التسجيل الأول للفطر *Rhizoctonia solani* كمسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات نبات اللبخ (*Albizia lebbek*) في محافظة كربلاء، العراق، ومكافحته حيوياً وكيميائياً

رجاء غازي عبد المحسن، نور علي الغزالي*، أحمد برير أبو دكة وبرير أحمد ناصر كماز

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة كربلاء، العراق.

*البريد الإلكتروني للباحث المراسل: noor.a@uokerbala.edu.iq

المخص

عبد المحسن، رجاء غازي، نور علي الغزالي، أحمد برير أبو دكة وبرير أحمد ناصر كماز. 2025. التسجيل الأول للفطر *Rhizoctonia solani* كمسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات نبات اللبخ (*Albizia lebbek*) في محافظة كربلاء، العراق، ومكافحته حيوياً وكيميائياً. مجلة وقاية النبات العربية، 43(3):292–299. https://doi.org/10.22268/AJPP-001328

أجريت هذه الدراسة بهدف عزل وتشخيص الفطر المسبب لمرض تعفن الجذور وموت البادرات لنبات اللبخ (*Albizia lebbek*) في حدائق كلية الزراعة، جامعة كربلاء، العراق، واختبار مقدرته الامراضية مختبرياً وفي ظروف البيت البلاستيكي. أظهرت النتائج وجود أربع عزلات تمّ تشخيصها مظهرياً، وهي: *Fusarium* sp. (F1, F2)، *Alternaria* sp. (A1) و *Rhizoctonia solani* (R1)، وقد تفوقت العزلة R1 معنوياً على العزلات الأخرى في خفضها لنسبة إنبات بذور نبات الفجل الأحمر على الوسط الزرعي (آجار مائي)، إذ بلغت فيها النسبة المئوية للإنبات 0% والنسبة المئوية للتثبيط 100% قياساً بمعاملة الشاهد التي بلغت فيها النسبة المئوية لإنبات البذور 100%. كما تطابقت نتائج تجربة الأصص البلاستيكية في البيت البلاستيكي مع نتائج التجربة المختبرية، إذ تفوقت العزلة R1 معنوياً في خفضها لنسبة الإنبات إذ بلغت 0% وبنسبة تثبيط 100% عند معاملة بذور نبات اللبخ بالفطور المعزولة قياساً بمعاملة الشاهد والتي بلغت فيها النسبة المئوية للإنبات 100%. أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي أن العزلة الأكثر إمراضية كانت R1 (تعود للفطر *R. solani*) وتمّ إيداعها في بنك الجينات الأمريكي تحت رقم الادخال OQ102237. كما أظهرت نتائج التجربة المختبرية فعالية الفطر الأحيائي *Trichoderma koningiopsis* في مكافحة الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*، حيث تفوّقت معنوياً في مكافحة الفطر وبنسبة تثبيط 100% مقارنة بمعاملة الشاهد التي بلغت 0%. كما بينت النتائج قدرة البكتيريا *B. velezensis* على تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض على الوسط الزرعي PDA، وحققت أعلى تأثير في نمو الفطر الممرض عند استخدامها بتركيز 10^{-1}، إذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 95.2% مقارنة بمعاملة الشاهد التي كانت 0%. كما تفوقت معاملة المبيد الكيميائي Beltanol مع الفطر الممرض والتي بلغت 20.33 و 15.66% تلتها معاملة *B. velezensis* + *R. solani* والتي بلغت فيها 22.33 و 16.33%، على التوالي، ولم تختلف هذه المعاملة معنوياً عن معاملة *R. solani* + *T. koningiopsis* في خفضها لشدة الاصابة، ولكنها اختلفت معنوياً في خفض النسبة المئوية للإصابة وشدتها بالفطر الممرض *R. solani* إذ بلغت 24.66 و 17.66%، على التوالي، واختلفت هذه المعاملات معنوياً في خفضها للنسبة المئوية للإصابة وشدتها عن معاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت فيها 76.8 و 55.66%، على التوالي، مقارنة بمعاملة الشاهد.

كلمات مفتاحية : *Albizia lebbek*، *Rhizoctonia solani*، منصة ITS-r DNA.

المقدمة

سميت شجرة اللبخ (*Albizia lebbeck*) نسبة إلى العالم الإيطالي فرانشيسكو ألبيزي في القرن الثامن عشر، وينتمي الجنس *Albizia* للعائلة البقولية (Fabaceae)، ويضمّ 150 نوعاً من الأشجار والشجيرات والمتسلقات في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية ومناطق آسيا وأفريقيا (Mishra *et al.*, 2010).

تعدّ أشجار اللبخ ذات نمو جيد في الترب الطينية الخصبة جيدة الصرف، ولكنها ضعيفة النمو في الترب الطينية الثقيلة في المناطق التي تتساقط فيها الأمطار بكميات تتراوح بين 600 و 2500 مم سنوياً، إلا أنها تتحمل الصقيع، وتتكيف مع مجموعة واسعة من أنواع التربة منها التربة الحمضية إلى التربة القلوية والمالحة (Prinsen, 1986).

يتميز نبات اللبخ بنموه السريع حيث يصل ارتفاع الشجرة الواحدة إلى 12 م (Muhammad *et al.*, 2012)، وهي من الأشجار متساقطة الأوراق، ثمارها مستطيلة ومسطحة وبذورها ملونة كريمية

https://doi.org/10.22268/AJPP-001328
© 2025 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

(Ghani, 2003). وتوجد في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية لدول آسيا مثل كمبوديا، ماليزيا، فيتنام وكذلك أفريقيا (Dy Phon, 2000).

