تقييم فاعلية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والمبيد Beltanol وبعض عوامل الاستحثاث في السيطرة على مرض الذبول الفيوزارمي على نباتات البطيخ المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*melonis*

ياسر ناصر حسين الحميري[1] رجاء غازي عبدالمحسن[1] علا هادي جعفر[1] علي عبد الرحيم كاظم[2]

استاذ مساعد استاذ مساعد مدرس

1قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة كربلاء

2قسم الأنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة كربلاء

البريد الالكتروني.yasernh@yahoo.com

المستخلص:

هدفت التجربة إلى تقييم فاعلية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* وبعض عوامل الاستحثاث في السيطرة على مرض الذبول الفيوزارمي على نباتات البطيخ والمتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.melonis* . وتضمنت التجربة اختبار المقدرة الإمراضية لعزلات الفطر الممرض ، ومقارنة فاعلية البكتريا وعوامل الاستحثاث باستعمال بعض عوامل المكافحة الكيميائية في السيطرة على هذا المرض . أظهرت نتائج اختبار المقدرة الإمراضية لعزلات الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* f.sp.*melonis* أن العزلة *FOM8* كانت اكثر العزلات ضراوة باستعمال بذور اللهانة. اذ خفضت معدل نسبة إنبات بذور اللهانة الى 0.00% قياساً بمعاملة السيطرة التي بلغت نسبة الانبات فيها 100% ، أوضح اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *Pseudomonas fluorescens* مختبريا امتلاكها مقدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض ، اذ حققت تثبيطاً لنمو الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.melomis* على الوسط الزرعي PSA بنسبة 92%.بينما اوضحت نتائج اختبار تضاد المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر *Ascophyllum nodosum* ضد عزلة الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp*. melonis* في الوسط الزرعي PSA بتحقيق نسبة تثبيط لنمو الفطر بلغت 88% و82% على التوالي. وعند اجراء عدة معاملات لمكافحة الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.melonis* تحت ظروف الحقل بينت النتائج فاعلية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* وعوامل الاستحثاث في خفض شدة المرض الى 6% مقارنةً بمعاملة الفطر الممرض فقط التي بلغت شدة المرض 44% ، واحدثت رفعاً معنوياً في معدل الوزن الطري وطول المجموع الخضري والجذري ، فقد بلغ طول النبات بعد 45 يوم 34.3 سم مقارنةً بمعاملة السيطرة (الممرض فقط) التي بلغت 18.6 بينما الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري بلغ 12.8 غم مقارنة بمعاملة الممرض فقط اذ بلغت 5.3 غم .

Evaluation of *Pseudomonas fluorescens*, beltanol and some Resistances Inducers for control of Melon Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*

Yaser N. Alhamiri Raja Gh. Abdulmohsen Ola H. jaefar Ali A. Khdem

Plant Protection Dept., College of Agriculture, University of Karbala, Iraq.
Animal of Production Dept., College of Agriculture, University of Karbala.
E-mail yasernh@yahoo.com.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the effectiveness of *Pseudomonas fluorescens* and some of the Inducers agents in the control of fusarium wilt disease on melon plants caused by *Fusarium oxysporum* f.sp.*melonis*. The study also tested the pathogenicity of pathogenic fungi isolates and compared the efficacy of bacteria and induction agents using Beltanol agents to control this disease. The results of the *Fusarium oxysporum f.sp.melonis* test showed that FOM8 isolates were the most isolated using the seeds of the cabbage. The rate of seed germination rate was reduced to 0.00% compared to the control treatment with a germination rate of 100%. Pure isolation of *Pseudomonas fluorescens* was obtained. The test of the antibiotic susceptibility of these bacteria showed that it has a high resistance against pathogenic fungi. *Pseudomonas fluorescens* inhibited the growth of *Fusarium oxysporum f.sp.melonis* on the PSA by 92%. While the results of the antibiotic test EM1 and herbal extraction *Ascophyllum nodosum* against the isolation of fungus *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* in the PSA has achieved an inhibition rate of 88% and 82%, respectively. When *Fusarium oxysporum f.sp.melonis* was performed under the field conditions, Results also showed that *Pseudomonas fluorescens* and induction factors reduced the severity of the disease to 6% compared to the treatment of pathogenic fungi only, which reached 44% severity, and showed a significant increase in the rate of soft weight and total length The length of the plant was 45.3 cm after 45 days compared to the control treatment (pathogen only) which was 18.6 while the soft weight of the vegetative and root group was 12.8 g compared with the treatment of the pathogen only, which amounted to 5.3 g.

Keywords *: Fusarium oxysporumf.sp.melonis , Pseudomonas fluorescens , EM1, Ascophyllum nodosum .*

المقدمة

يعد البطيخ *Cucumismelo L.* من محاصيل العائلة القرعية (Cucurbitaceae) المهمة وتجاوزت المساحة المزروعة به 1.15 مليون هكتار على مستوى العالم ، وتعد الصين من أكبر منتجي البطيخ حيث تزرع 350000 هكتار وتنتج 8 مليون طن سنوياً وتليها تركيا ثم إيران اذ يزرع في المناطق ذات المناخ الجاف والحار (28) . اما في العراق فقد بلغت المساحة المزروعة في البطيخ 16.57 الف هكتار وأنتاجه بلغ 704

