Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 29, No: 1, 2020 (75-92)

Effect of Aqueous and Alcoholic Extract of *Eucalyptus Camaldulensis* Dehn Leaves on Growth of Fungal Root Rot of *Pinus Brutia* Ten *In Vitro*

Anwer Noori Mohammed Al-Khero[1*]; Muhannad Hamid Younis Al-Obaidy[2]

Forestry Department, college of Agriculture and Forestry Mosul University, Mosul, Iraq

Email: [1]mmuhannad233@gmail.com, [2] anweral-khero@yahoo.com

(Received December 12, 2018; Accepted May 16, 2019; Available online March 01, 2020)

DOI: 10.33899/edusj.2020.164364, © 2020, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract:

Root Rot disease is one of important disease which caused great damage for *Pinus brutia* and was very clear the field Survey of Mosul nurseries,3 nurseris in AL-Faisalih location, 3 nurseris in Muthanna, 1 nurseris in AL-Mohandiseen location and Nineveh Horticulture station, this was through October and December of 2017 and February , April , June and August of 2018.fungi were recorded like *Fusarium solani* Mart Insulalation ratia 27.80% ,*Macrophomina phaseolina* Tassi Goid Insulalation ratia 18.76% and *Rhzoctonia solani* Khun Insulalation ratia 16.48% which Isolated from *Pinus brutia* Seedling .Pathogenicity tests Results showed *Fusarium poae* was had high pathogenicity 87.5% *Pinus brutia* seedling and the fungus was very effective at growth characteristics.

The study of *Eucalyptus camaldulnsis* leaves Extracts effect at the growth of Isolated fungi growth inhibition and for all studying concentration as a compartment with aqueous extracted especially leaves Alcoholic extracts *Rhizoctonia solani* was morally effect by aqueous leaves extracted.

Keywords: Pinus, root rot, Fungi, Extracts, Eucalyptus.

تأثير المستخلص المائي والكحولي لأوراق أشجار اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* Dehn في نمو فطريات تعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي *Pinus brutia* Ten مختبرياً

أنور نوري محمد الخير[1*] و مهند حامد يونس العبيدي[2]

قسم الغابات, كلية الزراعة والغابات, جامعة الموصل, الموصل, العراق.

الخلاصة

يعد مرض تعفن الجذور من الامراض التي تسبب أضراراً بالغة لشتلات الصنوبر البروتي *Pinus brutia* وقد ظهر ذلك جلياً في مشاتل الغابات الخاصة في الموصل وذلك لثلاث مشاتل في منطقة الفيصلية وثلاث مشاتل في منطقة المثنى ومشتل في منطقة المهندسين فضلاً عن محطة بستنة نينوى خلال المسح الحقلي الذي أجري في تلك المشاتل وخلال شهر تشرين الاول وشهر كانون

الاول في عام 2017 والاشهر شباط ونيسان وحزيران وأب في عام2018 وتم تسجيل الفطريات *Fusarium solani* Mart بنسبة بلغت 27.80% *Macrophomina phaseolina* Tassi Goid بنسبة بلغت 18.76% *Rhizoctonia solani* Khun بنسبة بلغت 16.48% كمسببات لتعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي *Pinus brutia* . وأظهرت نتائج القدرة الإمراضية للفطريات المعزولة تفوق الفطر *Fusarium solani* بأعلى نسبة إصابة بلغت 81.25% لشتلات الصنوبر البروتي كذلك أحدث الفطر تأثيراً معنوياً بالغاً في جميع صفات النمو مقارنةً بالفطريات الاخرى, وفي دراسة تأثير مستخلصات أوراق أشجار اليوكالبتوس *Euycalyptus camaldulensis* Dehn في نمو الفطريات المعزولة بينت النتائج تفوق المستخلص الكحولي في تثبيط نمو الفطريات المعزولة مقارنة بالمستخلص المائي ولجميع التراكيز باستثناء الفطر *Rhizoctonia solani* الذي أنفرد في تثبيطه معنوياً بتأثير مستخلص الأوراق المائي لليوكالبتوس .

الكلمات المفتاحية: الصنوبر، تعفن الجذور، الفطريات، مستخلصات، اليوكالبتوس.

المقدمة Introduction

تعد الغابات من أهم النظم البيئية المتطورة وأعقدها وأكثرها ارتباطاً بحياة الإنسان، لما تمتلكه من مدّخرات وراثية هائلة(1). وما تقدمه من منتجات اقتصادية : كالخشب، والمواد العطرية، والطبية، والعلفية، والمواد الغذائية، إلى جانب فوائدها في السياحة والاستجمام ،..... وما تملكه من فوائد بيئية (2). تغطي الغابات 30% تقريباً من سطح الأرض، وتعد مخزناً لحوالي 45% من الكربون في الأرض وقد بيَنت الدراسات وجود ارتباط وثيق بين الغابات والمناخ العالمي (3). ويعد الصنوبر البروتي *Pinus brutia* Ten. من أشجار الغابات المخروطية (Coniferales)، إذ يعد الصنوبر من الاشجار الكبيرة التي تنتمي الى العائلة الصنوبرية Pinaceae، ينتشر الصنوبر البروتي بصورة طبيعية في الجزء الشرقي من البحر المتوسط ابتداء من اليونان حتى لبنان مروراً بتركيا وسوريا وقبرص والعراق (4) ، ينمو الصنوبر البروتي في العراق بصورة طبيعية و ينتشر في محافظتي نينوى و دهوك في منطقتي زاويتا وأتروش ،(5) و(6) تتعرض شتلات هذه الأشجار للأصابة بالعديد من المسببات الفطرية التي تؤدي الى تعفن الجذور مثل *Fusarium* sp. و *R. solani* و *M. phaseolina* مسببةً خسائر اقتصادية كبيرة، وكذلك فإن مسببات تعفن الجذور تشمل العديد من الفطريات منها *Cylindrocarpon tenue.* و *F. oxysporum* و *Fusarium* sp و *M. phaseolina* و *Microdochium bolleyi* و *Mucor* sp. و *Pestiolopsis funera* و*Phoma pomorum* و *Pythium* sp. *Rhizoctonia* sp.(7 و8). ونتيجة لازدياد خطورة أمراض النبات من جهة وسلبيات المبيدات الكيميائية من جهة أخرى، فقد أكدت عدة دراسات نجاح استعمال المستخلصات النباتية كوسائل بديلة غير ضارة وذات كفاءة عالية في السيطرة على عدد من المسببات الممرضة للنبات (9)، لذلك لجأ الباحثون إلى أستخدام النباتات الطبية التي تعد مصدراً غنياً بالعوامل المضادة للأحياء المجهرية (10). وتتوفر مثل هذه النباتات محليا في العراق كأشجار اليوكالبتوس ونباتات الأس والحرمل والثوم والتي يمكن اعتماد اجزائها كمستخلصات نباتية في المكافحة تجنباً لاستخدام المبيدات الكيميائية(11)، حيث إن المستخلصات المائية لأوراق نوعين من اليوكالبتوس*Eucalyptus citriodora* و*E.camaldulensis* لها فعالية عالية تجاه ثلاثة أنواع من الفطريات *A.alternata* و *Drechlera hawaiiensis* و *Drechlera tetramera* (12). أعطت أوراق نبات اليوكالبتوس *E. camaldulonsis* بتركيز. 0.5 مل/ملغم تأثيرا واضحاً على النمو الشعاعي والوزن الجاف للفطريات *A.altemata* و *A.chlamydospora* و *Ulocladium qtrum*(13). تفوق تأثير المستخلصات الكحولية لأوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus camadulensis* والنعناع الفلفلي *Menthapiperta* والكزبرة *Coridndru sativum* على تأثير المستخلصات المائية للنباتات نفسها في نمو الفطريات *A.niger* و *F.solani* و*A.alternata* المعزولة من أشجار نبات الدردار(14). ويعدّ *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. من الأشجار السريعة النمو والأنواع التي نجحت في الغابات الاصطناعية ويستخدم للأغراض الطبية والعلاجية (5 و15) وان اوراق *Eucalyptus camaldulensis* تحتوي على triterpeoids

و sterol و tainnins و suponins و flavonoids والمركبات الفينولية . (16).حيث هدفت هذه الدراسة الى المسح الحقلي لمرض تعفن الجذور وعزل الفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي وأختبار القدرة الأمراضية للفطريات المعزولة مع الاختبار الحيوي للمستخلص المائي والكحولي لأوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus camadulensis* كمضادات طبيعية للفطريات المعزولة مختبرياً.

