Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 31, No: 01, 2022 (65-79)

Effect of aqueous and alcoholic extract of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn leaves in growth of root rot fungi of *Biota orientails* L. *in vitro*

Muhannad Hamid Younis Al-Obaidy[1*], Anwer Noori Mohammed Al-Khero[2]

E-mail: [1*]Muhannad.Hamid@uomosul.edu.iq, [2]Al-Khero@yahoo.com

Forestry Department, college of Agriculture and Forestry, Mosul University, Mosul, IRAQ

(Received November 24, 2021; Accepted January 10, 2022; Available online March 01, 2022)

DOI: 10.33899/edusj.2022.132290.1202, © 2022, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Abstract

Root Rot disease is one of important disease which caused great damage for *Biota orientails* and this was evident in the private forest nurseries in Mosul, for three nurseries in the Al-Faisaliah area, three nurseries in the Muthanna area, one nursery in the Mohandessin area, as well as the Nineveh horticultural station during the field survey, this was through October and December of 2017 and February - August of 2018.fungi were recorded like *Fusarium solani* Mart isolation ratia 36.85% ,*Macrophomina phaseolina* Tassi Goid islalation ratia 22.34% and *Rhzoctonia solani* Khun islalation ratia 26.89% which Isolated from *Biota orientails* seedling . Results of pathogenicity tests showed *Fusarium solani* was had high pathogenicity (50%) *Biota orientails* seedling and the fungus was very effective at growth characteristics.
study of *Eucalyptus camaldulnsis* leaves Extracts effect at the growth of Isolated fungi The results showed the superiority of the alcoholic extract in inhibiting the growth of the isolates fungi compared to the aqueous extract and for all concentrations except for the fungus R. solani, which was uniquely significantly inhibited by the effect of the aqueous leaf extract of Eucalyptus.

Key words: *Biota orientails*, root rot , Fungi, leaves extracts, Eucalyptus.

تأثير المستخلص المائي والكحولي لأوراق أشجار اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* Dehn في نمو فطريات تعفن جذور شتلات الثويا الشرقية *Biota orientalis* L. مختبرياً

مهند حامد يونس العبيدي[1*]، أنور نوري محمد الخيرو[2]

قسم الغابات، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

يعد مرض تعفن الجذور من الأمراض التي تسبب أضراراً بالغة لشتلات الثويا الشرقية *Biota orientails*وقد ظهر ذلك جلياً في مشاتل الغابات الاهلية في الموصل وذلك ثلاثة مشاتل في منطقة الفيصلية وثلاثة مشاتل في منطقة المثنى ومشتل في منطقة المهندسين فضلاً عن محطة بستنة نينوى خلال المسح الحقلي الذي أجري في تلك المشاتل وخلال شهر تشرين الاول وشهر كانون الاول في عام 2017 والاشهر من شباط الى آب في عام 2018 وسجلت الفطريات Mart *Fusarium solani* بنسبة بلغت %36.85 Tassi Goid *Macrophomina phaseolina* بنسبة بلغت %22.34 Khun *Rhizoctonia solani* بنسبة

بلغت 26.89% كمسببات لتعفن جذور شتلات الثويا الشرقية *Biota oreintalis* . وأظهرت نتائج القدرة الإمراضية للفطريات المعزولة تفوق الفطر *Fusarium solani* بأعلى نسبة إصابة بلغت 50% لشتلات الثويا الشرقية كذلك أحدث الفطر تأثيراً معنوياً بالغاً في جميع صفات النمو مقارنةً بالفطريات الاخرى, وفي دراسة تأثير مستخلصات أوراق أشجار اليوكالبتوس *Euycalyptus camaldulensis* Dehn في نمو الفطريات المعزولة بينت النتائج تفوق المستخلص الكحولي في تثبيط نمو الفطريات المعزولة مقارنة بالمستخلص المائي ولجميع التراكيز باستثناء الفطر *R. solani* الذي أنفرد في تثبيطه معنوياً بتأثير مستخلص الأوراق المائي لليوكالبتوس .

الكلمات المفتاحية: الثويا الشرقية، تعفن الجذور، الفطريات، مستخلصات الاوراق، اليوكالبتوس.

المقدمة Introduction

تعد الغابات من أهم النظم البيئية المتطورة وأعقدها وأكثرها ارتباطاً بحياة الإنسان، لما تمتلكه من مدَّخرات وراثية هائلة(1). وما تقدمه من منتجات اقتصادية : كالخشب، والمواد العطرية، والطبية، والعلفية، والمواد الغذائية، إلى جانب فوائدها في السياحة والاستجمام ،.... وما تملكه من فوائد بيئية (2). تغطي الغابات 30% تقريباً من سطح الأرض، وتعد مخزناً لحوالي 45% من الكربون في الأرض وقد بيَنت الدراسات وجود ارتباط وثيق بين الغابات والمناخ العالمي (3). تعد اشجار الثويا *Biota* sp. من المخروطيات التي تنتمي إلى العائلة السروية Cupressaceae وتضم 27–30 جنس(4) وهي شجرة مستديمة الخضرة مخروطية الشكل يتراوح ارتفاعها بين 25–40 قدم (5) . وتدعى اشجار الثويا Arborvitaes التي تعني باللاتيني شجرة الحياة أو تعرف thujas او Cedar ومحليا تعرف بالعفص(6). تتعرض شتلات هذه الأشجار للأصابة بالعديد من المسببات الفطرية التي تؤدي الى تعفن الجذور مثل *Fusarium* sp. و *R. solani* و *M. phaseolina* مسببةً خسائر اقتصادية كبيرة، وكذلك فإن مسببات تعفن الجذور تشمل العديد من الفطريات منها *Cylindrocarpon tenue.* و *F. oxysporum* و *Fusarium* sp و *M. phaseolina* و *Microdochium bolleyi* و *Mucor* sp. و *Pestiolopsis funera* و*Phoma pomorum* و *Pythium* sp. *Rhizoctonia* sp.(7 و8). ونتيجة لازدياد خطورة أمراض النبات من جهة وسلبيات المبيدات الكيميائية من جهة أخرى، فقد أكدت عدة دراسات نجاح استعمال المستخلصات النباتية كوسائل بديلة غير ضارة وذات كفاءة عالية في السيطرة على عدد من المسببات الممرضة للنبات (9)، لذلك لجأ الباحثون إلى استخدام النباتات الطبية التي تعد مصدراً غنياً بالعوامل المضادة للأحياء المجهرية (10). وتتوفر مثل هذه النباتات محليا في العراق كأشجار اليوكالبتوس ونباتات الأس والحرمل والثوم والتي يمكن اعتماد اجزائها كمستخلصات نباتية في المكافحة تجنباً لاستخدام المبيدات الكيميائية(11)،

لأن المستخلصات المائية لأوراق نوعين من اليوكالبتوس*Eucalyptus citriodora* و*E.camaldulensis* لها فعالية عالية تجاه ثلاثة أنواع من الفطريات *A.alternata* و *Drechslera hawaiiensis* و *Drechslera tetramera* (12). أعطت أوراق نبات اليوكالبتوس *E. camaldulonsis* بتركيز. 0.5 مل/ملغم تأثيرا واضحاً على النمو الشعاعي والوزن الجاف للفطريات *A.altemata* و *A.chlamydospora* و *Ulocladium qtrum*(13). تفوق تأثير المستخلصات الكحولية لأوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus camadulensis* والنعناع الفلفلي *Menthapiperta* والكزبرة *Coridndru sativum* على تأثير المستخلصات المائية للنباتات نفسها في نمو الفطريات *A.niger* و *F.solani* و*A.alternata* المعزولة من أشجار نبات الدردار(14). ويعدّ *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. من الأشجار السريعة النمو والأنواع التي نجحت في الغابات الاصطناعية ويستخدم للأغراض الطبية والعلاجية (5 و15) وان اوراق *Eucalyptus camaldulensis* تحتوي على triterpeoids و sterol و tainnins و suponins و flavonoids والمركبات الفينولية . (16).إذ هدفت هذه الدراسة الى المسح الحقلي لمرض تعفن الجذور وعزل الفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور شتلات الثويا الشرقية واختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة مع الاختبار

الحيوي للمستخلص المائي والكحولي لأوراق اليوكالبتوس*Eucalyptus camadulensis* كمضادات طبيعية للفطريات المعزولة مختبرياً.

