

## تشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الرقي وتقييم كفاءة البكتريا المرافقة لجذور النباتات السليمة مكافحة المرض تحت ظروف البيت الزجاجي

كامل سلمان جبر

صفاء نعمت حسين\*

أستاذ

باحث

قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد

safaahussein03@gmail.com

المستخلص

هدف البحث إلى تشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الرقي في بعض المحافظات الوسطى والجنوبية من العراق وتقييم قدرته الأمراضية ومكافحته باستعمال البكتريا المشجعة للنمو (PGPR) معزولة من المحيط الجذري لنباتات رقي سليمة. ظهر الفطر *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* في جميع العينات بتكرار بين 27-80%. تباينت العزلات في قدرتها الأمراضية على بذور اللهانة، إذ تراوحت نسبة الإنبات بين 0-88% بسبب العزلاتان T4FS-15 و D5FS-2 منع إنبات البذور بالكامل مقارنةً بمعاملة القياس التي بلغ إنبات البذور فيها 96%. كانت العزلات جميعها ممرضة للرقي تحت ظروف البيت الزجاجي وحقت العزلاتان T4FS-15 و D5FS-2 خفضاً في النسبة المئوية لإنبات بذور الرقي إلى 5% مقارنةً بمعاملة القياس 100% وارتفاعاً في النسبة المئوية لشدة المرض للمجموعين الخضري والجذري والذي بلغ في معاملتيهما 98.12% و 98.50% و 98.00% بالتتابع مقارنةً بمعاملة القياس التي كانت صفراً للمجموعين الخضري والجذري. عزل 71 عزلة بكتيرية من المحيط الجذري لنباتات الرقي السليمة تفوقت 10 عزلات منها في خفض معدل نمو عزلة الفطر الممرض T4FS-15 بلغت نسبة التثبيط في معاملتها 100% مقارنةً بمعاملة القياس التي ملئت الطبق بعد 7 أيام. شخصت 10 عزلات بتقنية Vitiq2 Compact System وظهرت الأنواع *Achromobacter denitrificans* و *Granulicatella xylosoxidans* و *Acinetobacter haemolyticus* و *Acromonas salmonicida* و *Enterococcus columbae* و *Serratia odorifera* و *Kocuria rosea* و *elegans* و *Streptococcus thoralensis* و *Sphingomonas paucimobilis* يعد تشخيصها لأول مرة في العراق.

الكلمات المفتاحية: *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*، PGPR، تعفن جذور وقواعد السيقان.

\*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 46(1): 11-20, 2015

Hussein & Juber

### IDENTIFICATION OF THE CAUSAL AGENT OF CROWN AND ROOT ROT DISEASE OF WATERMELON AND EFFICIENCY OF DISEASE CONTROL UNDER GREENHOUSE CONDITIONS

S. N. Hussein\*

K. S. Juber

Researcher

Prof.

Dept. of Plant Protection – Coll. of Agric. – Univ. of Baghdad

safaahussein03@gmail.com

#### ABSTRACT

This research was aimed to identify the causal agent of crown and root rot disease of watermelon in some provinces in middle and south of Iraq, assess pathogenicity of the causal agent and control it by using bacteria (PGPR) isolated from the rhizosphere of healthy watermelon plants. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* was present in all the tested samples with frequency between 27-80%. Pathogenicity test using cabbage seeds showed variation in pathogenicity ability as germination percentage ranged between 0-88% with superior isolate T4FS-15 and D5FS-2 as completely prevented germination of seeds compared to the control treatment which reached 96%. The results showed that all isolates was pathogenic to watermelon plants under greenhouse conditions, isolates T4FS-15 and D5FS-2 achieved a reduction of seeds germination to 5% compared to control treatment which achieved 100% , and achieved an increase in the percentage of the disease severity of shoot and root system in its treatments reached 98.12 % , 98.00 % and 98.50 % , 98.00 % respectfully compared to the control treatment which was 0% for shoot and root system. Seventy one bacterial isolates were isolated from the rhizosphere of the healthy watermelon plants. Antagonism ability of this isolates against the fungal isolate T4FS-15 showed superior of 10 bacterial isolates which achieved 100% growth inhibition compared to the control treatment which filled the dish after 7 days. Identification of the 10 bacterial isolates by Vitiq2 compact system technique present the species *Achromobacter denitrificans*, *A. xylosoxidans*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acromonas salmonicida*, *Enterococcus columbae*, *Granulicatella elegans*, *Kocuria rosea*, *Serratia odorifera*, *Sphingomonas paucimobilis* and *Streptococcus thoralensis* were identified for the first time in Iraq.

Key Words: *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*, Watermelon, PGPR, Root and crown rot.

\*Part of M.Sc. Thesis of first author.

## المقدمة

الرقى *Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum and Nakai من العائلة القرعية (Cucurbitaceae) من أهم الفواكه المتداولة عالمياً (13، 21)، بلغت مساحة زراعته في العراق بحوالي 26000 هكتار لعام 2012 وبلغ إجمالي الإنتاج 350000 طن متري (18). يتعرض محصول الرقى للإصابة بعدد من المسببات المرضية من بينها الفطر *Fusarium solani* f. sp *cucurbitae* مسبب مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان، وهو أحد العوامل المحددة لزراعة المحصول في معظم دول العالم (3، 4، 11، 12) الذي يصيب معظم محاصيل العائلة القرعية (40، 46). يحدث الفطر سقوط بادرات (Damping off) وتقزم وذبول مفاجئ خلال مراحل نمو النبات، تظهر الأعراض المميزة للمرض اعتماداً على الظروف البيئية وعمر النبات عند الإصابة وكثافة النباتات وضراوة مجتمع المسبب المرضي، وتظهر أعراض تعفن في قواعد السيقان وقشرة الجذور على النباتات البالغة بشكل مثالي يتبعها اصفرار المجموع الخضري والذبول خلال الأوقات عالية الحرارة من اليوم وموتها بالنهاية، يسبب الفطر كذلك تعفن الثمار (5، 15، 29). شخص للفطر حتى الآن سلالتان فسيولوجيتان 1 و2 تختلفان في انتشارهما وضراوتهما على أصناف الرقى وتعد السلالة 1 الأكثر انتشاراً في العالم وتسبب تعفن الجذور وقواعد السيقان والساق والثمار في حين تسبب السلالة 2 تعفن الثمار فقط (11، 31، 33، 46). لا يوجد ما يشير إلى فعالية التطعيم أو وجود أصناف مقاومة للمرض (20، 44، 46). استخدمت الطرائق الكيميائية لمكافحة المرض لكنها ضارة بالبيئة، فضلاً عن أن معظم المبيدات الكيميائية الفعالة حضر استعمالها عالمياً مثل بروميد الميثيل (2، 29، 40، 41)، ولا توجد مكافحة فعالة ضد المرض في الوقت الحاضر (40). اتجه الباحثون إلى استخدام الاحياء المضادة التي هي جزء من النظام البيئي (17، 25). لأهمية الرقى في العراق وظهور حالات التدهور الشديدة في المناطق الرئيسية لزراعته اجريت هذه الدراسة لتشخيص الفطر المسبب للتدهور في محافظات من المنطقة الوسطى والجنوبية من العراق، واختبار مقدرة العزلات الامراضية، وعزل بكتريا الجذرية منشطة لنمو