الف طن وانتاجية الهكتار الواحد بلغ 10,269 طن هكتار (29) . ثمار البطيخ لها قيمة غذائية حيث يحتوي كل 100 غرام من لحم الثمار على 0.7 غرام بروتين ، 7.5 غرام كربوهيدرات وعناصر الكالسيوم والبوتاسيوم والفسفور ونسبة من فيتامينات A و C وحامض الفوليك، فضلا عن اهميتها الطبية كعلاج الأكزيما وأمراض فقر الدم، ومقاومة ارتفاع ضغط الدم ولتخفيف الوزن. ، وتحتوي بذوره على زيوت طيارة وأحماض دهنية (7) ، تتعرض نباتات البطيخ للعديد من المسببات الممرضة لا سيما تلك المستوطنة في التربة التي منها الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* هو واحد من أكثر مسببات الأمراض المدمرة لنباتات البطيخ في جميع أنحاء العالم اذ يسبب فقد بالحاصل قد يصل إلى 90٪ (26) ، اذ يدخل الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* من خلال الجذور بواسطة خيوط الاختراق ويستوطن بين الخلايا وحتى الوصول إلى الأنسجة الوعائية، ينتشر صعودا للاعلى بشكل سريع، وبالتالي تظهر اعراض الذبول على النباتات (2)، ويعد السيطرة على مرض الذبول الفيوزاريومي من الامور الصعبة لأن الفطر يمتلك القدرة على البقاء في التربة لفترات طويلة على هيئة chlamydospores حتى في حالة عدم وجود جذور النبات العائل (8) .

نالت المكافحة الإحيائية قبولاً واسعاً في مختلف أنحاء العالم وتحظى بتشجيع متواصل وتطبيق واسع ومتطور في الحقل فهي تستهدف مسببات أمراض النبات بالمرتبة الأولى فأصبحت أحد أهم المرتكزات الأساسية في مقاومة هذه المسببات المرضية ، اذ تتضمن أستعمال الأحياء المضادة وبالتالي خفض كثافة ونشاط مجتمعات المسببات المرضية(18)، اظهرت الأنواع الأحيائية من البكتريا التابعة للجنس *Pseudomonas* بضمنها *P.fluorescens* كفاءة تضادية عالية تجاه مختلف المسببات المرضية (16) ، من جهة أخرى فأن هذه العوامل الأحيائية تعد عوامل محفزة لنمو النبات فهذه البكتريا النافعة تعيش حرة في التربة وتعمل على تشجيع نمو النبات بعدة آليات ووجدت مرافقة لجذور نباتات مختلفة ، فضلا عن دورها في تحفيز المقاومة الجهازية Induce Systemic Resistance (ISR) للنبات مما يؤدي إلى زيادة مقاومته للعديد من الأمراض (14). تعد البكتريا *P. fluorescens* المعزولة من محيط جذور النباتات عنصر مؤثر من عناصر المكافحة الأحيائية في مقاومة العديد من المسببات الممرضة للنبات لطبيعة حركتها وأمتلاكها أساليب مختلفة في المقاومة بجانب قابليتها على التعايش مع النظام الجذري للنبات فهي من أكثر الأنواع أستعمالاً في مجال المقاومة الحيوية اذ أشار العديد من الباحثين الى فعالية هذه البكتريا ضد الفطريات الممرضة للنبات (14) ، أثبتت الكثير من الدراسات قدرة البكتريا *P. fluorescens* على إنتاج سلسلة من المركبات الأيضية المضادة للمسببات الممرضة ومنها Siderophore ، Hydrogen cyanide ، Alamonia (27) كما أن لها القدرة على إنتاج الأنزيمات المحللة للكايتين ذات الفعالية العالية في تثبيط الكثير من المسببات الممرضة ، اذ أظهرت البكتريا *P. fluorescens* فعالية تحفيزية للمقاومة الجهازية ضد الفطر *Fusariumoxysporumf. sp – raphani* مسبب مرض الذبول الفيوزارمي على الفجل (25) .

ان استعمال المبيدات الفطرية المباشر ساعد على ظهور سلالات مقاومة من المسببات المرضية للمواد الفعالة لهذه المبيدات لذا كانت المكافحة الإحيائية البديل عنها ضمن مجال خفض التأثيرات السلبية لاستعمال تلك المبيدات ، وقد تركزت معظم البحوث في هذا النمط من المكافحة على الأمراض الفطرية المنقولة بالتربة أكثر من الأمراض التي تصيب المجموع الخضري وأمراض ما بعد الحصاد اذ وظف العديد من العوامل الإحيائية الفطرية والبكتيرية لهذا الغرض عن طريق معاملة البذور والتربة بهدف خفض الإصابة بالأمراض الناجمة عن المسببات المرضية الفطرية المنقولة بالتربة (10)، وقد أنتجت هذه العوامل الإحيائية بشكل مخصبات حيوية Biofertilizer كما أعطت هذه المنتجات نتائج مشجعة في خفض الأمراض الفطرية المنقولة بالتربة وطورت أيضا من ناحية المكونات وتراكيز الأحياء المجهرية التي تحويها ، ومن هذه المنتجات المستحضر الحيوي EM الذي يشير إلى الأحياء المجهرية الفعالة Effective Microorganisms والتي لها القدرة على تحليل الأحياء المجهرية الضارة ، ذكر Higa (11) بأن السيطرة على أحياء التربة بوساطة EM للحصول على وقاية وإنتاج مثاليين لمحصول معين هي إحدى المبادئ والإستراتيجيات الأساسية لاستعماله كعامل إحيائي إذ تستغل تأثيراته المضادة ضد المسببات المرضية الأخرى مثل البكتريا والنيماتودا والفطريات مثال على ذلك الفطر *Fusarium* الذي يعد أهم المسببات المرضية الفطرية في التربة بالإضافة إلى المسببات الأخرى ، كما وجد (24) بأن استعمال EM1 وبتركيز 10% على وسط الاكر قد ثبط نمو الفطر *F.oxysporumf.sp. raphani* بصورة تامة (100%) ويعود ذلك الى تأثير البكتريا Lactobacillus إذ تنتج هذه البكتريا مواد مثبطة لنمو الفطريات ، كما لها القدرة على اختزال السموم التي ينتجها فطر Fusarium spp. قد اعطى أفضل النتائج في حماية بادرات الكتان من الذبول الفيوزارمي والمتسبب عن الفطر *F.oxysporumf.sp.lini* . بين (12) ان استخدام مستخلص عشبة البحر *Ascophyllum nodosum* في مكافحة مسببات امراض الخيار تحت ظروف البيت الزجاجي بالتراكيز 0.5% - 1% خفضاً معنوياً لامراض الخيار المتسببة عن *Didymellaapplanata, , Alternaria cucumerinum* *Fusarium oxysporum* و*Botrytis cinerea* عند معاملة النباتات بها.

