

تقييم كفاءة بعض توليفات عوامل مكافحة البيولوجية في السيطرة على مرض التعفن الرايزوكتوني على نبات الفراولة

الخلاصة

هدفت الدراسة إلى تقييم بعض طرق مكافحة الإحيائية منها البكتريا المعززة لنمو النبات والطحالب البحرية والزيوت النباتية (زيت أكليل الجبل وزيت الثوم وزيت النيم) ، والمكافحة الكيميائية باستعمال المبيد الفطري Moncut مادته الفعالة (Flutolanil) ، في مكافحة الفطر R.solani على نباتات الفراولة. عزل الفطر الممرض على الوسط (PDA) من نباتات فراولة ظهرت عليها أعراض الإصابة وشخص جزيئياً بدراسة تتابع القواعد النتروجينية باستعمال تقانة PCR . بينت النتائج المختبرية كفاءة المعاملة بزيت الثوم إذ بلغ قطر مستعمرة الفطر ٢,٠٥ سم وبنسبة تثبيط وصلت لـ ٧٧%، تليها المعاملة بزيت النيم بمعدل قطر لمستعمرة الفطر بلغ ٢,١٧ سم وبنسبة تثبيط ٧٥%، فيما وصل قطر مستعمرة الفطر إلى ٢,٣٩ سم عند المعاملة بزيت أكليل الجبل وبنسبة تثبيط ٧٣% . بينت النتائج المختبرية القدرة التثبيطية للطحالب البحرية إذ سجلت القراءة بعد ٤٨ ساعة بوصول قطر مستعمرة الفطر إلى ٣,٩ سم وبنسبة تثبيط ٤٠% ، بينما بلغت مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة ٦,٥ سم ..

بينت النتائج الحقلية لتقدير نسبة وشدة الإصابة أن المعاملة oil1 زيت نبات أكليل الجبل سجلت أدنى نسبة إصابة بالمرض بعد اجراء المعاملات بأسبوعين بلغت ١٤,٣% ، وانخفضت النسبة إلى ١١,٣% بعد اجراء المعاملات بأربعة أسابيع، متفوقة على معاملة السيطرة بالمرض والتي اعطت أعلى نسبة إصابة بلغت ٦٠% بعد اسبوعين من اجراء المعاملات و ٥٦,٧% بعد اربعة اسابيع من اجراء المعاملات. وبلغ أدنى شدة إصابة عند المعاملة بالبكتريا Bacillus sonorensis B3 مع الطحالب البحرية ١٨,٠ بعد اسبوعين من اجراء المعاملة و ٤٨,٠ بعد اربعة أسابيع من اجراء المعاملات، وتفوقت على معاملة السيطرة بالمرض والتي اعطت أعلى شدة إصابة بلغت ٥٩,٠ بعد اسبوعين من اجراء المعاملة ، و ٥٧,٠ بعد أربعة أسابيع

. وتوضح نتائج تقدير محتوى الكلوروفيل أن المعاملة B1+oil2 البكتريا Pseudomonas stutzeri وزيت الثوم ذات كفاءة في رفع محتوى كلوروفيل أوراق النبات إذ بلغ ١٢,٥٣ سباد، وبينت النتائج أن المعاملة بالطحالب البحرية والبكتريا B3+alga Bacillus sonorensis سجلت أدنى محتوى كلوروفيل بلغ ٧,٤٣ سباد .

المقدمة Introduction

يعتبر نبات الفراولة من محاصيل الفاكهة ذو قيمة اقتصادية في كثير من انحاء العالم، وثمار الفراولة من الفاكهة الصغيرة ذات القيمة الغذائية العالية، وتنتمي إلى العائلة الوردية Rosaceae، الفصيلة الفرعية Rosoidaceae، التي هي موطن بعض أنواع محاصيل التوت الأخرى [1]. يؤثر في نبات الفراولة العديد من مسببات الأمراض ومنها الفطريات، إذ تسبب الأمراض الفطرية خسائر اقتصادية وانخفاض جودة ثمار الفراولة [2]. تم تشخيص العديد من الأنواع الفطرية المسببة لعفن الجذور الفراولة منها *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solani* و *Phytophthora fragariae* إذ تتواجد هذه العوامل الممرضة في التربة لعدة سنوات ويصعب السيطرة عليها. [3 , 4]