النبات من منطقة جذور نباتات الرقى السليمة واختبار قابليتها التضادية للفطر المرض وتخليصها.

## المواد والطرائق

## عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الرقى

جمعت عينات من نباتات الرقى من حقول محافظات بابل وذي قار وكربلاء وبغداد وديالى والانبار تبداً عليها أعراض المرض التي تمثلت باصفرار أوراق النباتات ولاسيما القديمة وذبول وتيبس بعضها وتعفن الجذور وقواعد السيقان وتلونها بلون بني (15). غسلت أجزاء من الجذور وقواعد السيقان من النباتات التي ظهرت عليها أعراض التعفن والتقرحات بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة وقطعت الى أجزاء صغيرة بطول 0.5-1سم وعقمت سطحياً بمحلول هاييوكلورات الصوديوم 1% المحضر من المحلول التجاري فاس 5% لمدة دقيقتين. غسلت القطع بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقتين وجففت بورق ترشيع معقم ونقل كل اربعة قطع الى طبق بترى قطر 9 سم حاوٍ على وسط البطاطا دكستروز (PDA) من إنتاج شركة CDH Bioscience الهندية، بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة (121م° وضغط 1.5كغم/سم<sup>2</sup> لمدة 15 دقيقة) اضيف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200 ملغم/لتر وحضنت الأطباق في 25±1 م° لمدة 7 أيام، بعدها فحصت الأطباق ونقبت عزلات الفطر بطريقة البوغ المنفرد وذلك بوضع شريحة زجاجية معقمة في طبق بترى معقم وصب عليه طبقة خفيفة من الوسط الزرعي المعقم Water Agar (12غم أكر ولتر ماء مقطر) وترك ليتصلب في كابينة العزل، بعدها تم استخراج الشريحة المغطاة بالوسط الزرعي بمشرط معقم. استعمل لوب معقم تم امراره على مزرعة الفطر النامية على الوسط الزرعي PDA عمر 7 أيام في عمل تخطيط على الوسط الزرعي المغطي للشريحة الزجاجية وفحصت تحت مجهر ضوئي معقم سطحياً بالكحول 70% موضوع في كابينة الفحص وباستعمال قوة التكبير X10 لتحديد بوغ منفرد نامي بموقع مناسب للعزل وبعد تحديد البوغ تم رفع البوغ باستعمال ابرة معقمة أو سلك معدني معقم قطر 0.1 ملم وزرع على الوسط الزرعي PDA وكررت لعدة مرات ثم حضنت في درجة حرارة 25±1 لمدة 7 أيام واعتمدت هذه المستعمرات أساساً لحفظ العزلات،

من إنتاج شركة Vilmorin الفرنسية معقمة سطحياً بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم 1%. وزعت الأصص حسب التصميم تام التعشية وبأربعة مكررات لكل معاملة بضمنها معاملة القياس من دون اضافة الفطر الممرض. سقيت الأصص بعناية وغطيت بأكياس بولي أثيلين مثقبة لمدة 72 ساعة وتم حساب نسبة الإنبات بعد 7 أيام والنسبة المئوية للمرض بعد 40 يوم من الزراعة. قدرت شدة المرض في المجموع الخضري بإتباع الدليل المرضي 0 = الأوراق سليمة و 1 = فقدان الأوراق لنظارتها وتدلي حوافها و 2 = اصفرار متباين في الأوراق و 3 = اصفرار الأوراق وجفاف وموت أجزاء منها و 4 = موت الأوراق (2). حسب شدة المرض في الجذور وقواعد السيقان على وفق الدليل المرضي 0 = جذور سليمة خالية من الأعراض المرضية و 1 = تلون طفيف في الجذور بلون بني فاتح مع بقاء قاعدة الساق سليمة و 2 = تلون أقل من نصف المجموع الجذري بلون بني فاتح مع بقاء قاعدة الساق سليمة و 3 = تلون أكثر من نصف المجموع الجذري بلون بني وإمتداد التلون الى قاعدة الساق و 4 = تلون معظم المجموع الجذري وقاعدة الساق بلون بني قاتم و 5 = تلون كلي للجذور وقاعدة الساق بلون بني قاتم أو موت النبات (35)، وحسبت النسبة المئوية لشدة المرض حسب معادلة McKinney (32).

#### عزل وتنقية البكتريا المرافقة لجذور نباتات الرقي السليمة

جمعت عينات من جذور نباتات رقي سليمة انتخبت على أساس نموها الخضري الجيد قياساً مع نباتات أخرى مع التربة العالقة بها من حقول في بابل وبغداد والأنبار وذي قار ودبالي وكربلاء. عزلت البكتريا باستعمال تخافيف لعينات تربة من منطقة جذور الرقي السليمة، اضيف 1 مل من عالق التربة إلى أنابيب معقمة تحتوي على 9 مل من الوسط الزراعي السائل المعقم (10 غم Peptone و 10 غم Beef extract و 5 غم Sodium chloride و لتر ماء مقطر). حضنت الأنابيب في درجة حرارة 28±2 م° لمدة 2-3 يوم وأخذ لقاح باستعمال الابرة ذات العقدة Loop معقمة من الأنابيب ونشرت بطريقة التخطيط على سطح طبق بتري يحتوي على الوسط الزراعي الصلب المعقم (6 غم Peptone و 1 غم Beef extract و 2 غم Yeast extract و 5 غم Sodium chloride و 14 غم Agar و لتر ماء مقطر)

وشخصت إلى مستوى الجنس والنوع اعتماداً الصفات المزرعية والمظهرية وإتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة (9، 10) وحسبت النسبة المئوية لظهور الفطر وتكراره كما في Ganzalez وآخرون (19).

