P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2007 ,(1), (2) :64-74

(JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة

Open Access

تحضير مواد Bio-phos ودورها في تغذية ومقاومة نبات الرقي Citrullus vulgaris L. للإصابة بمرض الذبول الفيوزارمي Fusarium wilt disease

ادهام علي عبد العسافي*، ظافر فخري الراوي **، عبد الكريم عريبي سبع ***

كلية العلوم – جامعة الانبار ** كلية التربية – جامعة الانبار *** كلية العلوم – جامعة ديالى

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠٠٦/١١/٢٥
تاريخ القبول: ٢٠٠٧/٢/٢٥
تاريخ النشر: ١٤/ ٠٦ / ٢٠١٢
DOI: 10.37652/juaps.2007.15374

الكلمات المفتاحية:

Bio-phos،
تغذية ومقاومة،
الرقي،
الذبول الفيوزارمي.

الخلاصة:

نفذت تجارب مختبرية لتحضير مادة Biophos بناءً على مشاهدات حقلية لثلاثة مواسم في حقول زراعية منطقة زنكورة 25 كم غرب مدينة الرمادي، حصل من المشاهدات الحقلية والتحاليل المختبرية على المسبب المرضي للذبول الفيوزارمي *Fusarium oxysporum*، وعزلتين هما *Streptomyces sp.f3-y3* و *Streptomyces sp.f3-y3.* قادرة على تثبيط نمو الفطر وحضرت مادة Biophos باستعمال خليط (compos (من تربة طينية ومسحوق نباتات السعد *Cyperus rotundus Linn.* والقصب *Phragmitxs australis* , ونشارة خشب اليوكالبتوس *Eucalyptus microtheca* بنسب 20 و 10،و٤٠ و ٣٠ % على التوالي(اختيرت هذه المكونات بناءً على المشاهدات الحقلية لحقول المنطقة). مزجت المكونات مع مسحوق الصخر الفوسفاتي Rock phosphate–appetite بنسب RP: Com 1: 1 و1 : 0.5 و1 : 0 رطبت من الشرش Whey المعقم (مخلفات معامل الالبان) ثم لقحت من عزلات البكتريا *St. sp.f3-y3.* و *P. fluorescence f1-y1.* حضنت في درجة حرارة 28±2 °م لمدد 20 و40 و ٦٠ يوم. أجريت بعض الفحوصات المختبرية. أشارت النتائج الى تميز المادة المحضرة لمدة حضن ٦٠ يوم Biophos– *St sp.f3-y3* بأعلى محتوى من الفوسفور والنيتروجين وحامضي الهيومك والفالفيك، إضافة للكتلة الحية. تلتها معاملة المادة المحضرة بمدة حضن 40 يوم Biophos-*P. fluorescenc f1-y1* واختبرت قدرة المواد المحضرة ومستخلصها المائي في تثبيط نمو الفطر *F.oxysporum*.أظهرت النتائج فعالية المستخلص المائي لخليط المادتين المتميزتين 5:1 أوخليطهما أعلى قدرة في التثبيط الكامل لنمو الفطر. استعملت المادتين المتميزتين في تحضير معاملة من Biophos- *St sp.f3-y3* و Biophos– *P. fluorescenc f1-y1* بنسبة 1:1 أضيفت بمقدار 20 غم للنبات بدفعة واحدة مع الزراعة او بدفعتين مع الزراعة وبعد 30 يوم من الإنبات. استعملت معاملة اخرى من خليط لقاح العزلتين بمقدار 5 مل للنبات أضيف بنفس الطريقة السابقة، طبقت المعاملات تحت إضافة لقاح من *F.oxysporum* مع معاملة سيطرة. نفذت التجربة في حقول المشاهدات المزروعة بنبات الرقي*Citrullus vulgaris L*. (charleston Negara) سجلت نسبة الإصابة ومعدل الإنتاج للحاصل الثمري. أكدت النتائج تفوق معاملة الخليط المضافة بدفعتين بأقل نسبة إصابة ٨,٥١% وأعلى إنتاج ٤٠ طن ١ هـ..

