibrachiatum* ضد الفطريات الممرضة في الاطباق

أظهرت نتائج الزرع المزدوج إلى قدرة الفطر الإحيائي *T. longibrachiatum* على تثبيط الفطريات الممرضة إذ بلغت درجة التضادية 1 حسب مقياس Bell وآخرون (1982) عند اختبار القدرة التضادية لعامل المقاومة الإحيائي *T. longibrachiatum* ضد *R. solani* و *F. solani* و*F.oxyosporum* ودرجة 2 بين عامل المقاومة الإحيائي *T. longibrachiatum* والفطر *M. macrophomina* و*A.flaves* و*A.niger*. (شكل 20)

جاءت هذا النتائج متفقة مع العديد من الدراسات حول المقدرة التضادية العالية لعامل المقاومة الأحيائي *T. longibrachiatum* ضد العديد من الفطريات الممرضة التي تسبب تعفن الجذور (Meena وآخرون 2017 وSridharan وآخرون 2020 والعبادي، 2020). تعود الكفاءة التضادية لعامل المقاومة الإحيائي *T. longibrachiatum* ضد الفطريات الممرضة إلى امتلاكها العديد من الآليات التى تزيد من تثبيط نمو الفطريات الممرضة منها التطفل الفطري mycoparasitism والتنافس على المواد الغذائية إضافة إلى إنتاجها العديد من المضادات الحيوية التي تعزز القدرة الدفاعية للنبات مثل Gliotoxin وViriden كما أنها تفرز العديد من الانزيمات المحللة لجدران الخلايا الفطرية مثل Chitinase وB-1,3,3-gluconase وCellulase وProtease. (Ahmed، 2013 ; Erdogan وAl-Tinok، 2015 ; Puyam، 2016).

وجد ان الفطر *T. longibrachiatum* أظهر تضادية عالية تجاه الفطر *R. solani* حيث أنه قادر على افراز عدد من الانزيمات من ضمنها البكتينيز ولوحظ له القابلية على أذابة الفسفور وإنتاج الكثير من المركبات من ضمنها الاندول استك اسد (indole acetic acid IAA) ومادة siderophores وهذه المواد لها أثر كبير في زيادة نمو النبات (Sallam وآخرون، 2021)، كما وجد الحياوي 2022 تفوق فطر *T. longibrachiatum* معنويا على فطر *T. harzianum* في تثبيط نمو فطر *R. solani* على وسط PDA والذي تم عزلة من قواعد وجذور نبات الباقلاء. كما أظهر هذا الفطر قدرة تطفلية عالية ضد *F. oxysporum* (Coskutuna وOzer 2008). كذلك أثبت Abdelrahman وآخرون (2016) إلى فعالية هذا الفطر في كبح الأمراض الفطرية في العديد من المحاصيل وتحفيز قابلية النبات الدفاعية.



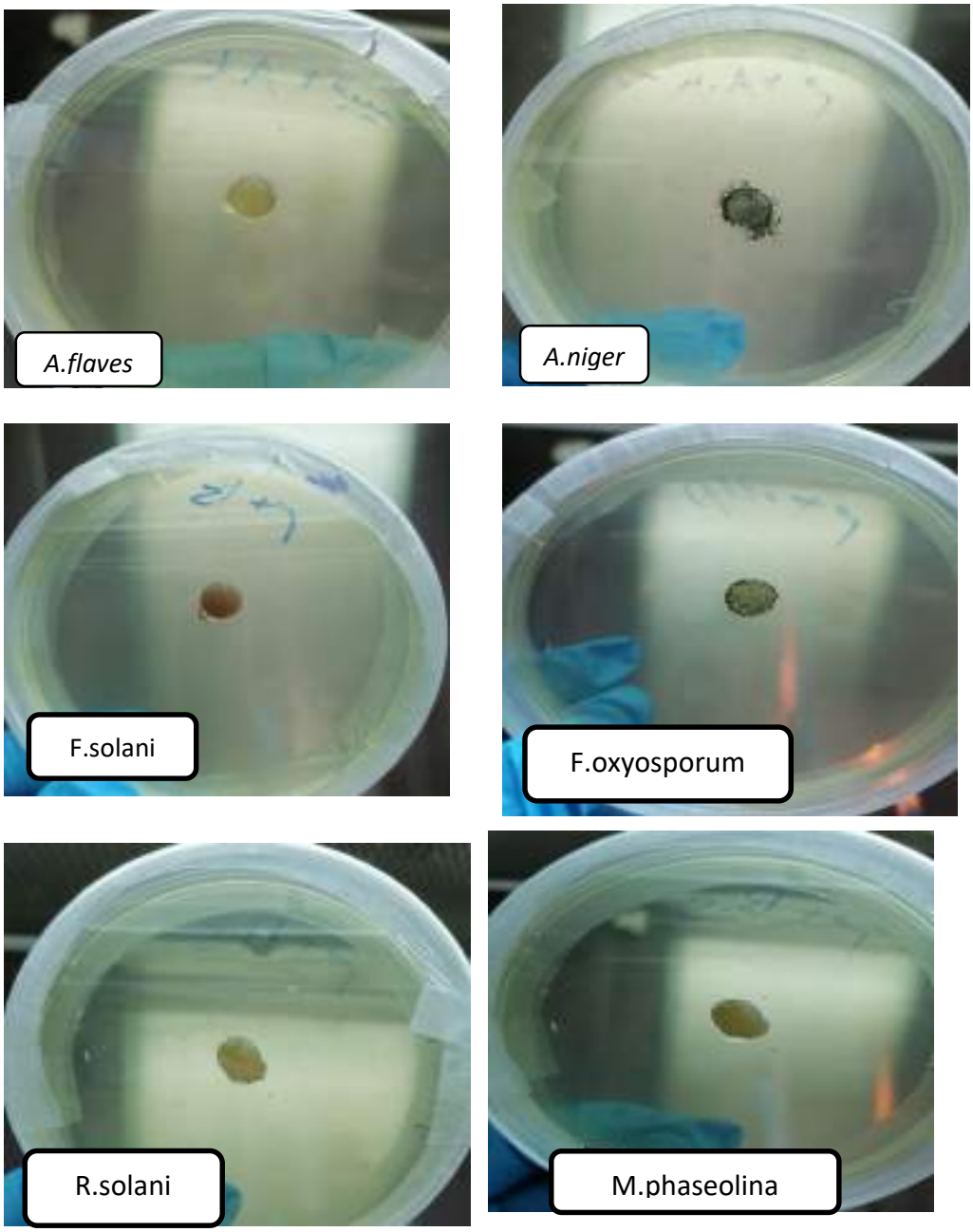
شكل (20): الكفاءة التضادية بين عامل المقاومة الاحيائي *T.longibrachiatum* (Tl) ضد الفطريات الممرضة

F. solani (Fs) , *R. Solani* (Rs) , *F. oxysporum* (Fo) , *M.phaseolina* (Mp) , *A. flaves* (Af) , *A.niger* (An)

4-8: اختبار الكفاءة التثبيطية للمبيد الفطري Beltanol ضد الفطريات الممرضة

أظهرت النتائج الكفاءة العالية للمبيد الكيميائي Beltanol في تثبيط نمو الفطريات الممرضة المعزولة من جذور وقواعد السيقان نبات الباقلاء على الوسط الزرعي PDA باستخدام التركيز الموصى بها (1مل/لتر) إذ بلغ معدل التثبيط 100% لجميع الفطريات الممرضة. تعزى كفاءة المبيد الكيميائي Beltanol إلى المادة الفعالة Hydroxyquinoline-8 التي تتميز بفعاليتها التضادية العالية ضد العديد من المسببات الفطرية الممرضة للنبات وتعود فعالية هذا المادة إلى أحداث تشوهات في جدران الخلايا الفطرية وتغيير نفاذية الغشاء الخلوي مما يؤدي إلى تسريب محتويات الخلية إلى الخارج، كما يعمل على تثبيط تكوين الأجسام الحجرية (Yin وآخرون، 2020 ; De souza، 2021).

تتفق هذا النتائج مع ما توصل إلية جابر (2020) إذ وجد عند استخدام المبيد الكيميائي Beltanol تم حصول تثبيط تام لنمو الفطر *Fusarium* spp. حسب التراكيز الموصى بها في حين انخفض التأثير التثبيطي للمبيد عند استخدامه بتركيز 10% من التراكيز الموصى بها. كما أوضحت العديد من الدراسات القدرة التثبيطية العالية للمبيد الكيميائي Beltanol ضد مدى واسع من الفطريات الممرضة منها *R. solani* و *F. solani* عند استخدامها بالتراكيز الموصى بها (Abedalred وآخرون 2019 ; دخيل 2021 ; الغزالي 2022).



شكل (21): يوضح الكفاءة التضادية للمبيد Beltanol ضد الفطريات الممرضة

4-9: اختبار كفاءة عاملي المقاومة الاحيائية والمبيد Beltanol والتكامل بينهما في مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء في الاصص البلاستيكية

اظهرت النتائج الموضحة في جدول (11) ان جميع المعاملات الإحيائية والكيميائية المستخدمة ادت الى خفض النسبة المئوية للإصابة وشدة الإصابة الناتجة من الفطرين *F. solani* و *R. solani* المعزولة من جذور وقواعد سيقان نبات الباقلاء قياسا بمعاملة الفطرين بمفردهما حيث بلغت نسبة الإصابة وشدتها للفطر *R. solan*i هي 83.3% و83.3% على التوالي، اما فطر *F. solani* فقد بلغت نسبة الاصابة وشدتها 91.6% و91.6% على التوالي.

تفوقت معاملة *T. longibrachiatum* مع الفطريات الممرضة فقد خفضت نسبة الإصابة وشدتها إلى 0% لكلا الفطرين، ان الكفاءة العالية لجنس *Trichoderma* spp. في تثبيط نمو الفطريات وخفض نسبة الإصابة يعود الامتلاكها آليات متنوعة في مكافحة المسببات الأمراضية منها التطفل على الفطريات الممرضة والتنافس على المواد الغذائية وانتاج بعض المضادات الحيوية المثبطة لانزيمات الفطريات الممرضة فضلا عن إنتاجها بعض المركبات السامة والانزيمات المحللة لخلايا الفطر الممرضة مثل Protease وChitinase وB-1,3-glucanase (Al-fadhal، 2019).