#### الكشف عن عزلات الفطر *F. solani* الممرضة باستعمال بذور اللهانة

اختبرت المقدرة الامراضية لخمسين عزلة من *Fusarium solani* حسب طريقة Bolkan و Butler (8). حضر الوسط الزراعي Water Agar وعقم بجهاز بالمؤصدة وبعد وصوله لدرجة 45 م° تقريباً اضيف اليه المضاد الحيوي Tetracycline بمقدار 200 ملغم/لتر ورج جيداً بعدها صب في أطباق بتري بلاستيك قطر 9 سم بمقدار 15-20 مل/طبق. تركت الأطباق لتتصلب، ثم لقت في مركزها بقرص قطر 0.5 سم من مزارع العزلات المنماة على الوسط الزراعي PSA لمدة 7 أيام كلاً على انفراد. حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±1 م° لمدة 3 أيام، بعدها وضعت 25 بذرة/طبق من بذور لهانة محلية اختبرت نسبة إنباتها مسبقاً معقمة سطحياً بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم 1% بصورة دائرية قرب حافة الطبق. تم وضع الأطباق في حاضنة في درجة حرارة 25±1 م°. استعملت 4 أطباق لكل عزلة كمكررات فضلاً عن معاملة القياس من دون الفطر وبعد 7 أيام سجلت النتائج لحساب نسبة الانبات.

#### تأثير عزلات الفطر *F. solani* في إنبات بذور الرقي ونباتاتها تحت ظروف البيت الزجاجي

اجريت هذه التجربة في البيت الزجاجي (قسم وقاية النبات- كلية الزراعة-جامعة بغداد). حضر لقاح عزلات *F. solani* التي سببت خفصاً في انبات بذور اللهانة: T4FS-15 و T4FS-2 و D5FS-7 و D5FS-1 و K8FS-1 و B1FS-4 و T4FS-4 و D5FS-5 و D5FS-3 و T4FS-2 و T4FS-14 و T4FS-6 و T4FS-1 و A3FS-1 و K8FS-3 و T4FS-8 و T4FS-12 و B1FS-1 و A3FS-7 و Z2FS-6 و T4FS-13 و T4FS-16 و T4FS-11 و T4FS-10 و A3FS-2 و B6FS-6 و باستعمال بذور الدخن المحلي، اضيف اللقاح إلى تربة مزيجية معقمة بغاز بروميد المثل (500 غم/م<sup>3</sup>) في أصص سعة 1كغم تربة بنسبة 1% (وزن/وزن). زرعت عشر بذور رقي في كل أصيص صنف Charleston Gray

كروم ومن ضمنها بكتريا Enterococci و Streptococci و Staphylococci. كل بطاقة كاشفة تتضمن 64 حقلًا كاشفًا وكل حقل مسؤول عن اختبار كيموحيوي محدد كاختبار الحامضية والقاعدية وأنزيمات التحلل واختبار النمو البكتيري بوجود مواد مثبطة.

#### النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الرقي

شخص الفطر *F. solani* في جميع عينات الدراسة (جدول 1) بنسب تكرار تراوحت بين 27.50-80.00% وكان أعلى تكرار في عينة محافظة ديالى/خانقين بلغت 80% ولعل ذلك يعود إلى أن هذه المناطق متخصصة في زراعة الرقي الذي يزرع فيها سنوياً مما أدى إلى تراكم لقاح يكونه هذا الفطر. أبواغ كلاميديية تبقى في التربة حيه لمدة تصل الى 3 سنوات بغياب العائل (29) أو لاستعمال بذور حاملة للفطر الممرض في الزراعة، واتفقت هذه النتيجة مع ما ذكرته دراسات سابقة حول تصدر وسيادة هذا النوع في حقول محصول الرقي (23).

جدول 1. تكرار عزلات *F. solani* المرافقة لجذور وقواعد

#### سيقان الرقي

المنطقة	تكرار <i>F. solani</i> في العينة (%)
بابل / المهنائوية	32.5
بغداد/ كلية الزراعة	36.11
الأنبار/ حصيبة	60
ذي قار/ الرفاعي	42.59
ديالى/ خانقين	80
بابل/ المسيب	54.16
بغداد/ التاجي	45
كربلاء/ الهنديية	50

اظهر الفطر غزلاً فطرياً أبيض إلى كريمي اللون على الوسط الزرعي PDA كما اظهر الفحص المجهرى تكوين الفطر ثلاثة أنواع من الأبواغ وهي أبواغ كونيديية صغيرة (*Microconidia*) بيضوية، اهليجية، كلوية ومغزلية غير مقسمة وبعضها مقسم بحاجز إلى خليتين تنتج من *Monophilides* طويلة تحمل جانبياً على حامل في غزل فطري هوائي، وأبواغ كونيديية كبيرة (*Macroconidia*) مغزلية إلى اسطوانية غير متماثلة متغايرة في أبعادها ومقسمة بحواجز عرضية عددها 1-7، والنوع الثالث من الأبواغ هو

وحضنت الأطباق الملقة بالبكتريا في درجة حرارة  $28 \pm 2$  ° لمدة 24 ساعة وكررت عملية التنقية لعدة مرات بأخذ مسحة من مستعمرة مفردة باستعمال ابرة معقمة ولقحت الأطباق بطريقة التخطيط لغرض الحصول على مستعمرات بكتيرية نقية.