المواد وطرائق العمل:

عزل وتشخيص الفطر *Fusariumoxysporum f. sp. melonis*

جمعت عينات نباتات البطيخ التي ظهرت عليها اعراض الاصابة من حقول مختلفة في محافظة كربلاء (ناحية الحسينية ، قضاء الهندية ، منطقة عون ، منطقة الشريعة) وجلبت هذه النباتات إلى المختبر وأخذت قطع من الجذور وقواعد السيقان وغسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة وقطعت إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5 سم وعقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1 % كلور حر) لمدة 2 دقيقة بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة 2 دقيقة ونشفت بورق الترشيح المعقم ونقلت بواسطة ملقط معقم وزرعت بواقع 4 قطع نباتية

في كل طبق بتري قطر 9 سم حاوي على 15-20 سم^3 من الوسط الزرعي اكر السكروز والبطاطا Potato Sucrose Agar (PSA) (200 غم بطاطا ،10 غم سكروز،20غم اكر،1 لتر ماء مقطر) المضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200 ملغم.لتر$^{-1}$ وذلك بعد تعقيم الوسط بجهاز الاوتوكليف (121 م° وضغط 1.5 كغم سم$^{-2}$) لمدة 15 دقيقة ، حضنت الأطباق في 25±1 م° لمدة 3 أيام وبعدها تم إجراء الفحص للتحري عن وجود الفطريات المرافقة وتنقيتها بنقل مسحة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاوي على الوسط الزرعي PSA حضنت الأطباق لمدة 4 أيام . شخصت عزلات الفطر *Fusarium* الى مستوى النوع بعد ظهور النموات الفطرية اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها وبإتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة (6, 23)

حفظ عزلات الفطر *Fusariumoxysporum f. sp. melonis*

حفظت عزلة الفطر *Fusariumoxysporum f. sp. melonis* في انابيب اختبار حاوية على تربة مزيجية معقمة بجهاز المؤصدة وجرى التعقيم عند درجة حرارة 121 م وضغط 1.5 كغم.سم$^{-2}$ لمدة ساعة لمرتين متعاقبتين في مدة 2- 3 ايام. لوثت التربة المعقمة باضافة 3 قطع قطر 5 ملم اخذت من قرب حواف مستعمرات عزلات الفطر بعمر 5 ايام نميت على الوسط الزرعي PSA وبواقع اربعة مكررات ، وضعت انابيب الاختبار في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 + 1 م ولمدة 15 يوماً بعدها وضعت في الثلاجة تحت درجة حرارة 4 م لحين اجراء الاختبارات اللاحقة (13) .

تحضير اللقاح الفطري لعزلات الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis*

نميت عزلات الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* بوضع كمية قليلة من التربة الملوثة في مركز طبق حاوي على الوسط الزرعي PSA وبواقع ثلاثة مكررات لكل عزلة ، حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25 + 1 م لمدة 7 ايام وخلال تلك المدة عقمت بذور دخن محلي *Panicum miliaceum* بوضع 100 غم من تلك البذور بعد تنظيفها من الشوائب وتنقيعها بالماء لمدة 6 ساعات في دورق سعة 500 مل مع 50 مل ماء لغرض ترطيبها وعقمت بالاوتوكليف عند درجة حرارة 121 م وضغط 1.5 كغم . سم^2 لمدة 20 دقيقة ولمرتين متعاقبتين فى مدة 3- 5 ايام ، لقحت الدوارق بعد التبريد بلقاح عزلات الفطر وبمعدل 5 اقراص قطر 5 ملم . دورق$^{-1}$ ، وبواقع ثلاثة مكررات ، حضنت الدوارق عند درجة حرارة 25 م + 1 لمدة 14 يوم ، و رجت الدوارق مرة كل 3-5 ايام لضمان التهوية وتوزيع لقاح الفطر على جميع البذور (5).

اختبار المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F. oxysporum f. sp. melonis* باستعمال بذور اللهانة

اختبرت المقدرة الامراضية لـ12 عزلة من الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* باتباع طريقة (3) بتلقيح اطباق بتري قطر 9 سم حاوية على 15-20 سم^3 من الوسط الزرعي المعقم الاكر والماء Water Agar باقراص قطر 5 ملم اخذت من قرب حواف مزارع عزلات الفطر *F. f.sp. melonis*

oxysporum على الوسط الزرعي PSA بعمر 5 ايام وبعد ثلاثة ايام زرعت بذور لهانة معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) لمدة دقيقتين بواقع 15 بذرة لكل طبق بصورة دائرة موازية لحافة الطبق وبثلاثة مكررات لكل عزلة مع معاملة المقارنة بدون فطر. حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25 + 1 ْم وبعد 7 ايام سجلت النتائج بحساب النسبة المئوية لانبات البذور (13) .

البكتريا *Pseudomonas fluorescens*

تم الحصول على عزلة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* من قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد و اكثرت على الوسط الزرعي السائل Nutrient Broth ، اذ تم تحضير الوسط الزرعي Nutrient Broth بأضافة (14 غم) من مادة Nutrient Broth الى واحد لتر من الماء المقطر ، ومن ثم تعقيمها بجهاز المؤصدة (121 ْم ، 1.5 كغم. سم^2 لمدة 20 دقيقة) ، اذ يتم تنشيط البكتريا *Pseudomonas fluorescens* عليه قبل 24 ساعة من استخدامها في الاختبارات اللاحقة .