يتعرض هذا النبات للكثير من المسببات المرضية التي تحتاج إلى تشخيص باستخدام وسائل حديثة، ومن أهمها تفاعل البلمرة المتسلسل واعتماداً على تسلسل القواعد الآزوتية لعدد من الواسمات الجينية التي تستعمل في التشخيص مثل Internal transcribed spacer (ITS) و1-Alpha action translation elongation factor (actA) و tef 1 (Lahuf *et al.*, 2020؛ Al-Ghazali *et al.*, 2022). تستخدم الكثير من الوسائل لمكافحة المسببات المرضية ومنها المبيدات الكيميائية، ولكن كثرة الاستخدام أسفرت عن ظهور سلالات مرضية مقاومة لها بالإضافة إلى خطورتها على صحة الإنسان والحيوان (Sheehan & Abdalmohsen, 2022)، لذلك تعالت الأصوات في ضرورة اتباع وسائل أقل ضرراً وأكثر استدامة، والتي منها المقاومة الحيوية (Al-Tememe *et al.*, 2019) باستخدام عدة أنواع وأهمها الفطر *Trichoderma* sp. الذي يعد من فطور المقاومة الأحيائية لسهولة إكثاره وسرعة نموه ويعمل على التطفل والمنافسة وإفراز بعض الأنزيمات ويؤثر بشكل مباشر على الفطور والنيماتودا (Al-Abedy *et al.*, 2021)، كما استخدمت البكتيريا في مكافحة المسببات المرضية، ومنها بكتيريا *Bacillus velezensis* القادرة على منع نمو العديد من المسببات المرضية كالبكتيريا والفطور والنيماتودا وتلعب دوراً في تثبيط نمو العوامل الممرضة للنبات، كما تعمل على استحثاث المقاومة الجهازية للنبات وتحفيز الدفاع ضدّ الكائنات الممرضة الدقيقة (Sawant *et al.*, 2023).

ونظراً لقلة الدراسات المتعلقات بمسببات أمراض الجذور وموت البادرات على نباتات الزينة والتي منها نبات اللبخ في محافظة كربلاء، وربما في العراق، هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص مسبب هذا المرض واختبار مقدرته الامراضية مختبرياً وفي ظروف البيت البلاستيكي ومكافحته حيوياً وكيميائياً.

مواد البحث وطرائقه

جمع وعزل العينات

عزلت الفطور من جذور نبات اللبخ (*Albizia lebbek*) الذي ظهرت عليه أعراض المرض المتمثل بضعف نمو النبات واصفرار الأوراق وتعفن الجذور. جمعت العينات من حدائق كلية الزراعة، جامعة كربلاء، وغسلت الجذور جيداً بالماء لإزالة الأتربة منها لمدة نصف ساعة، بعدها قطعت إلى قطع صغيرة بحجم 0.5–1 سم وعقمت بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1% لمدة دقيقتين، وغسلت بعدها بالماء المقطر المعقم وتمّ تنشيفها بواسطة ورق نشاف معقم. نقلت القطع بواسطة ملقط إلى الأطباق الحاوية على الوسط الغذائي بطاطا/بطاطس–دكستروز–آجار (PDA). حضنت بعدها الأطباق عند درجة حرارة 25±2°س لمدة ثلاثة أيام، ثم نقيت الفطور من خلال نقل جزء من المستعمرة الفطرية بواسطة الثاقب الفليني إلى طبق آخر يحتوي على الوسط الغذائي PDA وبعد تنمية الفطور المعزولة شخصت مبدئياً تحت المجهر بالاعتماد على الصفات المظهرية وباستخدام المفاتيح التصنيفية (Leslie & Summerell, 2006).

اختبار المقدرة الإمراضية للفطور المعزولة من جذور نبات اللبخ مختبرياً على الوسط الزرعي آجار المائي

استخدمت في اختبار المقدرة الإمراضية لأربع عزلات من الفطور التي تم عزلها من جذور نبات اللبخ، وذلك بأخذ أطباق بتري تحتوي على الوسط الزرعي آجار المائي، والذي حضر من 20 غ آجار و 1000 مل من الماء المقطر ووضع في دوارق زجاجية سدت فوهاتها بسدادات قطنية وعقمت في المؤصدة لمدة 20 دقيقة تحت ضغط 15 باوند/انش^2 وحرارة 121°س. بعد انتهاء التعقيم أضيف للوسط المضاد الحيوي Amoxicillin بمقدار 125 مغ/لتر، ثم ألقحت بقرص بقطر 5 مم من مستعمرة فطرية نقية بعمر 7 أيام وضع في منتصف الوسط الغذائي المحضر مسبقاً. وضعت جميع الأطباق في الحاضنة لمدة ثلاثة أيام عند حرارة 25±2°س ثم وزعت بذور اللبخ المعقمة سطحياً بهيبوكلورات الصوديوم بتركيز 1%، بواقع 10 بذور موزعة على أطراف المستعمرة الفطرية بصورة دائرية وبواقع ثلاث أطباق لكل عزلة فطرية كمكررات، فضلاً عن معاملة الشاهد والتي زرعت فيها البذور فقط بدون عزلة فطرية. بعدها وضعت جميع الأطباق بالحاضنة عند حرارة 25±2°س لمدة سبعة أيام وتم حساب النسبة المئوية للتثبيط وفق معادلة Abbot (1925) وحساب النسبة المئوية للإنبات باستخدام المعادلة التالية (Al-Ghazali *et al.*, 2022):

$$\text{النسبة المئوية للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلي}} \times 100$$