اتفقت هذا النتائج مع ما توصل اليه Salihو AL-Abbas (2022) حيث لوحظ انخفاض النسبة المئوية شدة الإصابة لمرض تعفن جذور نبات الباذنجان والخيار المتسبب عن بعض الفطريات الممرضة، كما اتفقت هذا النتيجة مع Li وآخرون (2017) الذين أشاروا الى قابلية أنواع Trichoderma في حفض شدة الإصابة.

أما عند معاملة الفطريات الممرضة مع بكتيريا *P. fluorescence* فقد عملت على خفض نسبة الإصابة وشدتها إلى 0% عند معاملتها مع فطر *F. solani* ، بينما بلغت نسبة وشدة الإصابة 8.3 و2.08 على التوالي عند معاملتها مع فطر *R. solani* ، تعود الكفاده التضادية العالية لبكتيريا *P. fluorescens* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة وخفض نسبة الإصابة الى العديد من الأسباب منها قدرة البكتيريا على إنتاج مجموعه واسعة من المستقلبات المضادة للميكروبات مثل 2,4 – diacetylphlorogluciuol والبيرول Pyrrolinitrin وCyclic lipopeptide ومركب Amphisin (Alhamiri، 2018).

إضافة إلى إنتاجها العديد من الانزيمات التي تحطم الجدار الخلوي للفطريات الممرضة ، كما لوحظ ان البكتيريا تعزز نمو النبات من خلال قدرتها على النمو والالتصاق بسطح الجذور وافراز مواد تعزز من قدرة النبات الدفاعية والنمو من خلال تثبيت النتروجين وإذابة الفوسفات واستخلاب الحديد وإفراز العديد من الهرمونات النباتية التي لها دور مهم في تحسين نمو النباتات (Alfauomy وAtwa، 2020).

اتفقت هذا النتائج مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى قدرة بكتيريا *P. fluorescence* في تثبيط نمو الفطريات المعزولة من نباتات مختلفة كذلك قدرتها في تعزيز نمو البنات (Couillerot وآخرون، 2009).

أما عند معاملة الفطريات الممرضة بالمبيد الكيميائي Beltanol فقد خفض نسبة الإصابة وشدتها إلى 16.6% و12.5 عند معاملتها مع *R. solani*، بينما في فطر *F. solani* فقد وصلت نسبة الإصابة وشدتها إلى 25% و12.5 على التوالي.

تعود قدرة المبيد الكيميائي Beltanol في خفض نسبة الإصابة إلى قابليتها على الارتباط مع النحاس ليكون مركبات مخلبية في انسجة النبات مما يسهل اختراقه للفطريات الممرضة والنامية في انسجة البنات وبالتالي تثبيط نموها (العامري، 2021)، كما يعمل هذا المبيد على تثبيط نمو الفطريات من خلال تأثيرها في إنتاج الانزيمات المحللة لجدران الخلايا النباتية مثل Cellulase وProtase وLipase (Hussein وآخرون، 2023)

كما أوضح De-souza 2021 كفاءة أحد المواد المشتقة من المبيد Beltanol في كبح عدد كبير من الفطريات التي تسبب أمراض مختلفة للنباتات ويعتقد ان تأثير هذا المواد يعود إلى قابليتها في أحداث تشوهات في الخلايا الفطرية.

اما عند دراسة التكامل بين العوامل الكيميائية والإحيائية، فقد لوحظ عند معاملة الفطريات الممرضة مع الفطر المكافح *T. longibrachiatum* والبكتريا *P.fluorescence* تثبيط النسبة المئوية للإصابة وشدة الإصابة، ففي المعاملة (TL+Pf+Fs) بلغت نسبة وشدة الإصابة 8.3 و2.08 على التوالي وفي معاملة (Tl+Pf+Rs) فقد بلغت نسبة الإصابة وشدتها 0% اما في المعاملة (Tl+Bel+Rs) بلغت نسبة وشدة الإصابة 8.3% و4.16 على التوالي بينما في المعاملة (Tl+Bel+Fs) فقد بلغت نسبة وشدة الإصابة 16.6 و8.3 على التوالي.

اما في المعاملة (Bel+Pf+Rs) فقد بلغت نسبة وشدة الإصابة 8.3% و2.08 على التوالي، اما في المعاملة (Bel+Pf+Fs) بلغت نسبة وشدة الإصابة 16.6 % 4.16 على التوالي.

اما عند اختبار التكامل بين الفطر المكافح *T. longibrachiatum* والبكتريا *P. fluorescence* والمبيد الكيميائي Beltanol فقد بلغت نسبة وشدة الإصابة 8.3 % و2.08 في المعاملة (Bel+Tl+pf+Rs)، اما في المعاملة (Bel+ Tl+pf +Fs) حيث بلغت نسبة وشدة الإصابة 16.6% و4.16.

ان خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بمرض تعفن قواعد السيقان في معاملات التكامل يعود الى التاثير التازري بينهما ، حيث تقوم بعض اجناس *Trichoderm* بتحلل جدران خلايا الفطريات الممرضة بسبب انتاجها عدد من الانزيمات المحللة التي تسمح لها باختراق وتحليل جدران الفطريات الممرضة والتطفل عليها (Tyskiewicz وآخرون، 2022)، كما انها تنتج انزيمات أخرى تعمل على إيقاف دورة حياة الفطر الممرض من خلال تاثيرها على افراز انزيماتها التي تمكنها من تحلل جدران الخلايا النباتية واستعمار الانسجة النباتية مثل Srineprotase وproteases، كما تمتلك البكتيريا *P.fluorescence* آليات مختلفة في تثبيط نمو المسببات الامراضية وبالتالي خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة، حيث تنتج مدى واسع من المضادات الاحيائية التي تؤثر بصورة مباشرة على نمو المسببات الأمراضية مثل Oomycin وPyrrolnitrin وPhloroglucinalو Pyrroles، كما تعمل بكتيريا *P. fluorescence* على تحفيز المقاومة الجهازية للنبات (Haas وKeel، 2003).

كذلك يمتلك المبيد الكيميائي Beltanol فعالية عالية في مكافحة الفطرايات الممرضة، حيث يمنع نمو المسببات الامراضية من خلال تأثيره على العمليات البيولوجية لخلاياها وهذا ما أكده Khudier وAbdalmoohsin (2023) حيث أوضح ان المبيدات الفطرية تأثر بشكل مباشر سلبي على أغشية الخلايا من الكائنات الحية الدقيقة وتدمير الدهون داخلها مما يؤدي الى تغيرات هيكلية تؤثر على وظيفة الأنظمة الغشائية وبالتالي تحطيم الخلايا وموت المسبب المرضي. كما يعمل Beltanol على تثبيط مدى واسع من المسببات الامراضية ويعزى ذلك الى قدرتها على الاتحاد مع عنصر النحاس وتكوين مركبات مخلبية تسهل دخوله الى العائل وقتل الفطر الممرض (Meister وآخرون، 2000).

جدول(11): تقييم كفاءة العوامل الإحيائية والكيميائية والتكامل بينهما في مكافحة الفطريات المسببه لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء في الاصص البلاستيكية.

ت	المعاملة	النسبة المئوية للإصابة	شدة الاصابة
1	السيطرة	0	0
2	Rs	83.3	83.3
3	Fs	91.6	91.6
4	Tl+Rs	0	0
5	Tl+Fs	0	0
6	Pf+Rs	8.3	2.08
7	Pf+fs	0	0
8	Tl+Pf+Rs	0	0
9	Tl+Pf+Fs	8.3	2.08
10	Bel+Rs	16.6	12.5
11	Bel+Fs	25	12.5
12	Tl+Bel+Rs	8.3	4.16
13	Tl+Bel+Fs	16.6	8.3
14	Bel+Pf+Rs	8.3	2.08
15	Bel+Pf+Fs	16.6	4.16
16	Bel+Tl+Pf+Rs	8.3	2.08
17	Bel+Tl+Pf+Fs	16.6	4.16

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

1. وجدت الدراسة ان جذور وقواعد سيقان نبات الباقلاء مصابة بأكثر من مسبب مرضي والتي تمثل المسببات الرئيسية لمرض تعفن الجذور وهي *Rhizoctonia solani* و*Fusarium solani* وF.oxysporum و *Macrophomina phaseolina* كما وجد ان الفطر *R.solani* اكثر الفطريات ظهورا وترددا
2. تم تسجيل الفطريات *corynascus sepedonium* و *mucor circinelloides* و *Myrothecium inundatum* و*Ovatospora pseudomollicella* و *Rhizopus homollicus* تم تشخيصها لأول مرة على جذور وقواعد نبات الباقلاء
3. ان عاملي المقاومة الأحيائية *Trichoderma longibrachiatum* و *Pseudomonas fluorescence* والمبيد الكيميائي بلتانول ذات قدرة عالية في تثبيط نمو الفطر *R.solani* و *F.solani*
4. ان التكامل بين عاملي المقاومة الأحيائية *Trichoderma longibrachiatum* و*Pseudomonas fluorescence* والكيميائي البلتانول كان له تاثير فعال في خفض نسبة الإصابة بمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان في نبات الباقلاء .

التوصيات

1. اجراء المزيد من الدراسات المسحية لمناطق أخرى من العراق لهدف عزل عدد اكبر من المسببات المرضية
2. استخدام الطرق الجزيئية الحديثة في تشخيص الفطريات ومقارنتها مع الوصف المظهري بهدف الحصول على أنواع جديده
3. استخدام العوامل الاحيائية أعلاه ومبيد البلتانول في التجارب الحقلية لغرض تقييم كفائتها وبالتالي إمكانية تطبيقها كعوامل مكافحة متكاملة فعالة في الحقول الزراعية.
4. إمكانية استخدام عوامل المكافحة المتكاملة أعلاه ضد مسببات إمراضيه أخرى ونباتات اقتصادية أخرى.

المصادر

المصادر العربية:

التميمي، زينب لطيف حميد (2019). دراسة تشخيصية جزيئية للفطريات المسببة لمرض موت البادرات Damping– off disease على نبات الطماطة ومكافحتها باستخدام التكامل بعض العوامل الاحيائية والمركبات النانوية. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة كربلاء / العراق.

جابر، محمد عواد (2020). دور البكتريا الخيطية *Actinomycetes* وبعض العناصر الصغرى في مكافحة مرض التعفن الفحمي على نباتي اللوبياء والماش المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid . رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة البصرة. 77 صفحة

جاسم ، ناجي سالم (2007). دراسة مرض تعفن جذور وقواعد سيقان محصول الباقلاء المتسبب عن الفطر Rhizoctonia solani (Kuhn) في محافظة البصرة ومكافحته إحيائياً وكيميائياً . أطروحة دكتورا كلية الزراعة . جامعة البصرة.

