

دور بعض الطرائق الحيوية في تحريض إنتاج الفينولات والسكريات الكلية في نباتات الفريز/الفراولة

تحت تأثير الإصابة بفطر *Rhizoctonia solani*

هيثم صالح محمد* وخلدون فارس سعيد

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

*البريد الإلكتروني للباحث المراسل: haitham.sal1992@gmail.com

الملخص

محمد، هيثم صالح وخلدون فارس سعيد. 2026. دور بعض الطرائق الحيوية في تحريض إنتاج الفينولات والسكريات الكلية في نباتات الفريز/الفراولة تحت تأثير الإصابة بفطر *Rhizoctonia solani*. مجلة وقاية النبات العربية، 44(3):382-389. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001408>

تم عزل الفطر الممرض على الوسط آجار-دكستروز-البطاطا/البطاطس (PDA) من نباتات فريز/فراولة ظهرت عليها أعراض الإصابة كالاصفرار والذبول وتلون في منطقة التاج. بينت النتائج المختبرية كفاءة البكتيريا الحيوية *Pseudomonas stutzeri*، *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus sonorensis* في تثبيط نمو مستعمرة الفطر، إذ بلغ أدنى نمو لفطر مستعمرة الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* عند المعاملة بالبكتيريا *Pseudomonas stutzeri* وبلغ 0.4 سم، بينما أعطت المعاملة بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* متوسط قطر لمستعمرة الفطر بلغ 0.63 سم، وأظهرت المعاملة بالبكتيريا *Bacillus sonorensis* قدرة تثبيطية وصل فيها متوسط قطر نمو مستعمرة الفطر لـ 0.68 سم. أعطى المبيد الكيميائي كفاءة عالية في إيقاف نمو الخيوط الفطرية إذ بلغ قطر مستعمرة الفطر 1.4 سم وبنسبة تثبيط وصلت 84%، وذلك بعد أربعة أيام من إجراء المعاملة مقارنة مع معاملة الشاهد والتي وصل فيها قطر النمو إلى 9 سم. بينت النتائج الحقلية لتقدير الفينولات الكلية أن المعاملة B3 + oil 2 بمستخلص زيت الثوم والبكتيريا *B. sonorensis* تفوقت على جميع المعاملات، حيث بلغ معدل الفينولات الكلية 33.2 مغ/غ وزن رطب تحت تأثير الإصابة بالفطر الممرض، بينما سجل أدنى محتوى للفينولات عند المعاملة بزيت إكليل الجبل والتي بلغت 14.32 مغ/غ. أوضحت النتائج أن المعاملة oil 2+ B3 حققت أعلى مستوى لسكريات ثمار الفريز/الفراولة بلغت 12.32 مغ/غ، بينما أعطت أدنى محتوى للسكريات المعاملة بمستخلصات الزيوت النباتية أدنى محتوى من السكريات بلغ 4.62 مغ/غ للمعاملة oil 1 زيت إكليل الجبل و 5.64 مغ/غ للمعاملة oil 3 زيت النيم. تفوقت معاملة البكتيريا *P. stutzeri* مع الطحالب البحرية (B1+alga) في زيادة متوسط حاصل ثمار الفريز/الفراولة وبلغت 1628.3 غ/النبات، بينما أعطت المعاملة B1 (البكتيريا *P. stutzeri*) أدنى متوسط لحاصل ثمار الفريز/الفراولة والتي وصل فيها إلى 955 غ/النبات.

كلمات مفتاحية: تعفن الجذور، الفريز/الفراولة، فطر *Rhizoctonia*، بكتيريا نافعة، طحالب بحرية.

المقدمة

الفراولة/الفريز. يتكون من ميسيليوم مقسم متعدد الأنوية عديمة اللون، سرعان ما يتغير إلى اللون البني وتزداد سماكته مع تقدم العمر. يمتاز ميسيليوم الفطر *R. solani* بكثرة تفرعاته والتي لها القابلية على تكوين أجسام حجرية (Sclerotia) مختلفة الشكل والحجم ذات لون أسود، وتكون تفرعات الخيوط الفطرية بشكل مرصوص ولها القدرة على البقاء في التربة لمدة طويلة كأجسام ساكنة ومقاومة للظروف غير الملائمة (Senapati, 2022؛ Cunha et al., 2022). للفطر *Rhizoctonia solani* المقدرة على قتل الجذور المغذية، وتحلل النظام الجذري الرئيس، وانخفاض قوة وإنتاجية النبات مما يتسبب في تلف العائل وانخفاض كبير في المحصول (Meschke & Schrepf, 2010). تنتج العديد من البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النباتات (PGPR) أنواع مختلفة من المركبات المضادة للمسببات الممرضة، مثل الببتيدات الدهنية

