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

صفاء نعمت حسين* كامل سلمان جبر

باحث أستاذ

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 وتقويم مقدرته 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 مقدرتها الأمراضية على بذور اللهانة، إذ تراوحت نسبة الإنبات بين 0-88% سببت العزلتان T4FS-15 وD5FS-2 منع إنبات البذور بالكامل مقارنةً بمعاملة القياس التي بلغ إنبات البذور فيها 96%. كانت العزلات جميعها ممرضة للرقي تحت ظروف البيت الزجاجي وحققت العزلتان T4FS-15 وD5FS-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 معامليتهما 98.12 و98.00% و98.50 و98.00% 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 معاملاتها 100% مقارنةً بمعاملة القياس التي ملئت الطبق بعد 7 أيام. شخصت 10 عزلات بتقنية Vitiq2 Compact System وظهرت الأنواع *Achromobacter denitrificans* و *A. xylosoxidans* و*Acinetobacter haemolyticus* و*Acromonas salmonicida* و*Enterococcus columbae* و *Granulicatella elegans* و*Kocuria rosea* و*Serratia odorifera* و*Sphingomonas paucimobilis* و*Streptococcus thoraltensis* يعد تشخصيها لأول مرة في العراق.

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

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

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 the10 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 thoraltensis* 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

الرقي *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 الرقي 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 الرقي 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 المثيل (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 الرقي في العراق وظهور حالات التدهور الشديدة في المناطق الرئيسة 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 الرقي السليمة واختبار قابليتها التضادية للفطر الممرض وتشخيصها.

المواد والطرائق

عزل وتشخيص مسبب مرض تعفن جذور وقواعد سيقان الرقي

جمعت عينات من نباتات الرقي من حقول محافظات بابل وذي قار وكربلاء وبغداد وديالى والانبار تبدوا 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 هايبوكلورات الصوديوم 1% المحضر من المحلول التجاري فاس 5% لمدة دقيقتين. غسلت القطع بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقتين وجففت بورق ترشيح معقم ونقل كل اربعة قطع الى طبق بتري قطر9 سم حاوٍ على وسط البطاطا دكستروز (PDA) من إنتاج شركة CDH Bioscience الهندية، بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة (121مْ وضغط 1.5كغم/سم^2 لمدة 15 دقيقة) اضيف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200 ملغم/لتر وحضنت الأطباق في 25±1 مْ لمدة 7 أيام، بعدها فحصت الأطباق ونقيت عزلات الفطر بطريقة البوغ المنفرد وذلك بوضع شريحة زجاجية معقمة في طبق بتري معقم وصب عليه طبقة خفيفية 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،

وشخصت إلى مستوى الجنس والنوع اعتماداً الصفات المزرعية والمظهرية وبإتباع 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 وButler (8). حضر الوسط الزرعي Water Agar وعقم بجهاز بالمؤصدة وبعد وصوله لدرجة 45 مْ تقريباً أضيف اليه المضاد الحيوي Tetracycline بمقدار 200 ملغم/لتر ورج جيداً بعدها صب في أطباق بتري بلاستك قطر 9 سم بمقدار 15-20 مل/طبق. تركت الأطباق لتتصلب، ثم لقحت في مركزها بقرص قطر 0.5 سم من مزارع العزلات المنماة على الوسط الزرعي PSA لمدة 7 ايام كلاً على انفراد. حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±1 مْ لمدة 3 أيام، بعدها وضعت 25 بذرة/طبق من بذور لهانة محلية اختبرت نسبة إنباتها مسبقاً معقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 1% بصورة دائرية قرب حافة الطبق. تم وضع الأطباق في حاضنة في درجة حرارة 25±1 مْ. 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 خفضاً في انبات بذور اللهانة: T4FS-15 وD5FS-2 وD5FS-7 وK8FS-1 وB1FS-4 وT4FS-4 وD5FS-5 وT4FS-14 وT4FS-2 وD5FS-3 وT4FS-6 وA3FS-1 وK8FS-3 وT4FS-8 وT4FS-12 وB1FS-1 وA3FS-7 وZ2FS-6 وT4FS-13 وT4FS-16 وT4FS-11 وT4FS-10 وA3FS-2 وB6FS-6 باستعمال بذور الدخن المحلي، اضيف اللقاح إلى تربة مزيجية معقمة بغاز بروميد المثيل (500 غم/م^3) في أصص سعة 1كغم تربة بنسبة 1% (وزن/وزن). زرعت عشر بذور رقي في كل أصيص صنفCharleston Gray من إنتاج شركة Vilmorin الفرنسية معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات 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 و1= فقدان الأوراق لنظارتها وتدلي حوافها و2 = اصفرار متباين في الأوراق و3 = اصفرار الأوراق وجفاف وموت أجزاء منها و4= موت الاوراق (2). حسبت شدة المرض في الجذور وقواعد السيقان على وفق الدليل المرضي 0 = جذور سليمة خالية من الأعراض المرضية و1 = تلون طفيف في الجذور بلون بني فاتح مع بقاء قاعدة الساق سليمة و2= تلون أقل من نصف المجموع الجذري بلون بني فاتح مع بقاء قاعدة الساق سليمة و3 = تلون أكثر من نصف المجموع الجذري بلون بني وإمتداد التلون الى قاعدة الساق و4 = تلون معظم المجموع الجذري وقاعدة الساق بلون بني قاتم و5 = 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 وديالى وكربلاء. عزلت البكتريا باستعمال تخافيف لعينات تربة من منطقة جذور الرقي السليمة، اضيف 1 مل من عالق التربة إلى أنابيب اختبار معقمة تحتوي على 9 مل من الوسط الزرعي السائل المعقم (10 غم Peptone و10 غم Beef extract و5 غم Sodium chloride ولتر 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 الزرعي الصلب المعقم (6 غم Peptone و1 غم Beef extract و2 غم Yeast extract و5 غم Sodium chloride و14 غم Agar ولتر ماء مقطر)