تأثير البكتريا *Pseudomonas fluorescens* في نمو الفطر *F.oxysporum f. sp. melonis*

اضيف 1 مل . طبق$^{-1}$ من اللقاح البكتيري المنمى على وسط NB والمحضر قبل 24 ساعة على شكل دائرة وضع في مركزها قرص قطر 5 ملم اخذ من قرب حواف مستعمرة الفطر الممرض المنماة على الوسط الزرعي PSA بعمر 5 ايام وتركت 4 اطباق من دون تلقيح بالبكتريا ، اضيف لكل منها 1 مل ماء مقطر معقم للمقارنة ، وضعت الاطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 22 ْم + 1 لمدة 4 ايام بعدها تم حساب مقدار التثبيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة البكتريا ومقارنتها بقطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة المقارنة وحسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة الاتية:

$$\text{المعاملة \%للتثبيط} = \frac{\text{معدل نمو المقارنة} - \text{معدل نمو المعاملة}}{\text{معدل نمو الفطر في معاملة المقارنة}} \times 100$$

كفاءة تأثير المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر البنية *Ascophyllum* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*

المستحضر الحيوي EM الذي يشير إلى الأحياء المجهرية الفعالة Effective Microorganisms وهو خليط متخمر مكون من بكتريا حامض اللاكتيك Lactic acid bacteria وخمائرYeasts وفطريات Actinomycetes وفطريات التخمر Fermenting fungi والتي لها القدرة على تحليل الأحياء المجهرية الضارة (11).

استخدمت التراكيز الموصى بها من قبل الشركة المصنعة لكل من المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر *Ascophyllum* بتاثيرها في نمو الفطر *Fusariumoxysporum f. sp. melonis* اذ اضيف 10 مل من المستحضر الحيوي EM1 الى 250 مل من الوسط الزرعي PSA لنحصل على تركيز 4%

واضيف2.5 مل من مستخلص عشبة البحر*Ascophyllum* الى 250 مل من الوسط الزرعي PSA لنحصل على تركيز 1 % الى الوسط الزرعي بعد تعقيمة بالاوتوكليف وقبل ان يتصلب وبعدها صب الوسط باطباق بتري قطر 9 سم بواقع 4 اطباق لكل معاملة وضع في مركز كل طبق قرص قطر 5 ملم اخذ من قرب حواف مستعمرة الفطر الممرض المنماة على الوسط الزرعي PSA بعمر 5 ايام وتركت 4 اطباق من دون المعاملة بالمستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر، وضعت الاطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 22 م + 1 لمدة 4 ايام بعدها تم حساب مقدار التثبيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر النامي في المعاملات ومقارنتها بقطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة المقارنة وحسبت النسبة المئوية للتثبيط .

كفاءة اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* ومبيد Beltanol وعوامل الاستحثاث في خفض اصابة نباتات البطيخ بالفطر *Fusariumoxysporum f. sp. Melonis* في الاصص البلاستيكية تحت ظروف الزراعة المحمية

نفذت التجربة في البيوت البلاستيكية ، لاختبار تأثير عزلة الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* في بادرات البطيخ ،وتقييم كفاءة البكتريا*Pseudomonas fluorescens* وبعض عوامل الاستحثاث والمبيد Beltanol في خفض نسبة وشدة الاصابة ، اضيف اللقاح الفطري الذي تم تنميته على بذور الدخن ، اذ استعمل في هذا الاختبار تربة مزيجية معقمة بالاوتوكليف، وتضمنت التجربة المعاملات الاتية وباربعة مكررات لكل منها كما يأتي :

1- المقارنة بدون أي اضافة (تربة غير ملوثة بالفطر الممرض تربة معقمة فقط).
2- الفطر الممرض بمفرده عزله الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis*
3- الفطر الممرض + البكتريا *Pseudomonas fluorescens* المنماة على وسط (NB).
4- الفطر الممرض + المستحضر الحيوي EM1
5- الفطر الممرض + مستخلص عشبة البحر Ascophyllum(SB)
6- الفطر الممرض + المبيد Beltanol
7- اضافة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* فقط
8- اضافة المستحضر الحيوي EM1 فقط
9- اضافة مستخلص عشبة البحر Ascophyllum(SB)
10- الفطر الممرض +EM1 + *Pseudomonas fluorescens* + SB

اضيف لقاح الفطر الممرض المحمل على بذور الدخن وبنسبة 1% (وزن: وزن) وبمقدار 10غم .اصيص$^{-1}$ سعة ا كغم الى جميع المعاملات التي تتطلب اضافة الفطر الممرض وذلك بخلط اللقاح مع التربة ثم سقيت الاصص بعناية وغلفت باكياس البولي اثلين المثقب لمدة ثلاثة ايام ، اضيف لقاح البكتريا *Pseudomonas*

fluorescens بمعدل 4 مل من عالق البكتريا / اصيص (9) حضر من مزرعة عمرها 48 ساعة ، واضيف 100 مل من المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر بتراكيز 0.4% و 0.2% على التوالي ، اما معاملة المبيد Beltanol فقد اضيف بتركيز 1 مل . لتر$^{-1}$ وبمقدار 25 مل.اصيص$^{-1}$ (1) . قدرت النسبة المئوية للاصابة بعد45 يوم من الزراعة وقدرت شدة الاصابة باستعمال الدليل المرضي الاتي :

- 0= نبات سليم اوراق خضراء ومجموع جذري كبير وابيض اللون.
- 1 = واصفرار بسيط على الاوراق السفلية فقط .
- 2 = اصفرار وذبول على الاوراق السفلية فقط .
- 3 = اصفرار وذبول على الاوراق السفلية والعليا .
- 4 = موت النبات .