يعد الفطر *Rhizoctonia spp.* من المسببات المرضية المنقولة في التربة والتي تسبب مرض تعفن الجذور على نبات الفراولة ويكون هذا الفطر سائدا في التربة ذات المحتوى الطيني العالي، تظهر خيوط الغزل الفطري متعددة النوى مقسمة فنية عديمة اللون والتي تعد صفة تشخيصية، سرعان ما يتغير إلى اللون البني وتزداد سماكته مع تقدم العمر ، وتمتاز الخيوط الفطرية للفطر *R.solani* بكثرة تفرعاتها والتي لها القابلية على تكوين اجسام حجرية تدعى (Sclerotia) مختلفة الشكل والحجم ذات لون اسود تتكون من الميلائين وتفرعات الخيوط الفطرية بشكل مرصوص والتي لها القدرة على البقاء في التربة لمدة طويلة ساكنة ومقاومة الظروف غير الملائمة [5 , 6]. ويتميز هذا المرض المعقد بقتل الجذور المغذية، وتحلل النظام الجذري الرئيسي، وانخفاض قوة وإنتاجية النبات مما يتسبب في تلف العائل وانخفاض كبير في المحصول [7]. إن للزيوت النباتية فاعلية في مكافحة مسببات الامراض الفطرية وذلك لما تحويه من مركبات فينولية تؤثر في الجدار الخلوي والأغشية البلازمية لخلايا الفطر ، وبالتالي تؤدي إلى حدوث خلل في نفاذية الأغشية وتحطيمها وحصول موت للخلايا الفطرية ، كما يمكن أن تتعارض فاعلية الزيوت مع بعض النشاطات الحيوية للفطر من خلال تأثيرها في الأنزيمات الضرورية لحياة الفطر وبالتالي إيقاف نموه [8]. إن استعمال الطحالب البحرية يؤدي الى تحسين الناحية الغذائية، إذ يعمل على تحسين التربة التي تنمو فيها النباتات ويمكن أن يكون مفيداً في تنظيم النبات في ظروف معادية مثل التربة عالية الملوحة، وإجهاد الجفاف، وتحمل درجات الحرارة المنخفضة، مما قد يمنح جذوراً قوية، ويزيد من مضادات الأكسدة، وامتصاص العناصر الغذائية، وبالتالي ثمار عالية الجودة [9].

المواد وطرائق العمل

عزل الفطر الممرض

تم عزل الفطر *Rhizoctonia solani* من نباتات الفراولة التي ظهرت عليها أعراض الإصابة كالذبول والاصفرار. جمعت العينات من بعض الحقول في قضاء سامراء .

التشخيص الجزيئي لعزلة الفطر

تم استخلاص DNA الجينومي بأخذ مسحة بوزن 50-100 ملغم من مستعمرة فطرية حديثة النمو بعمر (5 أيام) ،أضيف إليها 750 مايكرو لتر من محلول الاستخلاص للكشف عن الحامض النووي الجينومي ،ومن خلال نتيجة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR ،وذلك بحسب التعليمات الواردة من الشركة المجهزة ZR Fungal/Bacterial/ Yeast DNA MiniPrep™ Kit استعمال Kit استخلاص الدنا الجينومي .

١- استعملت عدة المحاليل Maxime PCR PreMix kit (i-Taq) 20μlrxn (Cat. No. 25025) في عملية تضاعف الحامض النووي الجينومي والمستخلص باتباع الطريقة ٣.٣

،وذلك باستعمال تقانة PCR مع استعمال زوج من البادئات والمبينة في الجدول (١)

Primer	Sequence	Tm (°C)	GC (%)	Product size
Forward	5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	60.3	50 %	500-650 base pair
Reverse	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	57.8	41	

٢- استعملت تقانة البلمرة المتسلسل PCR لمضاعفة الجين 5.8 S r RNA باستعمال زوج من

البادئات لتحديد العزلة المنتخبة لمنطقة ITS والمجهز من شركة Integrated DNA

Technologies company, Canada .

الترحيل الكهربائي لهلام Agarose

تم فصل ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لدنا الجينومي ،وذلك من خلال عملية الترحيل الكهربائي على هلام اكاروز 1.5 % ، ثم أظهرت الحزم بوضوح بواسطة مصدر للأشعة فوق البنفسجية 336 نانومتر ،بعد وضع الجل في حمام مائي يحتوي على 3 مايكرو لتر من محلول التصبغ Red stain و 500 مل ماء مقطر .

اختبار كفاءة الزيوت النباتية في تثبيط نمو الفطر الممرض R. solani

أختبر تأثير مستخلصات الزيوت النباتية وهي كل من زيت نبات أكليل الجبل وزيت الثوم وزيت النيم والتي تم الحصول عليها من السوق المحلية .أذيب ١مل من كل مستخلص للزيوت بمادة ناشرة Tween 20 ووضعت في أنابيب اختبار لكي يتم مزجها من خلال التحريك المستمر . تم إضافة ١مل من الزيوت النباتية إلى أطباق بتري تحتوي الوسط الزراعي PDA لكل معاملة مع ترك معاملة للمقارنة بدون إضافة أي من الزيوت ، ثم وضع قرص من الفطر الممرض بقطر ٠,٥ سم في مركز كل طبق .كررت كل معاملة ٣ مرات، و حضنت الاطباق على درجة حرارة ٣٠ م ، ثم أخذ قياس أقطار النمو الفطرية من خلال المسطرة عند وصول خيوط مستعمرة المقارنة إلى حافة الطبق.

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{قطر مستعمرة المقارنة} - \text{قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{قطر مستعمرة المقارنة}} \times 100$$

اختبار كفاءة الطحالب البحرية في تثبيط نمو الفطر الممرض R. solani

أختبر تأثير الطحالب البحرية في تثبيطها لنمو الفطر الممرض والتي تم الحصول عليها من السوق المحلية . تم إضافة ٢غم من الطحالب البحرية إلى لتر من الوسط الزراعي PDA ، صب الوسط في أطباق بتري مع ترك معاملة للمقارنة بدون إضافة الطحلب ، وبعد تصلب الوسط وضع قرص من الفطر الممرض بقطر ٠,٥ سم في مركز كل طبق .كررت المعاملة ٣ مرات، و حضنت الاطباق على درجة حرارة ٣٠ م ، ثم أخذ قياس أقطار النمو الفطرية من خلال المسطرة عند وصول خيوط مستعمرة المقارنة إلى حافة الطبق.

