جامعة الموصل

كلية الزراعة والغابات

التشخيص الجزيئي للفطر *Rizoctonia solani* المسبب لتعفن جذور نبات الألوفيرا وبعض طرائق مكافحته

مازن بدري أحمد عطيه العيثاوي

رسالة ماجستير

وقاية النبات

إشراف

الدكتورة هدى حازم وافي الطائي

أستاذ

1444هـ

2022 م

أن الاكثار بالخلفات وهي من أهم الطرق المعروفة والمتبعة لأكثار نباتات الألوفيرا في المشاتل، فقد أثبتت نتائج التجربة الحقلية في البيت البلاستيكي التفوق المعنوي للخلفات السليمة مقارنة بالخلفات المصابة بالفطر الممرض ولجميع الصفات المدروسة، وكانت النسبة المئوية للإصابة وشدة الاصابة بالممرض *R. solani* على المجموع الجذري لخلفات نباتات الالوفيرا أعلى من النسبة المئوية للإصابة وشدتها على المجموع الجذري والخضري وبمعدل 98 % و71 .0 و1 .80 % و54 .0 على التوالي .

وبينت الدراسة بان أنواع الاسمدة المختلفة(الاحيائي والمتعادل والنانوي) كان لها التأثير الفعال في تأثيرها على نباتات الألوفيرا بخفض النسبة المئوية للإصابة وشدتها بالفطر الممرض *R. solani* وذلك بنسب متفاوتة قياساً مع المعاملة القياسية الملوثة بالمسبب المرضي والتي أعطت أعلى نسبة مئوية للإصابة وشدتها على المجموع الجذري والخضري 100 % و 0.68 و90 % و54 .0 على التوالي بفارق معنوي عن جميع المعاملات السمادية ،وتفوقت معاملة السماد الاحيائي المتكونة من الفطر *Trichoderma harzianum* (T-22) + والبكتيرية *Bacillus subtillus* والطحالب البحرية والماء وحامض الهيومك في خفض النسبة المئوية للإصابة وشدتها بالممرض وبنسبة 21.55 % و18 .0 على المجموع الجذري و 18.51% و12 .0 على المجموع الخضري على التوالي وتلاها معاملة السماد NPK النانوي وبطريقتي الاستخدام سقياً ورشاً .

أظهرت النتائج التفوق المعنوي لمعاملة السماد الأحيائي مع جميع مؤشرات النمو المختلفة وبفارق معنوي عن المعاملات السمادية الأخرى فضلاً عن معاملتي القياسية السليمة والمصابة. وأظهرت النتائج بأن أعلى معدل للعناصر المعدنية ال NPK كان مع السماد المتعادل وبمعدل 95 .5 % نتروجين و43 .5% الفسفور و14 .4 % بوتاسيوم وبدون فارق معنوي مع معاملة السماد الأحيائي ، وجاء بالدرجة الثانية معاملتي السماد النانوي سقياً ورشاً وبدون فارق معنوي فيما بينهما.

وأثرت عناصر المقاومة الاحيائية متمثلة باستخدام المقاوم الأحيائي الفطري*Trichoderma harzianum* (*T-22*) والمقاوم الأحيائي البكتيري *Bm Mega Flu* كلاً على حدى او التداخل فيما بينهما وبنسب معينة بخفض النسبة المئوية للإصابة وشدتها بالممرض على المجموع الخضري والجذري قياساً بالمعاملة القياسية الملوثة .

ومن خلال تأثير المعاملات المختلفة اتضح بأن معاملة التداخل الأحيائي الفطري والبكتيري (*Bm Mega Flu* + *T-22*) كانت أفضلها وأعطت أقل نسبة مئوية للإصابة وشدتها على المجموعين الجذري والخضري وبمعدل83 . 40% و18 .0 و22 .22 % و11 .0 على التوالي وبفارق معنوي عن جميع عوامل المكافحة فضلاً عن المعاملة القياسية الملوثة . ومن خلال تأثير طريقة الاستخدام سقيا للأصص المزروعة بنبتة الألوفيرا أو غمراً لجذور نباتات الالوفيرا بمحلول العوامل الاحيائية فضلاً عن المبيدين النانوي والكيميائي أوضحت النتائج التفوق المعنوي لطريقة الغمر على طريقة السقي ولجميع العوامل المدروسة في تأثيرها في خفض النسبة المئوية للإصابة وشدة الاصابة بالفطر *R.solani* وعلى المجموعين الجذري والخضري على التوالي .وكان لمعاملة التداخل الأحيائي الفطري والبكتيري أفضل المعاملات المدروسة في تأثيرها ودورها الايجابي في تحسين نمو نباتات الألوفيرا وبفارق معنوي عن جميع العوامل فضلاً عن المعاملة القياسية السليمة والملوثة من خلال تحسين مؤشرات النمو.