المواد وطرائق العمل Materials and methods

المسح الحقلي لمسببات تعفن الجذور

تم اجراء مسح حقلي لمشاتل خاصة في الموصل ثلاثة بمنطقة الفيصلية وثلاثة في منطقة المثنى ومشتل في منطقة المهندسين اضافة الى محطة بستنة نينوى لمرض تعفن جذور صنوبر بروتيا *P. brutia* لشتلات بأعمار تتراوح ما بين (1–3) سنوات خلال الأشهر تشرين الاول وكانون الاول 2017 وشباط ونيسان وحزيران وأب 2018 ، وذلك لغرض دراسة التوزيع الموسمي للفطريات المسببة لمرض تعفن جذور الشتلات المنماة في الأكياس، وتم تقدير النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن جذور الصنوبر البروتي بحساب عدد الشتلات المصابة في 100شتلة، إذ تم ذلك من خلال أعراض الاصفرار والموت على المجموع الخضري وللتأكد من أصابتها اخذت عينات عشوائية وفحص المجموع الجذري من خلالها وتم ملاحظة أعراض التعفن في بشرة الجذور والشعيرات الجذرية.

استخرجت النسبة المئوية للإصابة على النحو التالي :-

$$\text{\%للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$$

العزل

جلبت عينات من الشتلات المصابة من الصنوبر بروتي *P. brutia* خلال فترة المسح في المشاتل الممسوحة وأخذت اجزاء منها لأجراء العزل وتم تهيئة الفطريات وتنقيتها وحفظها لغرض أجراء التجارب اللاحقة عليها باستعمال المنتجات الطبيعية المستخلصة من أوراق اشجار اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* حيث تم عزل هذه الفطريات من الشتلات المصابة بتعفن الجذور باختيار عينات عشوائية من شتلات مصابة بتعفن الجذور مزروعة في اكياس نايلون زراعية(البولي أثيلين)، وضعت تحت الماء الجاري لمدة 4 ساعات لإزالة الاتربة من الجذور والمواد الغريبة ثم نقلت الجذور بعد تقطيعها الى اجزاء بطول 0.5 –1 سم، عقمت سطحيا وغمرت في محلول 1%هايبوكلورايت الصوديوم (NaOC1) لفترة 3–4 دقائق، رفعت القطع من المحلول وغسلت بماء مقطر معقم، وجففت بين ورقتي ترشيح معقمة وزرعت في اطباق بتري معقمة (قطر 8.5 سم) حاوية على الوسط المغذي اجار البطاطا والدكستروز PDA) Potato Dextrose Agar) المضاف اليه المضاد الحيوي سلفات الستربتومايسين بتركيز 50ملغم /لتر لمنع نمو البكتريا قبل تصلبه. وبمعدل 4 قطع / طبق، حضنت الاطباق في درجة حرارة 25+– 2 سليزية، وأخذت النتائج بحساب عدد المستعمرات الفطرية في كل طبق ثم حولت الى نسبة مئوية للفطريات المعزولة ،نقيت المستعمرات النامية بطريقة العزل من طرف الهايفا Hyphal tip method (17) حضرت شرائح من الفطريات المعزولة وفحصت تحت المجهر وبقوتي تكبير X40 X10 وشخصت الفطريات المعزولة حتى مرتبة النوع اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها وذلك بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية العالمية المعتمدة التي وضعها (18و19 و20 و21) ثم حفظت الفطريات المنتقاة في انابيب اختبار تحتوي على أكار مائل(slant) في 5 درجة سليزية لغرض استعمالها في الاختبارات اللاحقة وتم العزل بمعدل شهرين ولمدة سنة للنبات قيد الدراسة . وحسبت نسبة الفطريات المعزولة لكل نوع نباتي كالآتي:-

% للفطر المعزول = $\frac{\text{عدد مستعمرات الفطر المعزول}}{\text{العدد الكلي للمستعمرات النامية}} \times 100$

اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة

اجري اختبار القدرة الامراضية للفطريات *F.solani* و*M .phasolina.* و *R.solani* المسببة لتعفن الجذور بعد عزلها من الشتلات المصابة حسب طريقة(22) وذلك بعد تهيئة الشتلات السليمة بأعمار من (1-3) سنة المزروعة في أكياس زراعية حجم (3كغم) من الصنوبر البروتي *Pinus brutia.* في مشتل قسم الغابات، التابع لكلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل وتم تجريح جذور الشتلات السليمة بواسطة مشرط حاد معقم بعد تهيئة الفطريات المستعملة في الاختبار والتي تم تنميتها على اوساط مغذية معقمة من اجار البطاطا والدكستروز (PDA (Potato Dextrose Agar وفي أطباق بتري قطر (8.5 سم)، تم تقطيع الوسط المغذي مع الفطر النامي بوساطة خلاطة كهربائية نوع Go sonic ، حيث أضيف طبقان لكل شتلة سليمة وتم خلطها مع تربة الجذور المجروحة واشتملت كل معاملة 4 مكررات وكل مكرر اربع شتلات ، وأخذت النتائج بعد مرور 75 يوما من تاريخ التلقيح وبعدها أزيلت الشتلات من التربة بواسطة الماء الجاري وتم حساب النسبة المئوية للإصابة لكل فطر على حدى لشتلات الصنوبر حسب العلاقة على النحو التالي :- %للإصابة= $\frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$

ولمعرفة تأثير هذه الفطريات الممرضة على بعض صفات النمو للشتلات تم حساب طول المجموع الخضري وطول المجموع الجذري والوزن الرطب لكل شتلة كما تم حساب الوزن الجاف وذلك بعد تجفيف الشتلات في فرن بدرجة حرارة 70م^{O} لمدة 48 ساعة(23). نفذت تجربة عامليه باستعمال تصميم القطاعات العشوائي الكامل (RCBD) واختبرت النتائج بطريقة دنكن متعدد الحدود.

تهيئة المواد الاولية وجمع العينات

تم جمع عينات من أوراق اشجار اليوكالبتوس كمالدولينسيس *Eucalyptus camaldulensis* Dehn إذ جمعت الأوراق الناضجة أثناء فترة التزهير وذات مواصفات جيدة خالية من الاصابات الحشرية والمرضية ومن عدة مناطق من الحرم الجامعي لجامعة الموصل وبأعمار لا تقل عن 20 عاما ، وذلك حسب طريقة (24) جمعت العينات في اكياس نايلون ونقلت الى المختبر وغسلت للتخلص مما يعلق بها من أتربة بعدها تم تجفيف العينات النباتية في الظل وتم تقطيعها الى اجزاء صغيرة الحجم ثم تركت لتجف هوائيا لمدة (21 يوما) .

طحنت العينات النباتية باستعمال مطحنة كهربائية نوع (محلية الصنع) للاجزاء الصغيرة الجافة من والاوراق وجمعت الدقائق الصغيرة التي استقرت على منخل (60 مش) بعد مرورها من خلال منخل (16 مش) فأصبحت العينات جاهزة للاستخلاص (25).

أ-تحضير المستخلص الكحولي للأوراق.

تم اعتماد طريقة(26) في استخلاص بعض المنتجات الطبيعية وذلك تبعا لنوع المذيب المستعمل وهو الايثانول 95% .اجريت عملية الاستخلاص بوضع 50 غم من مسحوق الأوراق المطحون وبمواصفات (24) وأضيف اليها 500مل من الايثانول 95% في دورق زجاجي سعة 500مل ،رجت العينة بواسطة جهاز الرج المغناطيسي (Magnetic sterier) ولمدة 48 ساعة رُشح المزيج باستعمال عدة طبقات من الشاش الطبي ثم رشح المحلول من خلال ورق ترشيح Whatma No.1 ثم نقل المتبقي الى مرحلة الاستخلاص بالماء الحار، ركز مستخلص الاوراق في جهاز المبخر الدوار (Rotary vaccum evaporator) بدرجة حرارة 40 - 50مْ للحصول على 25مل من المستخلص الخام ثم حُفظ الراشح بعد تجفيفه في أوعية محكمة الغلق ومعتمة في الثلاجة بدرجة 4°م لحين الاستعمال وأجراء الاختبارات الحيوية (27).

