جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

التشخيص الجزيئي لفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات الخيار وطرائق مكافحته

زينب عادل عبد القادر الحسين

رسالة ماجستير
وقاية النبات

بإشراف
الدكتور علي حمود ذنون الجبوري
مدرس

1445هـ 2024م

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في البيت البلاستيكي التابع لقسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل بهدف تشخيص الفطر المسبب لمرض تعفن الجذور وموت بادرات الخيار مظهرياً وجزيئياً واختبار قدرته الإمراضية، فضلاً عن معرفة تأثير المعاملة بالفطر *Trichoderma harzianum* (T22) والبكتريا *Bacillus subtilis* ومركب البايون والمبيد Revanol في خفض الإصابة بمرض تعفن الجذور وموت البادرات وتقدير مستوى فعالية انزيمات البيروكسيديز وبولي فينول أوكسديز ومحتوى الفينولات. إذ أظهرت نتائج التشخيص المورفولوجي أن الفطر *Rhizoctonia solani* هو المسبب لمرض تعفن الجذور وموت البادرات على نبات الخيار. وأكدت ذلك نتائج التشخيص الجزيئي بطريقة تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) عن طريق تضخيم (ITS) وأظهرت نتائج الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز وظهور حزمة بحجم 550 bp ومن خلال مطابقة هذه العزلة مع العزلات العالمية أنه الفطر المسبب لتعفن الجذور وموت بادرات الخيار، وسجلت العزلة في قاعدة بيانات Gen bank برقم OQ231503.1. وأظهرت نتائج اختبار القدرة الإمراضية أن للفطر القدرة على إصابة اربعة اصناف من الخيار هي Dalal و Karm و Fox و Beit Alfa بمرض تعفن الجذور وموت البادرات. وأظهرت نتائج معاملات المكافحة الأحيائية المستخدمة مختبرياً أن الفطر T22 له كفاءة عالية ضد الفطر المعزول إذ بلغت درجة التطفل 2 وبنسبة تثبيط64.4%. والبكتريا *B. subtilis* لها كفاءة عالية ضد الفطر المعزول إذ سجلت نسبة التثبيط 48.840%. والمبيد الكيميائي Revanol كانت له القدرة العالية في تثبيط الفطر للتراكيز الاربعة المستخدمة (250،375،500،1000ppm) بنسبة تثبيط 100%. وبينت نتائج البيت البلاستيكي أن جميع عوامل المكافحة الأحيائية أدت إلى خفض معنوي في النسبة المئوية للإصابة وشدتها إذ تفوق مركب البايون تركيز10 حيث سجل أدنى النسبة المئوية للإصابة وبلغت 41.67% وأدنى متوسط للنسبة المئوية لشدة الإصابة بلغت 12.33%. وأظهرت نتائج تأثير عوامل المكافحة الأحيائية والبايون والمبيد Revanol أن الصنف Fox المعامل بالبكتريا *B. subtilis* سجل أعلى متوسط للوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الخضري وبلغ 231.67 غم و48.13 غم على التوالي. في حين سجل الصنف Fox المعامل بالمبيد Revanol أعلى متوسط للوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الجذري سجل 11.07غم و1.17غم على التوالي وكذلك أعلى متوسط لطول المجموع الخضري بلغ 143.33سم وكذلك سجل أعلى متوسط لطول المجموع الجذري في الصنف Dalal المعامل بالبايون تركيز 30 بلغ 42.30 سم. وأعطت معاملة الفطر T22 أعلى متوسط لمحتوى الكلوروفيل في الصنفان Beit Alfa و Dalal

بنسبة 48.60 و46.26 على التوالي (ملغم $^{-1}$.غم وزن رطب $^{-1}$). وبينت نتائج فعالية عوامل المكافحة الأحيائية ومركب البايون أنها عوامل استحثاث في زيادة فعالية إنزيم البيروكسديز وإنزيم البولي فينول أوكسديز ومحتوى الفينولات وأن أعلى متوسط لفعالية إنزيم البيروكسديز في معاملة البايون تركيز 10 بلغت 14440(وحدة. دقيقة$^{-1}$.غم وزن رطب$^{-1}$) مقارنةً بمعاملة المقارنة السلبية التي سجلت 1317.9(وحدة. دقيقة$^{-1}$.غم وزن رطب^{1}). في حين سجلت معاملة الفطر T22 أعلى متوسط لفعالية إنزيم بولي فينول أوكسديز وبلغت 1811.7(وحدة. دقيقة$^{-1}$.غم وزن رطب$^{-1}$) مقارنة بمعاملة المقارنة السلبية التي سجلت 1323.3(وحدة. دقيقة$^{-1}$.غم وزن رطب$^{-1}$). وكان أكبر متوسط لمحتوى الفينولات الكلي في معاملة البايون تركيز 20 التي بلغت 1.52(ملغم $^{-1}$.غم وزن رطب $^{-1}$) مقارنة بمعاملة المقارنة السلبية التي بلغت 1.28 (ملغم$^{-1}$.غم وزن رطب$^{-1}$).