وحسب وزن وطول النبات لكل من المجموعين الخضري والجذري وحسبت النسبة المئوية لشدة المرض باعتماد على معادلة (Mckinney ، 1923) كما في المعادلة الاتية :

$$\text{\% لشدة الأصابة} = \frac{\text{(عدد النباتات في الدرجة } 0 \times 0) + (\text{ عدد النباتات في الدرجة } 1\times1) + .. (\text{ عدد النباتات في الدرجة } 4\times4)}{\text{مجموع النباتات المفحوصة } \times \text{ اعلى درجة اصابة}} \times 100$$

شكل 1: الدليل المرضي المتبع لحساب شدة الاصابة

النتائج والمناقشة:

عزل وتشخيص الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis*:

اظهرت نتائج العزل والتشخيص 30 عزلة من الفطر *Fusarium sp* لعينات نباتات البطيخ التي ظهرت عليها اعراض الاصابة بالمرض التي جمعت من مناطق مختلفة من محافظة كربلاء ، شخصت عزلات الفطر

Fusarium الى مستوى النوع بعد ظهور النموات الفطرية اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والابواغ والتراكيب التي تكونها وبإتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة (6, 23) . اظهرت النتائج بان اثني عشر(12) عزلة من الفطر *Fusarium* كانت *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis*.

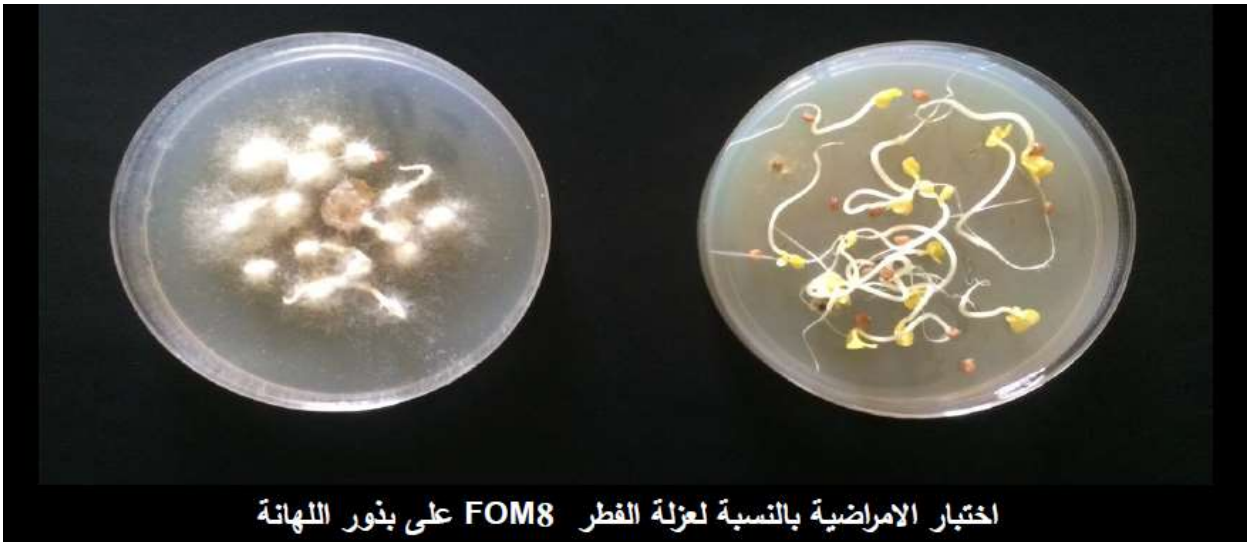
الكشف عن المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* باستعمال بذور اللهانة

ان جميع عزلات الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* المختبرة احدثت خفضاً معنوياً في انبات بذور اللهانة وبنسب متباينة قياساً الى معاملة المقارنة التي بلغت نسبة انبات البذور فيها 100% (جدول 1 ، شكل 2)، اذ تميزت العزلة FOM8 باحداث خفضاً معنويا لنسبة انبات البذور(منعت انباتها) اذ بلغت نسبة أنبات البذور فيها 0.00% .

جدول1: اختبار الامراضية لعزلات الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* على بذور اللهانة

ت	رمز العزلة الفطرية	النسبة المئوية للانبات	النسبة المئوية للتثبيط
1	FOM1	%4.44	%95.56
2	2FOM	%11.11	%88.89
3	3FOM	%2.22	%97.78
4	4FOM	%22.22	%77.78
5	5FOM	%13.33	%86.67
6	6FOM	%11.11	%88.89
7	7FOM	%4.44	%95.56
8	8FOM	0.00	%100
9	9FOM	%13.33	%86.67
10	10FOM	%11.11	%88.89
11	FOM11	%4.44	%95.56
12	FOM12	%11.11	%88.89
13	Control	%100	0.00
L.S.D عند مستوى 0.05		8.46	7.87

