المكافحة الحيوية لعشبة زهرة النيل (*Eichhornia crassipes*) باستخدام الفطور المصاحبة لها

أحمد ناطق الشنداح[1*]، عبدالله عبدالكريم حسن[2] وصفاء زكريا بكر[2]

(1) الهيئة العامة لتشغيل وصيانة مشاريع حوض نهر دجلة، مديرية الموارد المائية في صلاح الدين، وزارة الموارد المائية، العراق؛

(2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق.

*البريد الإلكتروني للباحث المراسل: Ahmed.natiq88@gmail.com

الملخص

الشنداح، أحمد ناطق، عبدالله عبدالكريم حسن وصفاء زكريا بكر. 2024. المكافحة الحيوية لعشبة زهرة النيل (*Eichhornia crassipes*) باستخدام الفطور المصاحبة لها. مجلة وقاية النبات العربية، 42(4): 534–540. https://doi.org/10.22268/AJPP-001264

تم في هذه الدراسة عزل عدة فطور مصاحبة لنباتات زهرة النيل التي جمعت من مناطق مختلفة من نهر دجلة، وهي سامراء، الضلوعية، المعتصم والشرقاط. أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي المعتمد على الجين 5.8S rRNA الذي تمّ عزله من عدة فطور مصاحبة لزهرة النيل، وهي: *Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-30، *Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-31، *Alternaria alternata* strain Has.AA-32، *Alternaria tenuissima* strain Has.AA-34 و *Alternaria eichhorniae* strain Has.AA-33. سجل تتابع النيوكليدات للفطور المعزولة في بنك الجينات تحت أرقام الانضمام OP251452.1، OP251368.1، OP251367.1 و OP251453.1 وأظهرت الفطور المعزولة امراضية عالية لنبات زهرة النيل، إلا أنها اختلفت باختلاف الفطر المستخدم أو طريقة الإلقاح المستخدمة، حيث تفوق معلق أبواغ وراشح العزلة Has.AA-33 معنوياً بتسجيل أعلى شدة إصابة بلغت 80.7%، تليها العزلات Has.AA-30، Has.AA-31، Has.AA-32 و Has.AA-34 بينما لم يتم تسجيل أي إصابة في معاملة الشاهد.

كلمات مفتاحية: عشبة النيل، نهر دجلة، *Eichhornia crassipes*، الفطور المسببة للأمراض، المكافحة الحيوية، التشخيص الجزيئي.

المقدمة

يعدّ نبات عشبة زهرة النيل (*Eichhornia crassipes*) من الأدغال المائية الطافية والخطرة في المياه العذبة والراكدة (Lata & Dubey, 2010). ينمو هذا الدغل بكثافة عند مصبات الأنهار وفي البحيرات ويتحمل التذبذب الكبير الناتج عن انخفاض وارتفاع مناسيب المياه خلال موسم النمو، وإنّ درجة الحرارة الملائمة للنبات هي 25–30°س (Center & Dray, 2010). يعدّ حوض نهر الأمازون الموطن الأصلي لزهرة النيل والتي تنتشر في عدد كبير من بلدان العالم، كما يعدّ هذا النوع أخطر أجناس عائلة Pontederiaceae بسبب سرعة نموه وتكاثره، وهو نفس النوع المنتشر في العراق، وله القدرة على العيش في أنواع مختلفة من المياه (Center & Dray, 2010؛ Zhang *et al.*, 2010). يعدّ هذا النبات من بين أسوأ 100 نباتٍ غازٍ (Patel, 2012). ينتشر نبات عشبة زهرة النيل على شكل بساط خضري كثيف وواسع فوق سطح الماء ومجموع جذري كبير ينتشر تحت سطح الماء مكوناً كتلة كبيرة الحجم خلال مدة زمنية قصيرة (Tellez *et al.*, 2008). يعدّ دغل زهرة النيل من النباتات الطافية، ومن أهم مشاكل المياه الجارية والراكدة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (Julien *et al.*, 2001). إذ له القدرة على استهلاك الماء بكميات كبيرة، إذ يشكل الماء 93–96% من وزن النبات، وبذلك يزيد من معدل النتح بمقدار 2.67–3.2 مرة مقارنة مع المساحة نفسها من المسطحات المائية الخالية منه (Singh & Mackinnon, 1996؛ Supmaneenan *et al.*, 2003).

يشكل هذا الدغل أيضاً كثافة عالية في مجرى المياه مما يعرقل من حركة الإنسان والحيوان والآلات ويعيق منظومة المياه ومضخات الري (Julien *et al.*, 1999). نظراً لخطورة دغل زهرة النيل فقد استخدمت العديد من الطرائق لمكافحته، ومنها الطريقة الميكانيكية من خلال الازالة اليدوية أو باستخدام الآلات، والتي تنجح في المساحات المائية الصغيرة (Julien *et al.*, 1999).