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{قطر مستعمرة المقارنة} - \text{قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{قطر مستعمرة المقارنة}} \times 100$$

التجربة الحقلية

تم إجراء التجربة الحقلية في جامعة تكريت / حقول كلية الزراعة للموسم ٢٠٢٢-٢٠٢٣ . تم اعداد البيت البلاستيكي للزراعة وحرارة الأرض وتقسيمها إلى خطوط وتأسيس نظام الري بالتنقيط . رطببت التربة قبل تلقيحها بالفطر الممرض بيوم واحد ، ثم لقحت التربة بالفطر R.solani ، وضع لقاح الفطر تحت التربة بعمق ٥ سم ، وتركت التربة ثلاثة أيام لضمان انتشار الممرض ، ثم زرعت شتلات نبات الفراولة ، وتم اجراء الري بطريقة التنقيط وفق توصيات زراعة الفراولة ،وقد بلغت عدد الوحدات التجريبية ٦٦ وحدة ناتجة من ٢٢ معاملة وبثلاث قطاعات .

معاملات التجربة

تضمنت معاملات التجربة الحقلية

- ١- مستخلصات الزيوت النباتية (أكليل الجبل وزيت الثوم وزيت النيم) المجهزة من السوق المحلية -شركة العماد - الموصل . تم استعمالها رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات بواقع ١ مل / لتر .
- ٢- مستخلص الطحالب البحرية المجهزة من شركة Algapro - مصر . تم استعمالها رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات بواقع ٢ غم / لتر .
- ٣- بكتريا مكافحة الحيوية *Pseudomonas stutzeri* و *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus sonorensis* ، والتي تم الحصول عليها من قسم وقاية النبات -كلية الزراعة - جامعة تكريت . تم تنمية العزلات في الوسط السائل N.B واستعملت رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات .
- ٤- المبيد الفطري Moncut مادته الفعالة (Flutolanil) المجهز من شركة Nippon Nohyaku - Japan . تم استعماله رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات بواقع ٢ غم / لتر .

تقدير نسبة الإصابة المئوية

تم تقدير نسبة الإصابة بالمسبب المرضي *R.solani* وفق المعادلة :

نسبة الإصابة المئوية = عدد النباتات المصابة / العدد الكلي للنباتات المفحوصة $\times 100$

تقدير شدة الإصابة

تم تقدير شدة الإصابة عند ثلاثة مراحل لنمو النبات وهي عند إصابة الشتلات بالمرض وقبل إجراء المعاملات بأسبوعين ، وبعد إجراء المعاملات بأسبوعين ، وبعد إجراء المعاملات بأربعة أسابيع . قدرت شدة الإصابة وفق معادلة Mickinney [10] ، وبحسب الدليل المرضي التالي المعد من قبل Gao [11]:

٠ = نبات سليم

١ = اصفرار لعدد محدود من أوراق النبات ١-٢٠%

٢ = اصفرار مع ذبول لعدد من أوراق النبات ٢١-٤٠%

٣ = اصفرار وذبول أوراق النبات ٤١-٦٠% وتعفن قاعدة الساق

٤ = اصفرار وذبول أوراق النبات ٦١-٨٠% مع تعفن الساق والأزهار

٥ = موت النبات

شدة الإصابة = مجموع عدد النباتات المصابة في الدرجة $0 \times 0 + \dots +$ عدد النباتات المصابة في الدرجة $5 \times 5 \times 100$

العدد الكلي للنباتات المفحوصة $\times$ أعلى درجة للدليل المرضي

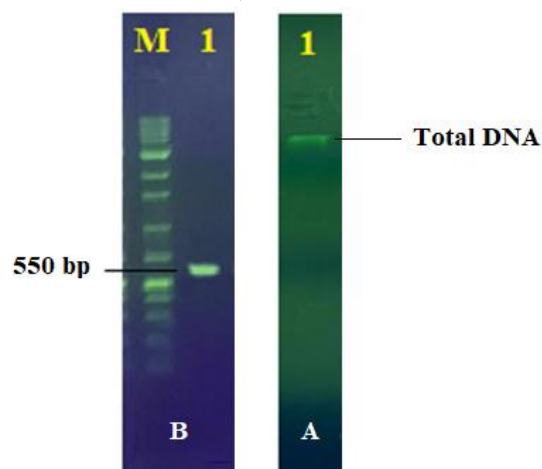
قياس محتوى الكلوروفيل

تم قياس محتوى الكلوروفيل لأوراق نباتات الفراولة باستعمال جهاز (Spad) Chlorophyll_Meter ، وذلك بأخذ ثلاث أوراق من كل نبات من أسفل ووسط وأعلى ثلاث نبات لكل معاملة عند مرحلة التزهير.

النتائج والمناقشة

نتائج التشخيص الجزيئي للفطر الممرض

تبين النتائج في عملية الترحيل الكهربائي الجينومي ظهور حزم الحامض النووي DNA بشكل واضح ، وهذا يعد دليلاً على دقة عملية استخلاص الحامض الجينومي . كما توضح النتائج من خلال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للحامض DNA على هلام أكاروز وحسب النتائج النيوكليوتيدي للجين 5.8S r RNA وجود حزم ظهرت من تفاعل PCR والتي قدر تجمعها بـ 550 زوجاً قاعدياً .