#### اختبار المقدرة التضادية لعزلات البكتريا ضد *Fusarium solani*

اختبر تضاد 71 عزلة بكتيرية من تربة حول جذور نباتات الرقي السليمة ضد العزلة T4FS-15 من للفطر *F. solani* على الوسط الزرعي PSA بطريقة تسميم الوسط الزرعي بإضافة 1 مل من عالق كل عزلة بكتيرية على انفراد في الوسط الزرعي السائل بعمر 3 أيام الى طبق بتري معقم بماصة معقمة وصب فوقها 15-20 مل من الوسط الزرعي PSA المعقم قبل تصلب الوسط حركت الأطباق حركة رجوية لتوزيع وتجانس اللقاح البكتيري في الوسط الزرعي. لقح مركز الأطباق بالعزلة الفطرية المنتخبة بوضع قرص قطر 0.5 سم من حافة مستعمرة الفطر النامية على الوسط الزرعي PDA عمر 7 أيام. كررت كل معاملة 4 مرات وتركت 4 أطباق دون إضافة اللقاح البكتيري كمعاملة سيطرة. حضنت الأطباق في درجة حرارة  $25 \pm 1$  ° وسجلت بيانات التجربة بقياس الأقطار المتعامدة كل يومين لحين وصول نمو الفطر في معاملة القياس الى حافة الاطباق ولحساب النسبة المئوية للتنشيط.

#### تشخيص عزلات البكتريا التي اظهرت قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض

لتفريق العزلات البكتيرية العشرة التي اعطت نسبة تنشيط 100% لعزلة الفطر الممرض في الاختبار السابق إلى سالبة وموجبة لصبغة كرام اتبعت طريقة Schaad (42) واكدت هذه الخطوة بزرع العزلات العشرة على الوسط الزرعي التفريقي MacConkey Agar من إنتاج شركة Neogen الأمريكية (34). شخصت العزلات البكتيرية باستعمال تقانة Vitek 2 Compact System عدة قياسية تحوي بطاقات كاشفة (GN Card) لاختبار مجاميع البكتريا السالبة لصبغة كرام ومن ضمنها بكتريا Enterobacteriaceae ومجموعة البكتريا العصوية السالبة غير المخمرة لللاكتوز و GP Card متخصصة لاختبار مجاميع البكتريا المكورة الموجبة لصبغة

وA3FS-7 وZ2FS-6 وT4FS-13 وT4FS-16 وT4FS-11 وT4FS-10 وA3FS-2 وB6FS-6، إذ حققت خفضاً معنوياً في نسبة إنبات بذور اللهانة تراوحت بين 2-36% (جدول 2)، حققت العزلات الأخرى خفضاً معنوياً تراوح بين 42-88%. تتفق هذه النتائج مع ما وجدته Matloob (30). اختير بذور اللهانة في هذا الاختبار بسبب حساسيتها العالية للمسببات المرضية (8). قد يعزى سبب التباين في المقدرة المرضية لهذه العزلات الفطرية إلى التغيرات الوراثية بين أفراد النوع ولاسيما أنها معزولة من مناطق مختلفة، وإنتاج الأنزيمات المحللة للبروتين والسليولوز يؤدي إلى تعفن البذور ومنعها من الإنبات (7، 28، 43).

## جدول 2. الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F. solani* باستعمال بذور اللهانة

الأنبات %	رمز العزلة	الأنبات %	رمز العزلة	الأنبات %	رمز العزلة
56	D5FS-6	28	A3FS-7	96	القياس
56	Z2FS-2	28	Z2FS-6	0	T4FS-15
56	T5FS-4	32	T4FS-13	0	D5FS-2
60	B6FS-6	32	T4FS-16	2	D5FS-7
64	T4AS-2	32	T4FS-11	12	K8FS-1
68	Z2FS-5	34	T4FS-10	16	B1FS-4
68	B1FS-5	36	A3FS-2	16	T4FS-4
68	B6FS-4	36	B6FS-6	16	D5FS-5
68	D5FS-4	42	B6FS-2	20	T4FS-14
68	A3FS-5	42	Z2FS-1	20	T4FS-2
72	D5FS-1	43	G7FS-2	20	D5FS-3
72	D5FS-8	44	B6FS-9	20	T4FS-6
80	A3FS-6	44	B1FS-3	24	A3FS-1
86	A3FS-4	48	Z2FS-3	24	K8FS-3
88	T4FS-1	48	Z2FS-4	24	T4FS-8
88	D5FS-9	52	T4FS-6	24	T4FS-12
88	B6FS-1	56	A3FS-3	28	B1FS-1
				6.09	LSD (%5)

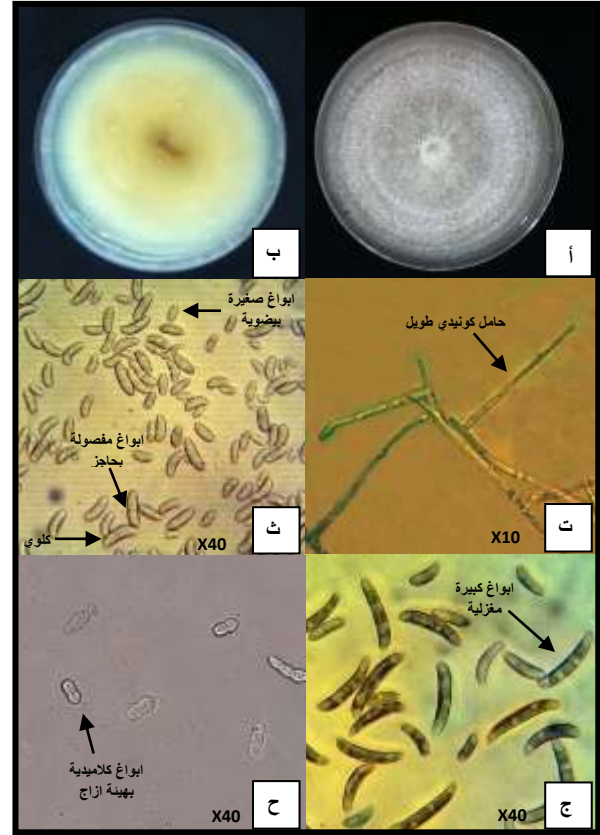
\* كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

\* العزلتان T4FS15 و D5FS-2 منعت إنبات البذور بالكامل.

## تأثير عزلات *F. solani* في إنبات بذور الرقي ونباتاتها تحت ظروف البيت الزجاجي

جميع العزلات المختبرة من *F. solani* سببت خفضاً معنوياً في نسبة إنبات بذور الرقي (جدول 3)، إذ تراوحت نسبة الإنبات في معاملاتها بين 5.00-37.50% مقارنةً بمعاملة القياس من دون إضافة الفطر الممرض والتي كانت نسبة الإنبات فيها 100% بعد سبعة أيام من الزراعة، وقد تفوقت العزلتان T4FS-15 و D5FS-2 عن بقية العزلات إذ بلغت

الأبواغ الكلاميدية وتكون مفردة أو بهيئة أزواج في فروع جانبية صغيرة أو في وسط الغزل الفطري (شكل 1). جاءت هذه النتائج مطابقة لما ذكر في دراسات سابقة (9، 10، 26).