ب-تحضير المستخلص المائي الحار للأوراق.

تم رفع ما تبقى من العينة التي سبق استخلاصها باستعمال الإيثانول 95% لتحضير مستخلص الاوراق الكحولي السابق الذكر وجففت العينة هوائيا ثم وضعت في اناء زجاجي سعة لتر واحد وأضيف اليها 400مل من الماء الحار بدرجة حرارة 80 درجة سليزية وتم استعمال جهاز الرجاج الكهربائي Electric sterier للتحريك المستمر ولمدة 24ساعة ثم برد المحلول وتم تصفيته بواسطة قماش الموسلين (الشاش الطبي) للتخلص من الشوائب الكبيرة وبعدها رشح خلال ورق ترشيح Whatman No. 1 وجفف هوائياً تحت ظروف المختبر وتم الحصول على مسحوق من المستخلص المائي ثم حفظ المسحوق في قناني معتمة محكمة الغلق لحين اجراء الاختبارات الحيوية.

الاختبارات الحيوية

تأثير المستخلص الكحولي والمائي في تثبيط النمو الفطري:-

تم تهيئة دوارق بحجم 100مل من الوسط الغذائي PDA المعقم وقبل تصلبه اضيفت اليه مستويات مختلفة من تراكيز المستخلص الكحولي وذلك بأخذ 1غم من مسحوق المستخلص النباتي المحضر مسبقاً وأذيب في 10مل من مادة Dimethyl Sulfoxid (DMSO) وبنفس الطريقة حضر المستخلص المائي وذلك بأضافة 1غم من المستخلص المائي 10مل ماء مقطر معقم وحضرت التراكيز (25% و50% و75% و 100%) إضافة الى معاملة المقارنة الخالية من المستخلص، ثم صبت في اطباق بتري معقمة قطر5 سم وبعد تصلبها لقحت في مركزها بأقراص قطرها 5ملم من الفطريات المعزولة مأخوذة من حافة المستعمرات، طرف الهايفا Hyphal tip method (17) واشتملت المعاملة 4 مكررات وكل مكرر 3 أطباق بالاضافة الى معاملة المقارنة وحضنت الاطباق في درجة حرارته 25+- 2م^0 ، أخذت النتائج عند امتلاء اطباق المقارنة بنمو الغزل الفطري ، وذلك بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين للمستعمرة النامية ومنه تم حساب نسبة تثبيط النمو حسب القانون الآتي :

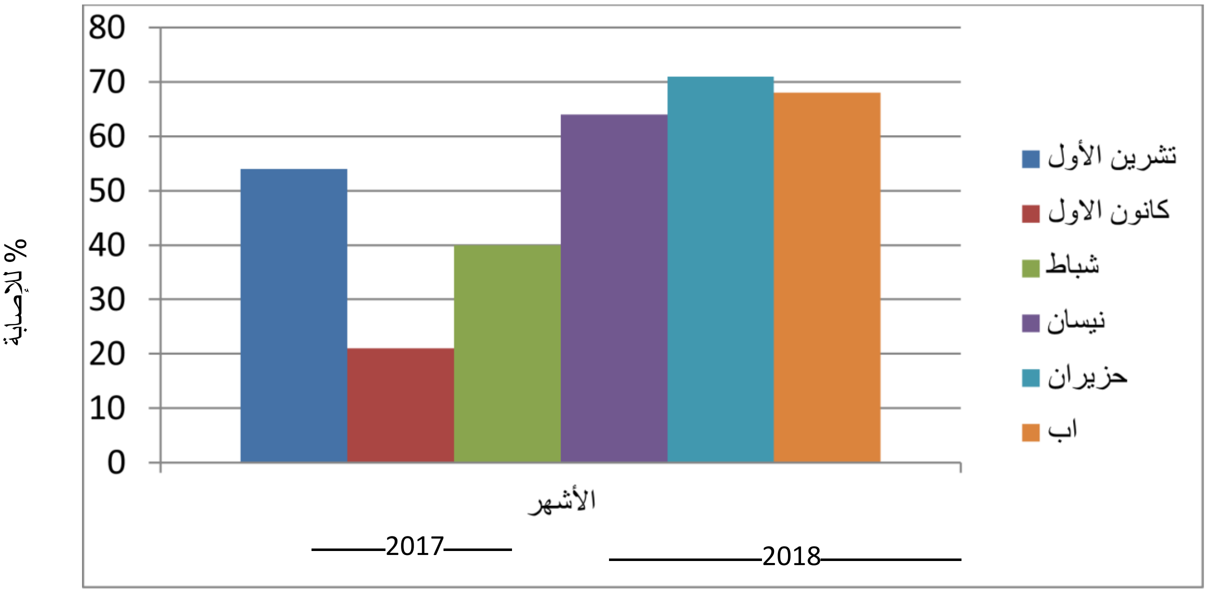
$$\text{\% لتثبيط النمو} = \frac{\text{متوسط قياس قطر مستعمرة المقارنة} - \text{متوسط قياس قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قياس قطر مستعمرة المقارنة}} \times 100$$

نفذت تجربة عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) وحللت النتائج إحصائيا واختبرت بطريقة دنكن متعدد الحدود(28).

النتائج والمناقشة Results and discussion

المسح الحقلي لمرض تعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي.

أظهرت نتائج المسح الحقلي تباين في نسبة الإصابة بمرض تعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي *P. brutia* خلال أشهر المسح فقد ظهر ارتفاع نسبة الإصابة لشتلات الصنوبر البروتي خلال شهر تشرين الاول لعام2017 والتي بلغت 54%. ثم حدث تدني في نسبة الإصابة بتأثير انخفاض درجات الحرارة لأشهر كانون الاول 2017 وشباط 2018 اذ بلغت 21و40% على التوالي. ثم أخذت نسبة الإصابة بالارتفاع مع ارتفاع درجات الحرارة في حزيران 2018 والتي بلغت أقصاها71%. (الشكل1).



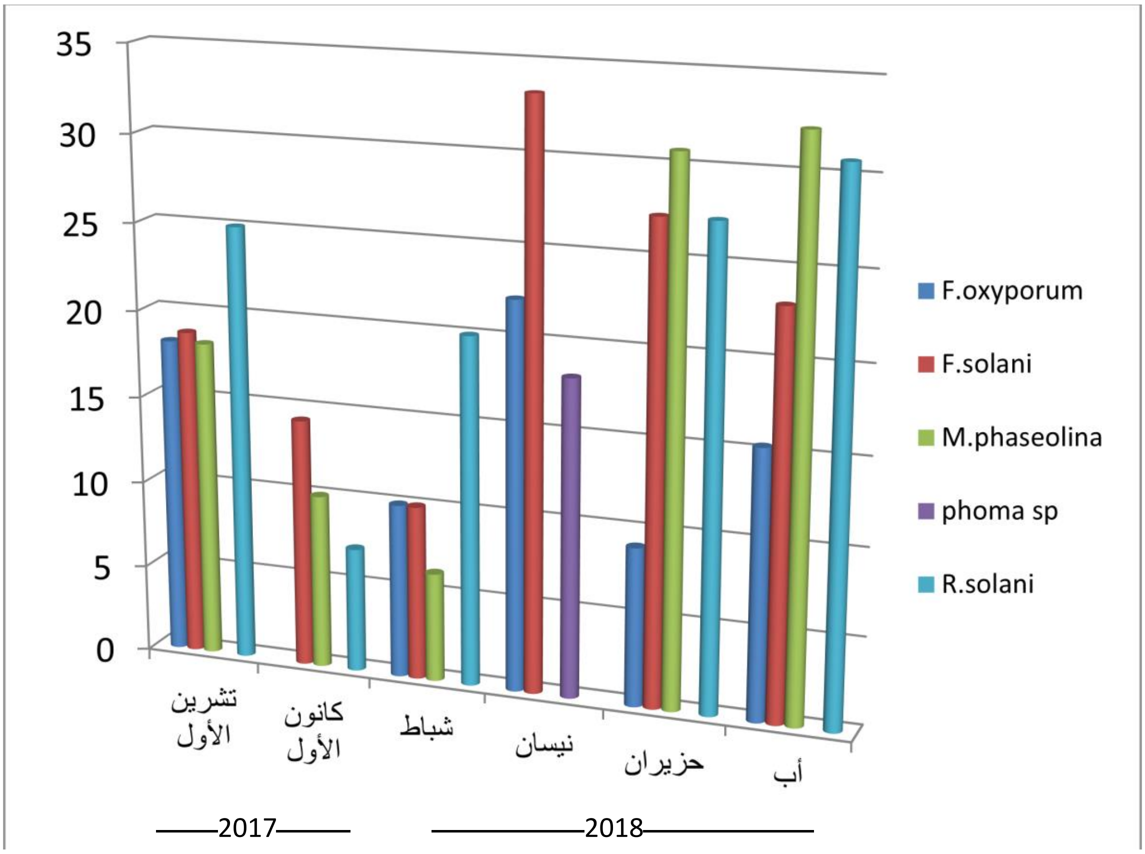
الشكل (1) %للإصابة بتعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي للأشهر من تشرين الاول 2017 الى أب 2018.