وحضنت الأطباق الملقحة بالبكتريا في درجة حرارة 28±2 م° 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 رحوية 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±1م° وسجلت بيانات التجربة بقياس الأقطار المتعامدة كل يومين لحين وصول نمو الفطر في معاملة القياس الى حافة الاطباق ولحساب النسبة المئوية للتثبيط.

تشخيص عزلات البكتريا التي اظهرت قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض

لتفريق العزلات البكتيرية العشرة التي اعطت نسبة تثبيط 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 للاكتوز و GP Card متخصصة لاختبار مجاميع البكتريا المكورة الموجبة لصبغة كرام ومن ضمنها بكتريا Enterococci و Streptococci و Staphylococci. كل بطاقة كاشفة تتضمن 64 حقلاً كاشفاً 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

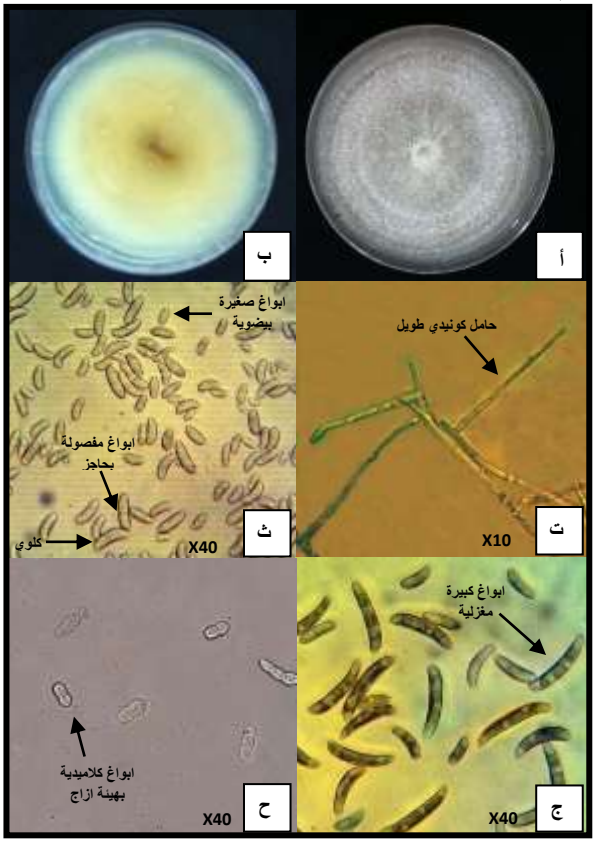
شخص الفطر *F. solani* في جميع عينات الدراسة (جدول 1) بنسب تكرار تراوحت بين 27.50–80.00% وكان أعلى تكرار في عينة محافظة ديالى/خانقين بلغت 80% ولعل ذلك يعود إلى أن هذه المناطق متخصصة في زراعة الرقي الذي يزرع فيها سنوياً مما ادى إلى تراكم لقاح يكونه هذا الفطر. أبواغ كلاميدية تبقى في التربة حيه لمدة تصل 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 *F. solani* في العينة (%)
بابل / المهناوية	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/الهندية	50