شكل 1. الصفات المزرعية والمجهريّة للفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الرقي. (أ) طبيعة وشكل النمو لعزلات الفطر من أعلى الطبقة. (ب) شكل نمو الفطر من أسفل الطبقة. (ت) حوامل كونيديّة طويلة من نوع Monophialides وهي الصفة التصنيفية المميزة للفطر. (ث) ابواغ كونيديّة صغيرة Microconidia. (ج) ابواغ كونيديّة كبيرة Macroconidia. (ح) ابواغ كلاميدية.

## الكشف عن عزلات الفطر *F. solani* الممرضة باستعمال بذور اللهانة

إن جميع عزلات الفطر *F. solani* احدثت خفضاً معنوياً في نسبة إنبات بذور اللهانة (جدول 2). تراوحت نسبة الإنبات في المعاملات بين 0-88% قياساً بمعاملة القياس من دون إضافة اللقاح الفطري التي بلغت نسبة الإنبات فيها 96%. تفوقت العزلتان T4FS-15 و D5FS-2 على بقية العزلات إذ منعت إنبات البذور بالكامل، تلتها العزلات D5FS-7 و K8FS-1 و B1FS-4 و T4FS-4 و D5FS-5 و T4FS-14 و T4FS-2 و D5FS-3 و T4FS-6 و T4FS-8 و T4FS-12 و B1FS-1 و T4FS-1 و T4FS-10 و T4FS-11 و T4FS-13 و T4FS-16 و T4FS-1 و T4FS-2 و T4FS-3 و T4FS-4 و T4FS-5 و T4FS-6 و T4FS-7 و T4FS-9 و T4FS-12 و T4FS-15 و T4FS-16 و T4FS-17 و T4FS-18 و T4FS-19 و T4FS-20 و T4FS-21 و T4FS-22 و T4FS-23 و T4FS-24 و T4FS-25 و T4FS-26 و T4FS-27 و T4FS-28 و T4FS-29 و T4FS-30 و T4FS-31 و T4FS-32 و T4FS-33 و T4FS-34 و T4FS-35 و T4FS-36 و T4FS-37 و T4FS-38 و T4FS-39 و T4FS-40 و T4FS-41 و T4FS-42 و T4FS-43 و T4FS-44 و T4FS-45 و T4FS-46 و T4FS-47 و T4FS-48 و T4FS-49 و T4FS-50 و T4FS-51 و T4FS-52 و T4FS-53 و T4FS-54 و T4FS-55 و T4FS-56 و T4FS-57 و T4FS-58 و T4FS-59 و T4FS-60 و T4FS-61 و T4FS-62 و T4FS-63 و T4FS-64 و T4FS-65 و T4FS-66 و T4FS-67 و T4FS-68 و T4FS-69 و T4FS-70 و T4FS-71 و T4FS-72 و T4FS-73 و T4FS-74 و T4FS-75 و T4FS-76 و T4FS-77 و T4FS-78 و T4FS-79 و T4FS-80 و T4FS-81 و T4FS-82 و T4FS-83 و T4FS-84 و T4FS-85 و T4FS-86 و T4FS-87 و T4FS-88 و T4FS-89 و T4FS-90 و T4FS-91 و T4FS-92 و T4FS-93 و T4FS-94 و T4FS-95 و T4FS-96 و T4FS-97 و T4FS-98 و T4FS-99 و T4FS-100.

جدول 4. تأثير العزلات الممرضة للفطر *F. solani* في نباتات الرقي تحت ظروف البيت الزجاجي

شدة المرض (%)		نسبة المرض (%)	رمز العزلة
المجموع الجذري	المجموع الخضري		
0.00	0.00	0.00	القياس
98.50	98.12	100.00	T4FS-15
98.00	98.00	100.00	D5FS-2
97.00	96.88	100.00	T4FS-16
92.50	91.25	100.00	D5FS-7
91.00	91.38	100.00	T4FS-14
88.00	91.25	100.00	K8FS-1
92.00	91.88	100.00	K8FS-3
92.50	91.50	100.00	A3FS-1
93.00	90.38	100.00	T4FS-12
93.00	90.00	100.00	D5FS-5
88.50	86.88	100.00	T4FS-4
91.50	86.25	97.50	T4FS-11
86.50	84.38	100.00	T4FS-10
87.50	87.50	100.00	T4FS-13
87.00	84.38	100.00	A3FS-7
85.00	83.12	100.00	Z2FS-6
88.00	83.12	100.00	B1FS-4
85.00	82.50	100.00	D5FS-3
82.00	86.25	100.00	T4FS-2
82.50	83.75	100.00	B1FS-1
84.50	89.38	100.00	T4FS-6
84.00	86.25	100.00	B6FS-6
78.50	80.00	100.00	T4FS-8
78.50	76.25	100.00	A3FS-2
3.64	3.43	1.84	(%5)LSD

\* كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

\* حققت العزلتان T4FS-15 و D5FS-2 أعلى شدة مرض في المجموعين الجذري والخضري

عزل وتنقية البكتريا المرافقة لجذور نباتات الرقي السليمة

أظهرت الدراسة وجود 71 عزلة بكتيرية في التربة المحيطة بجذور نباتات الرقي السليمة من مناطق جمع العينات. تباينت انواع البكتريا تبعاً لمناطق جمع العينات وقد يعزى ذلك لتباين الظروف البيئية السائدة ونوع التربة ومصادر مياه الري فضلاً عن محدودية النماذج المدروسة.

اختبار المقدرة التضادية لعزلات البكتريا ضد *Fusarium solani*

تفوقت 10 عزلات بكتيرية وهي T4S-3 و K6S-5 و K6S- و D5S-1 و D5S-9 و K6S-4 و G2S-8 و D5S-7 و D5S-3 و D5S-6 و G2S-2، إذ بلغت نسبة تثبيطها لعزلة الفطر الممرض T4FS-15 100% بطريقة تسميم الوسط الزراعي مقارنةً بمعاملة القياس التي ملئت الطبق بعد 7 أيام من الحضانة (شكل 2).