الجبوري، حرية حسين شهاب (2002). تأثير استخدام معيق النمو كلتار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على اصابة نبات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور . رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

الحياوي ، احمد داخل محمد (2022). دراسة تأثير بعض العائلة الصليبية والفطر Trichoderm spp. في السيطرة على مرض تعفن جذور وقواعد سيقان نبات الباقلاء . رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة البصرة.

الخفاجي، سجاد جاسم عبد الحر(2020). عزل وتشخيص البكتريا المسببة لمرض التدرن التاجي على شتلات ليوكالبتوس .Eucalyptus Camaldulensis D ومقاومتها بأستخدام بعض العوامل الكيميائية والاحيائية. كلية الزراعة .جامعة كربلاء.

الجهاز المركزي لإلحصاء.(2020).مديرية الإحصاء الزراعي - وزارة التخطيط - العراق.

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

شعبان عواد والملاح، نزار مصطفى (1993) المبيدات، دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

العامري، علاء طالب سالم (2021). التشخيص الجزيئي للبكتريا المسببة لمرض التعفن الطري على البطاطا في محافظتي كربلاء وبابل ومقاومتها بأستعمال بعض العوامل الاحيائية والمركبات النانوية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة كربلاء.

العبادي، باسل يوسف مهدي (2020) تقييم كفاءة بعض المواد البولميرية في أنتاج مستحضر إحيائي من الفطر Trichoderma longibrachiatum في مكافحة بعض إمراض الطماطة مختبرياً.رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة البصرة. 114 صفحة.

العربي، خديجة فرج ونجاة خليفة الغرياني وعمر عمران البي ومحمد رضا محمد أبوراقور (2017). القدرة الامراضية لفطري Verticillium dahliae و Phialophora cyclaminiSعلى بعض محاصيل العائلة الباذنجانية وتأثير عزلة محلية من الفطر المضاد Trichoderma longibrachiatum على هذين الفطرين.المجلة الليبية للعلوم 73-61 ، 2(22).

الغزالي ، نور علي عبد(2022). عزل وتشخيص الفطريات Fusarium oxysporum و solan Rhizoctoniaالمسببه المرض الجذور وقواعد السيقان على نبات عين البزون في بعض المشاتل ومكافحتها احيائيا وكيميائيا. رسالة ماجستير .قسم وقاية النبات .كلية الزراعية .جامعة كربلاء.

كاظم، سارة كريم وجواد كاظم الجنابي (2013). الخصائص المظهرية والمجهرية لأنواع الفطر Fusarium وتأثير الظروف البيئية في نموه وتكاثره. مجلة جامعة بابل 3(21) 891.871

الليثي، نجوى بشير رمعون(1999). امراض جذور البازلاء الفطرية ومقاومتها،(رسالة ماجستير- كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل.

المادح، سكينة عبد علي عبود .(2013) تأثير الأشعة فوق البنفسجية في امراضية الفطر Rhizoctonia solani Kuhn المسبب المرضي لمرض موت البادرات ومقاومتها احيائياً وكيميائياً. رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة البصرة. 121 صفحة.

المصادر : .....References

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

ميخائيل، سمير وعبد الحميد طرابية وعبد الجواد الزرري. (1981) . أمراض البساتين والخضر. مطبعة جامعة الموصل العراق.

المصادر الاجنبية

Abdelaziz, A. M., Hashem, A. H., El-Sayyad, G. S., El-Wakil, D. A., Selim, S., Alkhalifah, D. H., & Attia, M. S. (2023). Biocontrol of soil borne diseases by plant growth promoting rhizobacteria. *Tropical Plant Pathology*, *48*(2), 105-127.

Abdel-Lateif KS, Abd El-Ghany EM (2023). Characterization of Rhizobium isolates as biocontrol agents against *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina*. *SABRAO J. Breed. Genet*. 55(1): 146-155.

Abdelmoteleb, A., Moreno-Ramírez, L., Valdez-Salas, B., Seleiman, M. F., El-Hendawy, S., Aldhuwaib, K. J., & González-Mendoza, D. (2022). New Bacillus subtilis strains isolated from Prosopis glandulosa rhizosphere for suppressing *Fusarium* spp. and enhancing growth of Gossypium hirsutum L. *Biology*, *12*(1), 73..

Abdelrahman, M.; Abdel-Motaal, F.; El-Sayed, M.; Jogaiah, S.; Shigyo, M.; Ito, S. and Tran, L. (2016). Dissection of *Trichoderma longibrachiatum* induced defense in onion (Allium cepa L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. cepa by target metabolite profiling. Pl. Sci., 246: 128-138.

Abdelrhim, A. S., Abdellatif, Y. M., Hossain, M. A., Alamri, S., Pessarakli, M., Lessy, A. M., & Dawood, M. F. (2023). Comparative study of three biological control agents and two conventional fungicides against coriander damping-off and root rot caused by *Rhizoctonia solani*. Plants, 12(8), 1694.

Abedalred ،E. M.; Ismail ،W. M. H.; Abdulmoohsin ،R. G. and Al-Karhi ، M. A. J. (2019). First molecular identification of *Fusarium fujikuroi* causing pollen rot of palm trees (Phoenix dactylifera L.) in Iraq and evaluation efficacy of some nanoparticles against it. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* 388: 012007.

Agrios, G. N. (2007). Plant pathology. 4th Ed. *Academic press*, 606 : New York .

Ahmed, M. (2011). Management of *Fusarium* wilt of tomato by soil amendment with *Trichoderma koningii* and a white sterile fungus. *Indian J. Res*, *5*(1), 35-38.

Ahmed, M. F. A. (2013). Studies on non-chemical methods to control some soil borne fungal diseases of bean plants Phaseolus vulgaris L. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, Cairo Univ., 137P.

Aimeur, N., Tahar, W., Meraghni, M., Meksem, N., and Bordjiba, O. (2016). Bioremediation of pesticide (mancozeb) by two *Aspergillus* species isolated from surface water contaminated by pesticides. *J. Chemi. Pharma. Sci.*, 9(4): 2668-2670.

Ajayi-Oyetunde, O.O. and Bradley, C.A. (2018), Rhizoctonia solani: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. Plant Pathol, 67: 3-17.

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.

Akrami, M. (2015). Effects of *Trichoderma* spp.. in biocontrolling *Fusarium solani* and *F. oxysporum* of cucumber (*Cucumis sativus*).

Journal of Applied Environmental and Biological Sciences. 4(3),241-245.

Al-Abbas, H. H. A. and Salih, Y. A. (2022 a). Evaluation of the efficiency of the bioagent *Trichoderma longibrachiatum* against root rot disease of cucumber plant caused by the fungus *Fusarium solani*. Inter. J. Agricult. Stat. Sci., 18(1): 13951401.

Alexopoulus , G. J.; Mims , C. W.; & Black well , M. (1996). Introductory of Mycology, 14th Ed. Wiley, New York.

Al-Fadhal, F. A., Al-Abedy, A. N., & Alkhafije, D. A. (2019). Isolation and molecular identification of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* isolated from cucumber (Cucumis sativus L.) and their control feasibility by Pseudomonas fluorescens and Bacillus subtilis. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 29, 1-11.

Alfauomy, G. A., & Atwa, M. A. (2020). Influences of biological control on damping off diseases of faba beans as well as physico-chemical and technological properties. Middle East J. Agric. Res, 9(4), 812-827.

Alhamiri, Y., Gh Abdulmohsen, R., & A Khdem, A. (2018). Evaluation of Pseudomonas fluorescens, beltanol and some Resistances Inducers for control of Melon Wilt Caused by Fusarium oxysporum f. sp. melonis. Journal of Kerbala for Agricultural Sciences, 5(5), 595-610.

Al-Hatmi A. M., Meis J. F. and de Hoog G. S. (2016). Fusarium: Molecular Diversity and Intrinsic Drug Resistance. PLoS Pathog 12: e1005464,

References..... : المصادر

Alhussani, A. H., AL-Hakeem, A. M., Al-tememe, Z. A., & Mahdi, H. F. A. (2022) new species of Ovatospora pseudomollicella and Chaetomium madrasense Isolated from red wood (Sequoia sempervirens) and Teak wood (Tectona grandis) in Iraq. *Teikyo Medical Journalm*6217-6213 ,(2)45 .

Ali, M. B., Haridy, A. G., & Mahmoud, A. F. (2019). Evaluation of faba bean genotypes for yield and resistance to *Fusarium* root rot under greenhouse and field conditions. Int J Biosci, 14(2), 374-385.

Al-Jaradi, A., Al-Mahmooli, I., Janke, R., Maharachchikumbura, S., Al-Saady, N., & Al-Sadi, A. M. (2018). Isolation and identification of pathogenic fungi and oomycetes associated with beans and cowpea root diseases in Oman. PeerJ, 6, e6064.

Al-Machi, A. S. H. (2014). The effect of nutrition systems and exchange of diets on some productive performance of broilers. *Al-Qadisiyah J. Agri. Sci.*,4(2):40-49.

Almiman, B. (2024). Effects of temperature and water activity on 25 de novo strains of pathogenic plant fungi in Al-Baha and Baljurashi cities in Saudi Arabia. Journal of Umm AlQura University for Applied Sciences, 10(2), 301-312. 35.

Almomani F., Alhawatema M., Hameed K. (2013). Detection, identification and morphological characteristic of Macrophomina phaseolina: the charcoal rot disease pathogens isolated from infected plants in Northern Jordan. *Arch. Phytopathol. Plant Prot*. 46 1005–1014.

AL-Musawi ،M. A. (2012). Identification of the causes of root and stem baserot disease of beans and resistance it using of some chemical and biological induction agents Master Thesis. Faculty of Agriculture. Baghdad University.

Alshimaysawe, U. A. A. (2018). Factors affecting biocontrol of *Rhizoctonia* diseases and growth promotion of potato by *Trichoderma* species(Doctoral bissertation, University of New England Australia).

Altinok, H. H. and Erdogan, O. (2015). Determination of the in vitro effect of *Trichoderma harzianum* on phytopathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Notulae Botanicae Horti. Agrobobotanici, 43(2):494-500.

Anand, T.; Chandrasekaran, A.; Kuttalam, S.; Raguchander, T. and Samiyappan, R. (2009). Management of cucumber (Cucmis sativus L.) mildews through azoxystrobin - tolerant *Pseudomonas fluorescens*. J. Agn. Sci. Technol. 11:211-226.