المواد وطرائق العمل Materials and methods

المسح الحقلي لمسببات تعفن الجذور

أجري مسح حقلي لثلاثة مشاتل أهلية بمنطقة الفيصلية وثلاثة في منطقة المثنى ومشتل في منطقة المهندسين اضافة الى محطة بستنة نينوى لمرض تعفن جذور الثويا الشرقية *Biota orientalis* لشتلات بأعمار تتراوح ما بين (1-3) سنوات خلال الأشهر تشرين الاول وكانون الاول 2017 وشباط ونيسان وحزيران وأب 2018 ، وذلك لغرض دراسة التوزيع الموسمي للفطريات المسببة لمرض تعفن جذور الشتلات المنماة في الأكياس، وتم تقدير النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن جذور الثويا الشرقية بحساب عدد الشتلات المصابة في 100شتلة، إذ تم ذلك من خلال أعراض الاصفرار والموت على المجموع الخضري وللتأكد من أصابتها اخذت عينات عشوائية وفحص المجموع الجذري من خلالها وتم ملاحظة أعراض التعفن في بشرة الجذور والشعيرات الجذرية .

استخرجت النسبة المئوية للإصابة على النحو التالي :-

$$\%\text{للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$$

العزل

جلبت عينات من الشتلات المصابة من الثويا الشرقية *Biota orientalis* خلال فترة المسح في المشاتل الممسوحة باختيار عينات عشوائية من شتلات مصابة بتعفن الجذور مزروعة في اكياس نايلون زراعية(البولي أثيلين)، وضعت تحت الماء الجاري لمدة 4 ساعات لإزالة الاتربة من الجذور والمواد الغريبة ثم نقلت الجذور بعد تقطيعها الى اجزاء بطول 0.5 -1 سم، عقمت سطحيا وغمرت في محلول 1%هايبوكلورايت الصوديوم (NaOC1) لفترة 3-4 دقائق، رفعت القطع من المحلول وغسلت بماء مقطر معقم، وجففت بين ورقتي ترشيح معقمة وزرعت في اطباق بتري معقمة (قطر9 سم) حاوية على الوسط المغذي اجار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) المضاف اليه المضاد الحيوي سلفات الستربتومايسين بتركيز 50 ملغم /لتر لمنع نمو البكتريا قبل تصلبه. وبمعدل 4 قطع / طبق، حضنت الاطباق في درجة حرارة 25± 2 سليزية، وأخذت النتائج بحساب عدد المستعمرات الفطرية في كل طبق ثم حولت الى نسبة مئوية للفطريات المعزولة ،نقيت المستعمرات النامية بطريقة العزل من طرف الهايفا Hyphal tip method (17) حضرت شرائح من الفطريات المعزولة وفحصت تحت المجهر وبقوة تكبير x10 ثم x40 وشخصت الفطريات المعزولة حتى مرتبة النوع اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها وذلك بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية العالمية المعتمدة التي وضعها (18و19 20 و21) ثم حفظت الفطريات المنتقاة في انابيب اختبار تحتوي على أكار مائل(slant) في 5 درجة سليزية لغرض استعمالها في الاختبارات اللاحقة وتم العزل بمعدل شهرين ولمدة سنة للنبات قيد الدراسة . وحسبت نسبة الفطريات المعزولة لكل نوع نباتي كالآتي:-

$$\%\text{ للفطر المعزول} = \frac{\text{عدد مستعمرات الفطر المعزول}}{\text{العدد الكلي للمستعمرات النامية}} \times 100$$

اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة

اجري اختبار القدرة الامراضية للفطريات المسببة لتعفن الجذور بعد عزلها من الشتلات المصابة حسب طريقة(22) وذلك بعد تهيئة الشتلات السليمة بأعمار من (1-3) سنة المزروعة في أكياس زراعية حجم 3كغم من الثويا الشرقية *Biota orientalis* في مشتل قسم الغابات، التابع لكلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل وتم عمل جروح في جذور الشتلات السليمة بواسطة مشرط حاد معقم بعد تهيئة الفطريات المستعملة في الاختبار والتي تم تنميتها وسط من اجار البطاطا والدكستروز (Potato Dextrose Agar)

PDA وفي أطباق بتري قطر (9سم)، تم تقطيع الوسط المغذي مع الفطر النامي بوساطة خلاطة كهربائية نوع Go sonic ، حيث **أضيف طبقان لكل شتلة** سليمة وتم خلطها مع تربة الجذور المجروحة واشتملت كل معاملة على 4 مكررات وكل مكرر اربع شتلات ، وأخذت النتائج بعد مرور 75 يوما من تاريخ التلقيح وبعدها أزيلت الشتلات من التربة بواسطة الماء الجاري وتم حساب النسبة المئوية للإصابة لكل فطر على حدى لشتلات الثويا حسب العلاقة على النحو التالي :- %للإصابة= $\frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$

ولمعرفة تأثير هذه الفطريات الممرضة على بعض صفات النمو للشتلات تم حساب أرتفاع المجموع الخضري وطول المجموع الجذري والوزن الرطب لكل شتلة كما تم حساب الوزن الجاف وذلك بعد تجفيف الشتلات في فرن بدرجة حرارة 70م^{o} لمدة 48 ساعة(23). نفذت التجربة باستعمال تصميم القطاعات العشوائي الكامل (RCBD) واختبرت النتائج بطريقة دنكن متعدد الحدود.

تهيئة المواد الاولية وجمع العينات

جمعت عينات من أوراق اشجار اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* Dehn إذ جمعت الأوراق الناضجة أثناء فترة التزهير خالية من الاصابات الحشرية والمرضية ومن عدة مناطق من الحرم الجامعي لجامعة الموصل ومن اشجارلا تقل عن 20 عاما ، وذلك حسب طريقة (24) جمعت الاوراق في اكياس نايلون ونقلت الى المختبر وغسلت للتخلص مما يعلق بها من أتربة بعدها تم تجفيف الاوراق النباتية في الظل وقطعت الى اجزاء صغيرة الحجم ثم تركت لتجف هوائيا لمدة 21 يوما .

طحنت الاوراق النباتية باستعمال مطحنة كهربائية نوع (محلية الصنع) للاجزاء الصغيرة الجافة من والاوراق وجمعت الدقائق الصغيرة التي استقرت على منخل 60 مش بعد مرورها من خلال منخل 16 مش فأصبحت العينات جاهزة للاستخلاص 25.

أ-تحضير المستخلص الكحولي للأوراق.

اعتمدت طريقة(26) في استخلاص بعض المنتجات الطبيعية وذلك تبعا لنوع المذيب المستعمل وهو الايثانول 95% .اجريت عملية الاستخلاص بوضع 50 غم من مسحوق الأوراق المطحون حسب طريقة (24) وأضيف اليها 500مل من الايثانول 95% في دورق زجاجي سعة 500مل ،رجت العينة بواسطة جهاز الرج المغناطيسي Magnetic starrier ولمدة 48 ساعة رُشح المزيج باستعمال عدة طبقات من الشاش الطبي ثم رشح المحلول من خلال ورق ترشيح Whatman No.1 ثم نقل المتبقي الى مرحلة الاستخلاص بالماء الحار، ركز مستخلص الاوراق في جهاز المبخر الدوار (Rotary vacuum evaporator) بدرجة حرارة 40 - 50مْ للحصول على 25مل من المستخلص الخام ثم حُفظ الراشح بعد تجفيفه في أوعية محكمة الغلق ومعتمة في الثلاجة بدرجة 4°م لحين الاستعمال وأجراء الاختبارات الحيوية (27).

ب-تحضير المستخلص المائي الحار للأوراق.