تعدّ المكافحة الكيميائية باستخدام المبيدات مثل جلايفوسيت، 2,4.D، Amitrol، Diquate و Paraquate من العوامل التي حدّت من انتشار هذا النبات (Smith *et al.*, 2004) ولكنها مكلفة اقتصادياً في حالة انتشاره وبائياً في منطقة معينة بسبب قدرته على استعادة نموه بسرعة

https://doi.org/10.22268/AJPP-001264
© 2024 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

فضلاً عن تأثيرها السلبي في البيئة المائية (Wilson *et al.*, 2007 ؛Center *et al.*, 2002). كما لم يوصِ Villamagna, & Murphy (2010) باستخدام مثل هذه المبيدات في المكافحة كونها غير متخصصة. استخدمت المكافحة الحيوية لهذا الدغل أيضاً بواسطة بعض الحشرات مثل *Neochetina eichhorniae* (Warner) (Julien *et al.*, 2012) والفطور مثل *Alternaria* spp.، *Fusarium* spp.، *Stemphylium* spp.، *Pythium* spp. و *Rhizoctonia solani* (Tegene *et al.*, 2012)، إذ تتميز السيطرة الحيوية بتكاليف أقل مقارنةً بالطرائق الأخرى، كما أنها أقل ضرراً للبيئة وتحقق سيطرةً على المدى الطويل (Gore *et al.*, 2017).

ونظراً لخطورة هذه العشبة وتأثيرها في البيئة والأحياء المائية واستهلاكها لكميات كبيرة من المياه وغلق قنوات الري والممرات المائية هدفت الدراسة إلى عزل وتشخيص الفطور المرافقة لنبات زهرة النيل ودراسة إمراضيتها.

مواد البحث وطرائقه

جمع العينات

نفذت التجربة في مختبرات قسم وقاية النبات كلية الزراعة/جامعة تكريت في موسم 2022/2021، تم جمع عدد من عينات أوراق وجذور وساق نباتات زهرة النيل من مناطق مختلفة من ضفاف نهر دجلة في العراق (سامراء، الشرقاط، المعتصم والموصل)، والتي ظهرت عليها أعراض مرضية (تبقعات، اصفرار، تقرحات وجفاف)، نقلت العينات الى المختبر في أكياس من البلاستيك بغرض عزل الفطور المرافقة للعشبة.

الأوساط المستخدمة

حضر وسط البطاطا/البطاطس دكستروز آجار (PDA) من شركة Himedia الهندية، وعقمت باستخدام المؤصدة عند حرارة 121°س وضغط 15 بار لمدة 20 دقيقة، وأخرجت الدوارق وبردت إلى حرارة 40°س، أضيف الصاد الحيوي Ceftraxone بواقع 250 مغ/ليتر، ثم صبّ الوسط في أطباق بتري وترك ليتصلب. وكذلك الأمر حضر وسط مرق البطاطا/البطاطس–دكستروز (PDB).

عزل وتشخيص الفطور

جمعت نباتات عشبة زهرة النيل التي ظهرت عليها أعراض مرضية مثل التبقعات، التنخرات والاصفرار، ثم غسلت بماء الصنبور لإزالة ما علق بها من أتربة وأوساخ. قطعت النباتات إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5–1 سم وعقمت سطحياً بمادة هيبكلوريت الصوديوم بتركيز 2% لمدة 3 دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم وجففت على أوراق ترشيح معقمة، زرعت بمعدل أربع قطع في طبق بتري يحوي الوسط الزرعي بطاطا/البطاطس–دكستروز آجار (PDA). حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±2°س لمدة 5 أيام. بعد ظهور نموات الفطور، تمت تنقيتها عن طريق أخذ جزء من حافة كل مستعمرة على حدة ونقلها إلى أطباق بتري جديدة تمّ اعدادها مسبقاً تحتوي على الوسط الزرعي PDA، بعدها حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±2°س لمدة 3–5 أيام. شخصت الفطور على مستوى الجنس اعتماداً على الصفات المظهرية من قبل الاستاذ الدكتور عبدالله عبدالكريم حسن، كلية الزراعة، جامعة تكريت وباتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Ellis, 1971؛ Woudenberg *et al.*, 2014). حفظت الفطور بتنميتها في الوسط المائل (Slant PDA) وتمت إعادة إكثارها وفقاً لمتطلبات البحث. تم اعطاء الفطور رموزاً مختلفة، ثم شخصت جزيئياً إلى مستوى النوع.