ان نسبة الإصابة المرتفعة بتعفنات الجذور كان منطقياً مع الادارة البدائية المتبعة لهذه المشاتل علما بأن المشاتل تتطلب برامج وقائية وعلاجية وتنظيمية من شأنها العمل على الحد من انتشار مسببات أمراض الجذور الخطرة(29). وتجدر الاشارة الى أن هذه المشاتل وبهذا الأسلوب من الإدارة أصبحت مراكز لتوزيع ونشر مسببات أمراض الجذور الى المناطق المختلفة ومع ذلك فان ارتفاع نسبة الإصابة في المشاتل بشكل عام ومشاتل الغابات على وجه الخصوص معروفة محلياً من خلال ما ذكره (7)، إذ تراوحت نسبة الاصابة بمرض تعفن الجذور بين 5–100% وفي مشاتل اخرى تراوحت بن 20–90%(29) ليس في العراق فقط إنما يتعدى ذلك الى اكثر دول العالم إذ كانت هناك نسبة أصابة عالية كما في كشمير الهندية لمشاتل الصنوبر (30).

العزل

اظهرت نتائج العزل لتعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي *P. brutia* في مشاتل الموصل الخاصة ومحطة بستنة نينوى خلال فترات المسح الحقلي أنفة الذكر وعلى النحو التالي:-

ظهور الفطريات *F. oxysporum* و *F. solani* و *Phoma* sp و *M. phaseolina* و *R. solani*. فكانت نسب العزل متباينةً خلال اشهر المسح، يتضح من الشكل (2) ظهور الفطر *F. oxysporum* اعلى نسبة عزل لهُ خلال شهر نيسان للعام 2018 والتي بلغت 22.22% ، وأدنى نسبة عزل لهُ بلغت 9.09% خلال شهر حزيرن لنفس العام. وأظهرت نتائج العزل اعلى نسبة للفطر *F. solani* خلال شهر نيسان للعام 2018 والتي بلغت 33.33%، وأدنى نسبة عزل بلغت 10% خلال شهر شباط لنفس العام. وأظهر الفطر *M. phaseolina* اعلى نسبة عزل خلال شهر أب للعام 2018والتي بلغت 32.28%، وأدنى نسبة عزل خلال شهر شباط للعام نفسه والتي بلغت6.25%. أما الفطر *Phoma* sp فكانت قيم عزله متدنية بلغت 18.18% خلال شهر نيسان للعام 2018 فقط ولم يظهر عزل للفطر خلال الاشهر الاخرى. وأظهر الفطر *R. solani*اعلى نسبة عزل بلغت 30.76% خلال شهر أب للعام 2018، وأدنى نسبة عزل بلغت (7.14%) خلال شهر كانون الاول للعام 2017.



الشكل (2) النسبة المئوية لعزل فطريات تعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي.

يتضح مما تقدم سيادة تامة للفطر *F. solani* على شتلات الصنوبر البروتي من خلال نسب تكرار وجود الفطر وربما يعود السبب لتطابق متطلباته الحرارية مع الظروف البيئية السائدة خلال أشهر المسح أضافةً الى أنه من اكثر فطريات التربة انتشاراً واكثرها اهمية من الناحية الامراضية للعديد من العوائل النباتية مسبباً لها اعراض اصابة متنوعة اهمها تعفن الجذور مما قد تؤدي الى هلاكها إذ يعتبر فطر واسع الانتشار في التربة.(31) و(32).

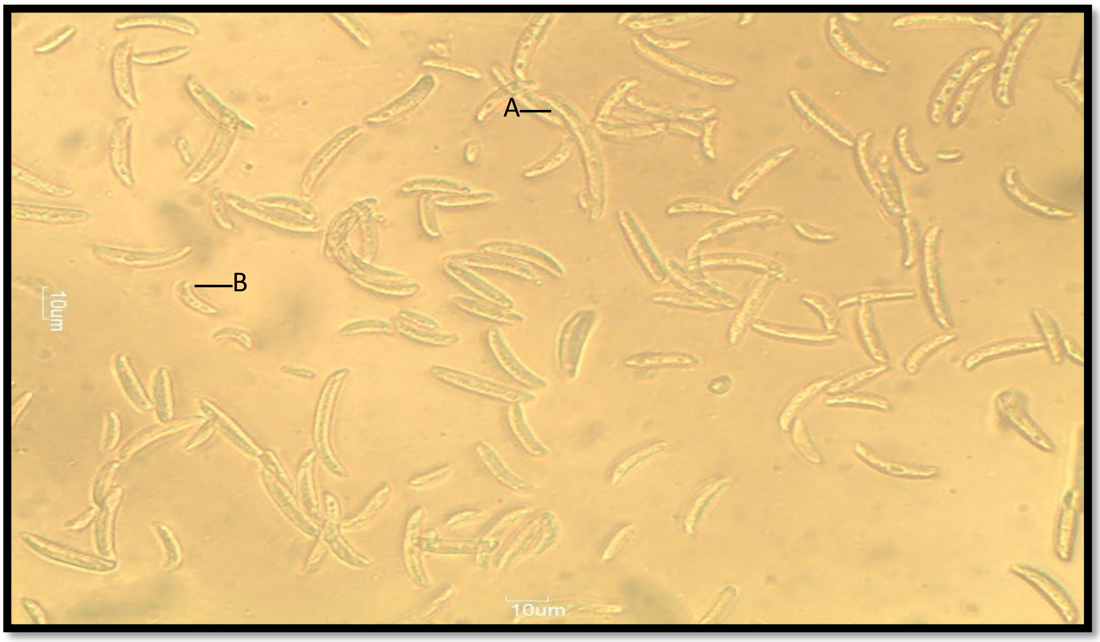
وان سيادة الأنواع *F. solani* و*M phaseolina* و *R. solani* على الصنوبر تطابقت مع عزل هذه الفطريات من مشاتل غاباتية وغير غاباتية في مناطق مختلفة من العراق على الصنوبر بروتي والسرو الأفقي (33) وعلى الصنوبر والسرو والكازورينا (7) وعلى الثويا (34).