اختبار المقدرة الامراضية للفطور المعزولة من اللبخ في الأصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي

نفذت التجربة في أحد البيوت البلاستيكية التابعة لقسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة كربلاء. عقم مزيج من التربة المزيجية والبتموس 1:1 عند حرارة 121°س وتحت ضغط 15 باوند/انش^2 لمدة ساعة واحده في اليوم وليومين متتاليين، ثم وضعت في أصص بلاستيكية سعة 1 كغ. رطبت التربة وأضيف لها لقاح الفطور المعزولة والمحمل على بذور الدخن المحلي (*Panicum miliacem*) حسب طريقة Dewan (1989)، ثم غطيت بأكياس بولي اثيلين لمده 48 ساعة. بعدها زرعت الأصص

ببذور نبات اللبخ المعقمة سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بنسبة 1% وبواقع 10 بذور لكل أصيص.

صممت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) وبواقع ثلاثة أصص لكل معاملة كمكررات مع معاملة الشاهد التي زرعت ببذور اللبخ فقط وبنفس عدد المكررات. سجلت النتائج بعد 60 يوم من إجراء التجربة وذلك بحساب النسبة المئوية لإنبات البذور والنسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلات المذكورة أعلاه.

التشخيص الجزيئي للفطور الممرضة

استخدم اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل بغرض تأكيد التشخيص المظهري للعزلات الفطرية الممرضة المسببة لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات اللبخ وحسب طريقة Narayanasamy (2011).

اختبار المقدرة التضادية لبعض العوامل الأحيائية ضد الفطر *Rhizoctonia solani* المعزول من نبات اللبخ مختبرياً

العامل الاحيائي *Trichoderma koningiopsis*– أجريت عملية اختبار المقدرة التضادية للفطر *T. koningiopsis* المُشخص مظهرياً وجزيئياً والذي تم الحصول عليه من مختبر الدراسات العليا، كلية الزراعة، جامعة كربلاء ضد الفطر الممرض حسب طريقة الزرع المزدوج (Dual culture) (Baker & Cook, 1974). تم احتساب الكفاءة التثبيطية والقدرة التضادية للعامل الأحيائي بالاعتماد على مقياس Bell *et al.* (1982) والذي يتكون من خمسة درجات. ويعد العامل الأحيائي فعالاً إذا كانت درجة التضاد 1 أو 2. كذلك استعملت طريقة تحديد النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري (Nwankiti & Gwa, 2018) وذلك بتطبيق معادلة Abbot (1925) في قياس نسبة التثبيط، وقد حددت الفعالية التضادية للعامل الأحيائي بالاعتماد على النسبة المئوية للتثبيط وباستعمال مقياس Sangoyomi (2004).

العامل الأحيائي *Bacillus velezensis*– أجري اختبار القدرة التضادية للعامل الأحيائي البكتيري *B. velezensis* الذي تم الحصول عليه من مختبر الدراسات العليا، كلية الزراعة، جامعة كربلاء.

تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري المثبط لنمو الفطر الممرض

حضرت سلسلة تخفيفات من البكتيريا *B. velezensis* حسب الطريقة المستخدمة سابقاً (الغزالي، 2022). حضنت الأطباق عند حرارة 25±2°س، وعند وصول نمو الفطر الممرض إلى حافة الطبق في الشاهد تمّ حساب النسبة المئوية للتثبيط وفق معادلة Abbot (1925) وقيمت كفاءة الفعالية التضادية لهذا العامل الأحيائي بالاعتماد على النسبة المئوية للتثبيط وباستخدام مقياس Sangoyomi (Sangoyomi, 2004).

تقييم كفاءة المبيد Beltanol والعاملين الأحيائيين *T. koningiopsis* و *B. velezensis* والتكامل بينها ضدّ الفطر *R. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات اللبخ في ظروف البيت البلاستيكي

نفذت هذه التجربة باستعمال أصص بلاستيكية سعة 1 كغ حاوية على تربة مزيجية معقمة، وأضيف لقاح الفطر الممرض والمحمل على بذور الدخن إلى التربة بنسبة 1%، وبعدها خلط اللقاح مع التربة جيداً ليتجانس، وسقيت الأصص بصورة جيدة وغطيت بأكياس بولي إيتلين مثقبة ولمدة 48 ساعة، وبعدها زرعت بذور نبات اللبخ بواقع 10 بذرة/أصيص. تم تطبيق المعاملات بواقع ثلاثة مكررات لكل منها: (1) *R. solani* + Beltanol، (2) *B. velezensis*، (3) *R. solani* + *B. velezensis*، (4) Beltanol، (5) *R. solani* + *T. koningiopsis*، (6) *T. koningiopsis*، (7) *R. solani*، (8) الشاهد.

تم الاعتماد على المفتاح المرضي لتقييم شدة الاصابة بمرض تعفن الجذور، حسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة وفق معادلة Mckinney (1923). وبعد مرور 60 يوم على تطبيق التجربة تم حساب النسبة المئوية للإصابة وفق المعادلة الآتية :

$$\text{النسبة المئوية للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{للنباتات الكلي العدد المدروسة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

التشخيص المظهري للفطور المعزولة من نبات اللبخ

أظهرت نتائج عملية العزل والتشخيص المظهري الحصول على أربع عزلات فطرية مرافقة لمرض تعفن الجذور وموت بادرات نبات اللبخ، عزلتان منها تنتميان إلى الجنس *Fusarium* وعزلة للجنس *Alternaria* والعزلة الأخرى للجنس *Rhizoctonia*، وذلك استناداً إلى الخصائص المظهرية الخارجية لنمو المستعمرات الفطرية فضلاً عن الصفات المجهرية لكل فطر (Lesli & Summerell, 2006).