Summary

This study was conducted in the greenhouse of the Plant Protection Department / College of Agriculture and Forestry / University of Mosul in the year 2020-2021 and aimed to diagnose the fungus that causes root rot disease and the base of the stem of aloe vera plant morphologically and molecularly and the role of aloe vera gel in inhibiting some pathogenic fungi as well as a study of the efficiency of Different types of fertilizers and some biological and nano factors in protecting aloe vera plants from pathogenic fungi and their ability to improve plant growth characteristics

The results of isolation and diagnosis showed the accompanying fungal genera *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternate*, *Cliendero carbon spp.*, *Fusarium oxspurium*, *Aspergillus flaves*, *Aspergillus negir*. *Pincillum spp* of Aloe Vera plant, and the fungus *Rhizoctonia solani* is the most frequent fungus with 82.5%, followed by *Alternaria alternate* with 55.54%. The characterization of the pathogenic fungus was confirmed by molecular characterization and polymerase chain reaction (PCR) technology using the universal primers pair،
forward initiator (ITS1 F: 5′- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3′)
and reverse initiator (ITS4 R: 5′ TCCTCCGCTTATTGATGC-3).

The results of the electrophoresis analysis using 2% agarose gel showed the appearance of a band of 550bp base pair size, which is the expected size produced by these primers. The isolate of the fungus *Rhizoctonia solani* was registered in the gene Bank of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) under accession number MW737660.1 This is the first study to diagnose the fungus using PCR technology in Iraq on the aloe vera plant..

The results of the laboratory experiment showed that the four concentrations of Aloe Vera gel (1, 2, 3, 4%) had a positive effect in inhibiting the fungal growth of fungi isolated from the Aloe Vera plant. The highest inhibition ratio was with the fungus *Pincililum spp* and *Aspergilus flaves*, with percentages of 93.76% and 92. 28%, respectively.

The multiplication by off shoots (pups), which is one of the most well-known and followed methods for the multiplication of Aloe Vera plants in the nurseries, the results of the field experiment in the greenhouse proved the moral superiority of the healthy offshoots compared to the offshoots infected with the pathogenic fungus and for all the studied traits, and the percentage of infection and the severity of infection with the pathogen *R. solani* was over the root system of the offshoots Aloe Vera plants were higher than the

percentage of infection and the severity of infection on the shoot system, at a rate of 98%,0.71,80.1 % and 0.54, respectively.

The study showed that the different types of fertilizers (biological, neutral and nano) had an effective effect on their effect on Aloe Vera plants by reducing the percentage of infection and the severity of infection with the pathogenic fungus *R. solani* in varying proportions compared to the control treatment contaminated with the pathogen, which gave the highest percentage of infection and the severity of infection on the root systems and shoot systems 100%, 0.6 8, 90% and 0.54, respectively, significantly different from all fertilizer treatments.

The treatment of bio fertilizer was superior in reducing the percentage of infection and severity of infection with the pathogen by21.55% 0.18 on the root system,18.51% and 0. 12 on the shoot system, respectively, followed by NPK nano-fertilizer treatment and the two methods of use, irrigation and spraying. The results showed the significant superiority of the bio-fertilizer treatment with all the different growth indicators, with a significant difference from the fertilizer treatments, as well as the healthy and infected standard treatments.

The results showed that the highest rate of NPK mineral elements was in the neutral fertilizer with an average of 5.95% nitrogen, 5.43 % phosphorous and 4.14% potassium without significant difference with the bio fertilizer treatment, and the treatment of nano fertilizer come second, watering and spraying, and without a significant difference between them .The elements of biological resistance represented by the use of the fungal biological resistor *Trichoderma harzianum* (T-22) and the bacterial biological resistor Bm Mega Flu affected both individually or overlapping between them and in certain proportions by reducing the standard percentage of infection and the severity of infection with the pathogen on the shoot and root system compared to the contaminated treatment .

Through the effect of the different treatments, it became clear that the fungal and bacterial interactions (T-22) and Bm Mega Flu were the best and gave the lowest percentage of infection and severity of infection on the shoot and root systems, with a rate of 22.22%,0.11 and40. 83% and 0.18, respectively, with a significant difference from all control agents and cotrol treatment.

The results showed the significant superiority of the immersion method over the irrigation method and for all the factors studied in effect on reducing the percentage of infection and the severity of infection with the fungus *R. solani* on the shoot and root system, respectively.

Also, the treatment of biological interference was the best studied treatment in its effect and positive role in improving the growth of Aloe Vera plants, with a significant difference from all factors, as well as the proper and contaminated standard treatment by improving growth .

University of Mosul

College of Agriculture and Forestry

Molecular identification of *Rhizoctonia solani* The causal agent of Aloe vera root rot and some methods of its control

Mazin Badri Ahmad Attia AL- Ethawi

M.Sr. Thesis

Plant Protection

Supervised by

Dr.Huda Hazim Wafi Al-Taae

Professor

2022 A.D. **1444 A.H.**