تشخيص ووصف الفطريات

تشخيص الفطر *Fusarium solani* Mart

أظهرت نتائج تشخيص الفطر *F. solani* على الوسط المغذي لمستخلص البطاطا الدكستروز والاكار PDA بعمر عشرة ايام في درجة حرارة 25±2 سليزية بظهور مستعمرات ذات لون ابيض إلى رمادي مع لون كريمي براق تشوبه صبغة بنفسجية في بعض الاحيان ، وأظهر الفحص المجهري بإن الفطر النامي يكون ثلاثة انواع من الابواغ الشكل(3)، الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia اهليجية الشكل وبعضها اسطوانية بيضوية بلغت ابعادها 2.5−3.6×8.2−15 مايكروميتر ، ابواغ كونيدية كبيرة Macroconidia مغزليه الشكل بلغت ابعادها 2.4−3.4×35−37 مايكروميتر والنوع الثالث هي الابواغ الكلاميدية

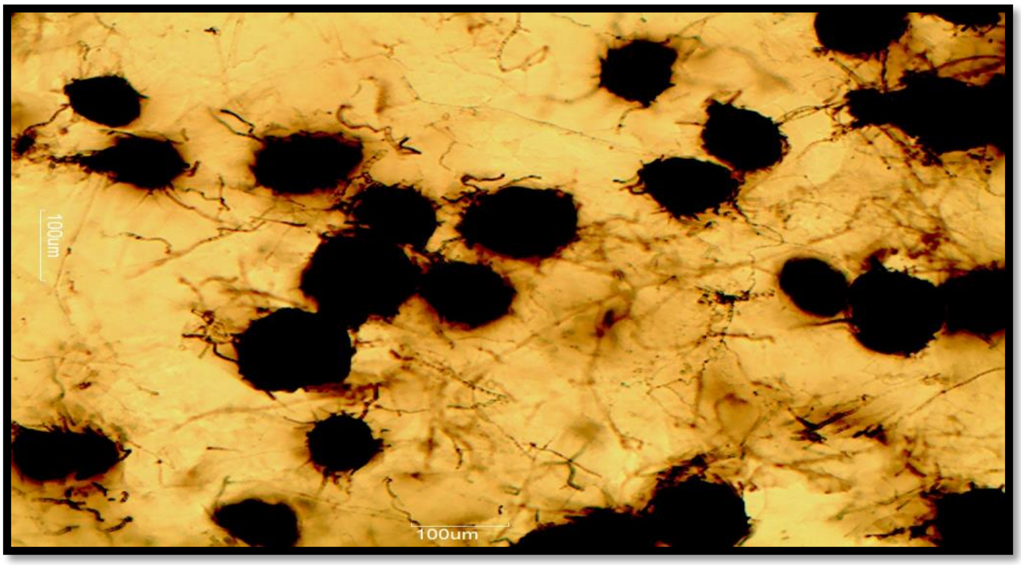
Chlamedospore مفردة أو بشكل أزواج في فروع جانبية صغيرة أو وسط الغزل الفطري وهذه الصفات تطابقت مع مفاتيح التصنيف المذكورة من قبل (20 و 21 و35).



الشكل (3) كونيدات الفطر *F. solani* A- الكبيرة (macroconidia) B- الصغيرة (microconidia) بقوة تكبير 40X.

تشخيص الفطر *M.phaseolina* Tassi Goid

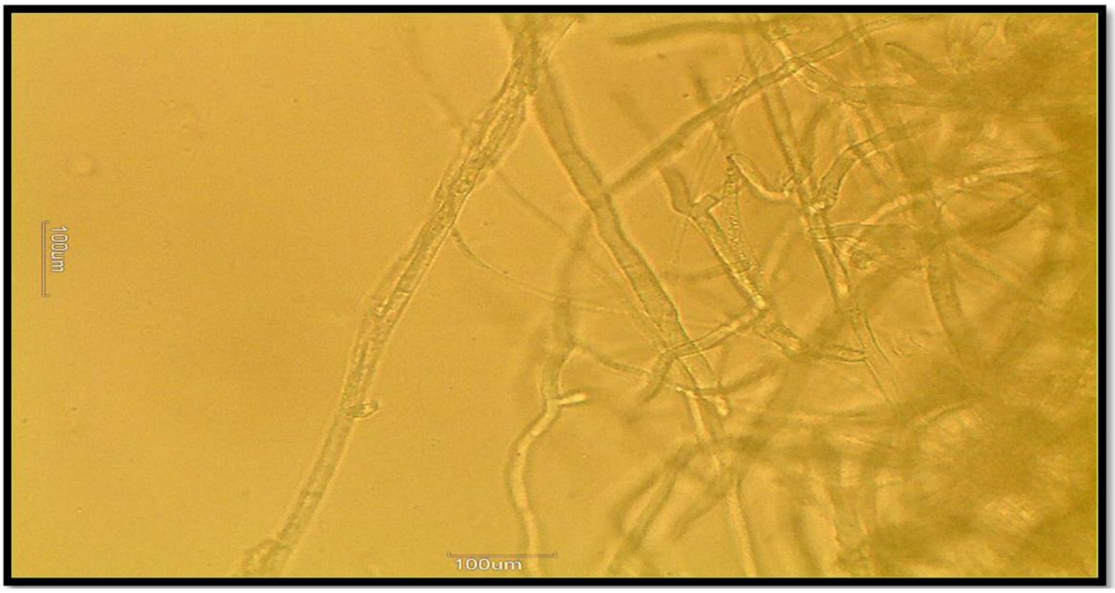
ظهرت على الوسط الزرعي PDA مستعمرات سريعة, النمو وكان الغزل الفطري شفاف في البداية مائل الى اللون الأبيض ثم تحول إلى اللون الاسود بدءاً من مركز المستعمرة ليشمل المستعمرة بأكملها، وظهرت فوق المستعمرة نموات زغبية، وأظهر الفحص المجهري وجود أجسام حجرية sclerotia سوداء اللون كانت غير منتظمة الشكل وتراوحت بين الأهليليجي إلى البيضوي والكروية الشكل(4)، ولوحظت اختلافات بسيطة في لون المستعمرات وكثافة الغزل الفطري، إذ أشير إلى أن الفطر *M.phaseolina* يكوّن بكنيديا سوداء اللون غير منتظمة تتراوح أبعادها بين 130-230 مايكروميتر، والحامل الكونيدي يكون شفافاً بسيطاً أسطوانيا تتراوح أبعاده بين 13-23 × 3-6 مايكروميتر، والكونيديا تكون شفافة أسطوانية الشكل أبعادها 14-35 × 6 – 11.5 مايكروميتر والأجسام الحجرية sclerotia تكون سوداء اللون تتراوح أقطارها بين 60-120 مايكروميتر والخيط الفطري 2.5 -7.5 مايكروميتر (36 و 37 و 38 و39)



الشكل (4) الاجسام الحجرية للفطر.*M. phaseolina* تحت القوة 10X.

تشخيص الفطر *Rhizoctonia solani* Khun

ظهرت مستعمرة الفطر *R. solani* النامية على الوسط الغذائي PDA بعمر ثمانية ايام في درجة حرارة 25±2 سليزية بلون بني فاتح ، وتتباين في سرعة نموها وتكوينها للأجسام الحجرية ذات اللون الداكن, وظهر تحت الفحص المجهري كثافة في الغزل الفطري الشكل(5) واحتواء الغزل الفطري على تخصرات عند منطقة نشوء التفرع وتكوين حواجز قرب منطقة النشوء ، وذلك يتفق مع ما ذكرة(40).



الشكل (5) الغزل الفطري للفطر *R. solani.* تحت القوة 40X.

اختبار القدرة الامرضية للفطريات المسببة تعفن جذور شتلات الصنوبر المعداة صناعياً.

اجري اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة من الصنوبر البروتي على شتلات سليمة والملقحة بالفطريات *F. solani* و *M. phaseolina* و *R. solani* وتبين من نتائج الاختبار جدول (1) تميز الفطر *F. solani* بأقصى قدرة امراضية مقارنةً بالفطريات الاخرى حيث بلغت نسبة الإصابة لشتلات الصنوبر البروتي وبتأثير العدوى الصناعية الى 81.25% تلاه الفطر *M. phaseolina* الذي بلغت نسبة اصابته لشتلات الصنوبر وبتأثير العدوى الصناعية الى 68.75%. في حين سجل الفطر *R. solani* ادنى نسبة اصابة لشتلات صنوبر البروتي وبتأثير العدوى الصناعية بلغت 56.25%.