أستخدم الاستخلاص التعاقبي لفصل مكونات العينة حسب القطبية إذ تم رفع ما تبقى من العينة التي سبق استخلاصها باستعمال الإيثانول 95% لتحضير مستخلص الاوراق الكحولي السابق الذكر وجففت العينة هوائيا ثم وضعت في اناء زجاجي سعة لتر واحد وأضيف اليها 400مل من الماء الحار بدرجة حرارة 80 م° وتم استعمال جهاز الرجاج الكهربائي Electric starrier للتحريك المستمر ولمدة 24ساعة ثم برد المحلول وتم تصفيته بواسطة قماش الموسلين (الشاش الطبي) للتخلص من الشوائب الكبيرة وبعدها رشح خلال ورق ترشيح Whatman No. 1 وجفف هوائياً تحت ظروف المختبر وتم الحصول على مسحوق من المستخلص المائي ثم حفظ المسحوق في قناني معتمة محكمة الغلق لحين اجراء الاختبارات الحيوية .

الاختبارات الحيوية

تأثير المستخلص الكحولي والمائي في تثبيط النمو الفطري:-

تم تهيئة دوارق بحجم 100مل من الوسط الغذائي PDA المعقم وقبل تصلبه اضيفت اليه مستويات مختلفة من تراكيز المستخلص الكحولي وذلك بأخذ 1غم من مسحوق المستخلص النباتي المحضر مسبقاً وأذيب في 10مل من مادة Dimethyl

(DMSO) Sulfoxide وبنفس الطريقة حضر المستخلص المائي وذلك بإضافة 1غم من المستخلص المائي 10مل ماء مقطر معقم وحضرت التراكيز (25%و50%و75% و100%) إضافة الى معاملة المقارنة الخالية من المستخلص، ثم صبت في اطباق بتري معقمة قطر 5 سم وبعد تصلبها لقحت في مركزها بأقراص قطرها 5ملم من الفطريات المعزولة مأخوذة من حافة المستعمرات، طرف الهايفا Hyphal tip method (17) واشتملت المعاملة 4 مكررات وكل مكرر 3 أطباق فضلا عن معاملة المقارنة وحضنت الاطباق في درجة حرارته 25± 2م^0 ، أخذت النتائج عند امتلاء اطباق المقارنة بنمو الغزل الفطري ، وذلك بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين للمستعمرة النامية ومنه تم حساب نسبة تثبيط النمو حسب القانون الآتي :

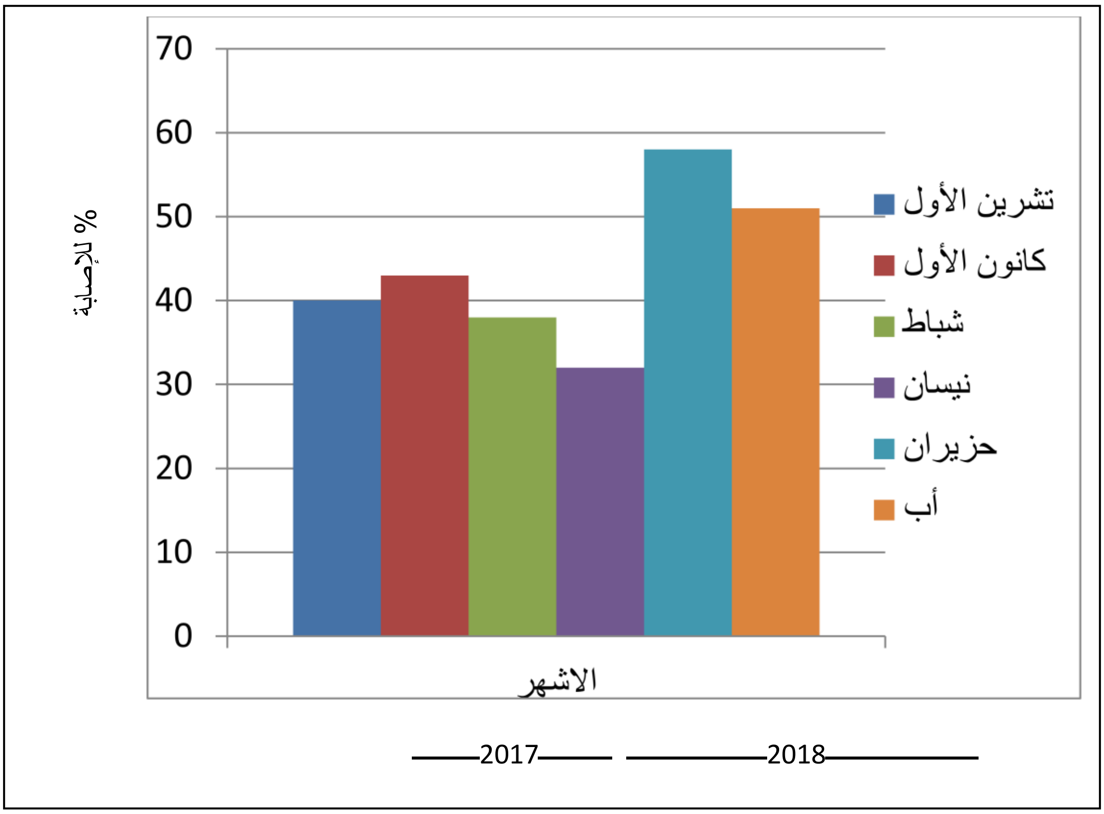
$$\% \text{ لتثبيط النمو} = \frac{\text{متوسط قياس قطر مستعمرة المقارنة} - \text{متوسط قياس قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قياس قطر مستعمرة المقارنة}} \times 100$$

نفذت تجربة عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) وبثلاثة عوامل شمل العامل الاول نوع المستخلص والعامل الثاني الفطريات والعامل الثالث تراكيز المستخلصات وحللت النتائج إحصائيا واختبرت بطريقة دنكن متعدد الحدود(28).

النتائج والمناقشة Results and discussion

المسح الحقلي لمرض تعفن جذور شتلات الثويا الشرقية .

أظهرت نتائج المسح الحقلي تباين نسبة الإصابة بمرض تعفن جذور شتلات الثويا الشرقية *Biota orientails* خلال أشهر المسح اذ بلغت أقصاها58% في شهر حزيران لعام 2018 تلاهُ شهر أب بنسبة 51% للعام نفسه, قد يعزى سبب انخفاض النسبة في شهر أب الى أرتفاع درجات الحرارة فوق المدى التي تعيش فيه تلك الفطريات وكذلك التغير في الرطوبة، في حين كانت نسب الإصابة متدنية نسبياً خلال تشرين الأول وكانون الأول لعام 2017، وشباط لعام 2018، وبلغت أدنى نسبة إصابة بالمرض في شهر نيسان 32% وقد يعود السبب في تدني النسبة المئوية للإصابة في شهر نيسان الى انخفاض درجات الحرارة (الشكل1).



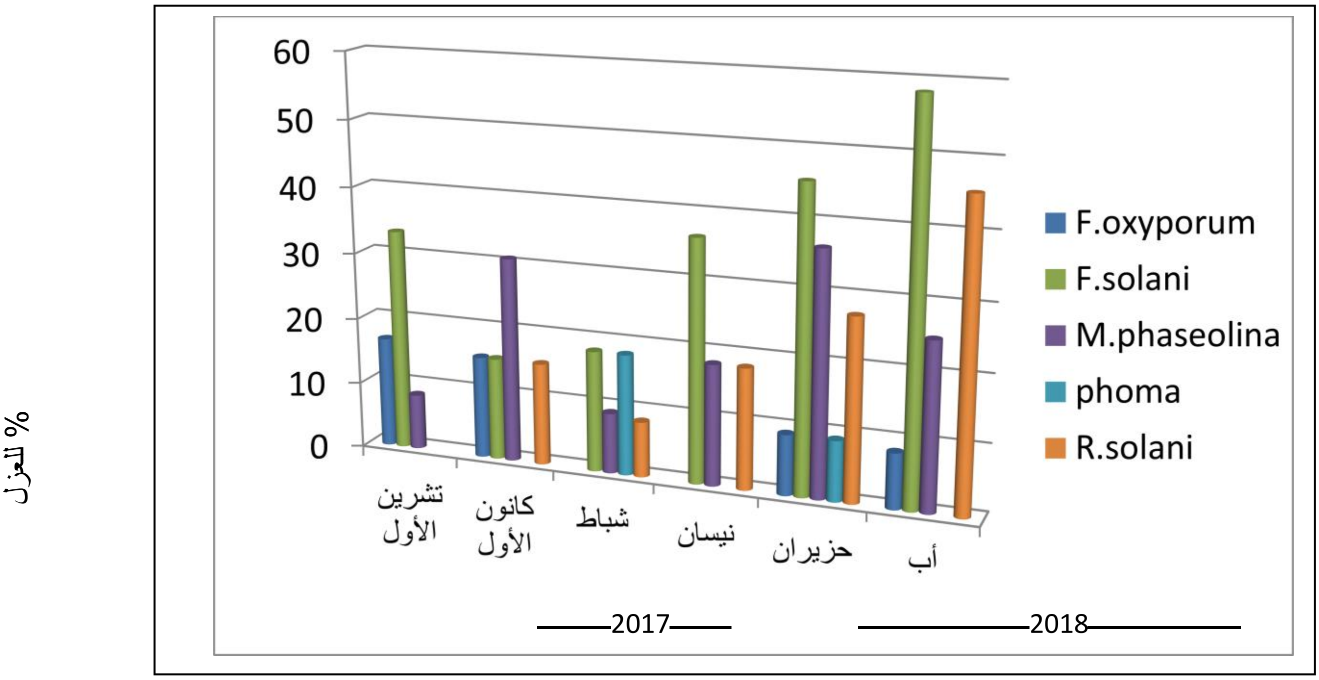
الشكل (1) %للإصابة بتعفن جذور شتلات الثويا الشرقية للأشهر من تشرين الاول 2017 الى أب 2018.