الشكل (١) A :الترحيل الكهربائي للحامض النووي الجينومي

B :الترحيل الكهربائي لنتائج PCR باستعمال البادئ المتخصص

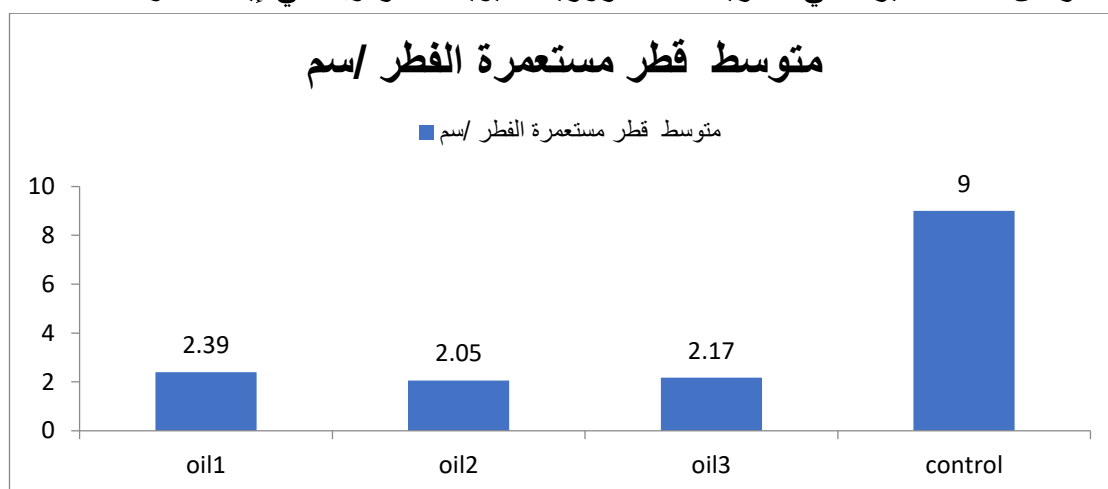
ومن خلال نتائج التشخيص الجزيئي لعزلة الفطر بالاعتماد على النسبة المئوية لتطابق النتائج الجيني 5.8S r RNA شخصت العزلة إلى التي أجريت عليها الدراسة إلى مستوى النوع وبحسب تطابقها مع العزلة الصينية ذات الرقم العالمي JF817349.1 ، إذ بلغت نسبة التشابه 99.57 ، كما سجلت عزلة الفطر R. solani بالرقم العالمي OQ253416.1 .

جدول (٢) نتائج التشخيص الجزيئي لعزلة الفطر الممرض *R. solani*

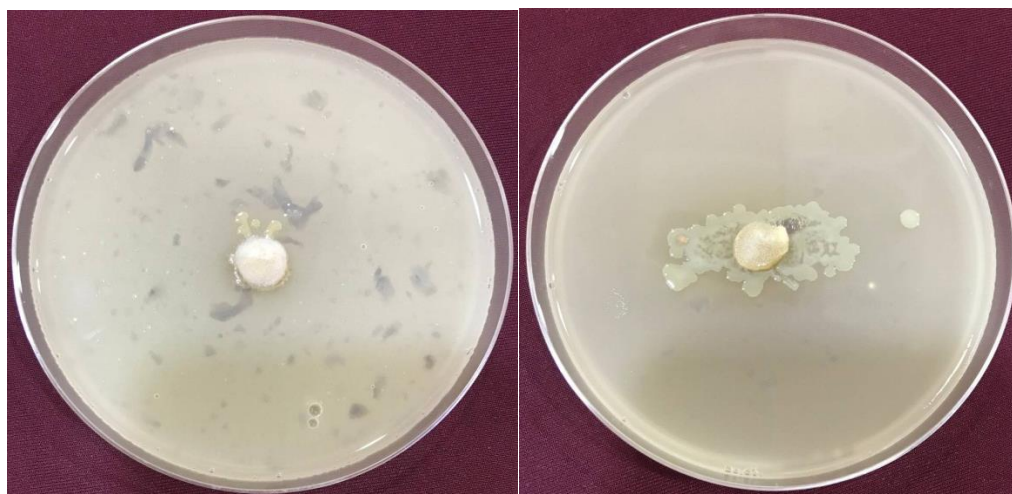
العزلة	نوع الفطر الاعلى تطابقا	الرقم العالمي	الدولة	نسبة التشابه %	نوع وعزلة الفطر المسجلة في البنك الوراثي العالمي	الرقم العالمي للفطريات المشخصة في هذه الدراسة
HSM -1	<i>Rhizoctonia solani</i> strain CanS-84	JF817349.1	China	99.57	<i>Rhizoctonia solani</i> isolate HSM-1	OQ253416.1

اختبار كفاءة الزيوت النباتية في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani*

تشير نتائج الدراسة أن إضافة مستخلص زيت نبات أكليل الجبل oil1 وزيت الثوم oil2 وزيت النيم oil3 بالتركيز ١ مل/لتر إلى الوسط الزراعي (N.A) أدى إلى تثبيط مستعمرة الفطر *R. solani* ، وكان التأثير الأعلى عند المعاملة بزيت الثوم إذ بلغ قطر مستعمرة الفطر ٢,٠٥ سم وبنسبة تثبيط وصلت لـ ٧٧%، تليها المعاملة بزيت النيم بمعدل قطر لمستعمرة الفطر بلغ ٢,١٧ سم وبنسبة تثبيط ٧٥%، فيما وصل قطر مستعمرة الفطر إلى ٢,٣٩ سم عند المعاملة بزيت أكليل الجبل وبنسبة تثبيط ٧٣%. فيما وصل متوسط نمو مستعمرة الفطر إلى ٩ سم عند معاملة المقارنة . إن فاعلية الزيوت المستعملة في الدراسة ضد الفطر *R. solani* قد تعود لما تحويه من مركبات فينولية تؤثر في الجدار الخلوي والأغشية البلازمية لخلايا الفطر ، وبالتالي تؤدي إلى حدوث خلل في نفاذية الأغشية وتحطيمها وحصول موت للخلايا الفطرية ، كما يمكن أن تتعارض فاعلية الزيوت مع بعض النشاطات الحيوية للفطر من خلال تأثيرها في الأنزيمات الضرورية لحيوية الفطر وبالتالي إيقاف نموه [12] .