نستنتج مما سبق تميز الفطر *F. solani* بالإمراضية العالية للصنوبر البروتي مقارنةً مع بقية الفطريات,إذ أن هذه الفطريات ذات قدرة على احداث الإمراضية ولكن بنسب متباينة حسب نوع الفطر والنبات، حيث اشار (7) بأن الفطريات *F.solani* و *M. phaseolina* ذا قدرة امراضية عالية بلغت 68 و86% على التوالي لشتلات اشجار الصنوبر والسرو والكازورينا المسببة مرض تعفن الجذور، وقد ذكر (29) ان الفطريات *F. solani* و *M. phaseolina* وسبعة عزلات من *R. solani* . كانت ذات قدرة امراضية ولكنها متباينة على شتلات أشجار الغابات المسببة موت البادرات وتعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي والثويا والسرو العمودي والسرو الأريزوني، ويعود ذلك لتباين طبيعة وشدة سمية الأيضات التي ينتجها انواع الفطر Fusarium(41).

اما الفطر *F. solani* فيعد من الفطريات ذات الإمراضية الواسعة على بادرات الغابات وبخاصةً على الصنوبريات (42). فضلا عن انتاج الفطر *F. solani* عدداً من المركبات الايضية والسموم التي لها الدور البالغ في احداث الاصابة النباتية phytotoxine مثل Fusaric acid و Jaranicin وanhydrofusarubin و polypeptidetoxin الذي له الدور البالغ في قتل النسيج النباتي ومن ثم غزوه من خلال تطفله غير الحيوي Necrotrophic (43) .وكذلك الفطر *M. phaseolina* فيعد واحداً من الفطريات المدمرة لمشاتل الصنوبر في الولايات المتحدة واستراليا والهند (44). وبين(45). قد يعود السبب في تباين القدرة الامراضية الى انتاج السم Phaseolinone الذي يجعل الفطر اكثر إمراضيه مقارنة بالعزلات غير المنتجة لهذا السم وأشار(33) الى حساسية كل من الصنوبر البروتي والسرو الافقي للفطر *R. solani* . كما أشار(34) الى حساسية بادرات الثويا للفطر *R. solani*. والذي له القدرة على إفراز الإنزيمات المحللة كأنزيم السليليز Celluase والبكتنيز Pectinase وغيرها من الإنزيمات المهمة ذات التأثير السام مثل سم Phenyl acetic acid (PAA) او مشتقاته الهيدروكسيلية (46).

اختبار تأثير القدرة الامراضية للفطريات في صفات النمو لشتلات الصنوبر البروتي.

يتضح من الجدول (1) وجود فروقات معنوية في التأثير على جميع صفات النمو المدروسة إذ اظهر الفطر *F. solani* تأثيراً معنوياً في متوسط طول المجموع الخضري لشتلات الصنوبر البروتي *Pinus brutia* بلغ 35.73 سم تلاه الفطر *R. solani* في حين لم يختلف الفطر *M. Phaseolina* معنوياً عن الفطر *R.solani* بالرغم من اختلافها معنويا مع معاملة المقارنة. وتكرر تأثير الفطر *F. solani.* معنوياً في خفض صفة الوزن الرطب للساق إذ بلغت أقصاها 15.24غم تلاه الفطر *R. solani* في حين أظهر الفطر *M. phaseolina*أدنى متوسط تأثير لصفة الوزن الرطب للساق حيث بلغت25.48 غم بالرغم من اختلافها معنوياً مع معاملة المقارنة، كذلك الحال مع صفتي الوزن الجاف وطول المجموع الجذري إذ تميز الفطر *F. solani* بتأثيره معنوياً بأظهار اقصى تأثير للصفتين المذكورتين مقارنةً مع الفطريات المدروسة الاخرى في حين أظهر الفطر *M. phaseolina* ادنى تأثير معنوي في متوسط قيم كلا صفتي النمو، كذلك اظهر الفطر *F. solani* أقصى تأثير في متوسط صفتي الوزن الرطب والجاف اذ بلغت 11.15 و8.36غم على

التوالي، في حين أظهر الفطر *R. solani* أقل فرق معنوي بالتأثير في متوسط الصفتين إذ بلغتا 14.47 و12.30 غم بالرغم من اختلافهما معنوياً مع معاملة المقارنة.

مما سبق يتضح بأن الفطريات المختبرة قد أثرت في معظم صفات النمو من طول المجموع الخضري والجذري والوزن الرطب والجاف للشتلات، إذ أشار محمد (7) و(29) الى ان الفطريات *F. solani.* و *R. solani* و *M. phaseolina* ذات تأثير شديد على صفات النمو من طول الساق وطول الجذر والوزن الرطب والجاف لعدة شتلات من اشجار الغابات منها الصنوبر البروتي، وقد ذكر(47) ان تفوق نمو النباتات في معاملة المقارنة يعود اساساً الى ان الجذور في بيئة خالية من الأحياء الممرضة والتي تعمل على اختزال الحجم وخفض كفاءة الجذور في امتصاص الماء والعناصر الغذائية وبالتالي التأثير في نمو النبات. علماً بأن عمل هذه الفطريات يعتمد اساساً على الانزيمات المحللة للجدران الخلوية، وان من اهم هذه الأنزيمات Polygalacteronase المحلل للصفيحة الوسطة بشكل رئيس مما يتسبب في إحداث تعفن طري للسويقة الجنينية والشعيرات الجذرية .كذلك بين(48). قابلية الفطريات على افراز الانزيمات المحللة للكنين الموجود في جدار خلية العائل مثل peroxidase و Ligninase وما لذلك من اهمية في احداث الاصابة وانتشار سموم الفطر وانزيماته في تلك الخلايا وتأثيره على صفات النمو للنبات .

الجدول (1) تأثير العدوى الصناعية لفطريات تعفن الجذور في % للإصابة وبعض صفات النمو الطبيعية لشتلات الصنوبر البروتي.

الفطريات	% للإصابة	طول المجموع الخضري (سم)	وزن رطب للساق (غم)	وزن جاف للساق (غم)	طول المجموع الجذري (سم)	وزن رطب للجذر (غم)	وزن جاف للجذر (غم)
مقارنة بدون فطر	0 D	44.50 A	40.18 A	23.27 A	42.56 A	18 A	13.58 A
M.phaseolina	68.75 BC	37.57 B	25.48 BC	16.93 B	30.81 CD	13.78 B	11.27 C
R.solani	56.25 C	36.87 BC	22.34 C	15.86 B	32 BC	14.47 B	12.30 B
F. solani	81.25 A	35.73 C	15.24 D	12.55 C	23.94 EF	11.15 C-D	8.36 DE

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد تدل على عدم وجود فروقات معنوية بينها على مستوى إحتمال(0.05) .

تأثير المستخلص الكحولي والمائي في نسب تثبيط نمو الفطريات

يتبين من نتائج الاختبارات الحيوية لمستخلصات أوراق اليوكالبتوس وتأثيرها في فطريات تعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي وكما مبين في الجدول (2) صفة تثبيط النمو ظهر الفطر *R. solani* تأثر بتفوق التركيز الاول من المستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس في تثبيط نمو الفطر وارتفع التثبيط ليبلغ 100% بالتراكيز الثلاثة الاخيرة باستثناء مستخلص الكحولي الذي تفوق في تثبيط الفطر من التركيز الاول إذ اعطى نسبة تثبيط 100% . وبذلك يمكن إعتماد التركيز الاول 25% من مستخلص الأوراق الكحولي

في المكافحة الطبيعية للفطر *R. solani* مقارنةً بالمستخلص الأخر . وأظهر مستخلص الأوراق المائي عدم تثبيط الفطر *M. phaseolina* نهائياً حتى مع زيادة التركيز من 25%−100% قد يعزى السبب لعدم أذابة بعض المركبات الفعالة بالمستخلص المائي إذ أشار(49). بإن بعض المركبات الفعالة لها القابلية على أن تقحم نفسها في تكوين الحامض النووي DNA وبذلك تشكل قنوات أيونية في أغشية الفطريات الممرضة، في حين كان لمستخلص الأوراق الكحولي تأثيرً مثبط لمتوسطات نمو الفطر نفسهُ عند التركيز الأول للمستخلص الكحولي للأوراق وازداد التثبيط ليبلغ 100% عند التركيز الثاني كذلك يتبين من الجدول نفسه تأثر الفطر *F. solani* بالمستخلص الكحولي للأوراق مع زيادة التركيز ابتداء من التركيز الأول بلغ 63.63% وارتفع ليبلغ 100% عند التركيز الرابع، في حين كان تأثير مستخلص الأوراق المائي منخفضا عند التركيز الاول اذ بلغ 36.97% وبالرغم من زيادة تركيز المستخلص فلم تظهر فروقات معنوية ما بين التركيزين الاول والثاني الذي بلغت قيمة تثبيطه 43.63% اذ ازداد التثبيط زيادة طفيفة مقارنةً بالتركيز الأول وكذاك لم تختلف قيم متوسطات التثبيط للفطر معنوياً ما بين التراكيز الثاني والثالث والرابع بالرغم من بلوغ قيمة التثبيط للفطر 52.11% عند التركيز الرابع، واختلافها معنوياً مع قيم المقارنة .