يعدّ نبات الفراولة/الفريز من الفاكهة ذات القيمة الاقتصادية في معظم أنحاء العالم (DiMeglio et al., 2014). يتأثر نبات الفراولة/الفريز بالآفات والعوامل البيئية غير الملائمة إذ تسبب الأمراض الفطرية خسائر اقتصادية وانخفاض جودة ثمار الفراولة (Mirmajlessi et al., 2018). عزلت العديد من الأنواع الفطرية المسببة لعفن الجذور الفراولة/الفريز، ومنها *Fusarium oxysporum*، *Rhizoctonia solani* و *Phytophthora fragariae*، إذ تتأثر هذه العوامل الممرضة في التربة لعدة سنوات (Shen et al., 2016؛ Asad-Uz-Zaman et al., 2015). يعدّ الفطر *Rhizoctonia solani* من مسببات الأمراض المنقولة بالتربة والتي تسبب مرض تعفن الجذور للعديد من النباتات ومنها نبات

والمضادات الحيوية والإنزيمات والمركبات العضوية المتطايرة، ومن خلالها يتم تعزيز نمو النبات وتحريض المقاومة الجهازية، كما أنها تنافس الفطر الممرض *R. solani* على المساحة والمغذيات (Abbas et al., 2019؛ Shafi et al., 2017).

يؤدي استعمال الطحالب البحرية إلى تحسين الناحية الغذائية لنبات الفراولة/الفريز، إذ يعمل على تحسين التربة التي تنمو فيها النباتات ويمكن أن يكون مفيداً في تنظيم نمو نباتات الفراولة/الفريز في الظروف غير الملائمة مثل التربة عالية الملوحة، وإجهاد الجفاف، وتحمل درجات الحرارة المنخفضة، مما يساعد في تكوين جذور قوية، ويزيد من مضادات الأكسدة، وامتصاص العناصر الغذائية، وبالتالي إنتاج ثمار عالية الجودة (Shukla et al., 2019).

مواد البحث وطرائقه

عزل الفطر *Rhizoctonia solani*

جمعت العينات المصابة بالفطر *R. solani* من بعض الحقول في قضاء سامراء من نباتات فراولة/فريز أظهرت أعراض الإصابة كالذبول والاصفرار، تم تنظيف جذور النباتات المصابة بالماء، وقطعت الجذور إلى أجزاء صغيرة ثم عقت بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم المخفف بتركيز 3%، ثم غسلت أجزاء الجذور بالماء المعقم لإزالة بقايا المحلول، بعدها جففت على ورق ترشيح ووزعت على أطباق حاوية على الوسط المغذي (PDA) المضاف إليه، بعد انتهاء تحضيره وقبل التصليب، المضاد الحيوي Ampicillin 250 مغ/ليتر وذلك لتجنب التلوث بالبكتيريا، ووضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 30°س لمدة 5 أيام. بعد انتهاء مدة التحضين فحصت الأطباق، نقي الفطر بأخذ جزء من طرف الهيف الفطرية ونقلت إلى أطباق تحتوي الوسط الغذائي PDA.

التشخيص الجزيئي لعزلة الفطر

تم استخلاص DNA الفطر بأخذ مسحة بوزن 50-100 ملغ من مستعمرة فطرية حديثة النمو بعمر (5 أيام)، أضيف إليها 750 ميكروليتر من محلول الاستخلاص، من خلال استعمال طقم استخلاص ZR Fungal/Bacterial/ Yeast DNA MiniPrep™ DNA Kit بحسب التعليمات الواردة من الشركة المجهزة Zymo Research، وكذلك لنضاعف الـ DNA استخدم طقم الأدوات Maxime PCR PreMix kit (i-Taq) 20µlrxn (Cat.No.25025) من شركة iNtRON مع استعمال زوج من البادئات المنتجة من شركة Integrated DNA Technologies (S5.8 rRNA ITS للمورثة company, Canada (البادئ الأمامي 5'-TCCGTAGTGAACCTGCGG-3'، البادئ الخلفي 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')، ثم وضعت

الهلام في حمام مائي يحتوي على 3 ميكروليتر من محلول التصبيغ Red stain و 500 مل ماء مقطر. فصلت نواتج الـ PCR بواسطة الترحيل الكهربائي في هلام الأجاروز ثم وضعت الهلام في حمام مائي يحتوي على 3 ميكروليتر من محلول التصبيغ Red stain و 500 مل ماء مقطر.

التجربة الحقلية

أجريت التجربة الحقلية في حقول كلية الزراعة، جامعة تكريت للموسم 2022-2023. أعد البيت البلاستيكي بحراثة الأرض وتقسيمها إلى خطوط وتركيب نظام الري بالتقطيط. رطب التربة قبل إلحاقها بالفطر الممرض *R. solani* بيوم واحد. وضع لقاح الفطر *R. solani* في التربة بعمق 5 سم، وتركبت التربة ثلاثة أيام لضمان انتشار الممرض، ثم زرعت شتلات نبات الفراولة/الفريز وبواقع 9 شتلات لكل وحدة تجريبية تحت ظروف البيت البلاستيكي، وأجري الري بطريقة التقطيط وفق توصيات زراعة الفراولة/الفريز، وقد تضمنت عدد الوحدات التجريبية 66 وحدة ناتجة من 22 معاملة وبثلاثة قطاعات.