Anne. E. P., & Dennis, R. M. (2002). *Rhizoctonia* damping–off and stem rot of soy bean. *Ohio state university extension fact sheet plant pathology*.

Anon ،(2011). Printed & published by Department of Agriculture ، Forestry & Fisheries. *Republic of South Africa* ،22pp.

Antonelli, M.; Reda, R.; Aleandri, M. P.; Varvaro, L. and Chilosi, G. (2013).Plant growthpromoting bacteria from solarized soil with the ability to protect melon against root rot and vine decline caused by Monosporascus cannonballus. J. Phytopathol., 161: 485-496.

References..... : المصادر

Anwar-ul-Haq, M., Anwar, S. A., Shahid, M., Javed, N., Khan, S. A. and Mehamood, K. (2011). Management of root-knot nematode Meloidogyne incognita by plant growth promoting rhizobacteria on tomato. *Pakistan J. Zool.* 43(6):1027-1031.

Anyanga, W.O. ; Rubaihayo, P. ; Gibson, P. and Okori , P. (2016). Combining ability and gene action in sesame (*Sesamum indicum* L.) elite genotypes bydiallel mating design. *Journal Plant Breeding Crop Science*. 8(11)250-256.

Araceli, M.; Gally, R. M.; Szapiro, G.; Itzcovich, T.; Carabajal, M. and Levin, L. (2016). In vitro growth and cell wall degrading enzyme production by Argentinean isolates of *Macrophomina phaseolina*, the causative agent of charcoal rot in corn. Rev. Argent. Microbiol., 48: 267-273.

Attitalla, I.H., Mansour, S.E., Mohamed, W.S., Al-Ani, L.K.T., Mohammed, A.M., Faturi, M.Y., et al., (2010). Influence of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus terreus* on the protein value of the two varieties of peanut grains. International conference, International Mycotoxin Conference ,*MycoRed*, *Penang Malaysia*, 1 4 Dec. (177).

Bandara, A. Y.; Weerasooriya, D. K.; Liu, S. and Little, C. R. (2018). The necrotrophic fungus *Macrophomina phaseolina* promotes charcoal rot susceptibility in grain sorghum through induced host cell-wall-degrading enzymes. Phytopathology, 108: 948-956.

Barłóg, P., W. Grzebisz and R. Łukowiak 2018. Faba bean yield and growth dynamics in response to soil potassium availability and sulfur application. *Field Crops Res*., 219: 87–97.

Barreto, D., Babbitt, S., Gally, M., and Pérez, B. A. (2003). Nectria haematococca causing root rot in olive greenhouse plants. RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 32(1), 49-55.

Bashar MA, Rai B (1994). Antagonistic potential of root region microflora of chickpea against Fusarium oxysporum f.sp. ciceri .Bangladesh J. Bot. 23: 13-19.

Bekele B. Muhammed Gelano G, Belayneh T. (2003) Faba Bean and Fieldpea Diseases Research. In: Ali K (ed) Food and Forage Legumes: Progress and Prospects. Progress of the Workshop on Food and Forage Legumes. *Addis Ababa, Ethiopia*, p 221-227.

Bell, D. K.; Wells, H. D. and Markham, C. R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology,* 72: 379-382.

Bergm B, McClaugherty C (2014) Decomposition of Fine Root and Woody Litter. In: Plant Litter .Springer Berlin Heidelberg, Germany, pp. 171- 187.

Bills, G. F., Platas, G., Peláez, F. and Masurekar, P. (1999). Reclassification of a pneumocandin-producing anamorph, Glarea lozoyensis gen. et sp. nov., previously identified as Zalerion arboricola. *Mycological Research*, 103(2), 179-192.

Blazier S.R; and K. E, Conway (2004). Characterization of ,*Rhizoctonia solani* isolates associated with patch diseases on turf grass. Proc. okla Aca. Sci. 84: 41-51.

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.

Booth, C. (1971). The Genus *Fusarium* Common wealth Mycological Institue. *Kew., surrey., England*., 237pp.

Borah, N., Albarouki, E., Schirawski, J., 2018. Comparative methods for molecular de termination of host-specificity factors in plant-pathogenic fungi. *Int. J. Mol. Sci.* 19,863.

Calhim, S.; Halme, P.; Petersen, J. H.; Læssøe, T.; Bässler, C.; and Heilmann-Clausen, J. (2018). Fungal spore diversity reflects substrate-specific deposition challenges. *Scientific Reports*, 8(1), 1-9.

Chakraborty, S., Islam, M. M., & Khokon, M. A. R. (2024). Field performance assessment of formulated *Pseudomonas fluorescens* for enhancing plant growth and inducing resistance against rice blast disease. *Journal of King Saud University-Science*, *36*(6), 103228.

Chen, Y., Ran, S. F., Dai, D. Q., Wang, Y., Hyde, K. D., Wu, Y. M., & Jiang, Y. L. (2016). Mycosphere essays 2. *Myrothecium. Mycosphere*, 7(1), 64-80.

Christensen, M. J. ; Falloon, R. E. and Sklpp, R. A. 1988. A Petri plate technique for testing pathogenicity of fungi to seedlings and inducing fungal sporulation. Australasian Plant Pathology.47–45 ,)2(17.

Cleary, M., Sturrock, R., & Hodge, J. (2011). Laminated root disease-stand establishment decision aid. *Journal of Ecosystems and Management*, *12*(2).

Coleman, J. J. (2015). The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Molecular Plant Pathology*, 17(2), 146–158.

Coque, J. J. R., Álvarez-Pérez, J. M., Cobos, R., González-García, S., Ibáñez, A. M., Diez Galán, A., & Calvo-Peña, C. (2020). Advances in the control of phytopathogenic fungi that infect crops through their root system. Advances in Applied Microbiology.

Corbu, V. M., Gheorghe-Barbu, I., Dumbravă, A. Ș., Vrâncianu, C. O., & Șesan, T. E. (2023). Current insights in fungal importance—a comprehensive review. *Microorganism*s, 11(6), 1384.

Coşkuntuna, A. and Özer, N. (2008). Biological control of onion basal rot disease using *Trichoderma harzianum* and induction of antifungal compounds in onion set following seed treatment, Crop Prot., 27: 330-336.

Couillerot, O., Prigent-Combaret, C., Caballero-Mellado, J., & Moënne-Loccoz, Y. (2009). Pseudomonas fluorescensand closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. Letters in Applied Microbiology, 48(5), 505–512.

Daniel, G. (2016). Fungal degradation of wood cell walls. In Secondary xylem biology (pp. 131-167). Academic Press.

Dara ،S. K. (2019). The new integrated pest management paradigm for the modern age. *Journal of Integrated Pest Management* ،10(1) ،12.

Darvin, G.; Venkatesh, I. and Reddy, G. N. (2013). Evaluation of *Trichoderma* spp. against Sclerotium rolfsii in vitro. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 4(4): 268-272.

David, B. V., Chandrasehar, G., & Selvam, P. N. (2018). *Pseudomonas fluorescens:* a plant-growth-promoting rhizobacterium (PGPR) with

potential role in biocontrol of pests of crops. In *Crop improvement through microbial biotechnology* (pp. 221-243). Elsevier.

Davies, P. J. (Ed.). (2004). *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!*. Springer Science & Business Media.

De Souza ،L.M.; de Chaves ،M.A.; Joaquim ،A.R.; Gionbelli ،M.P.; Gava ، A.; Fiorentin ،J.; Ficagna ،E.; Almança ،M.A.K.; Teixeira ،M.L.; Andrade ،S.F. and Fuentefria ،A.M. (2021). The efficacy of 8-hydroxyquinoline derivatives in controlling the fungus Ilyonectria liriodendri ،the causative agent of black foot disease in grapevines. Journal of Applied Microbiology Feb 10.

Dehghanpour-Farashah, S., Taheri, P., & Falahati-Rastegar, M. (2019). Virulence factors of *Fusarium* spp., causing wheat crown and root rot in Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 58(1), 115-126.

Demirel, R ; Sariozlu ,N.Y and İlhan, S (2013) .Polymerase hain Reaction (PCR) Identification of Terverticillate *Penicillium* Species Isolated from Agricultural Soils in Eskişehir Province . Brazilian Archeives of Biology and Technology Journal , 56(.6): 980-984.

Dendouga, W., Boureghda, H., & Belhamra, M. (2016). Biocontrol of wheat *Fusarium* crown and root rot by *Trichoderma* spp. and evaluation of their cell wall degrading enzymes activities. *Acta phytopathologica et entomologica Hungarica*, 51(1), 1-12.

Dewan, M. M. (1989). Identity and frequency of occurrence of fungi in roots of wheat and ryegrass and their effect on take-all of wheat and host growth. Ph. D. Thesis, Univ. West. Aust., 210 pp.

Dhull, S. B., Kidwai, M. K., Noor, R., Chawla, P., & Rose, P. K. (2022). A review of nutritional profile and processing of faba bean (Vicia faba L.). Legume Science, 4(3), e129.

Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017). Plant pathogenic fungi. Microbiology spectrum, 5(1), 5-1.

Doveri, F. (2016). Description of *Chaetomium aureum*, *Corynascus sepedonium* and Coniochaeta hansenii newly recorded from Italy and a key to coprophilous Chaetomiaceae and Coniochaetaceae. Ascomycete. org, 8(1), 7-24. 28.

Dutta, P., Deb, L., & Pandey, A. K. (2022). *Trichoderma*-from lab bench to field application: Looking back over 50 years. *Frontiers in Agronomy*, *4*, 932839.

Edwards, I. P., Upchurch, R. A., and Zak, D. R. (2008). Isolation of fungal cellobiohydrolase I genes from sporocarps and forest soils by PCR. *Appl. Environ. Microbiol*., 74(11), 3481-3489.

El_Komy, M. H., Saleh, A. A., Eranthodi, A., & Molan, Y. Y. (2015). Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. *The plant pathology journal*, *31*(1), 50.

El-Ammari A. Plant Fungal Diseases of Faba bean in Benghazi. ContROL. 2017;1:1-5

Ellis MB, Ellis JP. 1985 – Microfungi on Land Plants–An Identification Handbook. New York, Macmillan Publishing.

El-Mehy, A. A., El-Gendy, H. M., Aioub, A. A., Mahmoud, S. F., Abdel-Gawad, S., Elesawy, A. E., & Elnahal, A. S. (2022). Response of faba bean to intercropping, biological and chemical control against broomrape and root rot diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *29*(5), 3482-3493.