ان نسبة الإصابة المرتفعة بتعفنات الجذور كان منطقياً مع الادارة البدائية المتبعة لهذه المشاتل علما بأن المشاتل تتطلب برامج وقائية وعلاجية وتنظيمية من شأنها العمل على الحد من انتشار مسببات أمراض الجذور الخطرة(29). وتجدر الاشارة الى أن هذه المشاتل وبهذا الأسلوب من الإدارة أصبحت مراكز لتوزيع ونشر مسببات أمراض الجذور الى المناطق المختلفةإذ لابد من التوصية بأجراء المكافحة اللازمة داخل هذه المشاتل, ومع ذلك فان ارتفاع نسبة الإصابة في المشاتل بشكل عام ومشاتل الغابات على وجه الخصوص معروفة محلياً من خلال ما ذكره (7)، إذ تراوحت نسبة الاصابة بمرض تعفن الجذور بين 5–100% وفي مشاتل اخرى تراوحت بن 20–90%(29) ليس في العراق فقط إنما يتعدى ذلك الى اكثر دول العالم إذ كانت هناك نسبة أصابة عالية كما في كشمير الهندية لمشاتل الصنوبر (30).

العزل

اظهرت نتائج عزل الفطريات من الجذور المتعفنة لشتلات الثويا الشرقية *Biota orientails* في مشاتل الموصل الخاصة ومحطة بستنة نينوى خلال فترات المسح الحقلي أنفة الذكر ما يلي:–

ظهور الفطريات *F. oxysporum* و *F. solani* و *Phoma* sp و *M. phaseolina* و *R. solani*. فكانت نسب العزل متباينةً خلال اشهر المسح، يتضح من الشكل (2) وجود تباين في نسب العزل لفطريات تعفنات جذور شتلات الثويا الشرقية *Biota orientails* خلال أشهر المسح . حيث اظهر الفطر *F. oxysporum*اعلى نسبة عزل خلال شهر تشرين الأول للعام 2017 والتي بلغت 16.66%، في حين كانت ادنى نسبة عزل لهُ في شهر أب للعام 2018 حيث بلغت 8.33%.وأظهر الفطر *F. solani* سيادة تامة على باقي الفطريات حيث كانت اعلى نسبة عزل خلال شهر أب للعام 2018 والتي بلغت 58.33%، وان ادنى نسبة عزل لهُ بلغت 15.38%خلال شهر كانون الأول لعام 2017. في حين أظهر الفطر *M. phaseolina* اعلى نسبة عزل والتي بلغت 36.36%خلال شهر حزيران للعام 2018، وأدنى نسبة عزل لهُ بلغت 8.33% خلال شهر تشرين الاول للعام 2017. كما أظهرت النتائج ان أقل نسبة عزل للفطر *Phoma sp.* خلال الاشهر شباط وحزيران للعام 2018 والتي بلغت 18.18 و9.09%على التوالي، في حين لم يظهر الفطر خلال أشهر تشرين الأول وكانون الأول لعام2017 ونيسان وأب للعام 2018.وبلغت اعلى نسبة عزل للفطر *R.solani* 45.45 % خلال شهر أب لعام 2018، وادنى نسبة خلال شهر شباط لنفس العام والتي بلغت 8.33%.



الشكل (2) النسبة المئوية لعزل فطريات تعفن جذور شتلات الثويا الشرقية.

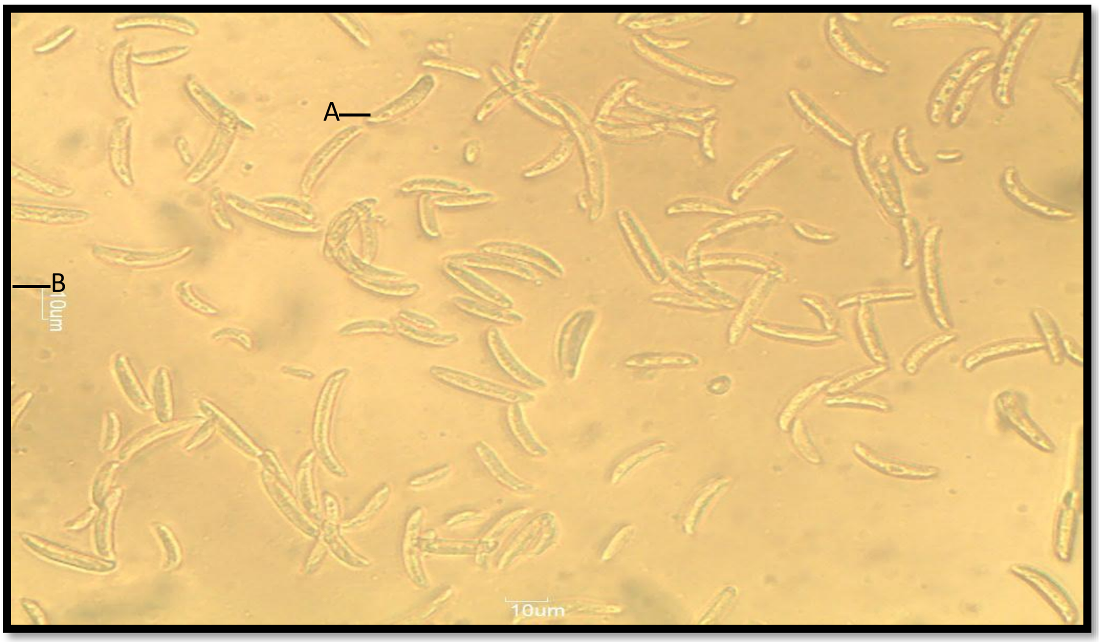
يتضح مما تقدم سيادة تامة للفطر *F. solani* على شتلات الثويا الشرقية من خلال نسب تكرار وجود الفطر وربما يعود السبب لتطابق متطلباته الحرارية مع الظروف البيئية السائدة خلال أشهر المسح إضافة الى أنه من اكثر فطريات التربة انتشاراً واكثرها اهمية من الناحية الامراضية للعديد من العوائل النباتية مسبباً لها اعراض اصابة متنوعة اهمها تعفن الجذور مما قد تؤدي الى هلاكها إذ يعتبر فطراً واسع الانتشار في التربة.(31) و(32).

وان سيادة الأنواع *F. solani* و*M phaseolina* و *R. solani* على الثويا تطابقت مع عزل هذه الفطريات من مشاتل غاباتية وغير غاباتية في مناطق مختلفة من العراق على الصنوبر بروتي والسرو الأفقي (33) وعلى الصنوبر والسرو والكازورينا (7) وعلى الثويا (34).