الشكل (٢) اختبار كفاءة الزيوت النباتية في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani* (0.05 LSD) = 0.62



A: تثبيط زيت أكليل الجبل . B: تثبيط زيت الثوم

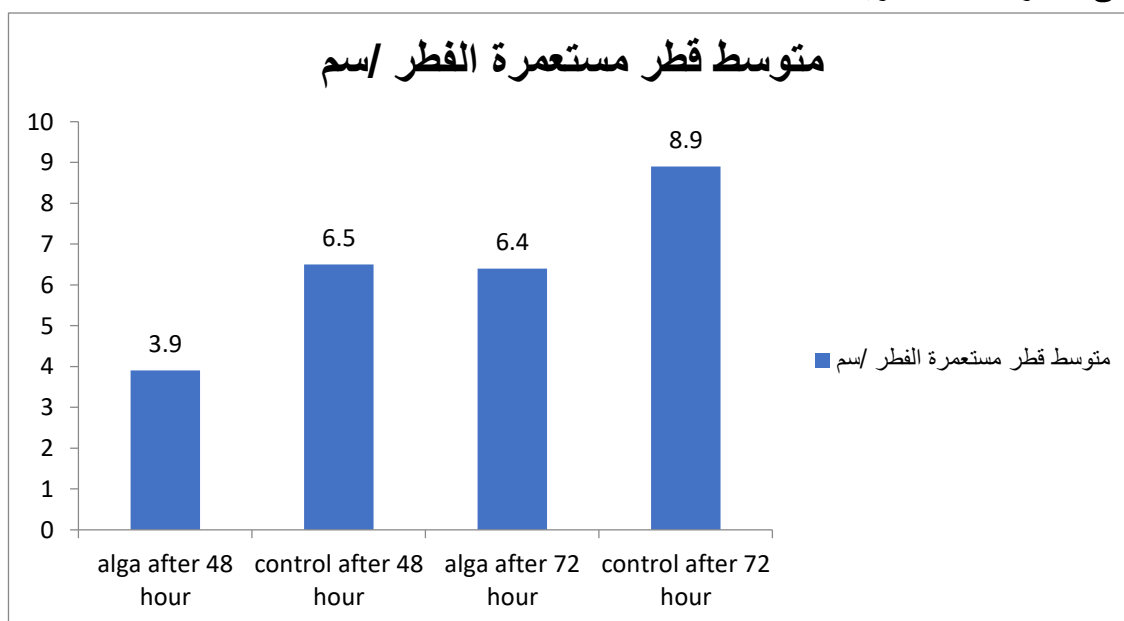


C : تثبيط زيت النيم D: معاملة المقارنة بالفطر الممرض

الشكل (٣) اختبار كفاءة الزيوت النباتية في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani*

اختبار كفاءة الطحالب البحرية في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani*

تشير نتائج الدراسة إلى فاعلية الطحالب البحرية في تثبيطها لنمو الفطر الممرض، وذلك من خلال إضافة الطحلب بنسبة ٢ غم /لتر في الوسط (PDA)، إذ سجلت القراءة الأولى بعد ٤٨ ساعة بوصول قطر مستعمرة الفطر إلى ٣,٩ سم وبنسبة تثبيط ٤٠%، بينما بلغت مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة ٦,٥ سم . وسجلت القراءة الثانية بعد ٧٢ ساعة، إذ بلغ قطر مستعمرة الفطر عند المعاملة بالطحالب البحرية ٦,٤ سم وبنسبة تثبيط ٢٨%، بينما وصل نمو قطر مستعمرة المقارنة إلى ٨,٩ سم ، وهذه النتائج تبين القدرة التضادية للطحالب في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani* نتيجة لنشاطها التضادي وقدرتها على انتاج المواد الايضية الثانوية والتي تؤثر حيويًا بشكل مباشر او غير مباشر على الممرضات الفطرية [13].



الشكل (٤) اختبار كفاءة الطحالب البحرية في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani* (0.05 LSD) = (1.46)



الشكل (٥) اختبار كفاءة الطحالب البحرية في تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani*
تأثير المعاملات في نسبة وشدة الإصابة لنبات الفراولة تحت تأثير الإصابة بالفطر الممرض *R. solani*