El-Sayed, H. Z., Moataza, M. S., Khames, A. H., Mohamed, A. E. A. E. N., Mostafa, H. M., & Magdy, G. E. R. E. S. (2020). In vitro: stem cutting a simple technique for determination aggressive potential of fungal isolates causing root rot disease of grapevine. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 11(1), 141-147.

El-Shennawy, R.Z., Omran, M.M., El-Motteleb, F.A.A., 2010. Effect of phosphorusfertilizer treatments on incidence of *Fusarium* root-rot/wilt disease complex,and on yield components of lupine, chickpea and lentilcrops.Arab Univ. *J. Agric.Sci*. 18, 193e202.

Etemadi, F., Hashemi, M., Barker, A. V., Zandvakili, O. R., Liu, X. (2019). Agronomy, nutritional value, and medicinal application of faba bean (Vicia faba l.). Can J Plant Sci 52 (6), 869–873.

Etemadi, F., Hashemi, M., Mangan F., Weis, S., (2015). Faba beans; Growers guide in New England.

Foundation, CK-12 (2019). Fungal Habitats.

Félix, C., Libório, S., Nunes, M., Félix, R., Duarte, A. S., Alves, A., et al. (2018). Lasiodiplodia theobromae as a producer of biotechnologically relevant enzymes. *Int. J. Mol. Sci*. 19:29.

Garcia-Gonzale, V.; Portal Onco, M. A. and Rabio Susan, V. (2006). Review biology and systematics of the form genus Rhizoctonia. *Span. J. Agri.Res*., 4(1):55-79.

Gaulin, E., Jacquet, C., Bottin, A., & Dumas, B. (2007). Root rot disease of legumes caused by *Aphanomyces euteiches*. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 539-548.

Gawade DB, Perane RR, Surywanshi AP, Deokar CD. (2017). Extracellular enzymes activity determining the virulence of *Rhizoctonia* bataticola, causing root rot in soybean. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 100:49–56

Graham, PH, and C P Vance (2003) Legumes : Importance and constraints to greater use .*plant physiological*. 131: 872-877.

Guzmán-Guzmán, P. ; Kumar, A. ; Santos-Villalobos, D. S.; Parra-Cota, F. I. ; Orozco Mosqueda, M. D. C. ; Fadiji, A. E. ; Hyder, S. ; Babalola, O. O. ; Santoyo, G .(2023).*Trichoderma* Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review. Plants.12, 432. https://doi.org/10.3390/ plants12030432.

Gwa, V. I. and Ekefan, E. J. (2021). Biological control of postharvest fungal rot of white yam (dioscorea rotundata poir) tubers in storage with *Trichoderma harzianum* .*Nigerian Journal of Mycology* . 13:64-76

Gwa, V. I. Muhammad Akram, and Naveed Munir .(2021)Effect of selected medicinal plant extracts and synthetic anti-fungal agent on post harvest rot fungi of Hembankwase white yam (Dioscorea rotundata Poir) tuber cultivar. *Nigerian Journal of Mycology*, 13:1-11

Gwa, V. I., Nwankiti, A. O. and Ekefan, E. J .(2019).In vitro study of antagonistic capability of *Trichoderma harzianum* against

Aspergillus niger isolated from rotten white yam (Dioscorea rotundata) Tubers .*Journal Advances in Biology and Biotechnology*, 21(1):1-10

Haas, D., & Keel, C. (2003). Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annual review of phytopathology*, 41(1), 117-153.

Haggag. K. H. E. and El-Gamal, N. G. (2012). In vitro study on *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* Isolated causing the damping off and root rot diseases in tomato. *Nat. Sci*., 10(11):16-25.

Hamon C, Baranger A, Coyne CJ, Mcgee RJ, Le Goff IL, et al. (2011) New consistent QTL in pea associated with partial resistance to Aphanomyces euteiches in multiple field and controlled environments from France and the United States. *Theor Appl Genet* 123(2): 261-281.

Hankin, L., & Anagnostakis, S. L. (1975). The use of solid media for detection of

enzyme production by fungi. Mycologia, 67(3), 597-607.

Haralson JC, Brannen PM, NeSmith DS, Scherm H (2013) Chemical control of *Cylindrocladium* and *Rhizoctonia* root rots in blueberry propagation. *Crop Protection* 44: 1-5.

Hariprasad, P., Chandrashekar, S., Singh, S.B., Niranjana, S.R., 2014. Mechanisms of plant growth promotion and disease suppression by *Pseudomonas aeruginosa* strain2apa. *J. Basic Microbiol*. 54 (8), 792–801.

Hartman, G. L., Rupe, J. C., Sikora, E. J., Domier, L. L., Davis, J. A., and Steffrey, K. L.2015 .Compendium of soybean diseases and pests.

5th Ed. American Phytopathological Society Press. St .Paul MN. USA. Pages 1- 4.

Heimpel, G. E., and Mills, N. (2017). Biological Control - Ecology and Applications .Cambridge: Cambridge University Press.

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2011). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17–25.

Hoh, D. Z., Lee, H. H., Wada, N., Liu, W. A., Lu, M. R., Lai, C. K., ... & Tsai, I. J. (2022). Comparative genomic and transcriptomic analyses of trans-kingdom pathogen *Fusarium solani* species complex reveal degrees of compartmentalization. *BMC biology*, *20*(1), 236.

Houssien, A. A., Ahmed, S. M. and Ismail, A. A .(2010) .Activation of Tomato Plant Defense Response Against *Fusarium* Wilt Disease Using *Trichoderma harzianum* and Salicylic Acid under Greenhouse Conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*,6(3):328-338.

Hussein, M. A., Gherbawy, Y., & El-Dawy, E. G. (2020). Characterization, pathogenicity and enzymatic profile of *Fusarium solani* associated with potato tubers in Upper Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection,* 53(11-12), 495-508.

Hussein, S. S., Maturud, A. A. A., & Abass, M. H. (2023, December). The Efficiency of Fungicides on Fungal Growth Inhibition in Cultured Tissues of Banana (Musa acominata), and Their Effect on Tissues

Traits. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1262, No. 3, p. 032005). IOP Publishing.

Iqbal, Z., Khan, M. A., Sharif, M., Shah, J. H., ur Rehman, M. H., & Javed, K. (2018). An automated detection and classification of citrus plant diseases using image processing techniques: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 153, 12–32

Irulappan, V. and Senthil-Kumar, M. (2021) Dry Root Rot Disease Assays in Chickpea: a Detailed Methodology. *Journal of Visualized Experiments*. (167) e61702 ،doi:10.3791/61702.

Islam, M. R., Sultana, T., Joe, M. M., Yim, W., Cho, J. C., and Sa, T . . (2013)Nitrogen-fixing bacteria with multiple plant growth-promoting activities enhance growth of tomato and red pepper. J. Basic *Microbiol.* 53, 1004–1015.

Jajić, I., Dudaš, T., Krstović, S., Krska, R., Sulyok, M., Bagi, F., ... & Stankov, A. (2019). Emerging *Fusarium* mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin in Serbian maize. *Toxins*, *11*(6), 357.

Janusz, G., Pawlik, A., Sulej, J., Świderska-Burek, U., Jarosz-Wilkołazka, A., & Paszczyński, A. (2017). Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS microbiology reviews*, *41*(6), 941-962.

Jensen ES, Peoples MB, Hauggaard-Nielsen H (2010) Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research* 115, 203–216

Joergensen, R.G., and Wichern, F. (2008). Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil. *Soil Biol. Biochem*. 40:pp. 277–299.

Kaminski, D. A. and Verma, P. R. (1985). Cultural characteristics, virulence and in vitro temperature effect on mycelia growth of *Rhizoctonia* isolate from rape seed. *Canadian journal of plant pathology*. 7: 256-261.

Karkanis, A., Ntatsi, G., Lepse, L., Fernández, J. A., Vågen, I. M., Rewald, B., ... & Savvas, D. (2018). Faba bean cultivation–revealing novel managing practices for more sustainable and competitive European cropping systems. *Frontiers in plant science*, *9*, 1115.

Katan, J. (2017). Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, 305-315.

Khan, A. M., and Bhadauria, S. (2018). Molecular characterization of keratin degrading fungi isolated from semi-arid soil by PCR using ITS4 and ITS5 primers. *Journal of King Saud University-Science*, 31(4), 1418-1423.

Khan, I. H., and Javaid, A. (2022). Mucor fragilis causing rot of seychelles pole bean in Pakistan. Australasian Plant Pathology, 51(3), 359-362.

Khot, P. D., and Fredricks, D. N. (2009). PCR-based diagnosis of human fungal infections. *Expert review of anti-infective therapy*, 7(10), 1201–1221

Khudier, N. H. T., & Abdalmoohsin, R. G. (2023). Assessment the Efficiency of the Bioagent Bacillus velesensis and the Biohealth Formula with Fungicide Beltanol in Control of Fusarium solani Causing Pepper Root Rot. 1262.

Kiro, Mojsov. (2016) Aspergillus Enzymes for Food Industries. doi: 10.1016/B978-0-444-63505-1.00033-6

Köhl J, Kolnaar R and Ravensberg WJ (2019) Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy .*Front. Plant* Sci. 10:845 .doi: 10.3389/fpls.2019.00845

Kubicek, C. P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martinez, D. A., Druzhinina, I. S., Thon, M., ... & Grigoriev, I. V. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome biology*, *12*, 1-15.

Kumar, G. , Maharshi, A. , Patel, J. , Mukherjee, A. , Singh, H. and Sarma, B. (2016). Trichoderma : a potential fungal antagonist to control plant diseases. *SATSA Mukhapatra*, 21, 206-218.

Kumar, G. , Maharshi, A. , Patel, J. , Mukherjee, A. , Singh, H. and Sarma, B. 2016. Trichoderma : a potential fungal antagonist to control plant diseases. SATSA Mukhapatra, 21, 206-218.

Lakhran L., Ahir R. R., Choudhary M., Choudhary S. (2018). Isolation, purification, identification and pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) goid caused dry root rot of chickpea. J. Pharmacogn. Phytochem. 7 3314–3317.

Lamichhane, JR, Dürr, C., Schwanck, AA et al (2017). Integrated management of dumbing-start disease. A review. Agron. Sustain. Dev. 37 , 10.