تشخيص ووصف الفطريات

تشخيص الفطر *Fusarium solani* Mart

أظهرت نتائج تشخيص الفطر *F. solani* على الوسط المغذي لمستخلص البطاطا الدكستروز والاكار PDA بعمر عشرة ايام في درجة حرارة 25±2 سليزية بظهور مستعمرات ذات لون ابيض إلى رمادي مع لون كريمي براق تشوبه صبغة بنفسجية في بعض الاحيان ، وأظهر الفحص المجهري بإن الفطر النامي يكون ثلاثة انواع من الابواغ الشكل(3)، الابواغ الكونيدية الصغيرة Microconidia اهليجية الشكل وبعضها اسطوانية بيضوية بلغت ابعادها 2.5–3.6×8.2–15 مايكروميتر ، ابواغ كونيدية كبيرة Macroconidia مغزليه الشكل بلغت ابعادها 2.4–3.4×35–37 مايكروميتر والنوع الثالث هي الابواغ الكلاميدية Chlamedospore مفردة أو بشكل أزواج في فروع جانبية صغيرة أو وسط الغزل الفطري وهذه الصفات تطابقت مع مفاتيح التصنيف المذكورة من قبل (20 و 21 و35).



الشكل (3) كونيدات الفطر *F. solani*

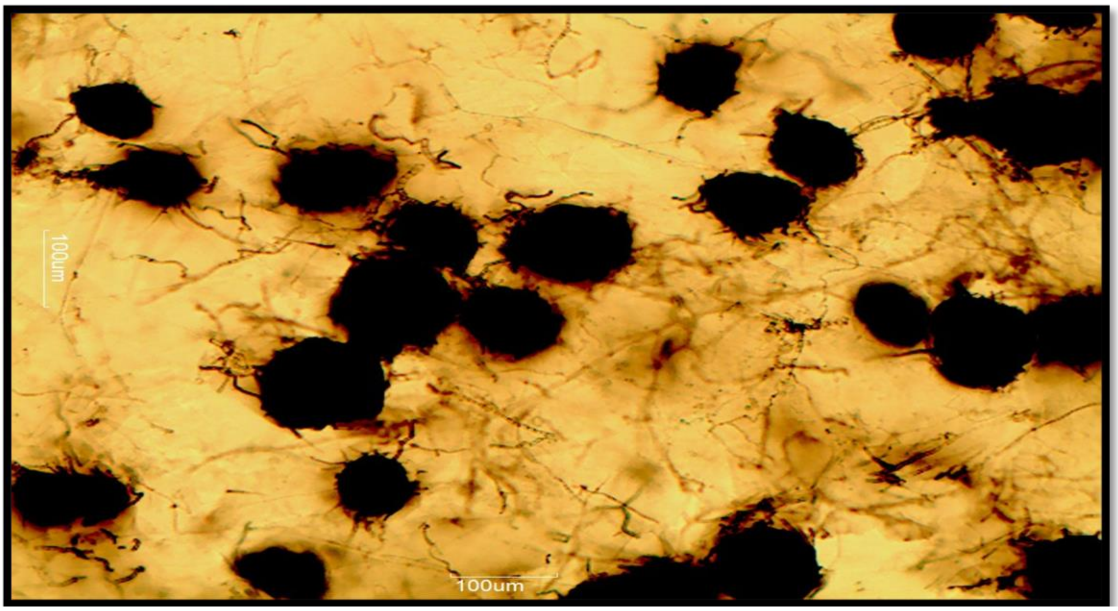
A– الكبيرة (macroconidia)

B– الصغيرة (microconidia) بقوة تكبير 40X.

تشخيص الفطر *M.phaseolina* Tassi Goid

ظهرت على الوسط الزرعي PDA مستعمرات سريعة, النمو وكان الغزل الفطري شفافاً في البداية مائل الى اللون الأبيض ثم تحول إلى اللون الاسود بدءاً من مركز المستعمرة ليشمل المستعمرة بأكملها، وظهرت فوق المستعمرة نموات زغبية، وأظهر الفحص المجهري

وجود أجسام حجرية sclerotia سوداء اللون كانت غير منتظمة الشكل وتراوحت بين الأهليليجي إلى البيضوي والكروية الشكل(4)، ولوحظت اختلافات بسيطة في لون المستعمرات وكثافة الغزل الفطري، إذ أشير إلى أن الفطر *M.phaseolina* يكوّن بكنيديا سوداء اللون غير منتظمة تتراوح أبعادها بين 130–230 مايكروميتر، والحامل الكونيدي يكون شفافاً بسيطاً أسطوانيا تتراوح أبعاده بين 13–23 × 3–6 مايكروميتر، والكونيديا تكون شفافة أسطوانية الشكل أبعادها 14–35 × 6 – 11.5 مايكروميتر والأجسام الحجرية sclerotia تكون سوداء اللون تتراوح أقطارها بين 60–120 مايكروميتر والخيط الفطري 2.5 –7.5 مايكروميتر حسب المفاتيح التصنيفية (36 و 37 و 38 و39)



تشخيص الفطر *Rhizoctonia solani* Khun

ظهرت مستعمرة الفطر *R. solani* النامية على الوسط الغذائي PDA بعمر ثمانية ايام في درجة حرارة 25±2 سليزية بلون بني فاتح ، وتتباين في سرعة نموها وتكوينها للأجسام الحجرية ذات اللون الداكن, وظهر تحت الفحص المجهري كثافة في الغزل الفطري الشكل(5) واحتواء الغزل الفطري على تخصرات عند منطقة نشوء التفرع وتكوين حواجز قرب منطقة النشوء ، وذلك يتفق مع ما ذكرة(40).

الشكل (5) الغزل الفطري للفطر *R. solani.* تحت القوة x40.

اختبار القدرة الامرضية للفطريات المسببة تعفن جذور شتلات الثويا المعداة صناعياً.

اجري اختبار القدرة الامراضية للفطريات المعزولة من الثويا الشرقية على شتلات السليمة والملقحة بالفطريات *F. solani* و *M. phaseolina* و *R. solani* وتبين من نتائج الاختبار جدول (1) تميز الفطر *F. solani* بأقصى قدرة امراضية مقارنةً بالفطريات الاخرى إذ بلغت نسبة الإصابة لشتلات الثويا الشرقية وبتأثير العدوى الصناعية الى 50% تلاه الفطر *R. solani* الذي بلغت نسبة اصابته لشتلات الثويا وبتأثير العدوى الصناعية الى 31%. في حين سجل الفطر *M. phaseolina* ادنى نسبة اصابة لشتلات الثويا الشرقية وبتأثير العدوى الصناعية بلغت 25%.

نستنتج مما سبق تميز الفطر *F. solani* بقدرته على اصابة شتلات الثويا الشرقية مقارنةً مع بقية الفطريات,إذ أن هذه الفطريات ذات قدرة على احداث الإمراضية ولكن بنسب متباينة حسب نوع الفطر والنبات، حيث اشار(7) بأن الفطريات *F.solani* و *M. phaseolina* ذا قدرة امراضية بلغت 68 و86% على التوالي لشتلات اشجار الصنوبر والسرو والكازورينا المسببة مرض تعفن الجذور، وقد ذكر (29) ان الفطريات *F. solani* و *M. phaseolina* وسبعة عزلات من *R. solani* . كانت ذات قدرة امراضية ولكنها متباينة على شتلات أشجار الغابات المسببة موت البادرات وتعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي والثويا والسرو العمودي والسرو الأريزوني، ويعود ذلك لتباين طبيعة وشدة سمية الأيضات التي ينتجها انواع الفطر *Fusarium*(41).