معاملات التجربة

تضمنت التجربة الحقلية المعاملات التالية: (1) مستخلصات الزيوت النباتية (إكليل الجبل وزيت الثوم وزيت النيم) المجهزة من السوق المحلية. استعملت رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات بواقع 1 مل/ليتر، (2) مستخلص الطحالب البحرية. تم استعماله رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات بواقع 2 غ/ليتر، (3) بكتيريا مكافحة الحيوية *Pseudomonas stutzeri*، *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus sonorensis*، والتي تم الحصول عليها من قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت. تمت تنمية العزلات في الوسط السائل (Nutrient Broth) واستعملت رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات، المبيد الفطري Moncut مادته الفعالة Flutolanil، تم استعماله رشاً على المجموع الخضري بعد أسبوعين من زراعة الشتلات بواقع 2 غ/ليتر.

اختبار القدرة التضادية للبكتيريا في تثبيطها للفطر الممرض

Rhizoctonia solani

حضّر وسط التشيط السائل (NB) لتنمية عزلات البكتيريا عليه، ووضع في الحاضنة لمدة أربعة أيام. أضيف 1 مل من الوسط NB المنماة عليه البكتيريا إلى أطباق بتري تحتوي الوسط (NA). وزع لقاح البكتيريا بصورة متجانسة من خلال تحريك الأطباق حركة رحيوية، ثم وضع قرص من الفطر الممرض بقطر 0.5 سم في مركز كل طبق. كررت المعاملة 3 مرات مع ترك معاملة للمقارنة بدون إضافة البكتيريا. حضنت الأطباق

لمدة 7 أيام عند درجة حرارة 30°س، وحسبت نسبة التثبيط بناء على أقطار النموات الفطرية المسجلة بواسطة المسطرة (Matloob, 2014) على الشكل التالي:

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

اختبار فاعلية المبيد الفطري Moncut في تثبيطه لنمو الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*

اختبر تأثير المبيد الفطري Moncut (Flutolanil) بالتركيز الموصى به 2 غ/ليتر في نمو مستعمرة الفطر الممرض، وذلك بتحضير الوسط الزراعي PDA وبعد تبريد الوسط أضيف 2 غ من المبيد إلى 1 ليتر من الوسط المغذي، ثم تم تحريك الوسط الزراعي لضمان تجانسه وصب في أطباق بتري، وبعد تصلب الوسط وضع قرص من الفطر الممرض بقطر 0.5 سم في مركز كل طبق. كررت المعاملة 3 مرات، مع ترك معاملة للمقارنة بدون إضافة المبيد، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 30°س، ثم أخذ قياس أقطار النموات الفطرية من خلال المسطرة عند وصول ميسيليوم مستعمرة المقارنة إلى حافة الطبقة (Khan et al., 2012). تم حساب النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة المذكورة أعلاه.

تقدير كمية الفينولات الكلية

قدرت كمية الفينولات الكلية عند مرحلة التزهير وبحسب طريقة Saikia et al. (2004)، وذلك بأخذ 1 غ من أوراق نبات الفراولة/الفريز وسحقها مع 10 مل من كحول الميثانول (بتركيز 80%) في هاون خزفي ووضعت في أنابيب اختبار ثم وضعت الأنابيب في حمام مائي عند حرارة 70°س لمدة 15 دقيقة مع تحريكها بشكل مستمر، وبعدها أخذ 250 ميكروليتر من كاشف الفولين مع 5 مل من الماء المقطر تمت إضافته إلى 1 مل من الراشح في أنابيب زجاجية، وحضن المحلول عند حرارة 25°س لمدة نصف ساعة، ثم قدر الامتنصاص باستعمال جهاز المطياف الضوئي على الطول الموجي 725 نانومتر، وحسبت كمية الفينولات على أساس مغ من الفينول لكل غرام من النسيج النباتي الرطب.

تقدير كمية السكريات الكلية

تم تقدير كمية السكريات الكلية في الثمار بحسب طريقة Joslyn (1970)، حيث أخذت عينات عشوائية من الثمار لكل معاملة وتم سحقها وأضيف 2 غ من الثمار المسحوقة إلى 80 مل من الكحول الإيثيلي بتركيز 80%. وضع المزيج في حمام مائي عند درجة حرارة 60°س لمدة نصف ساعة. وضعت مكونات المزيج في جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة، وجمع المحلول الرائق. تم إكمال حجم المحلول إلى 25 مل وذلك بإضافة حمض البيركلوريك. أضيف 1 مل من الفينول 5% إلى 1 مل

من المحلول السابق، و 5 مل من حمض الكبريتيك، ولوحظ ظهور اللون البني. تم قياس امتصاص مكونات المحلول بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجة 490 نانومتر. تم تحضير محلول قياسي بتركيز معلومة من سكر الجلوكوز لرسم المنحنى القياسي، والذي حُسب على أساسه تركيز السكريات الكلية في العينة على الشكل التالي:

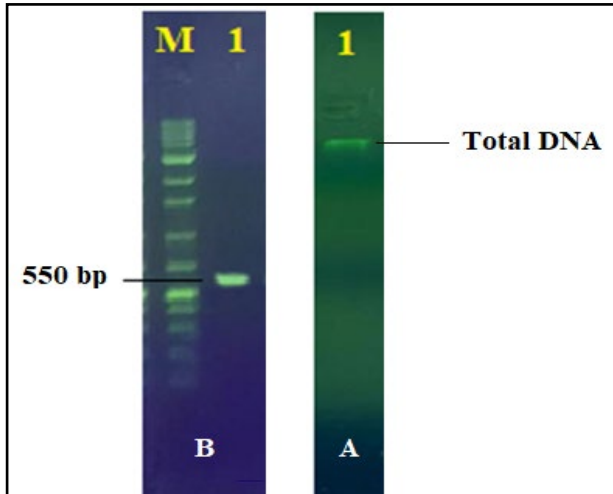
$$\text{نسبة السكريات الكلية \%} = \frac{\text{التركيز بناء على المنحنى القياسي} \times \text{التخفيف}}{\text{حجم العنصر المأخوذ للتحليل} \times 10000}$$

النتائج والمناقشة

التشخيص الجزيئي للفطر الممرض

أظهرت نتائج الرحلان الكهربائي الجينومي بهدف الكشف عن سلامة الـ DNA المستخلص ظهور حزم واضحة من DNA (شكل A-1)، والذي يعدّ دليلاً على دقة عملية الاستخلاص. كما أظهرت النتائج من خلال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للحمض DNA على هلام الأجاروز وباستخدام بادئات ITS المتخصصة بالمورثة S5.8 r RNA وجود حزمة قدر حجمها بـ 550 زوجاً قاعدياً.

ومن خلال نتائج التشخيص الجزيئي لعزلة الفطر بالاعتماد على النسبة المئوية للتطابق النيوكليوتيدي للمورثة S5.8 r RNA شخصت العزلة المدروسة 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* العراقية تحت الرقم العالمي OQ253416.1.



شكل 1. (A) الترحيل الكهربائي للحمض النووي الجينومي على هلام الأجاروز، (B) الترحيل الكهربائي لنواتج PCR باستعمال زوج البادئات المتخصصة.

Figure 1. (A) Electrophoretic separation of total DNA on agarose gel, (B) Electrophoretic separation of PCR products after using a specific primers pair.

القدرة التضادية للبكتيريا في تثبيطها للفطر الممرض *R. solani*
أوضحت نتائج التجربة المختبرية (جدول 1) كفاءة البكتيريا المستخدمة في تثبيطها لنمو مستعمرة الفطر الممرض، حيث بلغ أدنى نمو لفطر مستعمرة الفطر (0.4 سم) عند المعاملة بالبكتيريا *P. stutzeri*، بينما أعطت المعاملة بالبكتيريا *P. fluorescens* متوسط قطر لمستعمرة الفطر بلغ 0.63 سم، وقابله 0.68 سم عند المعاملة بالبكتيريا *B. sonorensis*. أشارت دراسات سابقة بأن البكتيريا *Pseudomonas spp.* تنتج العديد من المواد الأيضية الثانوية كالمضادات الحيوية مثل DAPG، phenazine و pyrrolnitrin (Raaijmakers, 2012).

جدول 1. تأثير أنواع مختلفة من البكتيريا التضادية في تثبيط نمو الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*.

Table 1. Effect of different antagonistic bacterial species in inhibiting the growth of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*.

نوع البكتيريا التضادية					
الشاهد	Antagonistic bacterial species			الوصف	
	<i>B. sonorensis</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. stutzeri</i>		
Control	9.0	0.68	0.63	0.4	Description
					قطر مستعمرة الفطر الممرض (سم)
					Diameter of the pathogenic fungus colony (cm)

تقوم البكتيريا المضادة بتثبيط إنبات الأبواغ الأسكية من خلال إنتاج مواد مضادة للمسببات المرضية، إذ تنتج بكتيريا *Pseudomonas spp.* العديد من المركبات المضادة للميكروبات، مثل بيولوتورين (*pyoluteorin*)، بيرولنترين (*pyrrolnitrin*)، فينازينات (*phenazines*)، حاملات الحديد (*siderophores*)، السيانييد و 2،4-ثنائي أسيتيل فلوروجلويسينول (Compant *et al.*, 2010)، والأنزيمات التي يمكنها تحليل جدران الخلايا الفطرية، مثل السليلوز والكييتيناز والبروتيز وبيتا جلوكاناز (Hernández-León *et al.*, 2015). في دراسة سابقة (Mohamed *et al.*, 2021) حول تأثير بعض العزلات البكتيرية على تثبيط نمو الفطور مختبرياً، تبين أن جميع العزلات البكتيرية أدت إلى تثبيط النمو للفطر *R. solani*، وأظهرت العزلات *B. subtilis* (BS1)، *B. megatirum* (BM2) و *B. subtilis* (BS2) أعلى تأثير إذ بلغت نسبة تثبيط نمو الفطر الممرض *R. solani* 74.76، 73.0 و 71.1%، على التوالي، مما يؤكد القدرة التضادية للبكتيريا الحيوية ضد الفطور الممرضة.