تحضير معلق أبواغ العزلات الفطرية

وضع 10 مل ماء مقطر معقم في أطباق فيها مستعمرات الفطر كاملة النمو وحديثة بعمر 5 أيام، ثم حصدت الأبواغ باستخدام فرشاة صغيرة، وجمع معلق الخلايا الفطرية وضبط عددها بواسطة شريحة العدّ (Hemocytometer) تحت المجهر، وتم ضبط التركيز عند 1×10^8 بوغ/مل باستخدام شريحة العدّ.

تحضير راشح العزلات الفطرية

حضرت الرواشح الخالية من الأبواغ بواسطة تلقيح وسط مرق–البطاطا/البطاطس–دكستروز المعقم بعزلات الفطر كل على حدة، وبعد التلقيح حضنت عند حرارة 25°س لمدة 5 أيام ثم رشحت باستخدام ورق الترشيح. وضع الراشح في جهاز الطرد المركزي بواقع 5000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، ثم مرر الرائق على مرشح دقيق قطر فتحاته 0.44 ميكرومتر.

إختبار إمراضية الفطور المعزولة على عشبة زهرة النيل

جمعت نباتات سليمة من زهرة النيل من نهر دجلة المار في قضاء تكريت، محافظة صلاح الدين، ووضعت كل 5 نباتات في حاوية بلاستيكية بقطر 30 سم مع 2 ليتر من ماء الصنبور وتركه لعدة أيام لتطاير الكلور. رشت النباتات بواقع 10 مل من كل من معلق الأبواغ وراشح الفطر، كلاً على حدة، وغطيت النباتات بالنايلون لمدة 24 ساعة ثم رفع النايلون وسجلت الأعراض المرضية الظاهرة على النبات. اعتمد الدليل المرضي الموضوع من قبل (Freeman & Charudattan, 1984) المؤلف من 10 درجات (صفر= النباتات سليمة إلى 9= إصابة الورقة بمساحة 90% فما فوق)، وتمثلت الأعراض على النبات بالتبقع،

الاصفرار الشديد، التنخرات، الجفاف وموت الأنسجة، وقدرت شدّة الإصابة حسب المعادلة التالية:

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{مجموع عدد الأوراق} \times \text{رقم الدرجة}}{\text{عدد الأوراق المفحوصة} \times \text{أعلى درجة}} \times 100$$

التشخيص الجزيئي

شخصت الفطور التي أعطت أعلى إمراضية على نبات زهرة النيل جزيئياً حسب ما نشر سابقاً (White *et al.*, 1990) وذلك باستخلاص الـ DNA لكل عزلة على حدة وترحيله كهربائياً، ومن ثم استخدم زوج البادئات المدرج أدناه لتضخيم جزء من الجين بحجم 600 زوج قاعدي:

البادىء Primer	تتابع النيوكليوتيدات Nucleotide sequence
الأمامي Forward	5′- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3′
الخلفي Reverse	5′ TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′

وذلك بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR بغرض تضخيم منطقة الهدف ITS ضمن الجين 5.8S rRNA مع إجراء الترحيل الكهربائي لتحديد الحجم الجزيئي لناتج التفاعل. حلّلت تتابعات القواعد النيتروجينية لناتج تفاعل البلمرة المتسلسل لمنطقة الهدف للفطور المراد تشخيصها في الشركة الكورية Bioneer وباستخدام بيانات المركز العالمي للمركز الوطني لمعلومات التقنية الحيوية (NCBI) وأجريت عملية المحاذاة والتطابق Nucleotide blast مع السلالات المسجلة في البنك الوراثي العالمي، وبعدها سجلت العزلات العراقية في بنك الجينات العالمي تحت الرقم العالمي الذي أعطي لكل عزلة.

النتائج والمناقشة

عزل الفطور من نبات زهرة النيل المصابة

يبين جدول 1 الرمز والاسم العلمي للفطر للعزلات الفطرية المستخدمة في هذه الدراسة ومنطقة الجمع والجزء النباتي التي جمعت منه كل عزلة. بينت النتائج عزل 11 عزلة فطرية من نباتات زهرة النيل التي أظهرت أعراضاً مرضية شملت الاصفرار والتنخرات والتبقعات، منها 6 عزلات ظهرت عليها أعراض الإصابة على جميع أجزاء النبات المعزولة في هذه الدراسة.

تأثير معلق أبواغ عدة أنواع فطرية في شدة الإصابة على زهرة النيل

أظهرت النتائج شكل 1−A أن جميع الفطور المستخدمة سببت أعراض تبقعات وتنخرات وموت الأنسجة والأوراق لعشبة زهرة النيل، إلا أن شدة الاصابة تباينت باختلاف الفطر، وسجل معلق أبواغ العزلة Has.AA-33 تفوقاً معنوياً محققاً أعلى شدة إصابة على الدغل بلغت 80.7% تليها العزلتان Has.AA-34 و Has.AA-32 واللتان سجلتا شدة إصابة بلغت 77.0 و 68.1%، على التوالي، في حين حققت العزلة Has.AA-28 أدنى شدة إصابة بلغت 25.9%، بينما لم تسجل أي إصابة في معاملة الشاهد. يوضح الشكل 2 تأثير معلق أبواغ العزلة Has.AA-33 في نبات زهرة النيل.