اما الفطر *F. solani* يعد من الفطريات التي لها القدرة على اصابة شتلات أشجار الغابات وبخاصةً الصنوبريات (42). فضلا عن انتاج الفطر *F. solani* عدداً من المركبات الايضية والسموم التي لها الدور الفعال في احداث الاصابة (phytotoxine) مثل Fusaric acid و Jaranicin و anhydrofusarubin و polypeptidetoxin التي له الدور البالغ في أصابة النسيج النباتي ومن ثم غزوه من خلال تطفله غير الحيوي Necrotrophic (43) .وكذلك الفطر *M. Phaseolina* الذي يعد واحداً من الفطريات المدمرة لمشاتل الصنوبر في الولايات المتحدة واستراليا والهند (44). وبين(45). قد يعود السبب في تباين القدرة الامراضية الى انتاج سم Phaseolinone الذي يجعل الفطر اكثر إمراضية مقارنة بالعزلات غير المنتجة لهذا السم وأشار(33) الى حساسية كل من الصنوبر البروتي والسرو الافقي للفطر *R. solani* . كما أشار(34) الى حساسية بادرات الثويا للفطر *R. solani*. والذي له القدرة على إفراز الإنزيمات المحللة كأنزيم السليليز Celluase والبكتنيز Pectinase وغيرها من الإنزيمات المهمة ذات التأثير السام مثل سم Phenyl acetic acid (PAA) او مشتقاته الهيدروكسيلية (46).

اختبار تأثير القدرة الامراضية للفطريات في صفات النمو لشتلات الثويا الشرقية.

يتضح من الجدول (1) وجود فروقات معنوية في التأثير على جميع صفات النمو المدروسة إذ اظهر الفطر *F. solani* تأثيراً معنوياً في متوسط أرتفاع المجموع الخضري لشتلات الثويا الشرقية *Biota oreintails* بلغ 33.66 سم تلاه الفطر *R. solani* في حين لم يختلف الفطر *M. Phaseolina* معنوياً عن الفطر *R.solani* بالرغم من اختلافها معنويا مع معاملة المقارنة. وتكرر تأثير الفطر *F. solani.* معنوياً في خفض الوزن الرطب للساق إذ بلغت أقصاها 15.50غم تلاه الفطر *R. solani* في حين أظهر الفطر *M. phaseolina* أدنى متوسط تأثير لصفة الوزن الرطب للساق حيث بلغت31.40غم بالرغم من اختلافها معنوياً مع معاملة المقارنة، كذلك الحال مع صفتي الوزن الجاف وطول المجموع الجذري إذ تميز الفطر *F. solani* بتأثيره معنوياً باظهار اقصى تأثير للصفتين المذكورتين مقارنةً مع الفطريات المدروسة الاخرى في حين أظهر الفطر *M. phaseolina* ادنى تأثير معنوي في متوسط قيم كلا صفتي النمو، كذلك اظهر الفطر *F. solani* أقصى تأثير في متوسط صفتي الوزن الرطب والجاف اذ بلغت 11.15و 8.36غم على التوالي، في حين أظهر الفطر *R. solani* أقل فرق معنوي بالتأثير في متوسط الصفتين إذ بلغتا 9.52و8.36 غم بالرغم من اختلافهما معنوياً مع معاملة المقارنة.

مما سبق يتضح أن الفطريات المختبرة قد أثرت في معظم صفات النمو من ارتفاع المجموع الخضري والجذري والوزن الرطب والجاف للشتلات، إذ أشار محمد (7) و(29) الى ان الفطريات *F. solani.* و *R. solani* و *M. phaseolina* ذات تأثير شديد على صفات النمو من ارتفاع الساق وطول الجذر والوزن الرطب والجاف لعدة شتلات من اشجار الغابات منها الصنوبر

البروتي، وقد ذكر(47) ان تفوق نمو النباتات في معاملة المقارنة يعود اساساً الى ان الجذور في بيئة خالية من الأحياء الممرضة والتي تعمل على اختزال الحجم وخفض كفاءة الجذور في امتصاص الماء والعناصر الغذائية وبالتالي التأثير في نمو النبات. علماً بأن عمل هذه الفطريات يعتمد اساساً على الانزيمات المحللة للجدران الخلوية، وان من اهم هذه الأنزيمات Polygalacteronase المحلل للصفيحة الوسطة بشكل رئيس مما يتسبب في إحداث تعفن طري للسويقة الجنينية والشعيرات الجذرية .كذلك بين(48). قابلية الفطريات على افراز الانزيمات المحللة للكنين الموجود في جدار خلية العائل مثل peroxidase و Ligninase وما لذلك من اهمية في احداث الاصابة وانتشار سموم الفطر وانزيماته في تلك الخلايا وتأثيره على صفات النمو للنبات .

الجدول (1) تأثير العدوى الصناعية لفطريات تعفن الجذور في % للإصابة وبعض صفات النمو الطبيعية لشتلات الصنوبر البروتي.

الفطريات	% للإصابة	ارتفاع المجموع الخضري (سم)	وزن رطب للساق (غم)	وزن جاف للساق (غم)	طول المجموع الجذري (سم)	وزن رطب للجذر (غم)	وزن جاف للجذر (غم)
مقارنة بدون فطر	0 D	39.80 A	42.56 A	22.64 A	34.06 A	17.62 A	12.30 A
M.phaseolina	25 C	36.36 B	31.40 B	17.82 B	28.50 B	13.06 BC	10.25 B
R.solani	31.25 BC	35.97 C	28.39 C	16.79 B	24.13 C	11.52 CD	9.70 BC
F. solani	50 A	33.50 D	15.50 D	12.56 C	21.06 D	9.52 D	8.36 C

الأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد تدل على عدم وجود فروقات معنوية بينها عند مستوى إحتمال(0.05) .

تأثير المستخلص الكحولي والمائي في نسب تثبيط نمو الفطريات

يتبين من نتائج الاختبارات الحيوية لمستخلصات أوراق اليوكالبتوس وتأثيرها في فطريات تعفن جذور شتلات الثويا الشرقية وكما مبين في الجدول (2) صفة تثبيط النمو ظهر الفطر *R. solani* تأثر بتفوق التركيز الاول من المستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس في تثبيط نمو الفطر وزيادة نسبة التثبيط وصلت الى 100% بالتراكيز الثلاثة الاخيرة باستثناء مستخلص الكحولي الذي تفوق في تثبيط الفطر من التركيز الاول إذ اعطى نسبة تثبيط 100% . وبذلك يمكن إعتماد التركيز الاول 25%من المستخلص الأوراق الكحولي في المكافحة الطبيعية للفطر *R. solani* مقارنةً بالمستخلص الأخر . وأظهر مستخلص الأوراق المائي عدم تثبيط الفطر *M. phaseolina* نهائياً حتى مع زيادة التركيز من 25%–100% قد يعزى السبب لعدم اذابة بعض المركبات الفعالة بالمستخلص المائي إذ أشار(49). بإن بعض المركبات الفعالة لها القابلية على أن تقحم نفسها في تكوين الحامض النووي DNA وبذلك تشكل قنوات أيونية في أغشية الفطريات الممرضة، في حين كان لمستخلص الأوراق الكحولي تأثيرً مثبط لمتوسطات نمو الفطر نفسهُ عند التركيز الأول للمستخلص الكحولي للأوراق وازداد التثبيط ليبلغ 100% عند التركيز الثاني كذلك يتبين من الجدول نفسه تأثر الفطر *F. solani* بالمستخلص الكحولي للأوراق مع زيادة التركيز ابتداء من التركيز الأول بلغ63.63% وارتفع ليبلغ 100% عند التركيز الرابع، في حين كان تأثير مستخلص الأوراق المائي منخفضا عند التركيز الاول اذ

بلغ 36.97% وبالرغم من زيادة تركيز المستخلص فلم تظهر فروقات معنوية ما بين التركيزين الاول والثاني الذي بلغت قيمة تثبيطه 43.63% اذ ازداد التثبيط زيادة طفيفة مقارنةً بالتركيز الأول وكذاك لم تختلف قيم متوسطات التثبيط للفطر معنوياً ما بين التراكيز الثاني والثالث والرابع بالرغم من بلوغ قيمة التثبيط للفطر 52.11% عند التركيز الرابع، واختلافها معنوياً مع قيم المقارنة . تميز الفطر *M. phaseolina* بإظهار أقصى تثبيط بتأثير المستخلص الكحولي للأوراق بلغ اقصاه 100% عند التركيز الثالث والرابع للمستخلص، في حين أظهر الفطر *F. solani* تثبيطاً معنوياً في متوسط النسبة المئوية لتثبيط نموه بالمستخلص الكحولي للأوراق بلغ أقصاه 100%عند التركيز الرابع. وعند مقارنة التداخل مابين متوسطات طرائق الاستخلاص تبين تفوق طريقة الاستخلاص الكحولي للأوراق في تثبيط جميع الفطريات المختبرة ومن ملاحظة متوسطات تداخل الاستخلاص مع الفطريات أن مستخلص الأوراق المائي تبين تفوقه في التأثير على متوسط تثبيط الفطر *R. solani* مقارنةً بالفطريات الأخرى قيد الدراسة، كذلك الحال مع مستخلص الأوراق الكحولي إذ تفوق الفطر نفسه في التأثر بالمستخلص الشكل (6)(7).