اختبار فاعلية المبيد الفطري Moncut في تثبيطه الفطر *R. solani*
بينت النتائج تأثير المبيد الفطري Moncut المستخدم بالتركيز الموصى به (2 غ/لتر) في نمو مستعمرة الفطر الممرض، وأعطى المبيد كفاءة عالية في إيقاف نمو الخيوط الفطرية إذ بلغ قطر مستعمرة الفطر 1.4 سم ونسبة تثبيط وصلت 84% بعد أربعة أيام من تطبيق المعاملة بالمقارنة مع قطر مستعمرة الفطر في معاملة الشاهد والتي وصل فيها إلى 9 سم. يعمل المبيد الفطري Moncut على تثبيط عملية التنفس من خلال التأثير في عمل الميتوكوندريا لدى الفطر، إذ يوقف نشاط NADH المؤكسد وبالتالي موت الخلايا الفطرية، وهو من المبيدات الوقائية العلاجية الفعالة ضد مجموعة من الفطور البازيدية (Yang *et al.*, 2011).

تأثير المعاملات في محتوى الفينولات والسكريات الكلية مغ/غ وزن رطب لنبات الفريز/الفراولة تحت تأثير الإصابة بالمرض *R. solani*

بينت نتائج تقدير الفينولات الكلية أن المعاملة بمستخلص زيت الثوم (*oil2*) والبكتيريا *B. sonorensis* (B3) تفوقت على جميع المعاملات إذ بلغ معدل الفينولات الكلية 33.2 (مغ/غ وزن رطب) تحت تأثير الإصابة بالفطر *R. solani*، وتشير هذه الزيادة في محتوى الفينولات إلى وجود فعل تثبيطي بين الزيت والبكتيريا. وتلتها المعاملة *B. sonorensis* (B3) وزيت النيم (*Oil3*) حيث وصل محتوى الفينولات إلى 31.16 مغ/غ. سجلت معاملة الشاهد بالمرض أدنى محتوى من الفينولات إذ بلغت 13.2 مغ/غ، تلاها المعاملة بزيت نبات إكليل الجبل (*oil1*) إذ بلغ محتوى الفينولات 14.32 مغ/غ دون وجود أي فرق معنوي بينهما. كما أشارت النتائج (جدول 2) إلى أن المعاملة بالطحالب زادت من محتوى الفينولات إذ بلغ في المعاملة المفردة للطحلب 19.68 مغ/غ تحت تأثير الإصابة، وقد ارتفع محتوى الفينولات في المعاملات المختلطة من الطحالب والبكتيريا المستخدمة، إذ سجلت المعاملات *B1 + alga*، *B2 + alga* و *B3 + alga* زيادة في محتوى الفينولات بلغت 26.56، 28.34 و 30.47 مغ/غ وزن رطب، على التوالي.

أظهرت العديد من أنواع الطحالب نشاطاً مضاداً للميكروبات ضد مجموعة واسعة من مسببات الأمراض النباتية، مثل (الكاروتينات)، الأحماض الدهنية، الستيرول، التربينات، السكريات، البروتينات والبيبتيدات (Ibraheem *et al.*, 2017). إن التثبيط العالي لطحالب الحمراء مرتبط بالمركبات الطبيعية التي تنتجها الطحالب كآلية دفاع ضد هجوم الفطريات المسببة للأمراض النباتية مثل الفينولات، التربينات الأحادية المهلجنة، الأحماض الدهنية، السكريات ومشتقاتها، الستيرول، الأصباغ، التيربينويدات، الليكتينات والقلويدات (Milledge *et al.*, 2016؛ Peres *et al.*, 2012؛ Tyśkiewicz *et al.*, 2019). أما

بلغ محتوى السكريات 4.3 مغ/غ، تلتها معاملة الشاهد بدون الممرض بوصول محتوى السكريات إلى 4.98 مغ/غ دون تسجيل أي فرق معنوي بينهما. كما بينت النتائج أن المعاملة بالطحالب البحرية قد زادت من محتوى السكريات إذ بلغ 7.13 مغ/غ مع تفوقها على معاملة الشاهد بالمرض. كما ساهمت توليفات المعاملات بين الطحالب البحرية والبكتيريا برفع محتوى السكريات إذ بلغ 10.19 مغ/غ عند المعاملة B2+ alga و 41.9 مغ/غ عند المعاملة B1 + alga بمستخلصات الزيوت النباتية فقد حققت محتوى سكريات بلغ 4.62 مغ/غ للمعاملة oil1 و 5.64 مغ/غ للمعاملة oil3 ولم تتفوق على معاملة الشاهد بالمرض. فيما حققت توليفات المعاملات لمستخلصات الزيوت النباتية تفوقاً على المعاملات المفردة في محتوى السكريات. كما وضحت النتائج أن المعاملة بالمبيد Moncut قد حققت زيادة في محتوى سكريات الثمار إذ بلغت 9.4 مغ/غ متفوقة على معاملة الشاهد بالمرض.