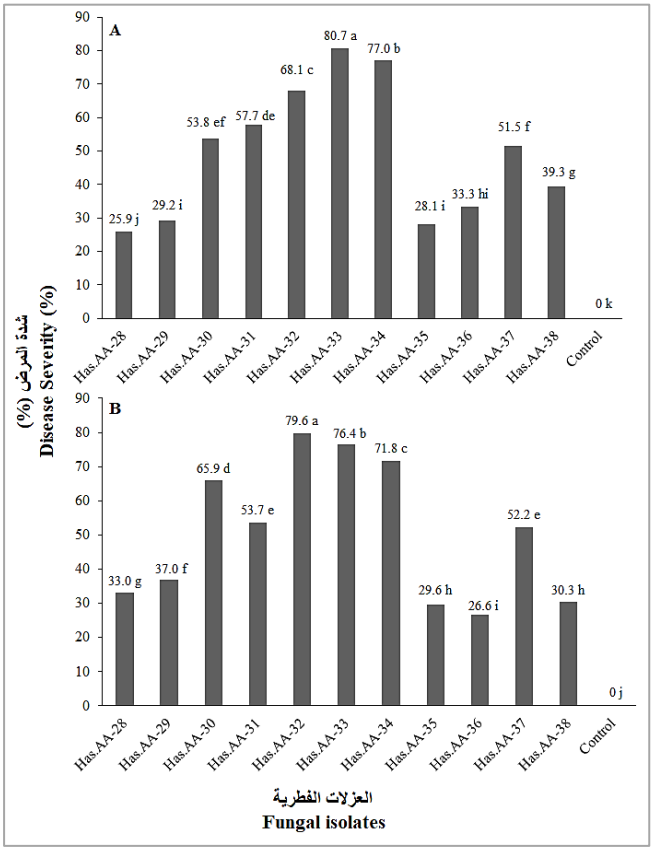
جدول 2. منطقة الجمع والجزء المصاب من النباتات التي جمعت منها العزلات المختلفة.

Table 2. Collection site and plant part from which fungal isolates used in this study were collected.

رمز العزلات الفطرية Code of fungi isolates	اسم الفطور Fungi name	منطقة الجمع Collecting area		الجزء المصاب	Infected part
Has.AA-28	*Septoria* sp.	Al-Mutasim	المعتصم	أوراق النبات	Plant leaves
Has.AA-29	*Alternaria* sp.	Al-Mutasim	المعتصم	أوراق النبات	Plant leaves
*Has.AA-30	*Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-30	Mosul	الموصل	جميع أجزاء النبات	All plant parts
*Has.AA-31	*Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-31	Mosul	الموصل	جميع أجزاء النبات	All plant parts
*Has.AA-32	*Alternaria alternata* strain Has.AA-32	Mosul	الموصل	جميع أجزاء النبات	All plant parts
*Has.AA-33	*Alternaria eichhorniae strain* Has.AA-33	Samarra	سامراء	جميع أجزاء النبات	All plant parts
*Has.AA-34	*Alternaria tenuissima strain* Has.AA-34	Mosul	الموصل	جميع أجزاء النبات	All plant parts
Has.AA-35	*Cercospora* sp.	Al Shirqat	الشرقاط	أوراق النبات	Plant leaves
Has.AA-36	*Alternaria* sp.	Al Shirqat	الشرقاط	أوراق النبات	Plant leaves
Has.AA-37	*Alternaria* sp.	Al Shirqat	الشرقاط	جميع أجزاء النبات	All plant parts
Has.AA-38	*Cercospora* sp.	Al Shirqat	الشرقاط	أوراق النبات	Plant leaves

* العزلات الفطرية المستخدمة في هذه الدراسة

*The fungal isolates used in this study



شكل 1. تأثير الفطور المعزولة على إصابة عشبة زهرة النيل ببعض التبقعات المرضية (A)، تأثير الراشح الخالي من الخلايا لعزلات الفطور على شدة مرض نبات زهرة النيل (B).

Figure 1. Effect of isolated fungal isolates on infection with leaf spot of water hyacinth (A), effect the cell-free filtrates of fungal isolates on the disease severity of water hyacinth (B).

شكل 2. تأثير معلق أبواغ العزلة Has.AA-33 في نبات زهرة النيل (يمين)، ومعاملة الشاهد السليم (يسار).