نسبة الإنبات فيها 5.00%، كما تراوحت نسبة المرض التي سببتها العزلات الفطرية بين 97.50-100.00% (جدول 4) ويفروق معنوية عن معاملة القياس والتي كانت نسبة المرض فيها صفراً.

جدول 3. تأثير العزلات الممرضة للفطر *F. solani* في إنبات بذور الرقي تحت ظروف البيت الزجاجي

رمز العزلة	الانبات (%)	رمز العزلة	الانبات (%)
القياس	100.00	T4FS-10	22.50
T4FS-15	5.00	T4FS-13	25.00
D5FS-2	5.00	A3FS-7	25.00
T4FS-16	7.50	Z2FS-6	25.00
D5FS-7	12.50	B1FS-4	25.00
T4FS-14	15.00	D5FS-3	25.00
K8FS-1	15.00	T4FS-2	30.00
K8FS-3	15.00	B1FS-1	30.00
A3FS-1	17.50	T4FS-6	32.50
T4FS-12	17.50	B6FS-6	32.50
D5FS-5	17.50	T4FS-8	32.50
T4FS-4	20.00	A3FS-2	37.50
T4FS-11	22.50	(%5)LSD	9.47

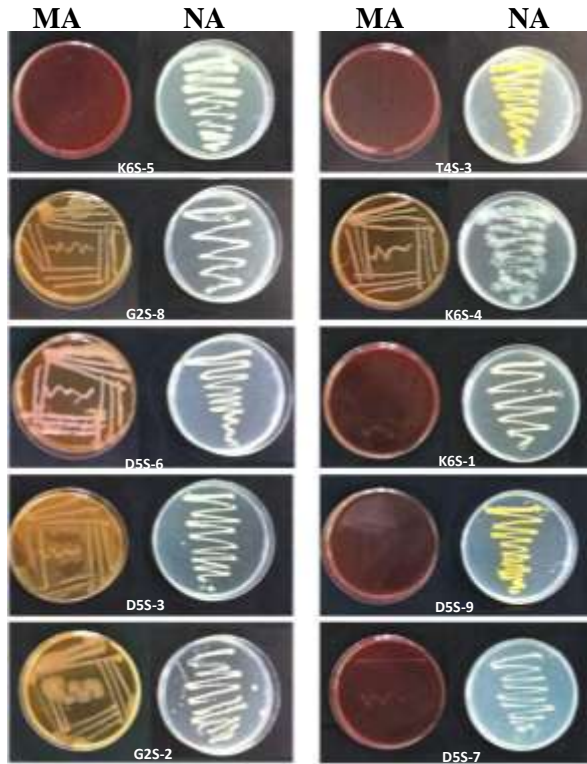
\* كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

\* تفوقت العزلتان T4FS15 و D5FS-2 بلغت نسبة الانبات فيها 5%.

\* نفذت التجربة وفق التصميم تام التشبية

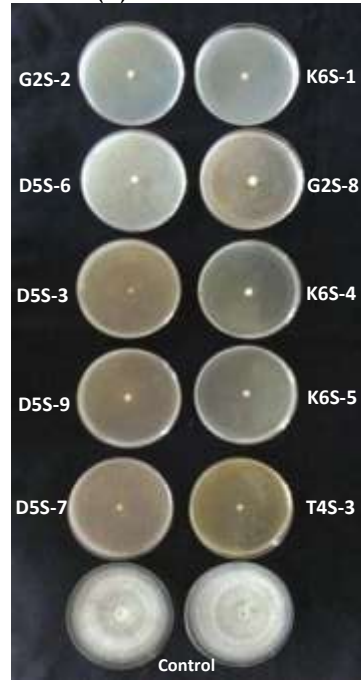
كما اظهرت العزلتان T4FS-15 و D5FS-2 أعلى شدة مرض في المجموعين الجذري والخضري إذ بلغت في معاملاتها 98.12% و 98.00% و 98.50% و 98.00% بالتتابع ويفرق معنوي مقارنةً بمعاملة القياس التي كانت شدة المرض فيها صفراً للمجموعين الجذري والخضري، تلتهما العزلة T4FS-16 بلغت شدة المرض فيها 96.88% و 97.00% للمجموعين الجذري والخضري بالتتابع، وتراوحت شدة المرض للمجموعين الجذري والخضري في معاملات بقية العزلات بين 76.25-91.88% و 78.50-93.00% بالتتابع. إن اختلاف العزلات في تأثيرها في النسبة المئوية لإنبات البذور ونسبة وشدة المرض قد يعزى إلى مقدرتها في إنتاج المواد الايضية كالأنزيمات والسموم (1، 24، 45) وافراز الفطر مركبات أيض ثانوية تنتقل إلى المجموع الجذري ومن هذه المركبات Fusaric acid و Javanic acid و Polyptide toxin و Anhydro fusarbin (6، 27، 37). تعد أنواع *Fusarium* من أهم الفطريات المستوطنة للتربة مسببةً تعفن البذور قبل إنباتها أو موت البادرات قبل وبعد البروغ (39).

نمو النبات من خلال زيادة جاهزية عنصر الفسفور وإنتاج Indole Acetic Acid (IAA) والأمونيا (38).



شكل 3. العزلات البكتيرية على الوسط الزرعي Nutrient Agar (NA) والوسط التفريقي MacConkey Agar (MA)

اظهرت *S. odorifera* المعزولة من المحيط الجذري لنباتات اللهاثة كفاءة في إنتاج سلسلة من المركبات الطيارة والمركبات الاروماتية فضلاً عن تحرير الأمونيا عند معاملتها لبذور نبات الارابيدوسيس (23). اثبتت البكتريا *A. denitrificans* و *S. paucimobilis* و *A. xylosoxidans* المعزولة من المحيط الجذري لنباتات الذرة فعاليتها في تحسين معايير النمو من خلال زيادة فعالية أنزيم الكتليز وإنتاج الأمونيا وزيادة جاهزية عنصر الفسفور وإنتاج IAA كما اثبتت البكتريا *A. denitrificans* و *S. paucimobilis* قابلية تضادية عالية ضد فطريات التربة الممرضة ولاسيما الفطر *F. oxysporum* (14). لا تتوفر دراسات وبحوث عن تطبيقات في المجال الزراعي لانواع البكتريا *K. rosea* و *G. elegans* و *A. salmonicida* و *E. columbae* و *S. thoralensis*. ورد استعمال *K. rosea* ضمن نطاق التقانات الاحيائية لمعالجة التربة من بقايا المبيدات الفسفورية (36). على الرغم من أن بعض هذه الأنواع لها تطبيقات في مجال تنشيط نمو النبات (PGPR) في العالم فإن الدراسات