Summary

This study was conducted in the plastic tunnel of the Plant Protection Department/College of Agriculture and Forestry/University of Mosul with the aimed on morphological and molecularly identification of fungus that causes root rot and seedlings decay of cucumber, and testing its pathogenicity, as well as knowing the effect of treatment with the fungus T22, the bacteria *Bacillus subtilis*, the compound Bion, and the pesticide Revanol in reducing of the incidence of root rot and seedling decay, and estimating the level of effectiveness of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes and the content of phenolics. The results of the morphological diagnosis showed that the fungus *Rhizoctonia solani* is the causative agent of root rot and seedling decay on cucumber plants. The results of the molecular diagnosis were confirmed by using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method through (ITS) amplification. The results of electrophoresis on an agarose gel showed the appearance of a band with a size of 550 bp. By identity this isolate with international isolates, it was confirmed that it is the fungus *R.solani* that causes root rot and death of cucumber seedlings. The isolate was registered in the Gen bank database with the accession number OQ231503.1. While the results of the pathogenicity test showed that the fungus has the ability to infect the four varieties of cucumber Dalal, Karm, Fox and Beit Alfa, with root rot and seedling death. The results of the biological control treatments used in the laboratory showed that the fungus T22 has a high efficiency against the isolated fungus, as the degree of parasitism reached 2 and the activity rate was 64.4%, followed by the bacteria *B. subtilis* which had a high efficiency against the isolated fungus, as the inhibition rate reached 48.840%. The chemical pesticide Revanol had a high ability to inhibit the fungus at a concentration used (250, 375,500,1000 ppm) with an inhibition rate of 100%. The results of the plastic tunnel showed that all biological control agents led to a significant reduction in the percentage

of infection and its severity, as the bionic compound was superior, recording the lowest percentage of infestation, which amounted to 41.67%, and the lowest average percentage of infestation severity, amounting to 12.33%. The results of the interaction between the effect of the biological control agents, Bion, and the pesticide Revanol with the varieties showed that the Fox variety treated with the bacteria *B. subtilis* recorded the highest average wet and dry weight of the shoot, reaching 231.67 g and 48.13 gram, respectively. While the Fox variety treated with the pesticide Revanol recorded the highest average wet and dry weight of the root system, reaching 11.07 gram. and 1.17 g. respectively. as well as the highest average length of the shoot, which reached 143.33 cm. While the highest average length of the root system was recorded in the Dalal variety treated with Bion concentration30 reached 42.30 cm. The T22 treatment gave the highest average chlorophyll content in the Beit Alfa and Dalal varieties, at 48.60 and 46.62 (mg^{-1} .gram wet $weight^{1}$) respectively. cucumber plants, reaching 39.10 (mg^{-1} .gram wet $weight^{1}$). The results of the effectiveness of the biological control agents, the pesticide Revanol, and the Bion compound as stimulating agents in increasing the effectiveness of the enzymes of peroxidase and polyphenol oxidase and the content of phenols, as the highest average activity of the peroxidase enzyme was recorded in the Bion concentration10 treatment amounting to 14440 (unit.min^{-1}.gram wet $weight^{1}$) compared to the negative comparison treatment, which amounted to 1317.9 (unit.min^{-1}.gram wet $weight^{1}$). While the T22 treatment recorded the highest average activity of the polyphenol oxidase enzyme reaching 1811.7 (unit.min^{-1}.gram wet $weight^{1}$) compared to the negative control treatment, which amounted to 1323.3 (unit.min^{-1}.gram wet $weight^{1}$). The largest average content of total phenols was in the Bion concentration 20 treatment, which amounted to 1.52 (mg^{-1}gram wet $weight^{1}$) compared to the negative control treatment, which amounted to 1.28 (Mg^{-1}gram wet $weight^{1}$).

University of Mosul

College of Agriculture and forestry

Molecular Identification of *Rhizoctonia solani* Causing Root Rot and Damping-off Disease on Cucumber and their Control

Zainab Adel Abd-Alqader Al-Hussein

Plant Protection

Supervised by

Dr. Ali Hamood Thanoon Al-Jobory

Lecturer

2024 A.D. **1445 A.H**