توضح النتائج في الجدول (٣) كفاءة جميع المعاملات في خفض نسبة الإصابة بتفوقها على معاملة السيطرة بالمرض، وسجلت المعاملة oil1 زيت نبات أكليل الجبل أدنى نسبة إصابة بالمرض بعد اجراء المعاملات بأسبوعين بلغت ١٤,٣% ، وانخفضت النسبة إلى ١١,٣% بعد اجراء المعاملات بأربعة أسابيع. كما بينت النتائج تأثير المعاملة *Alga* الطحالب البحرية وتوليفاتها مع البكتريا B1 *Pseudomonas stutzeri* و B2 *Pseudomonas fluorescens* و B3 *Bacillus sonorensis* في خفض نسبة الإصابة إذ بلغت المعاملة المفردة للطحلب ٣٢,٧% بعد اسبوعين من اجراء المعاملات و ٢٧,٣% بعد أربعة اسابيع من اجراء المعاملات، وانخفضت نسبة الإصابة عند المعاملة بالطحلب مع البكتريا B1 و B2 و B3 إلى ٢٢,٣% و ٢٠,٧% و ٢٠% بعد اسبوعين من اجراء المعاملات و ١٩,٧% و ١٧,٣% و ١٣,٣% بعد أربعة اسابيع من اجراء المعاملات متفوقة على معاملة السيطرة بالمرض والتي اعطت أعلى نسبة إصابة بلغت ٦٠% بعد اسبوعين من اجراء المعاملات و ٥٦,٧% بعد أربعة اسابيع من اجراء المعاملات، إذ تحتوي الطحالب على مجموعة من المركبات الفينولية والفلافونويدات التي تمتلك مجموعة واسعة من الأنشطة الحيوية ومن بينها نشاط تضاد للفطريات [14]، تفرز بكتيريا *Bacillus spp* مجموعة واسعة من المركبات النشطة حيويًا التي تثبط تطور العديد من مسببات الأمراض النباتية ومنها الببتيدات الدهنية مثل *iturin* و *Surfaceactin* و *fengycin* [15,16]. وتبين النتائج كفاءة المعاملة Oil2 مستخلص زيت الثوم إذ وصلت نسبة الإصابة ٢١,٣% بعد أسبوعين من اجراء المعاملات و ١٦,٧% بعد أربعة اسابيع من اجراء المعاملات ،كما ساهمت المعاملة Oil3 مستخلص زيت النيم بخفض نسبة الإصابة إذ بلغت

٣٢% بعد اسبوعين و ٢٧% بعد أربعة اسابيع من اجراء المعاملات . أعطت المعاملة بالمبيد الفطري Moncut تأثيراً جيداً في خفض نسبة الإصابة إذ بلغت ٢٥,٣% بعد اسبوعين و ١٦,٧% بعد أربعة اسابيع من اجراء المعاملات . أدت المعاملة بالبكتريا الحيوية B1 و B2 و B3 إلى خفض نسبة الإصابة عند المعاملات المفردة وتوليقاتها مع مستخلصات الزيوت النباتية والطحالب البحرية. كما ساهمت المعاملات في خفض شدة الإصابة بالفطر الممرض R.solani إذ بلغت أدنى شدة الإصابة عند المعاملة بالبكتريا B3 مع الطحالب البحرية ١٨,٠% بعد اسبوعين من اجراء المعاملة و ٤٨,٠% بعد أربعة أسابيع من اجراء المعاملات،

وتفوقت على معاملة السيطرة بالمرض والتي اعطت أعلى شدة إصابة بلغت ٥٩,٠% بعد اسبوعين من اجراء المعاملة ، و ٥٧,٠% بعد أربعة أسابيع . في دراسة Ehteshamul-Haque وآخرون [17] لتقييم تأثير الطحالب البحرية في الإصابة بالفطر المسبب لتعفن الجذور R.solani على جذور فول الصويا والفلفل، في التجربة الحقلية لفول الصويا بينت النتائج بعد مرور ٣٠ يوماً، تسبب جميع الطحالب البحرية المختبرة في حدوث ضرر كبير انخفاض في نمو R. solani إذ حققت الطحالب Dictyota indica و Padina tetrastrum أعلى تأثير على الفطر R. solani بعد ٣٠ يوم اذا بلغت نسبة نمو الفطر الممرض ٦,٢ و ١٢,٥% على التوالي . وأعطت نتائج المعاملة بالبكتريا B1 و B2 و B3 خفضاً واضحاً في شدة الإصابة سواء بالمعاملة المفردة وتوليقاتها إذ بلغت عند البكتريا B1 ٢٠,٠% بعد اسبوعين من اجراء المعاملة و ٣٩,٠% بعد أربعة أسابيع ، وبلغت المعاملة بالبكتريا B2 مع مستخلص نبات أكليل الجبل ١٩,٠% بعد اسبوعين و ٣٦,٠% بعد أربعة أسابيع ، وهذا يشير إلى تأثير سلوك البكتريا الحيوية مع مستخلص نبات أكليل الجبل oil1 في مكافحة الفطر الممرض .

كما ساهمت البكتريا B3 وتوليقاتها مع الطحالب البحرية في خفض شدة الإصابة إذ بلغت ١٨,٠% بعد اسبوعين من اجراء المعاملات ، وارتفعت شدة الإصابة بعد أربعة أسابيع من اجراء المعاملات إذ بلغت ٤٨,٠% ، كما ساهمت المعاملة بالزيوت النباتية بخفض شدة الإصابة في المعاملات المفردة إذ بلغت عند oil3 مستخلص زيت النيم ٢٨,٠% بعد أسبوعين وانخفضت إلى ٢٢,٠% بعد أربعة أسابيع من اجراء المعاملات .