معاملات الزيوت بشكل مفرد فقد كانت ذات تأثير منخفض في رفع محتوى الفينولات، إذ بلغت 14.32، 18.85 و 16.17 مغ/غ للمعاملات oil1، oil2 و oil3 ، على التوالي. وبينت دراسة Aye & Matsumoto (2011) القدرة التثبيطية العالية لمستخلصات ورق النيم وإكليل الجبل على الفطر الممرض *R. solani* إذ بلغت قيمها 87.5 و 67.7%، على التوالي. كما بينت النتائج أن المعاملة بالمبيد الفطري Moncut تفوقت على معاملة الشاهد بالمرض إذ بلغ محتوى الفينولات 19.24 مغ/غ وزن رطب. كما أظهرت النتائج تأثير المعاملات في محتوى السكريات لثمار الفراولة/الفريز تحت تأثير الإصابة، وضحت النتائج أن المعاملة B3 + oil2 حققت أعلى مستوى لسكريات ثمار الفراولة/الفريز إذ بلغت 32.12 مغ/غ. تلتها المعاملة B3+ alga بمحتوى سكريات بلغ 10.12 مغ/غ مع تفوق المعاملتين على جميع المعاملات المفردة وتوليفاتها. فيما بلغ أدنى محتوى للسكريات عند معاملة الشاهد بالمرض *R. solani* إذ

جدول 2. تأثير المعاملات المختلفة في محتوى الفينولات والسكريات الكلية ووزن الحاصل لنبات الفراولة/الفريز تحت تأثير الإصابة بالمرض *R. solani*.
Table 2. Impact of different treatments on the phenolic compounds, sugars content and plant yield in strawberries infected with *R. solani*.

المعاملات	الفينولات الكلية (مغ/غ وزن رطب)	السكريات الكلية (مغ/غ وزن رطب)	وزن الحاصل (غ/نبات)
Treatments	Total phenols (mg/g fresh weight)	Total sugars (mg/g fresh weight)	Yield weight (g/plants)
Alga	19.68	7.13	1376.0
B1	15.98	5.65	955.0
B1+alga	26.56	10.19	1628.3
B1+oil1	25.88	7.75	1024.3
B1+oil2	28.23	9.20	1087.7
B1+oil3	24.09	6.75	1032.7
B2	15.20	5.13	1052.3
B2+alga	28.34	9.41	1500.7
B2+oil1	19.09	5.81	1104.7
B2+oil2	27.36	8.85	1033.3
B2+oil3	20.30	6.58	1141.0
B3	18.13	8.52	1470.7
B3+alga	30.47	12.10	1403.0
B3+oil1	29.05	10.01	1007.7
B3+oil2	33.20	12.32	1236.0
B3+oil3	31.16	10.77	1616.0
Moncut fungicide	19.24	9.40	1521.0
Positive control (with pathogen)	13.20	4.30	690.0
Negative control (without pathogen)	16.46	4.98	762.3
Oil1	14.32	4.62	1161.7
Oil2	18.85	7.20	1077.0
Oil3	16.17	5.64	1641.0
LSD _{0.05}	2.40	1.42	126.6

B1= *Pseudomonas stutzeri*, B2= *Pseudomonas fluorescens*, B3= *Bacillus sonorensis*, Oil1= Rosemary oil, Oil2= Garlic oil, Oil3= Neem oil. الثوم، Oil3= مستخلص زيت النيم.

B1= *Pseudomonas stutzeri*, B2= *Pseudomonas fluorescens*, B3= *Bacillus sonorensis*, Oil1= Rosemary oil, Oil2= Garlic oil, Oil3= Neem oil.

إلى زيادة كفاءة نبات الفراولة/الفريز في إنتاج الثمار إذ بلغ 1161.7، 1077 و 1641 غ لمستخلص نبات أكليل الجبل (oil1) وزيت الثوم (oil2) وزيت النيم (oil3)، على التوالي. كما أوضحت النتائج أن معاملة البكتيريا (*B. sonorensis* (B3) أثبتت كفاءتها في زيادة إنتاج نبات الفراولة/الفريز حيث بلغ وزن الثمار 1470.7 غ متفوقة على معاملة البكتيريا *P. stutzeri* (B1) والبكتيريا *P. fluorescens* (B2) والتي وصل عندها معدل وزن نبات إنتاج الفراولة/الفريز 955 و 1052.3 غ/نبات، على التوالي. أظهرت دراسة سابقة (Karimi et al., 2012) زيادة نمو النبات عند استخدام البكتيريا المثبطة (*B. sonorensis*) لنمو الفطر الممرض *F. oxysporum* في الحمص والتي تنتج هرمون إندول حامض الخليك (IAA). ومن خلال النتائج تبين تفوق المعاملة البكتيرية *P. stutzeri* مع الطحالب البحرية (B1+alga) في زيادة وزن ثمار الفراولة/الفريز بتأزر عمل الطحالب البحرية مع البكتيريا الحيوية، كما تم إثبات عمل التوليفات من خلال تقدير كمية الفينولات والسكريات الكلية وإنتاج المركبات المعززة لنمو النبات.