اختبار المقدرة الامراضية للفطور المعزولة من جذور نبات اللبخ باستخدام بذور الفجل الأحمر على وسط الآجار المائي

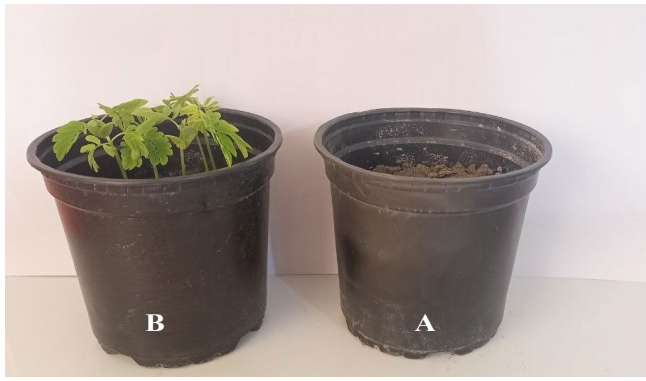
أظهرت نتائج اختبار المقدرة الامراضية للفطور المعزولة من جذور نبات اللبخ مختبرياً على وسط الآجار المائي (جدول 1 وشكل 1) تفوق العزلة R1 معنوياً على العزلات الأخرى في خفضها لنسبة إنبات بذور الفجل الأحمر إذ بلغت 0% وبنسبة تثبيط 100% قياساً بمعاملة الشاهد.

وكانت أقل العزلات تأثيراً على نسبة انبات البذور والنسبة المئوية للتثبيط هي العزلة F1، اذ بلغت النسبة المئوية للانبات والنسبة المئوية للتثبيط فيها 70 و 30%، على التوالي. وقد توافقت نتائج هذا الاختبار مع كثير من الدراسات السابقة، حيث أن للفطر *R. solani* قدرة تطفلية من النوع المدمر (Necrotroph) ويصيب أنسجة النبات عن طريق إفرازه أنزيمات تؤدي إلى تحليل جدران الخلايا والتغلغل داخل الأنسجة النباتية، ومن أهم هذه الأنزيمات Chitinase، Pectinase، Cellulase و Protease وبالإضافة إلى إفرازه مركبات سامة مثل Oxalic acid التي تؤدي إلى قتل الخلايا (حميد، 2002).

شـــكل 1. اختبار المقدرة الإمراضـــية للفطر *R. solani* المرافق لتعفن جذور نبات اللبخ باســـتخدام بذور الفجل الأحمر على وســـط الآجار المائي.

Figure 1. Testing the pathogenicity of the fungus *R. solani* associated with root rot of the Albizia plant using red radish seeds on water agar (WA) medium.

أظهرت النتائج (جدول 1، شكل 2) تفوق العزلة R1 للفطر *R. solani* في خفض إنبات بذور اللبخ إذ بلغت النسبة المئوية للإنبات 0.00% والنسبة المئوية للتثبيط 100% قياساً بمعاملة الشاهد. في حين بينت النتائج أن العزلة F1 هي أقل العزلات في تأثيرها في النسبة المئوية لإنبات البذور والنسبة المئوية للتثبيط والتي بلغت 83.33، 16.66%، على التوالي، وتتوافق هذه النتائج مع ما أشارت إليه أبحاث سابقة (Wilson *et al.,* 2008)، حيث يعزى تأثير الفطر *R. solani* في النسبة المئوية لإنبات البذور إلى مقدرته الإمراضية العالية وطبيعته التطفلية وإفراز أنزيمات محللة لجدران الخلايا تسبب في قتل الخلايا. وبناء على نتائج التجربة المختبرية وتجربة البيت البلاستيكي فقد اختيرت العزلة R1 بغرض تشخيصها جزيئياً واكمال التجارب الأخرى عليها.



شكل 2. اختبار المقدرة الإمراضية للفطر *R. solani* (R1) في إنبات بذور اللبخ في الأصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي. A=الفطر الممرض، B= الشاهد.

Figure 2. Testing the pathogenicity of the fungus *R. solani* (R1) on germinating Albizia seeds in plastic pots under greenhouse conditions. A=pathogenic fungus, B=control.

اختبار المقدرة الإمراضية للعزلات الفطرية في إنبات بذور اللبخ في الأصص البلاستيكية تحت ظروف البيت البلاستيكي

جدول 1. اختبار المقدرة الامراضية للعزلات الفطرية في إنبات بذور الفجل الأحمر على وسط الآجار المائي.

Table 1. Pathogenicity of fungi is associated with root rot of *A. lebbek* plants using red radish seeds on water agar medium.