جدول (٣) تأثير المعاملات في نسبة وشدة الإصابة لنبات الفراولة تحت تأثير الإصابة بالفطر

المرض R.solani

المعاملات	نسبة	نسبة	نسبة الإصابة	شدة	شدة	شدة
	الإصابة بعد	الإصابة بعد	بعد إجراء	الإصابة بعد	الإصابة بعد	الإصابة بعد
	أحداث	أحداث	المعاملات	أحداث	أحداث	أحداث



الإصابة بأسبوعين	المعاملات بأسبوعين	الإصابة بأسبوعين	ب - اسابيع 4	المعاملات بأسبوعين	الإصابة بأسبوعين	
0.22	0.33	0.36	27.3	32.7	36	Alga
0.39	0.20	0.27	15.7	19.3	27.3	B1
0.34	0.46	0.22	19.7	22.3	24.7	B1+alga
0.50	0.42	0.20	15	18.7	21.3	B1+oil1
0.16	0.22	0.24	19	23.3	26.3	B1+oil2
0.19	0.27	0.26	22	28.7	29.7	B1+oil3
0.50	0.44	0.18	14.3	20	21.7	B2
0.14	0.18	0.20	17.3	20.7	21.7	B2+alga
0.36	0.19	0.22	13.3	16.3	21.3	B2+oil1
0.34	0.47	0.27	22	24.7	29	B2+oil2
0.13	0.19	0.26	17.7	21.3	29	B2+oil3
0.21	0.28	0.29	22.7	25.7	31.3	B3
0.48	0.18	0.21	13.3	20	24	B3+alga
0.61	0.19	0.26	13.7	17.7	23	B3+oil1
0.19	0.27	0.30	20.7	27	28	B3+oil2
0.19	0.49	0.27	19.3	24	31	B3+oil3
0.14	0.24	0.40	16.7	25.3	32	Moncut fungicide
0.57	0.59	0.67	56.7	60	34	Control+dis
0.00	0.00	0.00	00.0	00.0	0	Control+out dis
0.53	0.38	0.14	11.3	14.3	17	Oil1
0.43	0.21	0.22	16.7	21.3	23	Oil2



0.22	0.28	0.34	27	32	35.3	Oil3
0.40	0.37	0.16	16.88	18.24	18.36	LSD 0.05

Bacillus =B3 ، Pseudomonas fluorescens= B2 ،Pseudomonas stutzeri=B1

oil1 = sonorensis زيت نبات أكليل الجبل ، oil2 = مستخلص زيت الثوم ، oil3 =

مستخلص زيت النيم

تأثير المعاملات في محتوى الكلوروفيل/سباد لنبات الفراولة تحت تأثير الإصابة بالمرض R.solani توضح النتائج في الجدول (٤) أن المعاملة بالمبيد الفطري Moncut أعطت أعلى معدل لمحتوى كلوروفيل أوراق نبات الفراولة إذ بلغ ١٣,٧٦ سباد ،تليها المعاملة B1+oil2 البكتريا Pseudomonas stutzeri وزيت الثوم إذ بلغ محتوى الكلوروفيل ١٢,٥٣ سباد ،دون وجود أي فرق معنوي بينهما .كما بينت النتائج أن المعاملة بالطحالب البحرية قد سجلت تفوقا في محتوى الكلوروفيل بمعدل ١١,٧ سباد لمعاملة الطحلب مفردة ، وتفوقت على معاملة السيطرة بالمرض والتي بلغت ٧,٠٦ سباد . وتباينت نتائج توليفات المعاملة بالطحالب البحرية والبكتريا بين أدنى محتوى كلوروفيل عند المعاملة B3+alga Bacillus sonorensis إذ بلغ ٧,٤٣ سباد ،وأعلى محتوى عند المعاملة B2+alga P. fluorescens إذ وصل ١٢ سباد للمعاملة . وفي دراسة أظهرت أنواع Pseudomonas القدرة على إنتاج حاملات الحديد للسيطرة على F. oxysporum f. sp. dianthi عن طريق تحسين المنافسة على العناصر الغذائية والمكان [18]. كما سجلت المعاملة بمستخلص الزيوت النباتية زيادة محتوى الكلوروفيل إذ بلغ ٨,١ سباد لمستخلص زيت أكليل الجبل و ٩,٤٣ سباد لمستخلص زيت الثوم و ١١,٢٦ سباد لمستخلص زيت النيم ، وتقاربت نتائج توليفات مستخلصات الزيوت النباتية مفردة مع توليفات المعاملات مع البكتريا من دون وجود أي فرق معنوي بينهما ، إذ بلغ محتوى الكلوروفيل ٩,١ سباد عند المعاملة بمستخلص أكليل الجبل مع البكتريا Bacillus sonorensis . إن ارتفاع محتوى كلوروفيل أوراق النبات ينعكس إيجابا على عملية التمثيل الضوئي وبالتالي كفاءة الأوراق في تصنيع الكربوهيدرات التي تنتقل إلى الثمار وتخزن فيها مما يؤدي إلى تحسين الصفات النوعية للثمار [19] . جدول (٤) تأثير المعاملات في محتوى الكلوروفيل/سباد لنبات

الفراولة تحت تأثير الإصابة بالمرض R.solani

المعاملات	alga	B1	B1+alga	B1+oil1	B1+oil2	B1+oil3	B2	B2+alga	B2+oil1
الكلوروفيل	11.7	9.2	10.3	9.8	12.	10.4	9.66	12.00	12.16



ل / سباد	3			53					
المعاملات	B2+oil 2	B2+oil 3	B3	B3+al ga	B3+oil 1	B3+oil 2	B3+oil 3	Moncut fungicid e	Control +dis
الكلوروفيل ل / سباد	8.93	9.4	9.33	7.43	9.1	11.43	9.26	13.76	7.06
المعاملات	Contro l+out dis	Oil1	Oil2	Oil3	LSD 0.05				
الكلوروفيل ل / سباد	11.36	8.1	9.43	11.26	1.33				