بينت النتائج (جدول 2) تفوق المعاملة البكتيرية *P. stutzeri* مع الطحالب البحرية (B1+alga) في زيادة وزن ثمار الفراولة/الفريز إذ بلغ 1628.3 غ، بينما كانت معاملة الشاهد بالفطر هي الأدنى حيث وصل معدل وزن ثمار الفراولة/الفريز إلى 690 غ. بينما سجلت المعاملة بالمبيد الكيميائي Moncut تأثيراً واضحاً في زيادة الثمار إذ بلغ 1521 غ. كما أظهرت النتائج أن المعاملة بتوليفات البكتيريا مع الزيوت النباتية كانت ذات كفاءة جيدة في زيادة وزن معدل إنتاج النبات إذ وصل وزن الثمار عند المعاملة البكتيرية *B. sonorensis* مع مستخلص زيت النيم (B1+alga) إلى 1616 غ. أدت المعاملة بالطحالب البحرية إلى زيادة معدل وزن ثمار الفراولة/الفريز إذ بلغ 1367 غ. تحتوي الطحالب البنية على مجموعة من المركبات الفينولية والفلافونويدات التي تمتلك مجموعة واسعة من الأنشطة الحيوية ومن بينها نشاط مضاد للفطور (Ambika & Sujatha, 2015). كما ساهمت المعاملة بمستخلص الزيوت النباتية

Abstract

Mohammed, H.S. and K.F. Saeed. 2026. Role of Some Biological Methods in Inducing Total Phenols and Sugars in Strawberry Plants Infected with The Pathogenic Fungus *Rhizoctonia solani*. Arab Journal of Plant Protection, 44(3):382-389. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001408>

Rhizoctonia solani was isolated on PDA from strawberry plants that showed yellowing, wilting and discoloration in the crown area. Laboratory results showed the effectiveness of antagonistic bacteria *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus sonorensis* in inhibiting the growth of the pathogen fungal colony. Laboratory results showed the efficiency of antagonistic bacteria in inhibiting the growth of the pathogen fungal colony, as the diameter of the colony of *R. solani* when treated with the bacteria *Pseudomonas stutzeri* reached 0.4 cm, with the bacteria *Pseudomonas fluorescens* 0.63 cm, and with the bacteria *Bacillus sonorensis* 0.68 cm. The chemical pesticide gave a high efficiency in inhibiting the growth of fungal hyphae, as the diameter of the fungal colony reached 1.4 cm, with an inhibition rate of 84%, four days after treatment, compared to 9 cm, for the control treatment. Field results for determining total phenols showed that the garlic oil extract (Oil 2) + B3 treatment (*B. sonorensis*) outperformed all other treatments, as the average total phenols reached 33.2 mg/g fresh weight under the influence of the pathogenic fungi, whereas it gave the lowest content of phenols when treated with rosemary oil (14.32 mg/g). Results obtained also showed that the treatment B3 + oil 2 produced the highest level of total sugars in strawberry fruits, reaching 12.32 mg/g of fresh weight, whereas the lowest total sugar content was obtained following the treatment with plant oil extracts, which reached 4.62 mg/g for rosemary oil, and 5.64 mg/gm for neem oil. The treatment B1+alga (*P. stutzeri* + marine algae) excelled in increasing the average yield of strawberry fruits, reaching 1628.3 g/plant, whereas the treatment B1 bacteria + *P. stutzeri* gave the lowest average yield of strawberry fruits of 955 g/plant.

Keywords: Root rot, strawberry, *Rhizoctonia*, beneficial bacteria, seaweed.

Affiliation of authors: H.S. Mohammed* and K.F. Saeed, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tikrit University, Iraq. *Email address of the corresponding author: haitham.sal1992@gmail.com

References

- Asad-Uz-Zaman, M., M.R. Bhuiyan, M.A.I. Khan, M.K.A. Bhuiyan and M.A. Latif. 2015. Integrated options for the management of black root rot of strawberry caused by *Rhizoctonia solani* Kühn. Comptes Rendus Biologies, 338(2):112-120. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2014.12.004>
- Ambika, S. and K. Sujatha. 2015. Antifungal activity of aqueous and ethanol extracts of seaweeds against sugarcane red rot pathogen (*Colletotrichum falcatum*). Scientific Research Essays, 10(6):232-235. <https://doi.org/10.5897/SRE2015.6198>
- Abbas, A., S.U. Khan, W.U. Khan, T.A. Saleh, M.H.U. Khan, S. Ullah, A. Ali and M. Ikram. 2019. Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. Comptes Rendus Biologies, 342(5-6):124-135. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2019.05.002>