الجدول(2) تاثير تراكيز مختلفة من مستخلصي أوراق اليوكالبتوس في نسب تثبيط نمو الفطريات

نوع المسنخلص	نوع الفطر	النسبة المئوية لتثبيط النمو (ملم) التراكيز (%) 0%	25%	50%	75%	100%	متوسطات طرائق الاستخلاص	متوسطات نوع الفطر
مستخلص الأوراق المائي	*R.solani*	0 N	86.06 BC	100 A	100 A	100 A	39.54 B	76.42 A
	F. solani	0 N	36.97 LM	43.63 KL	47.30 JK	52.11 I–K		50.67 B
	M.phaseolina	0 N	0 N	0 N	0 N	0 N		35.88 C
مستخلص الأوراق الكحولي	*R.solani*	0 N	78.18 B–E	100 A	100 A	100 A	70.91 A	
	F. solani	0 N	63.63 GH	79.99 B–E	83.03 B–D	100 A		
	M.phaseolina	0 N	73.33 EF	85.45 BC	100 A	100 A		
متوسطات تأثير التراكيز		0 E	56.36 D	68.17 C	71.72 B	75.35 A		

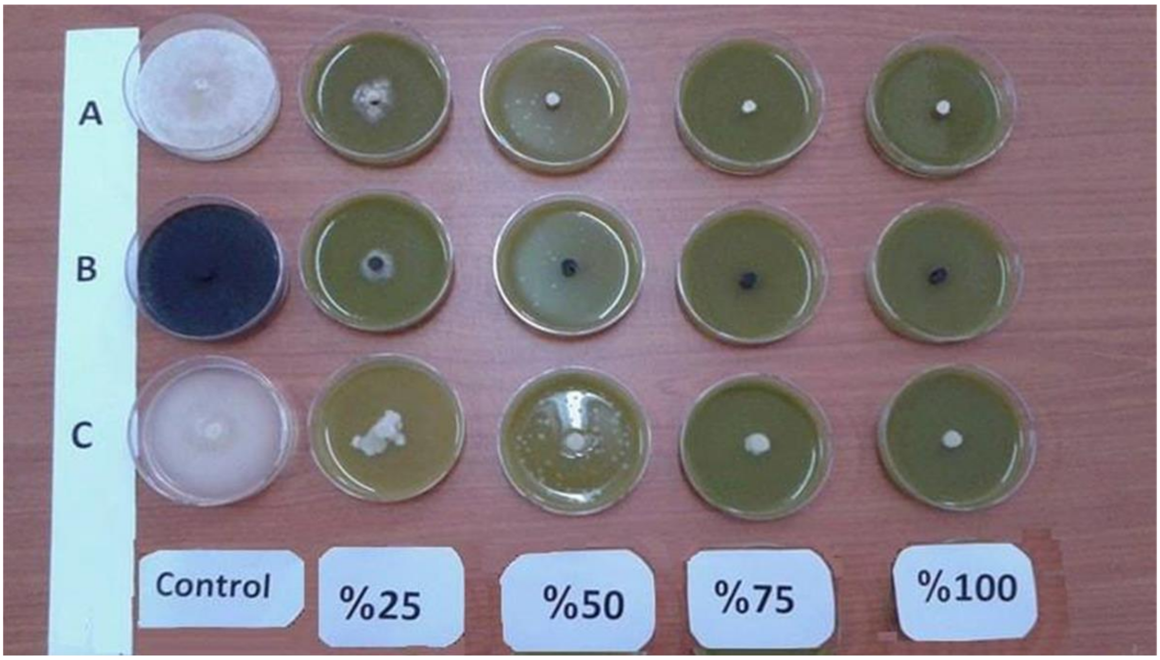
الارقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود تدل على عدم وجود فروقات معنوية بينها على مستوى احتمال(0.05)

شكل (6) يوضح تاثير المستخلص المائي لاوراق اليوكالبتوس في الفطريات.

R.solani=A

M.phaseolina=B

F.solani=C



شكل (7) تأثير مستخلص الأوراق الكحولي على نمو الفطويات

R.solani=A

M.phaseolina=B

F.solani=C

إن الفعل الفسلجي للمستخلصات المائية النباتية في التأثير على بعض الفطريات قد يعود الى طبيعة محتواها من المواد الفعالة التي لها القدرة في تثبيط نمو الفطر، إذ فسر(50) تأثير المستخلصات المثبطة للفطريات قد يكون ناجماً عن تأثيرها في منع إنبات الأبواغ أو تأثيرها في تغير نفاذية اغشية الخلية أو تأثيرها في منع نمو الخيط الفطري في مراحله المبكرة مما يؤدي الى تثبيط نمو هذه الفطريات.

ان تفوق المستخلص الكحولي على المستخلص المائي في زيادة نسبة التثبيط بشكل عام قد يعود الى قابلية ذوبان بعض المركبات ذات التأثير التثبيطي للفطريات المدروسة في الكحول (51). وان زيادة التركيز لنفس المستخلص تؤدي الى زيادة التثبيط للفطر حيث أشارت دراسات سابقة الى نتائج مماثلة اذ وجد إن اختلاف تأثير التراكيز للمستخلص نفسه قد يعود الى الاختلاف في تركيز المادة الفعالة المستخلصة، وهذا يتفق مع ما وجده (52) ان فعالية المستخلصات النباتية الكحولية ضد الفطريات الممرضة تزداد بزيادة التركيز، ويعود السبب في ذلك الى تأثير المواد الفعالة في الخلية الفطرية وتداخلها مع التراكيب الخلوية والعمليات الأيضية إذ تؤدي الى حدوث تغيرات في التراكيب الدقيقة للخلية الفطرية والخيط الفطري وهذه التغيرات ترتبط بفقدان قوة الجدار الخلوي المسؤول عن قوة وتكامل شكل الخلية ولان الجدار الخلوي يعد أحد المواقع الهدف لعمل المواد الفعالة وتسبب التغيرات من التداخل المباشر ما بين المواد الفعالة ومكونات الجدار أومن عمليات بناء الجدار (53). كذلك تتفق هذه النتائج مع ما وجدهُ(54). حول احتواء مستخلصات أشجار اليوكالبتوس على الفينولات ومركب eucalyptol والمثبطة لنمو الأحياء المجهرية بشكل متخصص ودرجة قوية.

شكر وتقدير

يتقدم الباحثان بالشكر والتقدير لقسم الغابات / كلية الزراعة والغابات في جامعة الموصل لدعم هذا البحث

المصادر References

1-Palta, M.M., Richardson A.E., Sharitz R.R. Institute of Ecology, The University of Georgia, Athena. (2003).

2- Kiss, D.Á., Kiss D.G, Hufnagel L.. Applied ecology and environmental research 6(2): 111-134. (2008).

3-Malmsheimer, W.R., Bowyer L.J , Fried S.J., Gee E., Izlar L.R., Miner, A.I., Munn A.R., Oneil E., and Stewart C.W. A Society of American Foresters Task Force Report. Journal of Forestry. 109, (7S): 7-51. . (2011).

4-Amit , J. ; K. Abhinav ; M. Deepali and K. Mastanaiah (2011). Revie Pharmacological Activity of Platycladus Orieantalis International Research Journal of Pharmacy 2(11):58-61.

5- Gilman , E. F. and D. G. Watson (2011) .*Thuja occidentalis* : White- Cedar .The environmental Horticulture , Florida Cooperative Extension Serivce , Insitute of Food and Agricultural Sciense, University of Florida .

6- Srivastava , P. ; P. Kumar ; D.K. Singh and V. K. Singh (2012). Biological Properties of *Thuja Orientalis* Linn. Advances in Life Sciences ,2(2):17-20.