اظهر الفطر غزلاً فطرياً ابيض إلى كريمي اللون على الوسط الزرعي PDA كما اظهر الفحص المجهري تكوين الفطر ثلاثة أنواع من الأبواغ وهي أبواغ كونيدية 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 كونيدية كبيرة (Macroconidia) مغزلية إلى اسطوانية غير متماثلة متغايرة في أبعادها ومقسمة بحواجز عرضية عددها 1-7، والنوع الثالث من الأبواغ هو

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 والمجهرية للفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الرقي. (أ) طبيعة وشكل النمو لعزلات الفطر من أعلى الطبق. (ب) شكل نمو الفطر من أسفل الطبق. (ت) حوامل كونيدية طويلة من نوع Monophialides وهي الصفة التصنيفية المميزة للفطر. (ث) ابواغ كونيدية صغيرة Microconidia. (ج) ابواغ كونيدية 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% قياسا بمعاملة القياس من دون إضافة اللقاح الفطري التي بلغت نسبة الإنبات فيها 96%. تفوقت العزلتان T4FS-15 وD5FS-2 على بقية العزلات إذ منعت إنبات البذور بالكامل، تلتها العزلات D5FS-7 وK8FS-1 وB1FS-4 وT4FS-4 وD5FS-5 وT4FS-14 وT4FS-2 وD5FS-3 وT4FS-6 وA3FS-1 وK8FS-3 وT4FS-8 وT4FS-12 وB1FS-1 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 الاخرى خفضاً معنوياً تراوح بين 42–88%. تتفق هذه النتائج مع ما وجده Matloob (30). اختير بذور اللهانة في هذا الاختبار بسبب حساسيتها العالية للمسببات المرضية (8). قد يعزى سبب التباين في المقدرة الامراضية لهذه العزلات الفطرية إلى التغاير الوراثي بين افراد النوع ولاسيما أنها معزولة من مناطق مختلفة، وإنتاج الأنزيمات المحللة للبكتين والسليلوز يؤدي إلى تعفن البذور ومنعها من الإنبات (7،28،43).

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

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

*كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

* العزلتان T4FS15 و D5FS-2 منعت انبات 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 أنبات 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 وD5FS-2 عن بقية العزلات إذ بلغت

نسبة الإنبات فيهما 5.00%، كما تراوحت نسبة المرض التي سببتها العزلات الفطرية بين 97.50–100.00% (جدول 4) وبفروق 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	الأنبات (%)	رمز العزلة	الأنبات (%)
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 فيهما 5%.

*نفذت التجربة وفق التصميم تام التعشية

كما اظهرت العزلتان T4FS–15 وD5FS–2 أعلى شدة مرض في المجموعين الخضري والجذري إذ بلغت في معاملاتها 98.12% و98.00% و98.50% و98.00% بالتتابع وبفرق معنوي مقارنةً بمعاملة القياس التي كانت شدة المرض فيها صفراً للمجموعين الخضري والجذري، تلتهما العزلة T4FS–16 بلغت شدة المرض فيها 96.88% و97.00% للمجموعين الخضري والجذري بالتتابع، وتراوحت شدة المرض للمجموعين الخضري والجذري في معاملات بقية العزلات بين 76.25–91.88% و78.50–93.00% 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 وJavanic acid وPolyptide toxin وAnhydro fusarbin (6، 27، 37). تعد أنواع *Fusarium* من أهم الفطريات المستوطنة للتربة مسببةً تعفن البذور قبل إنباتها أو موت البادرات قبل وبعد البزوغ (39).