نسبة التثبيط (%) Inhibition rate (%)		نسبة الإنبات (%) Germination rate (%)			
بذور اللبخ في الأصص البلاستيكية Albizia seeds in plastic pots	الفجل الأحمر على وسط الآجار المائي red radish seeds on water agar medium	بذور اللبخ في الأصص البلاستيكية Albizia seeds in plastic pots	الفجل الأحمر على وسط الآجار المائي Red radish seeds on water agar medium	Treatment	المعاملة
0.000	0.000	100.000	100.00	Control	الشاهد
16.660	30.00	83.330	70.000	*Fusarium* sp. (F1)	
33.330	33.330	66.660	66.660	*Fusarium* sp. (F2)	
55.560	76.660	44.440	23.330	*Alternaria* sp. (A1)	
100.000	100.000	0.000	0.000	*Rhizoctonia solani* (R1)	
4.635	1.243	4.635	1.243	$LSD_{0.05}$	

Each value represent the mean of three replications — كل قيمة تمثل متوسط المكررات الثلاثة

اختبار المقدرة التضادية للعامل الاحيائي الفطري *T. koningiopsis* على الفطر الممرض *R. solani* (R1) المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات نبات اللبخ على الوسط الزرعي PDA مختبرياً

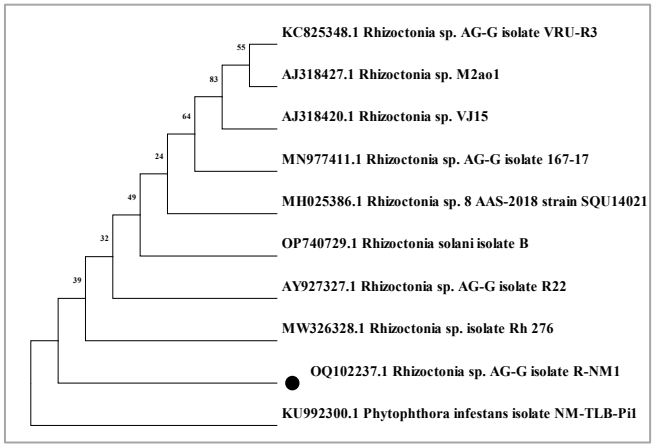
أظهرت النتائج فعالية الفطر *T. koningiopsis* في مكافحة الفطر الممرض *R. solani* إذ تفوق فطر المقاومة الأحيائية معنوياً في مكافحة الفطر *R. solani* وبنسبة تثبيط 100% قياساً بمعاملة الشاهد. وقد توافقت هذه الدراسة مع ما أشار إليه الغزالي (2022)، حيث أظهرت النتائج فعالية الفطر *T. koningiopsis* في مكافحة الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* إذ تفوق فطر المقاومة الأحيائية معنوياً في مكافحة الفطر *F. oxysporum* بنسبة تثبيط 0% تلاه وبفارق معنوي الفطر *R. solani* والذي بلغت نسبة تثبيطه 8.63% مقارنة بمعاملة الشاهد.

التشخيص الجزيئي

أظهرت النتائج أن إمكانية تضخيم منطقة ITS – rDNA للفطر المعزول بنجاح وذلك باستخدام البادئات ITS1 و ITS4 والتي انتجت تضخيم سلسلة مضاعفة بطول 500–1000 زوج قاعدي. وأكدت نتائج تحليل المعلوماتية الحيوية لتسلسل القواعد الآزوتية الخاصة بمنطقة ITS باستخدام برنامج BLAST والتشخيص المبدئي المعتمد على الخصائص المظهرية أن الفطر الأشد إمراضية والمعزول في هذه الدراسة هو *Rhizoctonia solani*. وقد تم ايداع تسلسلات القواعد الآزوتية الخاصة بالجنس المشخص في بنك المورثات GenBank والحصول على رمز تسلسلي خاص بالجنس المعزول في هذه الدراسة وهو OQ 102237.1، وتم رسم الشجرة الوراثية ومقارنته مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات (شكل 3).

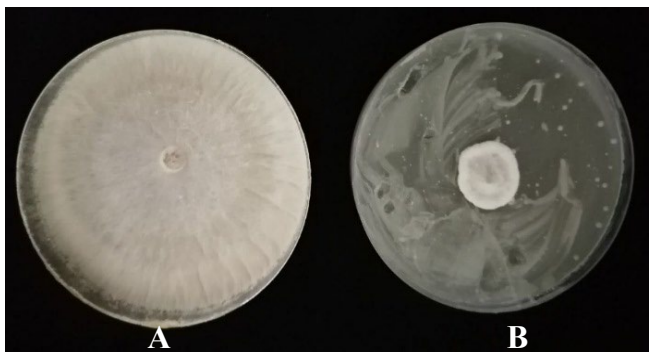
اختبار المقدرة التضادية للبكتيريا *B. velezensis* على الفطر الممرض *R. solani* المسببة لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات اللبخ على الوسط الزرعي PDA مختبرياً

أظهرت النتائج (جدول 2 و شكل 4) قابلية البكتيريا *B. velezensis* في تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض *R. solani* على الوسط الزرعي PDA، وكان أعلى تأثير لها عند التركيز 10^{-1} في نمو الفطر الممرض *R.solani* إذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 95.2%، قياساً بمعاملة الشاهد، وقد توافقت هذه الدراسة مع ما أشار إليه Alsudani & Al-Awsi (2020) حيث أظهرت هذه البكتيريا قدرتها التضادية العالية عند استعمالها بشكل مباشر أو استعمال الراشح في تثبيط نمو الفطر *R. solani* و *F. solani* المسببة لموت بادرات البندورة/الطماطم. كما استنتج Khalid *et al.* (2021) أن هذه البكتيريا فضلاً عن كونها عاملاً مثبطاً للممرضات النباتية فإنها تعد أيضاً معززاً حيوياً تضاف إلى أعلاف الحيوانات، ولها قدرة على زيادة أنشطة الأنزيمات المناعية. وبناء على نتائج هذه التجربة اختير التركيز 10^{-1} لإجراء التجارب اللاحقة.