7- Muhammad, A. N. Master Thesis, College of Agriculture and Forestry, Mosul University, Iraq. (1987).

8- Sunderrao R.R; Simon S., and Lai A. Dianthe6(5)1558 1559.(2017).

9- Al-Kaif, M.A.O. Master Thesis, Middle Euphrates Technical University, College of Technology, Musayyib, Iraq(2015).

10− Thenmozhi, K.; M. Saradha; M. Manian, and S. Paulsamy, *Invitro* antimicrobiall potential of root extracts of medicinal plant species Emeliasonchifolia(Linn.) DC. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical research. 6(3): 149-151. (2013).
11-Johnson M.; MacDougall C.and Ostrosky- Zeichner L. " Combination antifungal therapy. Antimicrobial Agent and chemotherapy". 48:693-715(2004).
12- Bajwa , R. and S. Iftikhar .. Myco path. 3.Pp: 13-16. (2005).
13- Dossari, Nasser Hamid. Journal of Karbala University. Volume (5), Issue (4). (2007).
14 Mulla A., Faten N. H., Ghaidaa S. and Ramadan N. A. Tikrit Journal of Pure Sciences. Vol. 15, No. 2, p. 221-227. (2010).
15− Mubark E.E.; Ali L.Z. ; Ahmed I.FA.; Ali AB..Int J Agr Biol. 17(2):320-326.(2015).
16- Shayoub M.H.; Dawoud A.D.H; Abdelmageed M.AM.; Ehassan A.M. " Phytochemical analysis of leaves extract of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.2(1). (2015).
17- Rikar , A.J. and Rikar R.S. "Introducation to research on plant diseases" .J.S. Swift Co. Incorporation. Louis and New York. 117 pp. (1936).
18- Parmeter, J.R.;and Whitney H.S. " Taxinomy and nomenclature of the imperfect stage In:*Rhizoctonia solani* Biology and Pathology" .(ed) J.R.Parmeter.University of California Barkely. LosAmgeless. 7-19 pp. (1970).
19- Barnett, H.L and Hunder B.B. " Ill Striated Genera of Imperfect fungi" .22pp. (1972).
20- Booth ,C. "Fusarium Labortory Guide to the Identification of the Major Species" commonwealth Mycological Institute.Key,Surrey, England .58pp. (1977).
21- Leslie , J.F. and Summerell B.A. " the Fusarium Laboratory Manual photographs by Suzanne Bullock".388. pp .(2006) .
22-Taha, K.H; A1-Mallah N.M. and Al-Tayy A.K. Agris. Sci.(Zanco) , 4: 24 219. (1986).
23- Hearther, W.A.; Pratt B.H.and Shin T.Y. Aust. J. Bot. 25:385-393. (1977).
24- Salman, Munib Taher. PhD thesis, College of Agriculture and Forestry, University of Mosul, Iraq. (2006).
25− Browning , B.L. "Method of wood chemistry. Vol.1 Institute of paper chemistry" . Appleton , Wisconsin , Inter Science Publishers . A Division of John Whley and son(1967).
26− Harborne, J.B. " Phytochemical Methods: Aguide toModern Technique of Plant Analysis". 1st ed., Cox and Wyman London, p 52-73. (1973).
27−Khanzada, Sh. A., Iqbal S. M. and Akram A. Mycopath., 4: 51-53. (2006).
28− Narrator, K. M. and Abdul Aziz .M. K A. Design and analysis of agricultural experiments. Mosul University, Ministry of Precious Education and Scientific Research, Iraq. (2000).
29− Ali, R. M S., Master Thesis College of Agriculture, Sulaymaniyah University, Iraq (2007).
30- Ahanger, M.A.; G.H.,Dar; Z.A.,Baht and N.R.,Sofi ". Plant Pathology Jourmal 10(1):42-45(2011).
31- Booth, C. "The genus *Fusarium* ".Common. Mycol. Inst. Kew, Surrey. 237pp(1971).
32- Brasileiro, B. T. R. V. , Coimbra M. R. M. , Jr M. A. M. and Oliveira N. T. Genetic variability within *Fusarium solani* species as revealed by PCR-Finger-Printing based on PCR markers. Brazillian Jornal of Microbiology. 35 : 205-210. (2004
33- Younis, M. M. Master Thesis, College of Agriculture and Forestry, University of Mosul, Iraq (1981).
34- Taha, Khaled Hassan.Biological Resistance to the Death of Seedlings and Know the Roots of Thuja Journal of the cultivation of Rafid 26- 185-177: (1994).

35- Toussoun, T.A., and P.E, Nelson "Apictorial Guide to the Identification of Fusarium Species". 2 nd ed. Pennsylvania state University press, University park. 43p. (1976).

36-Ashby, S. F. *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) comb. nov. The Pycnidial stage of *Rhizoctonia bataticola*(Taub.) Butl. Trans. Br. Mycol. Soc. Butl. Trans. Br. Mycol. Soc. 12:141–147. (1927).

37- Watanable, T . Phytopathol. Soc. Jpn. 38:106–110. (1972).

38- Sutton, B. C . " The Coelomycetes. Commonw". Mycol. Inst., Kew, 696 pp. (1980).

39- Fernandez, R. B. ; A. De Santiago ; S. H. Delgado and N. M. Perez"Characterization of Mexican and non–Mexican isolates of *Macrophomina phaseolina* based on morphological characteristics", Pathogenicity on bean seeds and endoglucanase gene . Plant Pathology 88 :1 . .(2006) .

40- Carling, D. E.; R. E. Baird; R. D. Gitaitis; K. A. Brainard and S. Kuninaga. " Characterization of AG-13, a newly Reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani.* Phytopathology 92:893-899. (2002).

41− Fernandez,M.R. and Chen Y. Plant Dis 89:164-169. (2005).

42- Wenner , N. and Merrill W. " New conifer host for fusarium root rot in pensylvania". Plant Dis. 68:538. (1984).

43- Strange, N.R. " Plant Diseases Control. Towards environmentally acceptable methods published by Chapman and Hall 2-6 Boundary Row", London SEI8 HN. 355pp. (1993).

44- Jamaluddin , V, and Soni X.X"Studies on charcoal root rot of *Pinus cribea*". Indian Forester.P. 618-621. (1982).

45- Suchandra ,S.;Mishra S. K.; Kazia I. and Siddiqui .. J. BioSci. 25 (1) : 73 – 80. (2000).

46- Ogoshi, A. C. F. snech, B., Hare, H. J., Neak, E. F. and Gijse, J. " Introduction. The genus Rhizoctonia 1 – 9pp. Rhizoctonia species : Taxanomy, Mollecular Biology, Ecology, Pathology and disease control", Kluwer Aceademic pulishers printed in Netherlands 585pp. (1996).

47-Agrious , G. N. " Plant Pathology". (4th.ed.). Academic Press, New York. 606 pp. (1997).

48- Lozovaya , V.V. ; Lygin A.V. ;. Zernova O.V , Li S. , Widholm J. M. and Hartman G.L. plant Dis . 9 : 77-82 . (2006).

49- Khazraji, A J. A H., Iman A. K., Adel S. Salman E. S. H. and Kalbawi A M. N. Journal of Biotechnology Research Center. Volume 9 Issue 1. .14-9 (2015).

50- Wen-Bao, C.; Yuh-Felling H.; Shung C.J. and Sheno C.C. " Isolation, purification and characterization of killer protein from *Schwanniomyces occidentalis*" Appl. Environ. Microbiol. 66: 5348-5352. (2000).

51-Lawrence, Ch.; Mitchell Th.; Craven K.; Cho Y.; Cramer R. and Kim K. ". Plant Pathol. 24 (2): 101-111. (2008)

52- Paran,B.; Sharma R.K.; Singh R.S; Ghosh A.C. and Baruah P. Journal of Essential oil Research.8:411-412. (1996).

53- Otang , W.M. ; Grierson D.S. and Nadip R.N. INT.J. Mol. Sci.Vol.(12) : 9226-9235. (2011).

54- Rai , M.K. ; Qureshi, and Pandy , A. K. *In Vitro* susceptibility of opportunistic . Fusarium spp. to essential oils. Mycoses 42 : 97 – 101. (1999).