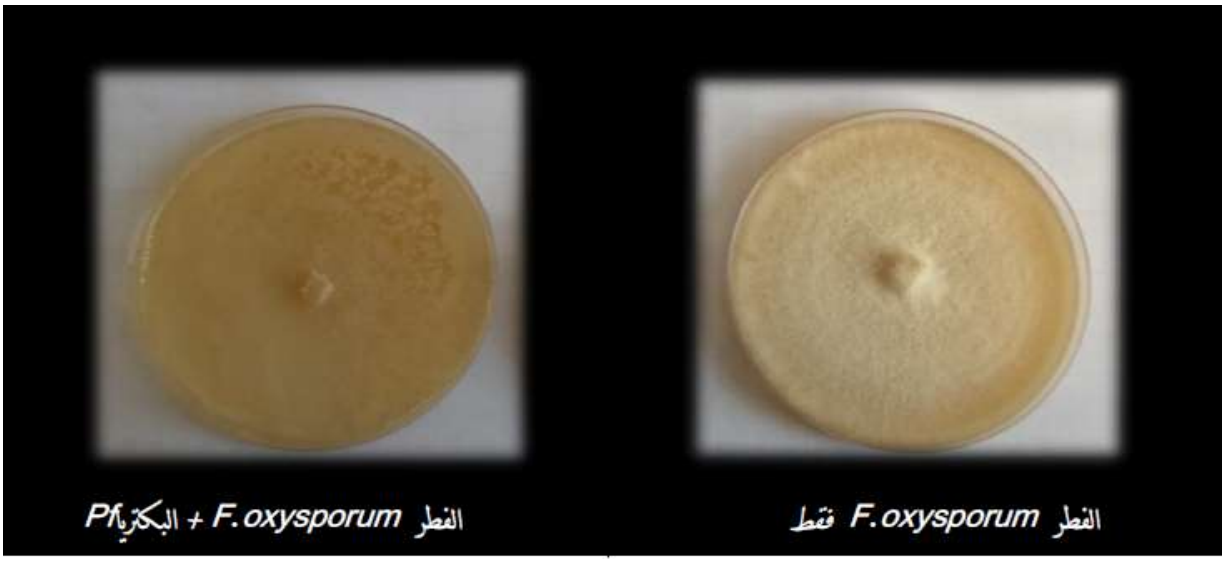
وقد يعزى سبب ذلك الى ما ينتجه الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* من السموم الفطرية التي تعمل على تثبيط عملية انبات البذور ، او مقدرتها على افراز الانزيمات المحللة للكنين في جدار خلايا العائل . وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (8) .



شكل 2: اختبار الامراضية على بذور اللهانة

تأثير البكتريا *Pseudomonas fluorescens* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* على الوسط الزرعي PSA

اوضحت نتائج اختبار تضاد البكتريا *Pseudomonas fluorescens* ضد عزلة الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis* في الوسط الزرعي تحقيق نسبة تثبيط لنمو الفطر بلغت 92 % (جدول2 ، شكل 3) ، وقد تعود الخاصية التضادية للبكتريا بسبب أنتاج مركبات Siderophore او أنتاج المركبات المضادة للفطريات وهذا ما اكده (15) .



شكل3: التضاد بين البكتريا *Pseudomonas fluorescens* وعزلة الفطر الممرض *F.oxysporum*

كفاءة تأثير المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر *Ascophyllum* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* على الوسط الزرعي PSA

اوضحت نتائج اختبار تضاد المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر *Ascophyllum* ضد عزلة الفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* في الوسط الزرعي PSA تحقيق نسبة تثبيط لنمو الفطر بلغت 88 % و 82% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفر (جدول 2)، وقد بين (24) بأن استعمال EM1 وبتركيز 10% على وسط الاكر قد ثبط نمو الفطر *F.oxysporumf.sp. raphani* بصورة تامة (100%) وقد يعود ذلك الى تأثير البكتريا Lactobacillus إذ تنتج هذه البكتريا مواد مثبطة لنمو الفطريات ، كما لها القدرة على اختزال السموم التي ينتجها فطر *Fusarium* spp. (11).

جدول 2 : تاثير اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* وعوامل الاستحثاث في خفض اصابة نباتات البطيخ بالفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*

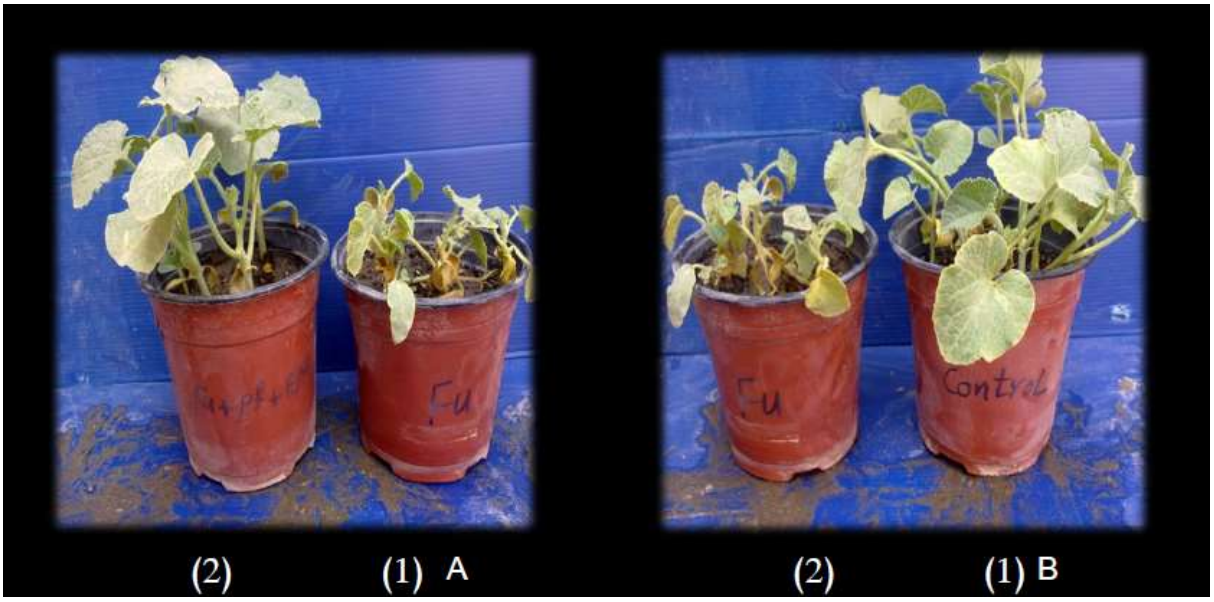
المعاملة	% لنسبة لنمو الفطر	نسبة التثبيط
الفطر *Fusariumoxysporum f. sp. Melonis* فقط	%100	%0
الفطر الممرض + البكتريا *Pseudomonas fluorescens*	%8	%92
الفطر الممرض + المستحضر الحيوي EM1	%12	%88
الفطر الممرض + مستخلص عشبة البحر *Ascophyllum*	%18	%82
L.S.D عند مستوى 0.05	12.89	13.74