المقدمة

يتوفر في الحقول الزراعية سنويا كميات كبيرة ومتنوعة من المخلفات انباتية والحيوانية التي تختلف في مكوناتها وقابليتها على التحلل. وتعد عملية تحضير مواد بشكل خليط Compos من هذه المواد على ان يراعى في مكوناته قابليته على التحلل ومحتواه من المركبات ومسارات التحلل المفيدة، لزيادة خصوبة التربة وتحسين قدرة

* Corresponding author at: College of Science - Anbar University, Iraq;
E-mail address:

النبات على الاستفادة منها في التغذية ومقاومة الإصابة بالأمراض. وقد تطورت العملية في السنوات الأخيرة وأطلق مصطلح البايوفوس Biopos (الفوسفات الميكروبية) على المركبات المحضرة من المخلفات النباتية والصخر الفوسفاتي مع المكونات الحيوية المجهرية التي اثبتت قدرتها عند إضافتها للتربة من خلال محتواها الإنزيمي والهورمونات والمركبات المهمة في تغذية النبات ومعالجة الأضرار البيئية، خاصة في مجال الإصابات المرضية المرافقة لتأثر نمو النبات بالماء الأرضي والملوحة وتعد مثل هذه البرامج عوامل مشتركة بين العمليات الزراعية والعمليات البيئية الأكثر اطمئنان على حياة الناس(١).

اثبتت بكتريا *P. fluorescent* و *P. putida* قابليتها في إذابة مركبات الفوسفات المعدنية من الصخر الفوسفاتي وتحليلها لمركبات عضوية متعددة وإنتاجها لمركبات مخلبية sidrophors ذات قدرة على تثبيط نمو فطر *Fusarium oxyspoum*، اذ ادى استعمالها لقاحا ميكروبيا بمعدل cfu/g 10^7 إلى إنتاج مركبات psudobactin بشكل hexapeptide ذو الفعالية الجيدة بمقاومة نمو فطريات *Fusarium oxysporum* (2). استعملت مادة حامض salicylic المنتج من بكتريا *P. fluorescent* مقارنة مع المنتج الكيميائي للمركب في مقاومة وتثبيط نمو فطر *F. oxysporum* وتفوق بتقليل نسبة الإصابة 50% مقارنة بنسبة ٢٥% للمنتج الكيميائي (٣).

ازدادت نسب الإصابة الفطرية للذبول الفيوزارمي في السنوات الأخيرة وأشارت التقارير ان نسبة 90% من الإصابة لنبات الرقي *Citrullus vulgaris L* بمرض الذبول الفيوزارمي خلال فصل الصيف يعود للفطر *Fusarium oxysporum* بسلالتيه *niveum* و *melon* وبين التقرير ان النباتات المصابة تضل تنمو بشكل طبيعي الى مدة 45 يوما ثم تتحول بعض المناطق في جذورها الى اللون البني المحمر ثم يموت النبات بعد أيام، مما يسبب عدم اكتمال نضج الثمار وخسائر اقتصادية كبيره(٤).

أجرى (5) عملية مسح ميداني كمي لتقدير الاستيطان الميكروبي الفيوزارمي لجذور نبات الرقي في حقول زراعية مختلفة تضمنت ١٧ صنف مختلفة من نبات الرقي أظهرت ٧ أصناف منها مقاومة للإصابة بمرض الذبول الفيوزارمي، وتبين ان كثافة سبورات الفطر *Fusarium oxysporum niveum* على جذور ها لا تزيد عن 10^2 سبور \ غم. بينما بلغت نسبة الإصابة في 8 أصناف أخرى 50% التي حملت جذورها كثافة سبورية بلغت 10^3-10^4 سبور \ غم بينما اشتدت نسبة الإصابة لتصل 90% مع كثافة 10^6 سبور \ غم.