شكل 3. الشجرة الوراثية للفطر الممرض *Rhizoctonia* sp. AG-G isolate R-NM1 (محدد بنقطة ذو لون اسود) والتي أنشئت بالاعتماد على تتابعات قواعدها الآزوتية لمنطقة ITS-rDNA بالاضافة الى تتابعات سلالات عالمية لنفس الفطر الممرض تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank. تم حساب المسافات الوراثية باستخدام طريقة neighbor-joining. علماً أن العزلة الفطرية التي كانت خارج المجموعة تعود لنوع الفطر *Phytophthora infestans*.

Figure 3. Genetic tree of the pathogenic fungus *Rhizoctonia* sp. AG-G isolate R-NM1 (marked with a black dot), which was constructed based on the sequences of its nitrogenous bases of the ITS-rDNA region compared with the sequences of global strains of the same pathogenic fungi obtained from the GenBank data repository. Genetic distances were calculated using the neighbor-joining method. Note that the fungal isolate that was outside the group belongs to the fungus *Phytophthora infestans.*



شكل 4. المقدرة التضادية للبكتيريا *B. velezensis* على الفطر الممرض *R. solani* المسبب لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات اللبخ على الوسط الزرعي PDA مختبرياً. A= الفطر الممرض بمفرده، B= الفطر الممرض+ البكتيريا *B. velezensis*.

Figure 4. The antagonistic ability of the bacteria *B. velezensis* against the pathogenic fungus *R. solani* which causes root rot and seedling death of the Albizia plant on PDA culture medium in the laboratory. A= growth of the fungal pathogen alone, B= pathogenic fungus + *B. velezensis*.

جدول 2. المقدرة التضادية للبكتيريا *B. velezensis* على الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* المسببة لمرض تعفن جذور وموت بادرات نبات اللبخ على الوسط الزرعي PDA مختبرياً.

Table 3. The antagonistic ability of the bacteria *B. velezensis* against the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* which causes root rot disease and death of Albizia seedlings on the PDA culture medium in the laboratory.

النسبة المئوية للتثبيط Inhibition rate (%)	معدل نمو القطر (سم) Mean fungal growth (cm)	التخفيف Dilution
0.00	9.00	10^{0}
95.20	0.43	10^{-1}
86.60	1.20	10^{-2}
81.10	1.70	10^{-3}
66.60	3.00	10^{-4}
57.70	3.80	10^{-5}
34.40	5.90	10^{-6}
30.00	6.30	10^{-7}
8.88	8.20	10^{-8}
0.0732	0.0732	$LSD_{0.05}$

كل قيمة في الجدول يمثل معدل لثلاثة مكررات

Each value represent the mean of three replicates

تقييم كفاءة المبيد Beltanol والعاملين الأحيائيين *T. koningiopsis* و *B. velezensis* والتكامل بينها ضدّ الفطر الممرض *R. solani* المسبب لمرض تعفن البذور وموت البادرات نبات اللبخ في ظروف البيت البلاستيكي

أظهرت النتائج (جدول 3) أن جميع المعاملات المستخدمة في هذه التجربة أدت إلى خفض نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن الجذور وموت البادرات المتسبب عن الفطر *R. solani*، حيث تفوقت معاملة المبيد الكيميائي Beltanol مع الفطر الممرض والتي بلغت 20.33 و 15.66% تلتها معاملة *B. velezensis* + *R. solani* والتي بلغت فيها نسبة وشدة الإصابة 22.33 و 16.33%، على التوالي، ولم تختلف هذه المعاملة معنوياً عن معاملة *R. solani* في خفضها لشدة الإصابة ولكنها اختلفت معنوياً في خفض النسبة المئوية للإصابة وشدتها بالفطر الممرض *R. solani* إذ بلغت 24.66 و 17.66%، على التوالي، واختلفت هذه المعاملات معنوياً في خفضها للنسبة المئوية للإصابة وشدتها عن معاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت فيها 76.8 و 55.66%، على التوالي. قد يعزى تأثير المبيد الكيميائي Beltanol في الفطور الممرضة إلى قابليته لتكوين مركبات مخلبية مع النحاس داخل أنسجه العائل ومن ثمّ تسهل عملية مروره إلى داخل خلايا الممرض، ثم بعد ذلك يتحرر ويؤدي إلى قتل المسبب المرضي (Meister, 2000)، إذ تعد المادة الفعالة في المبيد، وهي 8-Hydroxyquinoline، فعالة ضد مدى واسع من الفطور الممرضة للنبات (de Sonza, 2021)، كما قد يعزى تأثير البكتيريا *B. velezensis* في الفطر الممرض لقدرتها على إفراز عدد كبير من الأنزيمات والمواد الأخرى، ومنها Protease، Cellulase، Glucanase−1،3−β، Chitinase، Indole-3- acetic acid (IAA)، Siderophore و 1-aminocyclopropane -1-carboxylate(ACC)deaminase، فضلاً عن إنتاجها لعدد من المضادات الحيوية مثل Surfactin، Iturin و Fengycin. تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات سابقة أكدت فاعلية البكتيريا *B. velezensis* في تثبيط نمو عدد كبير من المسببات المرضية للنبات (Sawant *et al.,* 2023). أما تأثير فطر المقاومة الأحيائية *T. koningiopsis* فقد وجد أن الغزل الفطري لهذا العامل الأحيائي قد غطى بعضاً من غزل الفطر الممرض، ويشير هذا الى حصول نوع من التداخل بين غزول الفطر الممرض والفطر الأحيائي، إذ تتميز العديد من أنواع جنس *Trichoderma* الذي ينتمي إليه هذا العامل الاحيائي بأن خيوطه ذات أقطار صغيرة نسبياً مما يمكنها من الالتفاف حول خيوط الفطور الممرضة وتكوينها تراكيب ضاغطة، وبمساعدة بعض الأنزيمات المحللة التي يفرزها، مثل Proteases، Cellulases و Chitinases ، يتمكن من تحليل جدران الخلايا الفطرية، ومن ثم اختراقها والتطفل عليها (الغزالي، 2022؛ المشهداني، 2022).