References

- 1-DiMeglio, L., Staudt, G., Yu, H., & Davis, T. (2014). A phylogenetic analysis of the genus 54 *Fragaria* (strawberry) using intron-containing sequence from the ADH-1 gene. *PloS One*. Retrieved from <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0102237>.
- 2-Mirmajlessi, S.M., M. Bahram, M. Mänd, N, Najdabbasi, S. Mansouripour, and E. Loita (2018). Survey of soil fungal communities in strawberry fields by illumina amplicon sequencing. *Eurasian Soil Sci.* 51(6): 682-691
- 3-Asad-Uz-Zaman, M., Bhuiyan, M.R., Khan, M.A.I., Bhuiyan, M.K.A., Latif, M.A., 2015. Integrated options for the management of black root rot of strawberry caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *C. R. Biol.* 338, 112–120.
- 4-Shen, Ting; Wang, Chen; Yang, Hua; Deng, Zhaoliang; Wang, Shimei; Shen, Biao; Shen, Qirong (2016). Identification, solid-state fermentation and biocontrol effects of *Streptomyces hygroscopicus* B04 on strawberry root rot. *Applied Soil Ecology*, 103(), 36–43. doi:10.1016/j.apsoil.2016.02.016
- 5-Cunha, F. S. D.; Costa, A. E. D. S.; Araújo, K. M. G. D.; Lima Neto, I. D. S.; Capucho, A. S.; and Ishikawa, F. H. (2022). Inheritance of resistance to damping-off (*Rhizoctonia solani*) in watermelon. *Bragantia*, 81
- 6-Senapati, M.; Tiwari, A.; Sharma, N.; Chandra, P.; Bashyal, B. M.; Ellur, R. K.; Krishnan, S. G. (2022). *Rhizoctonia solani* Kühn Pathophysiology: Status and Prospects of Sheath Blight Disease Management in Rice. *Frontiers in Plant Science*, 13, 881116-881116.



- 7-Meschke, H. and Schrempf, H. (2010) . Streptomyces lividans inhibits the proliferation of the fungus Verticillium dahliae on seeds and roots of Arabidopsis thaliana. Microbial Biotechnology, 3: 428-443. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00165.x>
- 8-Alma, M. H.; Ertas., Nitz, M., S. and Kollmannsberger H. (2007) . Chemical composition and content of Essential oil from the bud of cultivated Turkish Clove (*Syzygium aromaticum* L.). Bioresources 2,265.
- 9-Shukla, P.S.; Mantin, E.G.; Adil, M.; Bajpai, S.; Critchley, A.T.; Prithiviraj, B. . 2019. Ascophyllum Nodosum-Based Biostimulants: Sustainable Applications in Agriculture for the Stimulation of Plant Growth, Stress Tolerance, and Disease Management. Front. Plant Sci, 10, 655.
- 10- McKinney, H.H. (1923). Helminthosporium disease of wheat. Journal of Agricultural Research ,25: 195-218
- Meena,
- 11-Gao, F.K.; Dai, C.C.; Liu, X.Z. 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. Afr. J. Micro-Biol. Res., 4, 1346–1351.
- 12-Lakhdar F., Boujaber N., Oumaskour K., Assobhei O., Etahiri S. 2015. Inhibitive Activity of 17 Marine Algae from the Coast of El Jadida-Morocco against *Erwinia chrysanthemi*. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. ;7:376–380
- 13-Ambika S., Sujatha K. 2015. Antifungal Activity of Aqueous and Ethanol Extracts of Seaweeds against Sugarcane Red Rot Pathogen (*Colletotrichum falcatum*) Sci. Res. Essays. ;10:232–235. doi: 10.5897/SRE2015.6198.
- 14-Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., Arpigny, J. L. and Thonart, P. (2007). Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants, Environ. Microbiol. 9(4), 1084–1090. doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01202.x
- 15-Zhao X, Zhao X, Wei Y, Shang Q, Liu Z. 2013. Isolation and identification of a novel antifungal protein from a rhizobacterium *Bacillus subtilis* strain F3. J Phytopathol. 161:43–48.
- 16-Ehteshamul-Haque & Afzal, S. A. I. M. A., Tariq, S., Sultana, V., Ara, J., S. (2013). Managing the root diseases of okra with endo-root plant growth promoting *Pseudomonas* and *Trichoderma viride* associated with healthy okra roots. Pak. J. Bot, 45(4), 1455-1460.
- 17-Ipek, M.; Pirlak, L.; Esitken, A.; Figen Dönmez, M.; Turan, M.; Sahin, F. 2014. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) increase yield, growth and nutrition of strawberry under high-calcareous soil conditions. J. Plant. Nutr., 37, 990–1001.
- 18-Shaheen Abdel-Aziz, M. S., , M. S., El-Nekeety, A. A., & Abdel-Wahhab, M. A. (2014). Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles



biosynthesized using *Chenopodium murale* leaf extract. Journal of Saudi Chemical Society, 18(4), 356-363.

19-Karimi, K.; Amini, J.; Harighi, B.; Bahramnejad, B. 2012. Evaluation of biocontrol potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. Against *Fusarium* wilt of chickpea. Aust. J. Crop Sci., 6, 695–703.