شكل 2. المقدرة التضادية لعزلات بكتريا PGPR ضد عذلة الفطر

الممرض *F. solani* T4FS-15

تشخيص عزلات البكتريا التي أظهرت قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض

اظهرت نتائج التصبيغ للعزلات البكتيرية العشرة المتوقعة في تضادها أن العزلات T4S-3 و K6S-5 و K6S-1 و D5S-9 موجبة لصبغة والعزلات K6S-4 و G2S-8 و D5S-7 و D5S-3 و D5S-6 و G2S-2 سالبة لصبغة كرام، وطابقت نتائج الزرع على الوسط الزرعي التفريقي MacConkey Agar (شكل 3) نتائج صبغة كرام (34). اظهرت نتائج التشخيص باستعمال تقانة Vitek2 Compact System (جدول 5) أنها تعود إلى الأنواع *Achromobacter denitrificans* و *A. xylosoxidans* و *Acinetobacter haemolyticus* و *Acromonas salmonicida* و *Granulicatella Enterococcus columbae* و *Serratia odorifera* و *Kocuria rosea* و *elegans Streptococcus* و *Sphingomonas paucimobilis* و *thoralensis*، ولا يوجد ما يشير إلى تشخيص هذه الأنواع البكتيرية قبل هذه الدراسة في العراق. لبعض هذه الأنواع تطبيقات زراعية في مجال المقاومة الاحيائية لأمراض النبات والتسميد الحيوي مثل *A. haemolyticus* التي اثبتت كفاءتها في تعزيز النمو الخضري والجذري لنباتات الجت (16)، واثبتت البكتريا *A. xylosoxidans* المعزولة من المحيط الجذري لنباتات البطيخ والطماطة امكانياتها في تعزيز

*Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race. 1. A potential pathogen of grafted watermelon production in Spain. EPPO Bulletin. 30: 179-183.

5. Ayed, F., M. Daami-Remadi, H. Jebari, H. Jabnoun-Khiareddine and M. El Mahjoub. 2007. Effect of some Tunisian *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* isolates on muskmelon growth and on crown and root rot severity. Int. J. of Agric. Res. 2: 719-724.

6. Baker, R. A., H. James and N. K. Stanley. 1981. Toxin production by *Fusarium solani* from fibrous roots of blight diseased citrus. Phytopathology. 71: 951-953.

7. Bertagnolli, B. L., F. K. Soglio and J. B. Sinclair. 1996. Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008 .I. Possible correlations with inhibition of growth and bio-control. Physiol. Mol. Plant Pathol. 48: 145-160.

8. Bolkan, H. H. and E. E. Butler. 1974. Studies on heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 64: 513-522 .

9. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. pp. 237.

10. Booth, C. 1977. *Fusarium*: Laboratory Guide to the Identification of the Major Species. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. pp. 58.

11. Boughalleb, N., J. Armengol and M. El Mahjoub. 2005. Detection of races 1 and 2 of *Fusarium solani* f. sp. *Cucurbitae* and their distribution in watermelon fields in Tunisia. J. of Phytopathology 153: 162-168.

12. Boughalleb, N. and M. El-Mahjoub. 2006a. *Fusarium solani* f. sp. *Cucurbitae* and *F. oxysporum* f. sp. *Niveum* inoculum densities in Tunisian soils and their effect on watermelon seedlings. Phytoparasitica. 34: 149-158.

13. Boughalleb, N. and M. El-Mahjoub. 2006b. *In vitro* determination of *Fusarium* spp. infection on watermelon seeds and their localization. Plant Pathology J. 5(2): 178-182.

14. Bumunang, E. W. and O. O. Babalola. 2014. Characterization of *Rhizobacteria* from

والبحوث عنها تعد محدودة قياساً ببعض الأنواع الشائعة الأمر الذي يتطلب اجراء المزيد من الدراسات الكيموحيوية والامراضية لهذه الأنواع بغية استعمالها الناجح على نطاق واسع في التطبيقات الزراعية لاسيما في مكافحة الأحيائية والأسمدة الحياتية المستعملة لاسيما أنها معزولة من بيئة التربة العراقية.

#### جدول 5. العزلات البكتيرية المشخصة بتقانة Vitek2

##### Compact System ومناطق جمعها

مكان الجمع	دقة النتائج (%)	نوع البكتيريا	صبغة كرام	رمز العزلة
بغداد / التاجي	99	<i>Achromobacter denitrificans</i>	-	G2S-8
بغداد / التاجي	99	<i>A. xylooxidans</i>	-	G2S-2
ديالى/خانقين	99	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	-	D5S-3
كربلاء/ الهندية	99	<i>Acromonas salmonicida</i>	-	K6S-4
كربلاء/ الهندية	99	<i>Enterococcus columbae</i>	+	K6S-1
ذي قار/ الرفاعي	93	<i>Granulicatella elegans</i>	+	T4S-3
كربلاء/ الهندية	96	<i>Kocuria rosea</i>	+	K6S-5
ديالى/خانقين	99	<i>Serratia odorifera</i>	-	D5S-7
ديالى/خانقين	91	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	D5S-6
ديالى/خانقين	93	<i>Streptococcus thoralensis</i>	+	D5S-9

\* شخصت بتقنية Vitek2 compact system

##### المصادر

1. Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5<sup>th</sup> edn. Elsevier Academic Press, USA. pp. 922.
2. Ajwa, H. A., S. Klose, S. D. Nelson, A. Minuto, M. L. Gullino, F. Lamberti and J. M. Lopez-Aranda . 2003. Alternatives to methyl bromide in strawberry production in the United States of America and the mediterranean region. Phytopathology Mediterr. 42: 220-244.
3. Alymanesh, M. R., M. Falahatirastegar, B. Jafarpour and E. ahdikhanimoghadam. 2007. Identification of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 on cucurbit plants from Khorasan razavi, northern Khorasan and some regions of Fars provinces, using classic and molecular methods. Agri. Sci. and Tech. 21: 49-56.
4. Armengol, J. C., M. Jose, M. J. Moya, R. Sales, A. Vicent and J. Garcia-Jimenez. 2000.