كفاءة اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* ومبيد Beltanol وعوامل الاستحثاث في خفض اصابة نباتات البطيخ بالفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*

اوضحت نتائج هذه التجربة كفاءة جميع المعاملات في خفض شدة الاصابة بالفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* وبفروق معنوية قياساً الى معاملة المقارنة (فطر ممرض فقط) والتي كانت نسبة شدة الاصابة فيها 44% ، فقد اظهرت النتائج فاعلية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والمبيد Beltanol وكلاً من المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر Ascophyllum كلاً على انفراد ومجتمعةً في خفض نسبة وشدة الاصابة بالفطر . كما خلت النباتات في المعاملة بالبكتريا فقط و EM1 فقط و SB ومعاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر الممرض من اية اصابة (صفر %).وكما موضح (جدول 3) وشكل 4 .

ادت معاملة اضافة المبيد Beltanol الى التربة الملوثة بالفطر الممرض الى خفض شدة الاصابة لنباتات البطيخ الى صفر% . وتتفق هذه النتيجة مع ما اشارت اليه الكثير من البحوث الى فعالية هذا المبيد في

مكافحة الفطر *Fusarium* المسبب لمرض تعفن الجذور وكذلك اثبت هذا المبيد نجاحاً في مكافحة العديد من المسببات المرضية الاخرى (9) بينما اظهرت معاملة التكامل بين جميع عوامل المكافحة اعلى نسبة خفض معنوي لنسبة وشدة الاصابة بالمرض بلغت 12% و 6% على التوالي .



شكل 4: A 1- نبات مصاب بالفطر الممرض *Fusarium oxysporum f. sp. Melonis*

A 2- الفطر الممرض *F. oxysporum* + البكتريا *P. fluorescens* + SB + EM

B 1- نبات سليم للمقارنة ، B 2- نبات مصاب بالفطر الممرض *F. oxysporum*

جدول 3: كفاءة اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* ومبيد Beltanol وعوامل الاستحثاث في خفض اصابة نباتات البطيخ بالفطر *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*

المعاملات	%لنسبة الاصابة	%لشدة الاصابة
المقارنة بدون أي اضافة	%0	%0
الفطر *Pythium sp* فقط	%67	%44
الفطر الممرض + البكتريا *Azotobacter chroococcum*	%45	%20
الفطر الممرض + الخميرة *S. cerevisiae*	%44	%23
الفطر الممرض + مستخلص عشبة البحر Ascophyllum	%46	%24
الفطر الممرض + مستخلص اليوكالبتوس	%57	%10
الفطر الممرض + المبيد Beltanol	%0	%0
الفطر الممرض + مجموع العوامل الحيوية	%18	%3
L.S.D عند مستوى 0.05	4.89	6.98

* كل رقم في الجدول يمثل معدل اربعة مكررات

اوضحت نتائج هذه التجربة كفاءة جميع المعاملات في تحسين بعض معايير النمو الخضري وبفروق معنوية قياساً الى معاملة المقارنة (فطر ممرض فقط) فقد اظهرت النتائج فاعلية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* والمبيد Beltanol وكلاً من المستحضر الحيوي EM1 ومستخلص عشبة البحر Ascophyllum كلاً على انفراد وكذلك مجتمعةً في زيادة طول النبات وزيادة في الوزن الطري للمجموع الجذري والخضري وكما موضح بالجدول (4) ، شكل (5) .

جدول 4: كفاءة اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* ومبيد Beltanol وعوامل الاستحثاث في تحسين معايير النمو الخضري لنباتات البطيخ

المعاملات	معدل طول النبات مع المجموع الجذري	طول المجموع الجذري (سم)	الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري	معدل الوزن الطري للجذور (غم)
المقارنة بدون أي اضافة	38.5	17.2	11.6	3.6
الفطر *Fusariumoxysporum f. sp. Melonis* فقط	18.6	9.8	5.3	1.8
الفطر الممرض + البكتريا *P. fluorescens*	36.6	18.3	10.8	3.3
الفطر الممرض + المستحضر الحيوي EM1	36.4	18.2	10.6	3.2
الفطر الممرض + مستخلص عشبة البحر *Ascophyllum*	26.1	12.9	6.6	2.6
الفطر الممرض + المبيد Beltanol	16.8	9.8	4.2	1.2
اضافة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* فقط	35.4	17.8	9.8	3.1
اضافة المستحضر الحيوي EM1 فقط	42.2	20.6	12.2	4.1
اضافة مستخلص عشبة البحر *Ascophyllum* (SB) فقط	28.5	13.4	7.1	2.7
الفطر الممرض +EM1 *P. fluorescens* + + SB	34.3	17.1	12.8	3
L.S.D عند مستوى 0.05	2.4	-	2.1	-

شكل5: كفاءة عوامل الاستحثاث في تحسين معايير النمو الخضري والجذري لنباتات البطيخ

Refrences:

1. **AL-Jburi, H. H. S. (2002)** Effect of inhibitor growth Culture and some plant extracts to infection of board bean plants with rot root causes (Doctoral dissertation, M. Sc. thesis, College of Agriculture, University of Baghdad.(In Arabic).
2. **Berrocal-Lobo, M., and Molina, A. (2008)** Arabidopsis defense response against Fusarium oxysporum. *Trends in plant science*, 13(3), 145-150.
3. **Bolkan, H. A., & Butler, E. E. (1974)** Studies on heterokaryosis and virulence of Rhizoctonia solani. *Phytopathology*, *64*(5), 13-522.
4. **Champaco, E. R., Martyn, R. D., & Miller, M. E. (1993)** Comparison of Fusarium solani and F. oxysporum as causal agents of fruit rot and root rot of muskmelon. *HortScience*, 28(12), 1174-1177.
5. **Dewan, M. M., and Sivasithamparam, K. (1988)** Identity and frequency of occurrence ofTrichoderma spp. in roots of wheat and rye-grass in Western Australia and their effect on root rot caused byGaeumannomyces graminis var. tritici. *Plant and Soil*, *109*(1), 93-101.
6. **Ellis,M.B(1971)**Dematiaceous hyphomycetes.Commonwealth Mycological Institue,Kew, Surrey, England,608pp.
7. **Ensminger, M. E.; Ensminger, A. H.; Konlande, J. E., and Robson, J. R. (1995)** *The concise encyclopedia of Foods & Nutrition*. CRC press.
8. **Gordon, T. R., Okamoto, D., and Jacobson, D. J. (1989)**Colonization of muskmelon and nonsusceptible crops by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* and other species of Fusarium. *Phytopathology* 79:1095-1100.
9. **Hassoun, I. K. (2005)** Biological and chemical control of ulcers of *Rhizoctonia solani* kuhn. PhD thesis, Faculty of Agriculture, University of Baghdad.
10. **Heydari, A. (2007)** Biological control of turfgrass fungal diseases. In *Handbook of Turfgrass Management and Physiology* (pp. 228-240). CRC Press.

11. Higa, T. (1994) Effective microorganisms: Anew dimension for nature farming. In *Proceedings of the 2nd International Conference on Kyusei Nature Farming. Ed. JF Parr et al. USDA, Washington DC, USA* (pp. 20-22).

12. Jayaraman, J., Norrie, J., & Punja, Z. K. (2011) Commercial extract from the brown seaweed Ascophyllum nodosum reduces fungal diseases in green-house cucumber. *Journal of Applied Phycology*, *23*(3), 353-361.

13. Khudair,W. M. (2007) Integrated control of the root rot disease caused by fungus *Fusarium solani*. PhD thesis. faculty of Agriculture. Baghdad University.

14. Kloepper, J. W. (1992) Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. *Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management.*, 255-274.

15. Zablotowicz, R. M., Tipping, E. M., Lifshitz, R., & Kloepper, J. W. (1991) Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In *The rhizosphere and plant growth*(pp. 315-326). Springer, Dordrecht.

16. Lokesha, N. M., & Benagi, V. L. (2007) Biocontrol Management of Pigeonpea Dry Root Caused by Macrophomina phaseolina. Karnataka. *Journal of Agricultural Sciences*, *20*(1), 54-56.

17. Mankau,R.(1980) Biological control of nematode pests by natural enemies. *Annual Review of Phytopathology*, 18(1), 415-440.

18. Mirtalebi, M., & Banihashemi, Z. (2014) Genetic Relationship among Fusarium oxysporum f. sp. melonis Vegetative Compatibility Groups and Their Relatedness to Other F. oxysporum formae speciales. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16(4), 931-943.

19. Noble, R., & Coventry, E. (2005) Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. *Biocontrol Science and Technology*, 15(1), 3-20.

20. Ojha, S., Chakraborty, M. R., Dutta, S., & Chatterjee, N. C. (2008) Influence of VAM on nutrient uptake and growth of custard-apple. *Asian J Exp Sci*, *22*(3), 221-224.

21. Okorski, A., Olszewski, J., Glowacka, K., Okorska, S., & Pszczolkowska, A. (2010) The effect of the application of the biological control agent EM1 on gas exchange parameters and productivity of Pisum sativum L. infected with Fusarium oxysporum Schlecht. *Acta Agrobotanica*, *63*(2).

22. Osburn, R. M., Milner, J. L., Oplinger, E. S., Smith, R. S., & Handelsman, J. (1995) Effect of Bacillus cereus UW85 on the yield of soybean at two field sites in Wisconsin. *Plant Disease*, *79*(6), 551-556.

23. Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997) Fungi and food spoilage. Blackie Academic & Professional. *New South Wales, Australia*.

24. Sakakibara, K.(2002) Antibacterial effect of EM. *First International EM Technology Conference*, Okinawo, Japan, 1 p .

25. Singh, A., Varma, R. and Shanmugan, V. (2006) Extracellular chitinases of fluorescent pseudomonades antifungal to Fusariumoxysporum F. SP dianth. Causing carnation with Cur. Microbiology, 52 : 310 – 316 .

26. Soriano, A. P., Piedra, A. P., Goldaracena, I. M., Soriano, R. P., Sánchez, D. M., Egido, M. L., ... & Martín, M. L. S. (2006) Microwave energy supplied by a prototype oven prevents the spread of Fusarium wilt during the propagation of melon plantlets by seed. *Spanish journal of agricultural research*, (3), 207-212.

27. Validov, S., Mavrodi, O., La Fuente, L. D., Boronin, A., Weller, D., Thomashow, L., & Mavrodi, D. (2005) Antagonistic activity among 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent Pseudomonas spp. *FEMS microbiology letters*, *242*(2), 249-256.

28. Yang, B., G. Yonghong ; W. chunling : L. Xuewen. (2007) Melon production in China. Acta Hort. (ISHS) 731 : 493 – 500 .

29. (A.O.A.D). The Arab Organization for Agricultural Development (2016) . *Arab Agricultural Statistics Yearbook* -Vol 36 .