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

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

* كل رقم يمثل معدلاً لأربعة مكررات

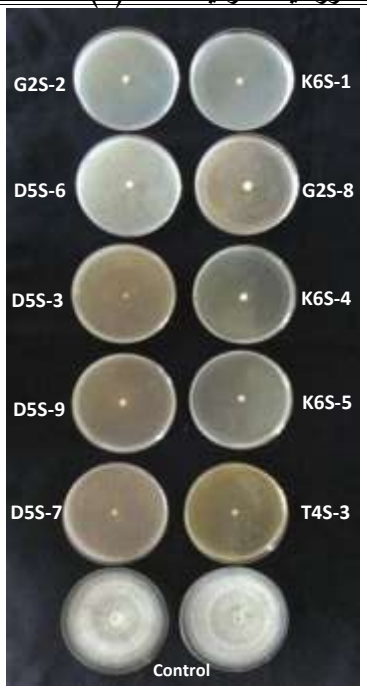
*حققت العزلتان T4FS–15 وD5FS–2 أعلى شدة مرض في المجموعين الخضري والجذري

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*

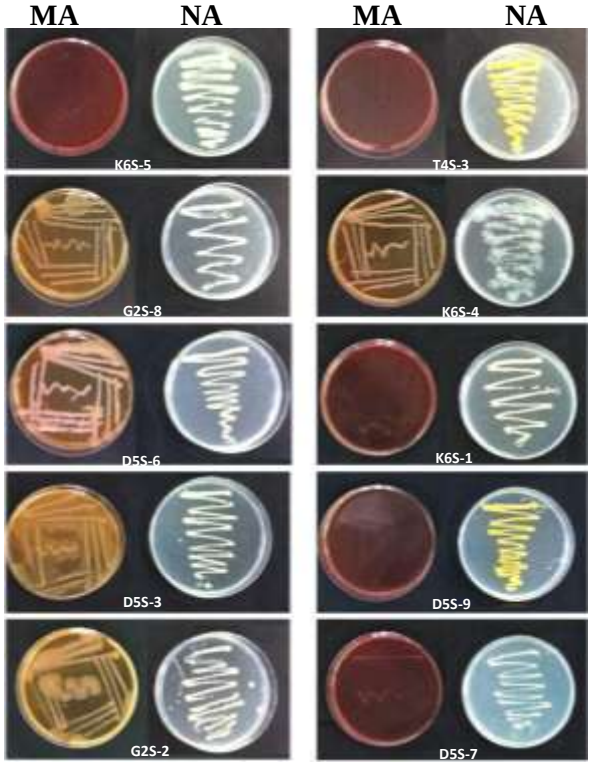
تفوقت 10 عزلات بكتيرية وهي T4S-3 وK6S-5 وK6S-1 وD5S-9 وK6S-4 وG2S-8 وD5S-7 وD5S-3 وD5S-6 وG2S-2، إذ بلغت نسبة تثبيطها لعزلة الفطر الممرض T4FS-15 100% بطريقة تسميم الوسط الزرعي مقارنةً بمعاملة القياس التي ملئت الطبق بعد 7 أيام من الحضن (شكل 2).



شكل 2. المقدرة التضادية لعزلات بكتريا PGPR ضد عزلة الفطر الممرض *F. solani* T4FS-15

تشخيص عزلات البكتريا التي أظهرت قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض

اظهرت نتائج التصبيغ للعزلات البكتيرية العشرة المتفوقة في تضادها أن العزلات T4S-3 وK6S-5 وK6S-1 وD5S-9 موجبة لصبغة والعزلات K6S-4 وG2S-8 وD5S-7 وD5S-3 وD5S-6 وG2S-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*Enterococcus columbae* و *Granulicatella elegans* و*Kocuria rosea* و*Serratia odorifera* و*Sphingomonas paucimobilis* و *Streptococcus thoraltensis*، 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 امكانيتها في تعزيز 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 اللهانة كفاءة في إنتاج سلسلة من المركبات الطيارة والمركبات الاروماتية فضلاً عن تحرير الأمونيا عند معاملتها لبذور نبات الارابيدوبسيس (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 اثبت 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. thoraltensis*. 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

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 المكافحة الأحيائية والأسمدة الحياتية المستعملة لاسيما أنها معزولة من بيئة التربة العراقية.

جدول 5. العزلات البكتيرية المشخصة بتقانة Vitek2 Compact System ومناطق جمعها

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

* شخصت بتقنية Vitek2 compact system

المصادر

1. Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology.5th 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. *cucu--rbitae* race 1 on cucurbit plants from Khor--asan 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. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race. 1. A potential pathogen of grafted waterme- lon 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 antagonistis, *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

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, Unv. Waterloo , Canada. pp. 127.
17. Eilenber, J., A. Hajek and C. Lomer. 2001. Suggestions for unifying the termi- ology 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 agrentinian 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 Micro-biol. 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 specials 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. Rosskopf, 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.