جدول 3. المكافحة الأحيائية والكيميائية للفطر *R. solani* المسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات اللبخ في الأصص البلاستيكية.

Table 4. Biological and chemical control of the fungus *R. solani*, which causes root rot and death of Albizia seedlings in plastic pots.

شدة الاصابة (%) Severity (%)	الاصابة (%) Incidence (%)	Treatment	المعاملة
0.00	0.00	Control	الشاهد
55.66	76.80	*R. solani*	
0.00	0.00	*B. velezensis*	
0.00	0.00	*T. koningiopsis*	
0.00	0.00	Beltanol	
16.33	22.33	*R. solani* + *B. velezensis*	
17.66	24.66	*R. solani* + *T. koningiopsis*	
15.66	20.33	*R. solani* +Beltanol	
1.314	0.582		$LSD_{0.05}$

تمثل كل قيمة في الجدول متوسط ثلاثة مكررات

Each value represents the mean of three replicates

Abstract

Abdalmoohsin, R.G., N.A. Al-Ghazali, A.B. Abu-Duka and B.A.N. Gamaz. 2025. The First Report of the Fungus *Rhizoctonia solani* as a Causal Agent of Root Rot and Seedling Death of Indian Siris, *Albizia lebbek* in Karbala Governorate, Iraq and its Biological and Chemical Control. Arab Journal of Plant Protection, 43(3): 292-299. https://doi.org/10.22268/AJPP-001328

This study was conducted with the aim of isolating and diagnosing the fungus causing root rot and seedling death of Albizia lebbek (Indian siris), in the gardens of the College of Agriculture, University of Karbala, and its pathogenicity was tested under laboratory and greenhouse conditions. Four isolates were identified phenotypically: *Fusarium* sp. (F1, F2), *Alternaria* sp. (A1) and *Rhizoctonia solani* (R1). Isolate R1 was significantly superior to other isolates in reducing the germination rate of red radish seeds on water agar, which reached 0% (100% inhibition) compared to the control treatment where seed germination was 100%. The results of the plastic pot experiment in the greenhouse also showed that the results were consistent with the laboratory experiment, where the R1 isolate was equally superior in reducing the germination rate of *A. lebbek* seeds. Molecular diagnosis showed that the most pathogenic isolate R1 belongs to the fungus *Rhizoctonia solani* and was deposited in the American GenBank under the accession number OQ102237. The results of the laboratory experiment also showed that the effectiveness of the fungus *Trichoderma koningiopsis* in combating the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* with an inhibition rate of 100%. The results also showed the ability of the *B. velezensis* bacterium to inhibit the growth of the pathogenic fungus isolate on the PDA culture medium, and its highest effect was at concentration 10^{-1} on the growth of the pathogenic fungus, as the inhibition rate reached 95.2% compared to the control treatment 0%. The Beltanol fungicide treatment demonstrated superior efficacy against the pathogenic fungus, achieving infection severity rates of 20.33 and 15.66%, respectively. This was followed by the *R. solani* + B. *velezensis* treatment, which recorded 22.33 and 16.33%, respectively. The latter treatment did not show a statistically significant difference from the *R. solani* + *T. koningiopsis* treatment in reducing disease severity. However, it exhibited a significant difference in lowering both the infection percentage and severity caused by *R. solani*, which were recorded at 24.66 and 17.66%, respectively. All these treatments significantly reduced infection percentage and severity compared to the *R. solani* alone treatment, which exhibited the highest infection rates of 76.8 and 55.66%, respectively, relative to the control treatment.

Keywords: *Albizia lebbek*, *Rhizoctonia solani*, ITS-rDNA region.

Affiliation of authors: *R.G. Abdalmoohsin, N.A. Al-Ghazali*, A.B. Abu-Duka and B.A.N. Gamaz. Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Karbala, Iraq. *Email address of the corresponding author: noor.a@uokerbala.edu.iq*

References

thesis, College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq. 80 pp. (In Arabic) .

Abbot, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18(2):265-267. https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a

Al-Abedy, A.N., R.G. Abdalmoohsin, A.A. Odeh and I. Al-Salami. 2021. Evaluation of the potential of some *Trichoderma* spp. isolates, nanoparticles (MGO NPS) and the fungicide beltanol in control ling seedling damping-off and seed decay caused by *Fusarium brachygibbosum* in tomato. International Journal of Agricultural and Statistical Sciences, 17:1661-1671.

Al-Ghazali, N.A., R.G. Abdalmoohsin and A.B. Abu-Duka. 2022. First record of the fungus *Rhizoctonia solani* that causes root rot and damping off on *Catharanthus roseas* L. in Karbala and Babylon provinces, Iraq. HIV Nursing, 22(2):413-415.

Alsudani, A.A. and G.R.L. Al-Awsi. 2020. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Kühn) and *Fusarium solani* (Marti) causing damping-off disease in tomato with *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 23(11):1456-1461. https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.1456.1461

Al-Tememe, Z.A.M., A.A. Lahuf, R.G. Abdalmoohsin, A.T. Al-Amirry. 2019 Occurrence, identification, pathogenicity and control of *Neoscytalidium dimidiatum* fungus, the causal agent of sooty canker on *Eucalyptus camaldulensis* in kerbala province of Iraq. Plant Archives, 19(1):31-38.