Landa , B. B. ; H. A. E. Dewerd; B.B.Mespadden-Gardener and D.M.Weller .2002. Comparison of three methodes for monitoring populations of differentgenotypes of 2,4- diacetylphloroglucinol producing *Pseudomonas fluorescen*s in the rhizosphere. Phytopathology. 92:129-137

Landry, E. J., Coyne, C. J., McGee, R. J., & Hu, J. (2016). Adaptation of autumn-sown faba bean germplasm to southeastern Washington. *Agronomy Journal*, 108(1), 301-308.

Lara-Márquez, A., Zavala-Páramo, M. G., López-Romero, E., Calderón-Cortés,N., López-Gómez, R., Conejo-Saucedo, U., et al. (2011). Cloning andcharacterization of a pectin lyase gene from Colletotrichum lindemuthianumand comparative phylogenetic/structural analyses with genes phytopathogenic and saprophytic/opportunistic microorganisms. *BMC Microbiol*. 11:260.

Leslie, J. F. and Summerell, B. A. (2006). The Fusarium laboratory manual. *Blackwell Publishing* .388 p.

Li, Y. T.; Hwang, S. G.; Huang, Y. M. and Huang, C. H. (2017). Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *fusarium* wilt of tomato. Crop Protection, 1-8.

Lobo, L. L .B . ; Silva, M. S .R .D .A .D. ; Castellane, T. C. L. ; Carvalho, R. F. and Rigobelo, E .C. (2022) .Effect of Indole-3-Acetic Acid on Tomato Plant Growth.*Microorganisms*.10(11) - pp.2212

Long, J., Wu, W., Sun, S., Shao, Y., Duan, C., Guo, Y., & Zhu, Z. (2022). Berkeleyomyces rouxiae is a causal agent of root rot complex on faba bean (*Vicia faba* L.) *Frontiers in plant science*, 13, 989517.

Lozovaya, V. V.; Lygin, A. V.; Zernova, O. V.; Li, S.; Widholm, J. M. and Hartman, G. L. (2006). Lignin degradation by *Fusarium solani* f.sp. glycines. Pl. Dis. 90: 77-82.

Maitloo, W. A.; Ghulam S. M.; Adel A. A.; Abdul, M. L. and Mushtaque A. J. (2013). Chemical control of sudden decline disease of

datepalm (Phoenix dactylifera) in Sindh, Pakistan. *Pak. J. Bot*., 45(S1): 7-11.

Malvick, D. (2018) *Fusarium* root rot on soybean. University of Minnesota Extension.

Mandels, M., Sternberg, D., & Andreotti, R. E. (1975). Growth and cellulase production by *Trichoderma*. In Symposium on enzymatic hydrolysis of cellulose.

Martinez-Medina, J. A. (2010). The interaction on with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. *Phytochemistry*, 72(2-3):223-229.

Matloob, A. A. A. H. (2019, September). Efficiency of Trichoderma spp. against of some pathogenic fungi causing of broad bean root rot disease. *In Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1294, No. 9, p. 092003). IOP Publishing.

Matloob ،A. A. A. H. ،and Al-Baldawy ،M. S. M. (2020). The Effects of organic fertilizer complement by addition Biological control agents on *Rhizoctonia solani* Kühn Causing of Eggplant root rot Disease. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* (Vol. 553 ،No. 1 ،p. 012003). IOP Publishing.

Matuo, T., Komada, H., and Matsuda, A. (Eds.). (1980).*Fusarium* Disease of Cultivated Plants. Zenkoku Noson Kyoiku Kyokai Publ. Co., Tokyo. 502 pp., in Japanese.

McLaughlin, M. S., Roy, M., Abbasi, P. A., Carisse, O., Yurgel, S. N., & Ali, S. (2023). Why Do We Need Alternative Methods for Fungal Disease Management in Plants?. Plants (Basel, Switzerland), 12(22), 3822.

Meena, M.; Swapnil, P.; Zehra, A.; Dubey, M. K. and Upadhyay, R. S. (2017).Antagonistic assessment of *Trichoderma* spp. by producing volatile and non-volatile compounds against different fungal pathogens. Arch. Phytopathol. Pl. Prot. 50 (13-14):629-648.

Meister, R. T. (2000). Farm chemical handbook. Listing for (Beltanol) Willough by OH. Vol. 86. P. 45.

Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol* Rev 37: 634–663.

Mezzomo, R. ; Rolim, J. M. ; Santos, Á. F. D. ; Poletto, T. ; Walker, C. ; Maciel, C. G. and Muniz, M. F. B. 2019. Aggressiveness of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* isolates to yerba-mate and production of extracellular enzymes. *Summa Phytopathologica* . 45،pp.141-145.

Mir, M. I., Kumar, B. K., Gopalakrishnan, S., Vadlamudi, S., & Hameeda, B. (2021). Characterization of rhizobia isolated from leguminous plants and their impact on the growth of ICCV 2 variety of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Heliyon*, 7(11), e08321.

Mishra, R.K., Sahu, P.K., Mishra, V., Jamal, H., Varma, A., Tripathi, S., 2023. Isolation and characterization of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria from mangrove region of Sundarbans, India for enhanced crop productivity. *Front. Plant Sci*. 14, 1122347.

Misra, V., Mall, A. K., & Singh, D. (2023). *Rhizoctonia* Root-Rot Diseases in sugar beet: Pathogen diversity, pathogenesis and cutting-edge advancements in management research. The Microbe, 100011.

Mnati, M. A., Dewan, M. M., AL-Abedy, A. N., & Altaie, A. (2021). MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF *FUSARIUM* SPP. AND MACROPHOMINA PHASEOLINA ISOLATED FROM COWPEA PLANTS (VIGNA UNGUICULATA). International Journal of Agricultural & Statistical Sciences, 17(2).

Mondal, A., Dutta, S., Kuiry, S. P., Chakraborty, D., Nandi, S., Das, S., ... & Chaudhuri, S. (2013). The biochemical constituents and pectinase activities associated with the virulence of *Rhizoctonia solani* isolates in rice in West Bengal, India. *African Journal of Agricultural Research*, 8(23), 3029-3035.

Moretti, M., Gilardi, G., Gullino, M. L., & Garibaldi, A. (2008). Biological control potential of Achromobacter xylosoxydans for suppressing *Fusarium* wilt of tomato. *International Journal of Botany*, 4, 369-375.

Mukuma, C. (2016). Morphological and molecular identification and characterization of dry bean fungal root rot pathogens in Zambia. M.Sc.Thesis, University of Nebraska-Lincoln, 160 Pp.

Mullis K, Faloona F, Scharf S, et al. (1986) Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 51: 263-273.

Mulugeta, w.K. Tesfaye, M. Getnet, S. Ahmed, A. Nebiyu, F. Mekuanint, Quantifying yield potential and yield gaps of faba bean in Ethiopia, Ethiopian J. Agric .Sci. 29 (3) (2019) 105–120. North America.

Mushtaque A. J. (2013). Chemical control of sudden decline disease of datepalm (Phoenix dactylifera) in Sindh, Pakistan. Pak. J. Bot., 45(S1): 7-11.

Neme, A., Leta, A., Yones, A. M., & Tahir, M. (2023). Seedborne mycoflora of faba bean (*Vicia fabae* L.) and evaluation of plant extract and *Trichoderma* species against mycelium growth of selected fungi. *Heliyon*.

Nguyen, T. B. H., Foulongne-Oriol, M., Jany, J., Le Floch, G., and Picot, A. (2024). New insights into mycotoxin risk management through fungal population genetics and genomics. *Critical Reviews In Microbiology*, 1–22.

Nicoli, A., L.; Zambolim, H. T. and Carneiro, J. E. S. (2013). Chlamydospore concentration for assessment of *fusarium* root rot on common bean. Tropical. *Plant Pathol.,* 38: 149-151.

Nicot J, Olivry C. 1961 – Contribution a létude du genre Myrothecium Tode. l. Les éspèces a spores striées. Revue Générale de Botanique 68, 672–685.

Nirmaladevi, D., Venkataramana, M., Srivastava, R. K., Uppalapati, S. R., Gupta, V. K., YliMattila, T., ... & Chandra, N. S. (2016). Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. Scientific reports, 6(1), 21367. 32.

Noureddine, K., Gharbi, S., Mebrouk, K., & Eddine, H. J. (2014). Study of pectinolytic activity of *Fusarium oxysporum* f. sp albedinis agent responsible for bayoud in Algeria. Int J Agron Agric Res, 5(2), 40-45.

O'Callaghan, M., 2016. Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities. Appl. Micro. Biotech., 100: 5729–5746

Ogórek, R. (2016). Enzymatic activity of potential fungal plant pathogens and the effect of their culture filtrates on seed germination and seedling growth of garden cress (Lepidium sativum L.). European Journal of Plant Pathology, 145, 469-481.

Parmeter, J. R. and Whitney, H. S. (1970). Taxonomy and nomencleature of the imperfect stage in: Rhizoctonia solani Biology and Pathology. (ed.) J. R. Parmeter. University of California Barkely. Los Angeless. 7-19 pp.

Pan, C., Yang, K., Erhunmwunsee, F., Wang, B., Yang, D., Lu, G., Liu, M., Li, Y., & Tian, J. (2023). Antifungal Activity of Perillaldehyde on *Fusarium solani* and Its Control Effect on Postharvest Decay of Sweet Potatoes. *Journal of Fungi*, 9(2), 257.

Pathak, V. M., Verma, V. K., Rawat, B. S., Kaur, B., Babu, N., Sharma, A., Dewali, S., Yadav, M., Kumari, R., Singh, S., Mohapatra, A., Pandey, V., Rana, N., & Cunill, J. M. (2022). Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. *Frontiers in microbiology*, 13, 962619.

Peña PA, Steadman JR, Eskridge KM, Urrea CA. 2013. Identification of sources of resistance to damping-off and early root/hypocotyl damage from *Rhizoctonia solani* in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Crop Protection 54:92–99

Perincherry, L.; Lalak-Ka 'nczugowska, J. and Stepie, L. (2019). *Fusarium*- produced mycotoxins in plant-pathogen Interactions, toxins, 11, 664.

Persoon, C.H. Disposita methodical fungorum. Romers. Neues. Mag. Bot. 1794, 1, 81–128

Philippot L, Raaijmakers JM, Lemanceau P, van der Putten WH. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat Rev Microbiol* 11: 789–799

Ploetz, R.C., 2015. *Fusarium* wilt of banana. Phytopathology 105 (12), 1512–1521.