تميز الفطر *M. phaseolina* بإظهار أقصى تثبيطاً بتأثير المستخلص الكحولي للأوراق بلغ اقصاه 100% عند التركيز الثالث والرابع للمستخلص، في حين أظهر الفطر *F. solani* تثبيطاً معنوياً في متوسط النسبة المئوية لتثبيط نموه بالمستخلص الكحولي للأوراق بلغ أقصاه 100%عند التركيز الرابع. وعند مقارنة التداخل مابين متوسطات طرائق الاستخلاص تبين تفوق طريقة الاستخلاص الكحولي للأوراق في تثبيط جميع الفطريات المختبرة ومن ملاحظة متوسطات تداخل الاستخلاص مع الفطريات أن مستخلص الأوراق المائي تبين تفوقه في التأثير على متوسط تثبيط الفطر *R. solani* مقارنةً بالفطريات الأخرى قيد الدراسة، كذلك الحال مع مستخلص الأوراق الكحولي إذ تفوق الفطر نفسه في التأثر بالمستخلص الشكل (6)(7).

الجدول(2) تاثير تراكيز مختلفة من مستخلصي أوراق اليوكالبتوس في نسب تثبيط نمو الفطريات

نوع المسنخلص	نوع الفطر	النسبة المئوية لتثبيط النمو (ملم) التراكيز (%)					متوسطات طرائق الاستخلاص	متوسطات نوع الفطر
		0%	25%	50%	75%	100%		
مستخلص الأوراق المائي	*R.solani*	0 N	86.06 BC	100 A	100 A	100 A	39.54 B	76.42 A
	F. solani	0 N	36.97 LM	43.63 KL	47.30 JK	52.11 I−K		50.67 B
	M.phaseolina	0 N	0 N	0 N	0 N	0 N		35.88 C
مستخلص الأوراق الكحولي	*R.solani*	0 N	78.18 B−E	100 A	100 A	100 A	70.91 A	
	F. solani	0 N	63.63 GH	79.99 B−E	83.03 B−D	100 A		
	M.phaseolina	0 N	73.33 EF	85.45 BC	100 A	100 A		
متوسطات تأثير التراكيز		0 E	56.36 D	68.17 C	71.72 B	75.35 A		

الارقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود تدل على عدم وجود فروقات معنوية بينها على مستوى احتمال(0.05)

شكل (6) تأثير مستخلص الأوراق المائي على نمو الفطريات A=*R.solani* B=*M.phaseolina* C=*F.solani*

شكل (7) تأثير مستخلص الأوراق الكحولي على نمو الفطريات A=*R.solani* B=*M.phaseolina* C=*F.solani*

إن الفعل الفسلجي للمستخلصات المائية النباتية في التأثير على بعض الفطريات قد يعود الى طبيعة محتواها من المواد الفعالة التي لها القدرة في تثبيط نمو الفطر، إذ فسر (50) تأثير

المستخلصات المثبطة للفطريات قد يكون ناجماً عن تأثيرها في منع إنبات الأبواغ أو تأثيرها في تغير نفاذية اغشية الخلية أو تأثيرها في منع نمو الخيط الفطري في مراحله المبكرة مما يؤدي الى تثبيط نمو هذه الفطريات،

ان تفوق المستخلص الكحولي على المستخلص المائي في زيادة نسبة التثبيط بشكل عام قد يعود الى قابلية ذوبان بعض المركبات ذات التأثير التثبيطي للفطريات المدروسة في الكحول (51). وان زيادة التركيز لنفس المستخلص تؤدي الى زيادة التثبيط للفطر حيث أشارت دراسات سابقة الى نتائج مماثلة اذ وجد إن اختلاف تأثير التراكيز لنفس المستخلص قد يعود الى الاختلاف في تركيز المادة الفعالة المستخلصة، وهذا يتفق مع ما وجده (52) ان فعالية المستخلصات النباتية الكحولية ضد الفطريات الممرضة تزداد بزيادة التركيز، يعود السبب في ذلك الى تأثير المواد الفعالة في الخلية الفطرية وتداخلها مع التراكيب الخلوية والعمليات الأيضية إذ تؤدي الى حدوث تغيرات في التراكيب الدقيقة للخلية الفطرية والخيط الفطري وهذه التغيرات ترتبط بفقدان قوة الجدار الخلوي المسؤول عن قوة وتكامل شكل الخلية ولان الجدار الخلوي يعد أحد المواقع الهدف لعمل المواد الفعالة وتسبب التغيرات من التداخل المباشر ما بين المواد الفعالة ومكونات الجدار أومن عمليات بناء الجدار (53). كذلك تتفق هذه النتائج مع ما وجدهُ(54). حول احتواء مستخلصات أشجار اليوكالبتوس على الفينولات ومركب eucalyptol والمثبطة لنمو الأحياء المجهرية بشكل متخصص ودرجة قوية.

الاستنتاجات:

1-تواجد مرض تعفن الجذور في مشاتل الموصل الخاصة ومحطة بستنة نينوى خلال أشهر السنة محدثاً تعفناً في جذور شتلات اشجار الغابات، ومنها الصنوبر البروتي *Pinus brutia.*

2- ظهور الفطريات *F.solani* و*M.phaseolina* و *R.solani* مرافقة لجذور شتلات الصنوبر البروتي المصابة وذلك بعد عزل الفطريات منها خلال أشهر السنة.

3- تفوق الفطر *F.solani* بأعلى نسبة عزل.

4 -أظهرت العدوى الصناعية للفطريات المعزولة إمكانية وقدرة إمراضية لإصابة شتلات الصنوبر البروتي بالفطريات المعزولة إذ كان لهذه الفطريات تأثيرً في صفات النمو الطبيعية من طول الساق والجذر والوزن الرطب والجاف للشتلات المختبرة.

5- تباين القدرة الإمراضية للفطريات إذ كان الفطر *F.solani* الأكثر تأثيراً على صفات النمو الطبيعية لشتلات الصنوبر البروتي .

6- تفوق المستخلص الكحولي للأوراق على المستخلص المائي في تثبيط نمو الفطريات *F.solani* و*M.phaseolina* و *R.solani* وعند جميع التراكيز المستخدمة.

7- تميز المستخلص المائي للأوراق في تثبيطه نمو الغزل الفطري للفطر *R.solani* عند جميع التراكيز المستعملة ويعد هذا منحى اقتصادي جيد في السيطرة على هذا المسبب المرضي

المصادر References

1-Palta, M.M., Richardson A.E., Sharitz R.R. Institute of Ecology, The University of Georgia, Athena. (2003).

2- Kiss, D.Á., Kiss D.G, Hufnagel L.. Applied ecology and environmental research 6(2): 111-134. (2008).

3-Malmsheimer, W.R., Bowyer L.J , Fried S.J., Gee E., Izlar L.R., Miner, A.I., Munn A.R., Oneil E., and Stewart C.W. A Society of American Foresters Task Force Report. Journal of Forestry. 109, (7S): 7-51. . (2011).

4- Nahal, I. " Dendrology", Faculty of Agriculture, Aleppo University, Syria. (2003).