- field grown genetically modified (GM) and non-GM maizes. *Barazilian Arch. Of Biol. Tech.* 57: 1-8.
15. Champaco, E. R., R. D. Martyn and M. E. Miller. 1993. Comparison of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* as causal agents of fruit rot and root rot of muskmelon. *Hortic. Sci.* 28: 1174-1177.
16. Chang, P. 2007. The Use of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and an Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF) to Improve Plant Growth in Saline Soils for Phytoremediation,. M.Sc. Thesis, Univ. Waterloo , Canada. pp. 127.
17. Eilenber, J., A. Hajek and C. Lomer. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Bio-Control.* 46: 387-400 .
18. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2012. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway>
19. Ganzalez, H. H. L., S. L. Resnik, R. T. Boca and W. F. O. Marasas. 1995. Mycoflora of argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia.* 130: 29-36.
20. Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas in bio-control: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease.* 84: 377-393.
21. Jeffrey, C. 2001. Cucurbitaceae. In: P. Hanelt (ed.) *Mansfeld's Ornamentals*, Springer, Berlin, Germany, p 1510-1557.
22. Juber, K. S., T. A. Al-Esawi and A. H. Al. Masaudy. 2010. Detection of fungi associated with watermelon roots and their effects in seed germination and seedling. *Al-Anbar J. Agric. Sci.* 2: 157-167.
23. Kal, M., E. Crespo and S. M. Cristescu. 2010. *Serratia odorifera*: analysis of volatile emission and biological impact of volatile compounds on *Arabidopsis thaliana*. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 88: 965-976.
24. Kikot, E. G., A. R. Hours and M. T. Alconada. 2009. Contribution of cell wall degrading enzymes to pathogenesis of *Fusarium graminearum*. *Rev. J. Basic Microbiol.* 49: 231-241.
25. Kogan, M. 1998. Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. *Annl. Rev. Entomol.* 43: 243-270.
26. Leslie, J. F. and B. A. Summerell. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*, Blackwell Publ., Ames, IA, USA. pp. 388.
27. Li, S. X., G. L. Hartman, B. S. Lee and J. W. Widholm. 2000. Identification of a stress-induced protein in stem exudates of soybean seedlings root infected with *Fusarium solani* f. sp *glycines*. *Plant Physiol., Biochem.* 38: 803-809.
28. Marcus, L., I. Barash, B. Sneh, Y. Koltin and A. Finkler. 1986. Purification and characterization of pectolytic enzymes produced by virulent and hypovirulent isolates Of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29: 325-336.
29. Martyn, R. D. 1996. *Fusarium* crown and foot rot of squash. In: T. A. Zitter, D. L. Hopkins and C. E. Thomas (Eds.). *Compendium of Cucurbit Diseases*, APS Presse, St Paul., USA. p. 16-17.
30. Matloob, A. A. 2011. Determination caucuses of bean foot and root rot disease and evaluation efficacy of some bio-control under green house and field conditions, Ph.D. Thesis, Dept. of Plant Protection, Coll. of Agric., Univ. of Baghdad. pp. 158.
31. Matuo, T. and W. C. Snyder. 1973. Use of morphology and mating populations in the identification of formae specialis in *Fusarium solani*. *Phytopathology.* 63: 562-565.
32. McKinney, H. H., 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *J. Agric. Res.* 26: 195-218.
33. Mehl, H. L., and L. Epstein .2007. Identification of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 and race 2 with PCR and production of disease free pumpkin seeds. *Plant Disease.* 91: 1288-1292.
34. Miller, J. H. 1992. *A Short Course in Bacterial Genetics: A Laboratory Manual for Escherichia coli and Related Bacteria*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, USA. pp. 456.
35. Nagao, H., K. Sato and S. Ogiwara, 1994. Susceptibility of *Cucurbita* spp. to the cucurbit root-rot fungus, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1. *Agronomie.* 2: 95-102.
36. Nagavardhanam, N. 2012. Cloning and Expression of Chlorpyrifos Degrading Opd Gene From A Novel Soil Bacterium *Kocuria* sp Y2-isolate. Ph.D. Thesis, Dept. of Botany

- and Microbiology, Acharya Ngarjuna Univ., India. p. 86-88.
37. Nelson, B. D., J. M. Hansen, C. E. Windels and T. C. Helms . 1997. Reaction of soybean cultivars to isolates of *Fusarium solni* from the Red River Valley. Plant Dis. 81: 664-668.
38. Ngoma, L., B. Esau and O. O. Babalola. 2013. Isolation and characterization of beneficial indigenous endophytic bacteria for plant growth promoting activity in Molelwane Farm, Mafikeng, South Africa. African J. of Biotechnology. 12: 4105-4114.
39. Omokhua, G. E., M. I. Godwin-Egein and V. C. Okereke. 2011. Pre and post-emergence damping-off of *Chrysophyllum albidum* G. Don and *C. delevoyi* Dewild in Port Harcourt. Afric. Res. Review. 5: 411-421.
40. Roberti, R., A. Veronesi and F. Flamigni. 2012. Evaluation of microbial products for the control of zucchini foot and root rot caused by *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1. Phytopathol. Mediter. 51: 317-331.
41. Roskopf, E. N., D. O. Chellemi, N. Kokalis-Burelle and G. T. Church. 2005. Alternatives to methyl bromide: A Florida perspective. Online. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2005-1027-01-RV.
42. Schaad, N. W. 1980. Initial identification of common genera In: N. W. Schaad (ed.). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. The American Phytopathological Society 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, M.N., USA. pp. 72.
43. Singh, S. P., P. Gepts and D. G. Debouck. 1991. Genetic severity in cultivated common bean. I. Allozymes Crop Sci. 31: 19-23.
44. Sivan, A. and I. Chet. 1993. Integrated control of *Fusarium* crown and root rot of tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarization. Crop Protection. 12: 380-386.
45. Tonukari, N. J. 2003. Enzymes and fungal virulence. J. Applied Sci. and Environ. Manage. 7: 5-8.
46. Toussoun, T. A. and W. C. Snyder. 1961. The pathogenicity, distribution, and control of two races of *Fusarium (Hypomyces) solani* f. *cucurbitae*. Phytopathol. 51: 17-22.