Ponukumati, S. V. ; Elliott, M. L. and Des- Jardin, E. A.(2019) Comparison of secreted in xylem (SIX) genes in two *Fusarium* wilt pathogens of ornamental palms. *Plant Pathology*.68(9) - PP. 1663-1681

Poussio, G. B.; Manzoor, A. A.; Rehana, N. S.; Muhammad, I. K. and Absar, M. J. (2021). In-vitro chemical management of *fusarium* wilt of tomato in Sindh, Pak. *Internat. J. Emer. Technol*., 12(1): 162-169.

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.

Ptaszek, M. ; Canfora, L. ; Pugliese, M. ; Pinzari, F. ; Gilardi, G. ; Trzci ´ nski, P ; .Malusà, E. 2023. Microbial-Based Products to Control Soil-Borne Pathogens: Methods to Improve Efficacy and to Assess Impacts on Microbiome. *Microorganisms*. 11 - p.224 .

Purnachandra Reddy, M., & Saritha, K. V. (2015). Bio-catalysis of mango industrial waste by newly isolated *Fusarium* sp.(PSTF1) for pectinase production. 3 Biotech, 5, 893-900.

Puyam, A. (2016). Advent of *Trichoderma* as a bioagent- a review. J. Appli. Nat.Sci., 8(2): 1100-1109.

Quintanilha-Peixoto, G., Torres, R. O., Reis, I. M. A., de Oliveira, T. A. S., Bortolini,D. E., Duarte, E. A. A., et al. (2019). Calm before the storm: a glimpse into thesecondary metabolism of *Aspergillus* welwitschiae, the etiologic agent of the sisal bole rot. *Toxins* 11:631.

Raghu,S., Benagi,V .,and Nargund, V. (2016) .Culture morphological an pathogentic variability among the isolates of *Fusarium solani* causing wiltdisease of chilli. J. pure Appl. *Microbial.Shahjahanabad* , 1 10(1):pp. 599-604.

Raja, H. A.; Miller, A. N.; Pearce, C. J.; and Oberlies, N. H. (2017). Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of natural products*, 80(3), 756-770.

Ramalingam ،J. ،Raveendra ،C. ،Savitha ،P. ،Vidya ،V. ،Chaithra ،T. L.،Velprabakaran ،S. ،and Vanniarajan ،C. (2020). Gene pyramiding for achieving enhanced resistance to bacterial blight ، blast ،and sheath blight diseases in rice. *Frontiers in plant science* ، 11 ،1662.

Rennberger, G., & Keinath, A. P. (2020). Stachybotriaceae on cucurbits demystified: Genetic diversity and pathogenicity of ink spot pathogens. *Plant Disease*, 104(8), 2242-2251.

Rezaee, S., Gharanjik, S., & Mojerlou, S. (2018). Identification of *Fusarium solani* f. sp. cucurbitae races using morphological and

molecular approaches. *Journal of Crop Protection*, 7(2), 161-170. 30.

Rhouma, A., Hajji-Hedfi, L., Bouqellah, N. A., Khaire, P. B., Dali, S., Bargougui, O., ... & Al-Ani, L. K. T. (2024). Uniting the Role of Entomopathogenic Fungi against *Rhizoctonia solani* JG Kühn, the Causal Agent of Cucumber Damping-Off and Root Rot Diseases. *Phyton* (0031-9457), 93(11).

Robinson, G.H.J., J. Balk and C. Domoney, 2019. Improving pulse crops as a source of protein, starch and micronutrients. *Nutr. Bull*., 44: 202–215.

Saksena , H.K. (1971). progress in the studey of parasitisim by *Rhizoctonia*. Indian. *Phytopathology*, 24 , 1-15.

Sallam, N., Ali, E. F., Seleim, M. A., & Khalil Bagy, H. M. (2021). Endophytic fungi associated with soybean plants and their antagonistic activity against *Rhizoctonia solani*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 1-9.

Sambrook, H. C. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring

Harbor, NY.

Samuels, G. J. (2006). *Trichoderma* : Systematics, the sexual state and ecology.*Phytopathology*, 96(2): 195-206.

Sarmiento-López, L. G. ; López-Meyer, M. ; Maldonado-Mendoza, I. E. ; Quiroz-Figueroa, F. R. ; Sepúlveda-Jiménez, G. and Mario Rodríguez-Monroy, M. (2022). Production of indole-3-acetic acid

by *Bacillus circulans* E9 in a low-cost medium in a bioreactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 134 (1) - PP 21-28.

Scandiani, M. M., Ruberti, D. S., Giorda, L. M., Pioli, R. N., Luque, A. G., Bottai, H., ... & O'Donnell, K. (2011). Comparison of inoculation methods for characterizing relative aggressiveness of two soybean sudden-death syndrome pathogens, *Fusarium virguliforme* and *F. tucumaniae*. *Tropical Plant Pathology*, 36, 133-140.

Schipper, M.A.A. (1984). "A revision of the genus *Rhizopus*.. The *R.stolonifer*-group and *R. oryzae*". *StudiesinMycology*., 25: pp.1–19.

Schoch, C. L.; K.A. Seifert; S. Huhndorf; V. Robert; J.L. Spouge; C.A. Levesque and Miller; A.N. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109: 6241-6246.

Schroers, H.J.; Samuels, G.J.; Zhang, N.; Short, D.P.; Juba, J.; Geiser, D.M. Epitypification of Fusisporium (*Fusarium*) solani and its assignment to a common phylogenetic species in the *Fusarium solani* species complex. *Mycologia* 2016, 108, 806–819.

Serrano MS, De Vita P, Fernández-Rebollo P, Hernández MES(2012) Calcium fertilizers induce soil suppressiveness to Phytophthora cinnamomi root rot of Quercus ilex. *European journal of plant pathology*

Shang, Y., Xiao, G., Zheng, P., Cen, K., Zhan, S., and Wang, C. (2016). Divergent and convergent evolution of fungal pathogenicity. *Genome Biol. Evol*. 8, 13741387–

Sharma, I., Kumari, N. & Sharma, V. (2014) Defense gene expression in Sorghum bicolor against *Macrophomina phaseolina* in leaves and roots of susceptible and resistant cultivars. *Journal of Plant Interactions*, 9, 315–323.

Sharma, R., Kulkarni, G., & Shouche, Y. S. (2013). *Corynascus verrucosus*, second record for science and new for India. *Nova Hedwigia*, 97(3-4), 485-494. 29.

Shortle, W. C. and Dudzik, K. R. (2012). Wood decay in living and dead trees: A pictorial overview. Gen. Tech. Rep. NRS-97. Newtown Square, PA: US Department of Agriculture, Forest Service, Northern *Research Station*. 26 p., 97, 1-26.

Sinclair, J. B. (1982). Compendium of soybean disease. 2nd ed. American

Phytopatholo. Soc. St. Paul. MN. 104pp.

Singh , D.V. (2007). Introductory Plant Pathology. lndian Agric. Res. Ins. *New Delhi* , 49.

Singh AK, Bhat BP, Sundaram PK, Gupta AK, Singh D (2013). Planting geometry to optimize growth and productivity faba bean (*Vicia faba* L.) and soil fertility. J. *Environ. Biol*. 34 (1):117-122.

Singh R, Singh BK, Upadhyay RS, Rai B, Lee YS (2002). Biological control of *Fusarium* wilt disease of pigeonpea. *Plant Pathol*. J. 18 : 279-283

Singh, Mahabeer & Singh, Jitendra & Maurya, & Kumar, Sunil & Meena, Anand & Sharma, Pinki & Lakhran, Lalita. (2021). Root Rot Disease Incited by *Macrophomina phaseolina* in Arid Legumes and their Management: A Review. Legume Research - *An International Journal*. 10.18805/LR-4714.

Singh, P.K. and Kumar, V. (2011). Variability among isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. chrysanthemi pathogenic to Chrysanthemum. *Inter. J. Plant Pathol*., 2(3): 136-143.

Smith VL, Wilcox WF, Harman GE (1990). Potential for biological control of Phytopthora root and crown rot of apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. *Phytopathol.* 80: 880-885

Soleha ،S. ،Muslim ،A. ،Suwandi ،S. ،Kadir ،S. ،and Pratama ،R. (2022). The identification and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* causing acacia seedling wilt disease. *Journal of Forestry Research* ، 33(2) ،711-719

Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants*, 9(6), 762.

Spanu, P. D., Abbott, J. C., Amselem, J., Burgis, T. A., Soanes, D. M., Stüber, K., & van Themaat, E. (2010). Genome expan- sion and gene loss in powdery mildew fungi reveal tradeoffs in extreme parasitism. *Science*, 15(10), 1543–1546

Sraa Nsayef Muslim, and Zainab Salim Hussin. (2022). Review: Management strategies root rot disease of soybean plants caused by *Fusarium oxysporum*. *Texas Journal of Multidisciplinary Studies*, 5, 78–80.

Sridharan, A. P.; Sugitha, T.; Karthikeyan, G. and Sivakumar, U. (2020). Comprehensive profiling of the VOCs of *Trichoderma longibrachiatum* EFS while interacting with *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. *Microbiol*. Res., 236:126436

Stepien, Ł. 2023. Plant-Pathogenic *Fusarium* Species. *Journal Fungi*. 9, 13.

Strange, R.N. and Scott, P.R. (2005) Plant disease: a threat to global food security. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 83–116.

Sunitha,V.H., NirmalaDevi,D. and Srinivas,C.(2013). Extracellular Enzymatic Activity of Endophytic Fungal Strains Isolated from Medicinal Plants. *World Journal of Agricultural Sciences*.,9(1):1-9.

Temesgen, G. Keneni, T. Sefera, M. Jarso, (2015). Yield stability and relationships among stability parameters in faba bean (*Vicia faba* L.) *genotypes, Crops J.* 3 (3) 258–268,

Thakur, R.; Srivastava, S.; Yadav,(2023). S. Multi trait *Pseudomonas* sp. isolated from the rhizosphere of Bergenia ciliata acts as a growth-promoting bioinoculant for plants. Front. Sustain. *Food Syst*. 7, 1097587

Thomas, J., Walsh, M.D., Fidsa, F . (2018).Larones medically important fungi. weill cornell medicine of cornell university, *NewYork–Presbyterian Hospital.*

Troncoso-Rojas, R., & Tiznado-Hernández, M. E. (2014). *Alternaria alternata* (Black Rot, Black Spot). *Postharvest Decay*, 147–187. doi:10.1016/B978-0-12-411552-1.00005-3

Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., and Jaroszuk-Ściseł, J. (2022). Trichoderma: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329.

van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., and Urbaneja ,A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms :plenty of new opportunities. *BioControl* 63, 39–59.