5- Dawood, M. D. Classification of forest trees. MosulUniversity, Ministry of Higher Education and Scientific Research, Republic of Iraq. (1979).

6- Abdullah, Y. S. "Fundamentals of forest development". Mosul University, Ministry of Higher Education and Scientific Research, Republic of Iraq. (1988).

7- Muhammad, A. N. Master Thesis, College of Agriculture and Forestry, Mosul University, Iraq. (1987).

8- Sunderrao R.R; Simon S., and Lai A. Dianthe6(5)1558 1559.(2017).

9- Al-Kaif, M.A.O. Master Thesis, Middle Euphrates Technical University, College of Technology, Musayyib, Iraq(2015).

10- Thenmozhi, K.; M. Saradha; M. Manian, and S. Paulsamy, Invitro antimicrobiall potential of root extracts of medicinal plant species(2013).

11-Johnson M.; MacDougall C.and Ostrosky- Zeichner L. " Combination antifungal therapy. Antimicrobial Agent and chemotherapy". 48:693-15(2004).

12- Bajwa , R. and S. Iftikhar .. Myco path. 3.Pp: 13-16. (2005).

13-Dossari, Nasser Hamid. Journal of Karbala University. Volume (5), Issue (4). (2007).

14-Mulla A., Faten N. H., Ghaidaa S. and Ramadan N. A. Tikrit Journal of Pure Sciences. Vol. 15, No. 2, p. 221-227. (2010).

15-Mubark E.E.; Ali L.Z. ; Ahmed I.FA.; Ali AB..Int J Agr Biol. 17(2):320-326.(2015).

16- Shayoub M.H.; Dawoud A.D.H; Abdelmageed M.AM.; Ehassan A.M. " Phytochemical analysis of leaves extract of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.2(1). (2015).

17-Rikar , A.J. and Rikar R.S. "Introducation to research on plant diseases" .J.S. Swift Co. Incorporation. Louis and New York. 117 pp. (1936).

18-Parmeter, J.R.;and Whitney H.S. " Taxinomy and nomenclature of the imperfect stage In:*Rhizoctonia solani* Biology and Pathology" .(ed) J.R.Parmeter.University of California Barkely. LosAmgeless. 7-19 pp. (1970).

19- Barnett, H.L and Hunder B.B. " bill striated Genera of imperfect fungi" .22pp. (1972).

20- Booth ,C. "Fusarium Labortory guide to the identification of the major species" commonwealth Mycological Institute.Key,surrey, England .58pp. (1977).

21-Leslie , J.F. and Summerell B.A. " the Fusarium Laboratory Manual photographs by Suzanne Bullock".388. pp .(2006) .

22-Taha, K.H; A1-Mallah N.M. and Al-Tayy A.K. Agris. Sci.(zanco) , 4: 24 219. (1986).

23- Hearther, W.A.; Pratt B.H.and Shin T.Y. Aust. J. Bot. 25:385-393. (1977).

24-Salman, Munib Taher. PhD thesis, College of Agriculture and Forestry, University of Mosul, Iraq. (2006).

25-Browning , B.L. "Method of wood chemistry. Vol.1 Institute of paper chemistry" . Appleton , Wisconsin , Inter Science Publishers . A Division of John Whley and son(1967).

26- Harborne, J.B. " Phytochemical Methods: Aguide toModern Technique of Plant Analysis". 1st ed., Cox and Wyman London, p 52-73. (1973).

27-Khanzada, Sh. A., Iqbal S. M. and Akram A. Mycopath., 4: 51-53. (2006).

28-Narrator, K. M. and Abdul Aziz .M. K A. Design and analysis of agricultural experiments. Mosul University, Ministry of Precious Education and Scientific Research, Iraq. (2000).

29-Ali, R. M S., Master Thesis College of Agriculture, Sulaymaniyah University, Iraq (2007).

30-Ahanger, M.A.; G.H.,Dar; Z.A.,Baht and N.R.,Sofi ". Plant pathology Journal 10(1):42-45(2011).

31 -Booth, C. "The genus *Fusarium* ".Common. Mycol. Inst. Kew, Surrey. 237pp(1971).

32-Brasileiro, B. T. R. V. , Coimbra M. R. M. , Jr M. A. M. and Oliveira N. T. Brazillian Jornal of Microbiology. 35 : 205-210. (2004).

33- Younis, M. M. Master Thesis, College of Agriculture and Forestry, University of Mosul, Iraq (1981).

34- Taha, Khaled Hassan. Journal of the cultivation of Rafid 26- 185-177: (1994).

35- Toussoun, T.A., and P.E, Nelson "Apictorial Guide to the Identification of Fusarium species". 2 nd ed. Pennsylvania state University press, University park. 43p. (1976).

36-Ashby, S. F. Butl. Trans. Br. Mycol. Soc. Butl. Trans. Br. Mycol. Soc. 12:141–147. (1927).

37- Watanable, T . Phytopathol. Soc. Jpn. 38:106–110. (1972).

38-Sutton, B. C . " The Coelomycetes. Commonw". Mycol. Inst., Kew, 696 pp. (1980).

39-Fernandez, R. B. ; A. De Santiago ; S. H. Delgado and N. M. Perez"Characterization of Mexican and non–Mexican isolates of *Macrophomina phaseolina* based on morphological characteristics", Pathogenicity on bean seeds and endoglucanase gene . Plant Pathology 88 :1 . .(2006) .

40- Carling, D. E.; R. E. Baird; R. D. Gitaitis; K. A. Brainard and S. Kuninaga. " Characterization of AG-13, a newly Reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani.* Phytopathology 92:893-899. (2002).

41- Fernandez,M.R. and Chen Y.. Plant Disease 89:164-169. (2005).

42- Wenner , N. and Merrill W. " New conifer host for fusarium root rot in pensylvania". Plant Dis. 68:538. (1984).

43- Strange, N.R. " Plant Diseases Control. Towards environmentally acceptable methods published by Chapman and Hall 2-6 Boundary Row", London SEI8 HN. 355pp. (1993).

44- Jamaluddin , V, and Soni X.X"Studies on charcoal root rot of *Pinus cribea*". Indian Forester. Septomber.P. 618-621. (1982).

45- Suchandra ,S.;Mishra S. K.; Kazia I. and Siddiqui .. J. Biosci. 25 (1) : 73 – 80. (2000).

46- Ogoshi, A. C. F. snech, B., Hare, H. J., Neak, E. F. and Gijse, J. " Introduction. The genus Rhizoctonia 1 – 9pp. Rhizoctonia species : Taxanomy, Mollecular Biology, Ecology, Pathology and disease control", Kluwer Aceademic pulishers printed in Netherlands 585pp. (1996).

47-Agrious , G. N. " Plant Pathology". (4^{th}.ed.). Academic Press, New York. 606 pp. (1997).

48- Lozovaya , V.V. ; Lygin A.V. ;. Zernova O.V , Li S. , Widholm J. M. and Hartman G.L. plant Dis . 9 : 77-82 . (2006).

49- Khazraji, A J. A H., Iman A. K., Adel S. Salman E. S. H. and Kalbawi A M. N. Journal of Biotechnology Research Center. Volume 9 Issue 1. .14-9 (2015).

50- Wen-Bao, C.; Yuh-Felling H.; Shung C.J. and Sheno C.C. " Isolation, purification and characterization of killer protein from *Schwanniomyces occidentalis*" Appl. Environ. Microbiol. 66: 5348-5352. (2000).

51-Lawrence, Ch.; Mitchell Th.; Craven K.; Cho Y.; Cramer R. and Kim K. ". Plant Pathol. 24 (2): 101-111. (2008)

52- Paran,B.; Sharma R.K.; Singh R.S; Ghosh A.C. and Baruah P. Journal of Essential oil Research.8:411-412. (1996).

53-Otang , W.M. ; Grierson D.S. and Nadip R.N. INT.J. Mol. Sci.Vol.(12) : 9226-9235. (2011).

54-Rai , M.K. ; Qureshi, and Pandy , A. K. In Vitro susceptibility of opportunistic . Fusarium spp. to essential oils. Mycoses 42 : 97 – 101. (1999).