المراجع

الغزالي، نور علي عبد. 2022. عزل وتشخيص الفطور *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* المسببة لامراض الجذور وقواعد سيقان نبات عين البزون (*Cartharanthus roseus*) في بعض المشاتل ومكافحتها احيائياً وكيميائياً. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة كربلاء، العراق. 110 صفحات.

***[Al-Ghazali, N.A.A.** 2022. Isolating and diagnosing the fungi Rhizoctonia solani and Fusarium oxysporum that cause diseases in the roots and bases of the stems of the cartharanthus roseus in some nurseries and combating them biologically and chemically. M.Sc. thesis, College of Agriculture, University of Karbala, Iraq. 110 pp. (In Arabic)].*

المشهداني، صفا جميل شيحان. 2022. فاعلية المكافحة المتكاملة في السيطرة على بعض مسببات مرض تعفن جذور نبات عرف الديك *Celosia argentea*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة كربلاء، العراق. 121 صفحة.

***[Al-Mashhadani, S.J.S.** 2022. The effectiveness of integrated pest management in controlling some causes of root rot disease of the cockscomb plant, Celosia argentea. M.Sc. thesis, College of Agriculture, University of Karbala, Iraq. 121 pp. (In Arabic)].*

حميد، فاخر رحيم. 2002. دراسة كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* spp. في استحثاث المقاومة ضد الفطر وتحفيز النمو في أربعة أصناف من القطن. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. 80 صفحة .

***[Hamid, F.R.** 2002. Study of the efficiency of isolates of the fungus Trichoderma spp. Inducing resistance to fungi and stimulating growth in four cotton varieties. MSc*

Meister, R.T. 2000. Farm chemical hand book. Meister Publishing, Wiloughby, Ohio. 45pp.

Mishra, S.S., V.K. Gothecha and A. Sharma. 2010. *Albizia lebbeck*: a short review. Journal of Herbal Medicine and Toxicology, 4(2):9-15.

Muhammad, F., B. Singh and R. Ershia. 2012. A review of *Albizia lebbeck* which is a powerful herbal medicine. International Research Journal of Pharmacy, 3(5):63-68.

Narayanasamy, P. 2011. Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens. Springer Science and Business Media B.V. London. 291 pp.

Nwankiti, A. and V. Gwa. 2018. Evaluation of antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* causal agent of white yam (*Dioscorearotundata poir*) tuber rot. Trends in Technical and Scientific Research, 1(1):12-18.

Prinsen, J.H. 1986. Potential of *Albizia lebbeck* (Mimosaceae) as a tropical fodder tree - a review of literature. Tropical Grasslands, 20(2):78-83.

Sangoyomi, T. 2004. Post-harvest fungal deterioration of yam (*Dioscorea rotundata*. Poir) and its Control. Ph.D. Thesis. University of Ibadan, Nigeria. 179 pp.

Sawant, S.S., J. Song and H. Seo. 2023. Study of new biocontrol bacterial agent *Bacillus velezensis* S41L against *Rosellinia necatrix*. Biological Control, 185:105305. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105305

Sheehan, S.J. and R.G. Abdalmoohsin. 2022. Biological and chemical control of *Ectophoma multirostrata* causing root-rot and seedling death of *Celosia argentea* in Karbala, Iraq. Revista Bionatura, 7(4):11. https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.04.11

Wilson, P.S., E.O. Ketola, P.M. Ahvenniemi, M.J. Lentonen and J.P. Valkonen. 2008. Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. Plant Pathology, 57(1):152-161. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01706.x

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society, Saint Paul, USA. 433 pp.

Bell, D.K., H.D. Wells and C.R. Markham. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens Phytopathology, 72(4):379-382. https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379

de Souza, L., M. Chaves, A. Joaquim, M. Gionbelli, A. Gava, J. Fiorentin, E. Ficagna, M. Almança, M. Teixeira, S. Andrade and A. Fuentefria. 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, 131(3):1440-1451. https://doi.org/10.1111/jam.15035

Dewan, M.M. 1989. Identify and frequency of occurrence of fungi in roots of Wheat and Ryegrass and their effect on take–all and host growth. Ph.D. Thesis, University of West Australia. 210 pp.

Dy Phon, P. 2000. Dictionary of Plants used in Cambodia. Imprimerie Olympic, Phnom Penh, 915 pp.

Ghani, A. 2003**.** Medicinal Plants of Bangladesh. Asiatic Society of Bangladesh, 2nd Edition. 603 pp.

Khalid, F., A. Khalid, Y. Fu, Q. Hu, Y. Zheng, S. Khan and Z. Wang. 2021. Potential of *Bacillus velezensis* as a probiotic in animal feed: a review. The Journal of Microbiology, 59(7):627-633. https://doi.org/10.1007/s12275-021-1161-1

Lahuf, A.A., K.M. Abdullah and M.T. Mohammadali. 2020. Assessment of the nanosized particles of ZnO and MgO and some cultivars in control of *Alternaria solani* causing tomato early blight. Ecology, Environment and Conservation Journal, 26: 89-95.

Leslie, J.F. and B.A. Summerell. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA. 388 pp. https://doi.org/10.1002/9780470278376

McKinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agriculture Research, 26(5):195-217.

Received: December 11, 2023; Accepted: May 18, 2024

تاريخ الاستلام: 2023/12/11؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2024/5/18