- Aye, S.S. and M. Matsumoto. 2011. Effect of some plant extracts on *Rhizoctonia* spp. and *Sclerotium hydrophilum*. Journal of Medicinal Plants Research, 5(16):3751-3757.
- Compant, S., C. Clément and A. Sessitsch. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biology and Biochemistry, 42(5):669-678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Cunha, F.S., A.E.S. Costa, K.M.G. Araújo, L.S. Lima Neto, A.S. Capucho and F.H. Ishikawa. 2022. Inheritance of resistance to damping-off (*Rhizoctonia solani*) in watermelon. Bragantia, 81:e0422. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20210338>
- DiMeglio, L.M., G. Staudt, H. Yu and T.M. Davis. 2014. A phylogenetic analysis of the genus *Fragaria* (strawberry) using intron-containing sequence from the ADH-1 gene. PLoS ONE, 9(7):e102237. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102237>
- Hernández-León, R., D. Rojas-Solís, M. Contreras-Pérez, M.C. Orozco-Mosqueda, L.L. Macías-Rodríguez, H.R. Reyes-de la Cruz, E. Valencia-Cantero and G. Santoyo. 2015. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. Biological Control, 81:83-92. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.011>
- Ibraheem, I.B.M., S.M. Hamed, A.A. Abd Elrahman, F.M. Farag and N. Abdel-Raouf. 2017. Antimicrobial activities of some brown macroalgae against some soil-borne plant pathogens and in vivo management of *Solanum melongena* root diseases. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 11(13):157-168.
- Joslyn, M.A. 1970. Methods in Food Analysis: Physical, Chemical and Instrumental Methods of Analysis. 2nd ed. Academic Press, New York, NY, USA. 845 pp.
- Karimi, K., J. Amini, B. Harighi and B. Bahrmannejad. 2012. Evaluation of biocontrol potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. against *Fusarium* wilt of chickpea. Australian Journal of Crop Science, 6(4):695-703.
- Khan, M.B., M. Farooq, M. Hussain, D. Shahnawaz, Y.J. Kim, M. Wilson III and G. Shabir. 2012. Overview of base excision repair biochemistry. Current Molecular Pharmacology, 5(1):3-13. <https://doi.org/10.2174/1874467211205010003>
- Matloob, A.A.A.H. 2014. Efficacy of some plant extracts and biological agents against the fungus *Rhizoctonia solani*, the causal agent of rotting disease in the roots and stem bases of cotton. Al-Furat Journal of Agricultural Sciences, 6(2):213-223.
- Meschke, H. and H. Schrempf. 2010. *Streptomyces lividans* inhibits the proliferation of the fungus *Verticillium dahliae* on seeds and roots of *Arabidopsis thaliana*. Microbial Biotechnology, 3(4):428-443. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00165.x>
- Milledge, J.J., B.V. Nielsen and D. Bailey. 2016. High-value products from macroalgae: The potential uses of the invasive brown seaweed, *Sargassum muticum*. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 15(1):67-88. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9381-7>
- Mirmajlessi, S.M., M. Bahram, M. Mänd, N. Najdabbasi, S. Mansouripour and E. Loit. 2018. Survey of soil fungal communities in strawberry fields by Illumina amplicon sequencing. Eurasian Soil Science, 51(6):682-691. <https://doi.org/10.1134/S1064229318060080>
- Mohamed, A.B., M.M. El-Sheikh Aly and R.M.I. El-Sharkawy. 2021. Antifungal activity of bioagents and plant extracts against certain fungal diseases of potato. Journal of Phytopathology and Disease Management, 8(1):29-45.
- Peres, J.C.F., L.R. Carvalho, E. González, L.O.S. Berian and J.D. Felicio. 2012. Evaluation of antifungal activity of seaweed extracts. Ciência e Agrotecnologia, 36(3):294-299. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542012000300004>
- Raaijmakers, J.M. and M. Mazzola. 2012. Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant-pathogenic bacteria. Annual Review of Phytopathology, 50:403-424. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172908>
- Saikia, R., R. Kumar, T. Singh, A.K. Srivastava, D.K. Arora and M.W. Lee. 2004. Induction of defense-related enzymes and pathogenesis-related proteins in *Pseudomonas fluorescens*-treated chickpea in response to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. Mycobiology, 32(1):47-53. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2004.32.1.047>
- Senapati, M., A. Tiwari, N. Sharma, P. Chandra, B.M. Bashyal, R.K. Ellur and S.G. Krishnan. 2022. *Rhizoctonia solani* Kühn pathophysiology: Status and prospects of sheath blight disease management in rice. Frontiers in Plant Science, 13:881116. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.881116>
- Shafi, J., H. Tian and M. Ji. 2017. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: A review. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 31(3):446-459. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>
- Shen, T., C. Wang, H. Yang, Z. Deng, S. Wang, B. Shen and Q. Shen. 2016. Identification, solid-state fermentation and biocontrol effects of *Streptomyces hygroscopicus* B04 on strawberry root rot. Applied Soil Ecology, 103:36-43. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.02.016>
- Shukla, P.S., E.G. Mantin, M. Adil, S. Bajpai, A.T. Critchley and B. Prithiviraj. 2019. *Ascochylla nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. Frontiers in Plant Science, 10:655. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00655>

Tyśkiewicz, K., R. Tyśkiewicz, M. Konkol, E. Rój, J. Jaroszuk-Ścisel and K. Skalicka-Woźniak. 2019. Antifungal properties of *Fucus vesiculosus* L. supercritical fluid extract against *Fusarium culmorum* and *Fusarium oxysporum*. *Molecules*, 24(19):3518. <https://doi.org/10.3390/molecules24193518>

Yang, G. and C. Li. 2012. General description of *Rhizoctonia* species complex. Pp. 41-52. *In: Plant Pathology*. C.J. Cumagun (ed.). In TechOpen, Rijeka, Croatia. <https://doi.org/10.5772/39021>

Received: June 26, 2024; Accepted: February 16, 2025

تاريخ الاستلام: 2024/6/26؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2025/2/16