Vanitha, S.; Ramjegathesh, R.(2014) Biocontrol potential of *Pseudomonas fluorescens* against coleus root rot disease. J. *Plant Pathol. Microb*., 5, 216.

Verma, M .; S.K. Brar; R. Y. Surampalli; and J. R. Valero . 2007. Antagonistic fungi , *Trichoderma* spp. : Panoply of biological control . *Biochemical Engineering Journal.* 37 : 1–20

Walther, G., Wagner, L., & Kurzai, O. (2019). Updates on the taxonomy of Mucorales with an emphasis on clinically important taxa. *Journal of fungi*, 5(4), 106.

Wang, H. Y., Li, X., Dong, C. B., Zhang, Y. W., Chen, W. H., Liang, J. D., & Han, Y. F. (2024). Two new species of Sordariomycetes (*Chaetomiaceae* and *Nectriaceae*) from China. *MycoKeys*, 102, 301. 39.

Wang, J., Li, C., Song, P., Qiu, R., Song, R., Li, X., ... & Li, S. (2022). Molecular and biological characterization of the first mymonavirus

identified in *Fusarium oxysporum. Frontiers in Microbiology*, 13, 870204.

Watanabe T 1994 – Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Boca Raton (FL): CRC Press.

Weber, R. W. (2009). Recent developments in the molecular taxonomy of fungi.In Physiology and Genetics. *Springer, Berlin, Heidelberg*. 15:1-5.

Webester, J. and Weber, R. (2007). Introduction to fungi. Third edition. Cambridge University Press. New York. 875 p.

Wells, H. D. (1988). *Trichoderma* as a biocontrol agent. In: Biocontrol of plant disease (Mukerji, K. G. and Garg, K. L.). 1P 72-82. CRC Press. Inc. Boca. Raton., Florida.

Williamson-Benavides, B. A., & Dhingra, A. (2021). Understanding root rot disease in agricultural crops. *Horticulturae*, *7*(2), 33.

WU ،K. L. ،CHEN ،W. Z. ،Shuai ،Y. A. N. G. ،Ya ،W. E. N. ،ZHENG ،Y. R.،Anjago ،W. M. ،and WANG ،Z. H. (2003). Isolation and identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense in Fujian Province ،China. *Journal of Integrative Agriculture* ،18(8) ،1905-1913.

Xu Y, Wang G, Jin J, Liu J, Zhang Q, Liu X. (2009). Bacterialcommunities in soybean rhizosphere in response tosoil type, soybean genotype, and their growth stage.*Soil Biol Biochem* 41: 919–925

Yang Y., Zuzak K., Feng F. (2016). An improved simple method for DNA extraction from fungal mycelia. Can. J. *Plant Pathol*. 38, 476–482.

Yang, J., Guo, W., Wang, J., Yang, X., Zhang, Z., and Zhao, Z. (2020). T-2 toxin induced oxidative stress leads to imbalance of mitochondrial

fission and fusion to activate cellular apoptosis in the human liver 7702 cell line. Toxins 12:43.

Yeoh, H. H., Tan, T. K., & Tian, K. E. (1984). Cellulolytic enzymes of fungi isolated from wood materials. *Mycopathologia*, 87, 51-55.

Yin ،X. D.; Ma ،K.; Wang ،Y.; Sun ،Y.; Shang ،X.; Zhao ،Z.; Wang ،R.; Chen ،Y.; Zhu ،J. and Liu ،Y. (2020). Design ،Synthesis ،and Antifungal Evaluation of 8-Hydroxyquinoline Metal Complexes against Phytopathogenic. *Fungi Journal of Agricultural and Food Chemistry* .

Yu Du, F.; Guang-Lin, J. u.; Lin, X.; Yuan-Ming, Z. and Xia, W. (2020).Sesquiterpenes and cyclodepsipeptides from marine-derived fungus *Trichoderma longibrachiatum* and their antagonistic activities against soil-borne pathogens. *Mar. Drugs*, 18(3): 165.

Yu H, Yang F, Hu C, Yang X, Zheng A, Wang Y, Tang Y, He Y, Lv M. (2023). Production status and research advancement on root rot disease of faba bean (*Vicia faba* L.) in China. Front Plant Sci. 2;14:1165658.

Yuan , M. , Huang , Y. , Ge , W. , Jia , Z. , Song , S. , Zhang , L. , & Huang Y. (2019). Involvement of jasmonic acid , ethylene and salicylic acid signaling pathways behind the systemic resistance induced by (*Trichoderma longibrachiatum*) H9 in cucumber. *BMC genomics* , 20 (1), 144.

Zeilinger, S., Gupta, V. K., Dahms, T. E., Silva, R. N., Singh, H. B., Upadhyay, R. S,.et al. (2016). Friends or foes? Emerging insights from fungal interactions with plants. *FEMS Microbiol*. Rev. 40, 182–207.

Zhao, J., Wang, Z., Jiao, R., Wan, Q., Wang, L., Li, L., ... & Munir, S. (2024). P-hydroxybenzoic acid positively affect the *Fusarium oxysporum* to stimulate root rot in Panax notoginseng. *Journal of Ginseng Research*, 48(2), 229-235.

Zhou, Y., Zhang, H., Li, K., Ouyang, Y., Guo, M., Cai, G., & Feng, H. (2023). First report of root rot caused by *Mucor circinelloides* on Fructus forsythiae in Hubei, China. *Plant Disease*, 107(9), 2854.

Zhu, H., Zhang, H., Xu, Y., Laššáková, S., Korabečná, M., & Neužil, P. (2020). PCR past, present and future. *Biotechniques*, 69(4), 317-325.

Zitnick-Anderson., Luis, E., del, Río, Mendoza., Shana, M., Forster., Julie, S., Pasche. (2020). 2. Associations among the communities of soil-borne pathogens, soil edaphic properties and disease incidence in the field pea root rot complex. *Plant and Soil*.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Maysan - College of Science

Department of Life Sciences

Evaluating the effectiveness of some biological agents and the fungicide Beltanol against the fungi causing rotting of the root and stem base of faba bean (*Vicia faba* L.)

A thesis submitted to the Council of the College of Science - University of Maysan, as part of the requirements for obtaining a master's degree in life sciences

From the student

Asia Nimah Kazem

Bachelor of Life Sciences 2021

Under supervision

Prof. Dr. Ali Abdel Wahed Qasim

Mr. Dr. Ghassan Mahdi Dagher

1446 AH **2025 AD**

Abstract

This study was conducted in the Fungal Laboratory at the College of Science, University of Maysan. It involved isolating fungi from the roots and stem bases of faba bean plants infected with root rot and stem base rot in Maysan Governorate. The fungi were diagnosed both morphologically and molecularly. The pathogenicity of these fungi was tested on solid media (PDA) and in plastic pots. In addition, the effectiveness of some chemical and biological agents, as well as their integration, in controlling the isolated fungi was evaluated.

A total of 50 samples from the infected root and stem base parts of the plants were collected from three areas in Maysan Governorate: the center of Amara, Al-Mashrah, and Al-Kamit. A total of 227 fungal isolates were obtained (106 isolates from non-sterilized parts and 121 isolates from sterilized parts). The distribution of isolates was as follows: 110 isolates from the center of Amara, 78 isolates from Al-Mashrah, and 39 isolates from Al-Kamit.

The results showed that *Rhizoctonia solani* was the most frequently encountered fungus, with a frequency of 86% and an occurrence rate of 18.94%, followed by *Fusarium solani* (82% occurrence and 18.06% frequency), and *Fusarium oxysporum* (56% occurrence and 12.33% frequency). On the other hand, *Alternaria alternata* and *Pythium ultimum* showed the lowest occurrence and frequency, both at 6% and 1.32%, respectively.

Five fungal species were identified for the first time as pathogens of root rot and stem base rot in faba bean plants: *Corynascus sepedonium, Mucor circinelloides, Myrothecium inundatum, Ovatospora pseudomollicella, and Rhizopus homollicus*.

Enzymatic activity results revealed variations in the ability of the pathogenic fungi to produce enzymes. Six fungal species were tested for their ability to produce cellulase, pectinase, and protease. *R. solani* and *Macrophomina phaseolina* showed the highest ability to produce all studied enzymes. In contrast, *F. solani* and *F. oxysporum* did not produce detectable levels of pectinase. *F. solani* showed the highest cellulase activity, with a measurement of 75 mm, while R. solani showed the lowest cellulase activity, with 25 mm. As for protease activity, *Aspergillus flavus* and *R. solani* exhibited the highest protease activity, each measuring 80 mm, while *F. solani* and *M. phaseolina* showed the lowest protease activity at 70.5 mm. *M.*

phaseolina showed the highest pectinase activity at 40.5 mm, while *F. solani* and *F. oxysporum* did not produce detectable pectinase activity

The results of the antagonistic test between the biological agent *Trichoderma longibrachiatum* and the pathogenic fungi showed that *T. longibrachiatum* could inhibit the growth of pathogenic fungi, with an antagonistic rating of 1 according to Bell's scale against *R. solani*, *F. solani*, and *F. oxysporum*, and a rating of 2 against *M. phaseolina*, *A. flavus*, and *A. niger*.

The effectiveness of the chemical fungicide Beltanol was also tested, and it was found to completely inhibit the growth of the pathogenic fungi isolated from faba bean roots and stem bases on PDA medium at the recommended concentration (1 ml/L), achieving 100% inhibition for all isolated pathogens.

The study showed that the biological agents *T. longibrachiatum* and *Pseudomonas fluorescens*, along with the chemical fungicide Beltanol, and their integration, were effective in controlling the pathogenic fungi in plastic pots. All biological and chemical treatments reduced both the percentage of infection and the severity of infection caused by *F. solani* and *R. solani* compared to treatments with the fungi alone. The percentage of infection and severity for *R. solani* were 91.6% and 83.3%, respectively, while for *F. solani*, they were 83.3% and 91.6%, respectively. The treatment with *T. longibrachiatum* completely reduced the infection and severity to 0% for both fungi, followed by the treatment with *P. fluorescens*, which reduced the infection and severity to 0% when combined with *F. solani*, but showed 8.3% infection and 2.08% severity with *R. solani*. The chemical fungicide was less effective compared to the biological treatments, with a reduction in infection and severity of 25% and 12.5%, respectively, when applied to *F. solani*.