Figure 2. Water hyacinth infected with the spores suspension of the highly pathogenic isolate Has.AA-33 (right), Healthy water hyacinth control (left).

تأثير رواشح الفطور المعزولة من نبات عشبة زهرة النيل في شدة الإصابة

توضح نتائج شكل 1-B أن الراشح الخالي من الخلايا لجميع العزلات الفطرية سبب ظهور أعراض تنخر، تحلل، تغاير ألوان نسيج أوراق نبات زهرة النيل، كما أظهرت النتائج تفوق معنوي لراشح لعزلة *Alternaria alternata* في تسجيل أعلى شدة إصابة على الدغل بلغت 79.6%، تليها الفطور *Alternaria eichhorniae* و *Alternaria tenuissima* والتي سجلت شدة اصابة بلغت 76.4 و 71.8% على التوالي في حين حققت العزلة *Umbelopsis isabellina* أدنى شدة إصابة بلغت 26.6%، بينما لم تسجل أية أعراض إصابة في معاملة الشاهد

ويوضح الشكل 3 تأثير الراشح الخالي من الخلايا للعزلة Has.AA-32 في نبات زهرة النيل.

التشخيص الجزيئي لعزلات الفطور الأكثر امراضية

شخصت خمسة أنواع من الفطور التي أظهرت أعلى إمراضية للدغل بمقارنة التتابع النيوكليوتيدي للجين 5.8S rRNA، يبين الشكل 4-Aالحزم الناشئة عن الترحيل الكهربائي للدنا الجينومي، بينما يبين الشكل 4-B الترحيل الكهربائي لناتج PCR بإستخدام البادئ المتخصص لمضاعفة الجين 5.8S rRNA. بينت نتائج الترحيل ظهور حزم بحجم 600 زوج قاعدي، وهذا دليل على دقة إجراء إختبار PCR وعائدية الحزم الناتجة إلى الفطور تحديداً.

عند إجراء المحاذاة والتطابق مع الفطور المسجلة في موقع NCBI، شخصت العزلات الفطرية عالية الإمراضية لزهرة النيل (Has.AA-30، Has.AA-31، Has.AA-32، Has.AA-33، Has.AA-34) إلى الأنواع *Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-30، *U.* strain Has.AA-31، *Alternaria alternata* isolate strain Has.AA-32، *A.eichhorniae strain* Has.AA-33 و *A. tenuissima strain* Has.AA-34 وسجلت في البنك الوراثي العالمي تحت الأرقام OP251452.1، OP251368.1، OP251367.1، OP251453.1 و OP251365.1، على التوالي. ويبين جدول 3 نسب تشابه التتابعات النيوكليوتيدية للفطور المعزولة مع مثيلاتها المسجلة عالميا (الدول المعزولة منها) في البنك الوراثي العالمي والتي بلغت 98.53–98.99% للعزلات الخمسة المشخصة.

المناقشة

اختلفت فعالية الأنواع الفطرية في شدة إصابة زهرة النيل، وربما يعزى هذا إلى اختلاف التركيب الوراثي لكل عزلة، والذي ينعكس على فسيولوجيا

الفطر وفعاليته الأيضية وقدرته الامراضية على إصابة عشبة زهرة النيل، فضلاً عن عوامل الضراوة المختلفة كالسموم الفطرية مثل: alternariol (AOH)، alternariolmonomethylether (AME)، tenuazonic acid (TA)، alterperylenol (ALTP) و altertoxin I (ATX I) (Gotthardt *et al.*, 2019)، والتي تنتجها أنواع من الفطر *Alternaria* والأنزيمات الهاضمة مثل أنزيمات السليليز والبكتينيز واللاكيز التي تلعب دوراً في تحلل الجدر الخلوية للنبات مما يؤدي إلى اختراق الفطر الممرض والتغذية على أنسجة النبات وإحداث الضرر وظهور الأعراض المرضية. تتفق النتائج الحالية مع العديد من الدراسات التي تؤكد دور الفطور في إصابة زهرة النيل (El-Morsy, 2004، Praveena & Naseema, 2004). يمكن قياس تأثير المبيدات الحيوية لمسببات الأمراض كمعدل النمو المنخفض للنبات المصاب ، وكذلك نقص عدد الأوراق السليمة مقارنة بعدد الأوراق الميتة، والقيم المنخفضة لمكونات النمو الأخرى (Charudatan, 1985).

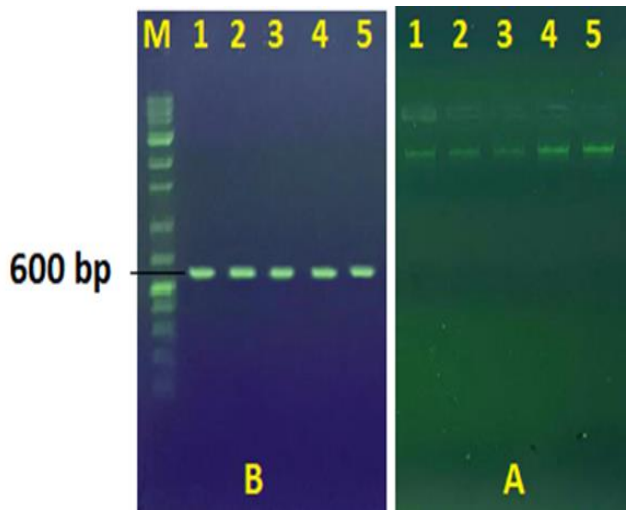
سجلت أعلى شدة إصابة بواسطة الفطور التابعة للجنس *Alternaria* وبخاصة النوعين *A. eichhorniae* و *A. alternata* وهذا يتفق مع دراسات سابقة أكدت أن للفطر *A. alternate* دور في إصابة زهرة النيل (El-Morsy *et al.*, 2006؛ Eulogе *et al.*, 2016).

شكل 3. تأثير الراشح الخالي من الأبواغ للعزلة Has.AA32 في نبات زهرة النيل (يمين)، مقارنة باستخدام الوسط الزرعي السائل غير الملقح كشاهد (يسار).

Figure 3. Water hyacinth infected with the cell-free filtrates of the highly pathogenic isolate, Has.AA-33 (right), compared to healthy water hyacinth control (left).

يبدو أن الفطر *A. eichhorniae* هو الأكثر تأثيراً في إصابة زهرة النيل (Shabana & Charudattan, 1997)، أما الفطر *Umbelopsis isabellina* فلم يسجل كفطر ممرض لزهرة النيل في الدراسات السابقة، وتعدّ هذه الدراسة الأولى التي تشير إلى دور هذا الفطر في إصابة زهرة النيل. بلغت نسبة تشابه التتابع النيوكليوتيدي ITS للعزلات الفطرية 99.09–99.53% مع السلالات المسجلة في البنك الوراثي العالمي مما يعكس وجود اختلاف وراثي كون هذه العزلات عزلت من بيئة مختلفة، تعرضت فيها للمبيدات الكيمياوية والأسمدة الكيمياوية، وتكيفت للعيش تحت تلك الظروف. كما انعكس التباين الوراثي للعزلات الفطرية على قابليتها الامراضية ونواتجها الأيضية من خلال تباين نسبة إصابتها لعشبة زهرة النيل، وهذا يتفق مع الدراسات السابقة التي درست العلاقة بين التغاير الوراثي للممرضات الفطرية والبكتيرية مع إمراضيتها (Hassan *et al.*, 2022؛ Hassan & Ibrahim, 2022).

تتفق هذه النتائج مع ما أشار إليه Shabana (2005) حول وجود هذه الفطور مع نبات عشبة زهرة النيل في مصر، السودان، كينيا وغانا.



شكل 4. (A) الحزم الناشئة عن الترحيل الكهربائي للدنا الجينومي للعزلات الفطرية المختلفة، (B) الترحيل الكهربائي لناتج PCR بإستخدام الباديء المتخصص بمضاعفة الجين 5.8S rRNA ضمن المسارات من 1 إلى 5 والتي تمثل عزلات الفطر المختلفة، و M= سلم الحجم الجزيئي.

Figure 4. (A) Gel electrophoresis of genomic DNA extracted from the different fungal isolates on 1.5% agarose gel for at 5 volt/cm^2 for 1 hour, (B) PCR product amplified 5.8S rRNA of different fungal isolates following electrophoresis on lanes 1-5 represent different fungal isolates, and M=Molecular size ladder.

جدول 2. التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية وفقًا للتسلسلات المتطابقة لمنطقة ITS ضمن الجين 5.8S rRNA مع السلالات الفطرية في قاعدة بيانات الـ NCBI.

Table 2. Molecular identification of fungal isolates according to sequences similarity of the ITS region within 5.8S rRNA gene of fungal strains deposited in the NCBI data base.

السلالات الأكثر تشابهاً The most similar fungal strains	رقم المدخل Accession number	البلد Country	نسبة التشابه (%) Similarity (%)	السلالات الفطرية الموجودة في بنك الجينات العالمي Fungal strains recorded in the World GenBank	أرقام مدخلات الفطور المستخدمة في هذه الدراسة Accession number of fungi registered in this study
Umbelopsis isabellina, strain: 14-4-4	LC100011.1	Japan	98.74	*Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-30	OP251452.1
Umbelopsis isabelline strain: YODK039	AB193545.1	Japan	98.75	*Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-31	OP251368.1
Alternaria alternata isolate Y101-LY-SY	ON973883.1	China	98.53	*Alternaria alternata* strain Has.AA-32	OP251367.1
Alternaria eichhorniae strain DUCC5602	MN783326.1	Korea	98.93	*Alternaria eichhorniae* strain Has.AA-33	OP251453.1
Alternaria tenuissima isolate ScA079	ON796493.1	China	98.99	*Alternaria tenuissima* strain Has.AA-34	OP251365.1

Abstract

El-Shandah, A.N., A.A. Hasan and S.Z. Bakr. 2024. Biological Control of Water Hyacinth, *Eichhornia crassipes* Using Associated Fungi. Arab Journal of Plant Protection, 42(4): 534-540. https://doi.org/10.22268/AJPP-001264

The fungi associated with water hyacinth (*Eichhornia crassipes)* were isolated and identified from different regions on the Tigris River, including; Samarra, Al Dhuluiya, Al Mutasim and Al Shirqat within Salaheddine province. The pathogenic fungal isolates of water hyacinth were molecularly identified, using nucleotide sequence analysis of 5.8S rRNA gene as: *Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-30, *Umbelopsis isabellina* strain Has.AA-31, *Alternaria alternata* strain Has.AA-32, *Alternaria eichhorniae strain* Has.AA-33 and *Alternaria tenuissima* strain Has.AA-34. The highly pathogenic five fungal isolates were deposited in GenBank under the accession numbers OP251452.1, OP251368.1, OP251367.1, OP251453.1 and OP251365.1, respectively. The results obtained showed the presence of 11 fungal isolates with pathogenic effect on the Nile flower weed, with a significant superiority of the spore suspension and filtrate of the isolate Has.AA-33 that showed highest infection severity of 80.7%, followed by the isolates Has.AA-30, Has.AA-31, Has.AA-31, Has.AA-32 and Has.AA-34, whereas no infection was recorded in the control treatment.

Keywords: Water hyacinth, Tigris River, *Eichhornia crassipes*, pathogenic fungi, biological control, molecular identification.

Affiliation of authors: *A.N. El-Shandah[1*], A.A. Hasan[2] and S.Z. Bakr[2], (1) General authority for operating and maintaining Tigris River basin, Ministry of Water Resources in Salaheddine, Iraq; (2) Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tikrit University, Iraq. [*]Email address of the corresponding author: Ahmed.natiq88@gmail.com*

References

المراجع

Center, T.D. M.P. Hill, H. Cordo and M.H. Julien. 2002. Water hyacinth. Pp. 41-64. *In:* Biological Control of Invasive Plants in the Eastern United States. R. Van Driesche, S. Lyon, B. Blossey, M. Hoddle and R. Reardon (eds.). Report FHTET-2002-04, USDA-Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team, Morgantown, WV, USA.

Center, T.D. and Jr. Dray. 2010. Bottom-up control of water hyacinth weevil populations: do the plants regulate the insects. Journal of Applied Ecology, 47(2):329-337. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01769.x

Charudattan, R., S.B. Linda, M. Kluepfel and Y.A. Osman. 1985. Biocontrol efficacy of *Cercospora rodmanii* on waterhyacinth. Phytopathology, 75(11):1263-1269. https://doi.org/10.1094/Phyto-75-1263

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. Published by Commonwealth Agricultural Bureaux. 608 pp.

El-Morsy, M.E. 2004. Evaluation of microfungi for biological control of water hyacinth in Egypt. Fungal Diversity, 16:35-51.

El-Morsy, M.E., S.M. El-Dohlob and K.D. Hyde. 2006. Diversity of *Alternaria alternata* a common destructive pathogen of Eichhornia crassipes in Egypt and its potential use in biological control. Fungal Diversity, 23:139-158.

Euloge, F.M., A. Gnancadja, S. Léopold and A. Paraizo. 2016. Impact of different levels *Alternaria Alternata* on the weights. leaves and the number of flowers of the water hyacinth in a controlled environment. Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences Section B, (6)3:973-987.

Freeman, T.E. and R. Charudattan. 1984. *Cercospora rodmanii* Conway, a biocontrol agent of water hyacinth. Florida Agricultural Experiment Station Bulletin 842. University of Florida, Gainesville, FL, USA. 18 pp.

Gore, J., A. Lloyd, M. Smith, J. Bowe, H. Ellis and D. Lubans. 2017. Effects of professional development on

the quality of teaching: Results from a randomised controlled trial of quality teaching rounds. Teaching and Teacher Education, 68:99-113. https://doi.org/10.1016/j.tate.2017.08.007

Gotthardt, M., S.S. Asam, K Gunkel, A.F. Moghaddam, E. Baumann, R. Kietz and M. Rychlik. 2019. Quantitation of six Alternaria toxins in infant foods applying stable Isotope labeled standards. Frontiers in Microbiology, 10:109. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00109

Hassan, A.A., I. Abed and A. Shafeeq. 2022. Isolation and molecular characterization of the pathogens *Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas tolaasii* on the edible mushroom *Agaricus bisporus* and evaluation of some desert plant extracts to control them. Tikrit Journal for Agricultural Sciences, 22(1):134-148. https://doi.org/10.25130/tjas.22.1.13

Hassan, A.A. and M.T. Ibrahim. 2022. Isolation, morphological and molecular identification of the pathogenic and competitors fungi associated with the edible mushroom *Pleurotus* sp. and their control. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1225:1-17. https://doi.org.10.1088/1755-1315/1060/1/012118

Julien, M.H., M.W. Griffiths and J.N. Stanley. 2001. Biological control of water hyacinth. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia, Monograph No.71, 91pp.

Julien, M., R. McFadyen and J. Cullen. 2012. Biological Control of Weeds in Australia. CSIRO Publishing Melbourne, Australia. 620 pp. https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2012.00868.x

Julien, M.H., M.W. Griffiths and A.D Wright. 1999. Biological control of water hyacinth. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. 87pp.

Lata, N. and V. Dubey. 2010. *Eichhornia crassipes* a suitable economic feed: The world's worst aquatic weed. Journal of Food Technology, 8(3):102-105. https://doi.org/10.3923/jftech.2010.102.105

Patel, S. 2012. Threats, management and envisaged utilizations of aquatic weed *Eichhornia crassipes*: an overview. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 11:249-259. https://doi.org/10.1007/s11157-012-9289-4

Praveena, R. and A. Naseema. 2004. Fungi occurring on water hyacinth [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms] in Kerala. Journal of Tropical Agriculture, 42:21-23.

Shabana, Y.M. and R. Charudattan. 1997. Preparation and regeneration of mycelial protoplasts of *Alternaria eichhorniae*. Journal of Phytopathology, 145(8-9):335-338. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1997.tb00410.x

Shabana, Y.M. 2004. The use of oil emulsions for improving the efficacy of *Alternaria eichhorniae* as a mycoherbicide for waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*). Biological Control, 32(1):78-89. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.07.015

Singh, B. and I.D. Mackinnon. 1996. Experimental transformation of kaolinite to halloysite. Clays and Clay Minerals, 44(6):825-834. https://doi.org/10.1346/CCMN.1996.0440614

Smith, B.C., C.A. Curran and K.W. Brown. 2004. Toxicity of four surfactants to juvenile rainbow trout: implications for use over water. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 72:647-654. https://doi.org/10.5941/MYCO.2016.44.2.85

Supmaneenan, N, K. Bhaktikul, P. Thavipoke and V. Boonkird. 2003. A study on the consumptive use of Water Hyacinth, Water Lettuce and Duckweed. Pp. 474-485. Proceeding of the 30th Anniversary and Annual Conference. June 19-20, 2003, Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand.

Tegene, S., T. Hussein, T. Tessema, F. Yirefu, B. Carmen, and M. Gossmann. 2012. Exploration of fungal pathogens associated with water hyacinth [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms Laubach] in. Ethiopia. African Journal of Agricultural Research, 7(1):11-18. https://doi.org/10.5897/AJAR11.222

Tellez, T.R., E.M. de Rodrigo Lopez, G.L. Granado, E.A. Pérez, R.M. Lopez and J.M.S. Guzmán. 2008. The water hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in the Guadiana River basin (Spain). Aquatic Invasions, 3(1):42-53. http://dx.doi.org/10.3391/ai.2008.3.1.8

Villamagna, A.M. and B.R. Murphy. 2010. Ecological and socio- economic impacts of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): a review. Freshwater Biology, 55(2):282-298. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02294.x

White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 310-322. *In:* PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. M.A. Innis, D. H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White (eds.). Academic Press, London, UK.

Wilson, J.R.O., T.D. Center, M.P. Hill and M.H. Julien. 2007. The decline of water hyacinth on Lake Victoria was due to biological control by *Neochetina* spp. Aquatic Botany, 87(1):90-93. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2006.06.006

Woudenberg, J.H.C., J.Z. Groenewald, M. Binder and P.W. Crous. 2014. *Alternaria* redefined. Studies in Mycology, 75(1):171–212. https://doi.org/10.3114/sim0015

Zhang, Y., D. Zhang and S. Barrett. 2010. Genetic uniformity characterises the invasive spread of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), a clonal aquatic plant. Molecular Ecology, 19(9):1774-1786. https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2010.04609.x

Received: June 26, 2023; Accepted: October 9, 2023

تاريخ الاستلام: 2023/6/26؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2023/10/9