لم تتواجد بكتريا الاكتينومايسيتات في مجال المكافحة البايلوجية ضد الإمراض النباتية رغم أنها من اشهر منتجات المضادات الحيوية المسجلة في التربة كماً ونوعاً. وقد إثارة هذه الظاهرة في السنوات الأخيرة رأي الباحثين وأصبحت مهمة في نمو النبات وحمايته من الإصابات المرضية علاوة على ما تتمتع به من قدرة واسعة في تحلل المركبات الصعبة وكتلتها الحيوية الكبيرة في التربة، ويصل عدد الاكتينومايسيتات في التربة في الظروف الاعتيادية ١٠٢ الى ١٠٤ سبور \ غم (٦). واستعمل (٧) لقاح عزلتين من *Streptomyces sp.* و *Streptosporongium* بكثافة بلغت cfu/g $5X10^7$ في ظروف البيت الزجاجي للمقاومة البايلوجية للفطر *Fusarium oxysporum* الملقحة جذوره بمعدل 10^5 سبور / غم، وأبدت العزلة الأولى قدرة تثبيط كاملة للفطر. وتمكن (8) من الحصول على 42 عزلة للاكتينومايسيتات من جذور نبات الموز المصابة وغير المصابة بمرض الذبول الفيوزارمي وبلغت نسبة انتشار العزلتين *Streptomycetes* و *Streptomyces griseorubiginasus* 70% من بين العزلات على الجذور السليمة و ١٠% من بين العزلات على الجذور المصابة. وعند غربلة هذه

العزلات لمقاومة نمو الفطر *Fusarium oxysporum* وجد إن عزلات *Streptomycetes* المعزولة من الجذور السليمة هي الأفضل.

واستطاع (9) من عزل 110 عزلة من الاكتينومايسيتات غربلت الى ١٤ عزلة تعمل بنشاط مضاده حيويا للفطريات. وتميزت منهما عزلة *Streptomyces picatus* كأفضل عزلة لمقاومة فطريات *Alternaria sp.* و *Fusarium solani*. حصل (١٠) على عزلة بكترية *Streptomyces sp.* من المنطقة الجذرية للبنجر السكري واستعملها لقاحا ضد الفطر *Fusarium solani* وحققت خفض للإصابة 44.1% مقارنة بالمبيدات الكيميائية المستعملة. تمكن (١١) من عزل ٣٢ عزلة للاكتينومايسيتات انتخب منها عزلة *Streptomyces M51* لمقاومة نمو فطر *Fusarium oxysporum* تحت ظروف البيت الزجاجي، واستعملها بثلاثة طرائق: تغطيس البذور لمدة 10 دقيقة في لقاح العزلة او تغطيس جذور نباتات الدايات عند نقلها او رش تربة الحقل باللقاح. وبينت النتائج أفضلية الإضافة مع الطريقة الثانية.

المواد وطرائق العمل

عزل وتشخيص المسبب المرضي الفطري

تم عزل المسبب المرضي الفطري وقدرت كثافته العددية وشخص، باختيار الجذور المصابة بقطر 1 سم وبوزن 1 غم. غسلت بالماء المعقم لإزالة الأتربة، ثم غطست بمحلول كحول اثيلي 70% مدة 5 دقيقة، ثم بالماء المقطر ثم نقعت بمحلول 10% $NaHCO_3$ مدة 20 دقيقة. حضرت تخافيف عشرية ولقحت أوساط انتخابية من PDA مدعمة من KClO3 بمقدار 7.5 غم \ لتر، جهزت من pentachloronitrobenzene بمعدل 0.5 غم \ لتر إضافة 250 ملغم \ لتر من chloramphenicol و 0.6 مل \ لتر من حامض اللاكتيك 0.85% وحضنت الأطباق في درجة حرارة 28±2 م مدة 72 ساعة، فحص بعدها عدد المستعمرات وتركت لمدة أسبوع لتحديد الصفات المظهرية للفطر *F. oxysporum* تحت المجهر الضوئي(4).

تقدير الكثافة المكروبية وتشخيص بكتريا P. fluorescent و St. sp

اختيرت قطع بقطر 1 سم ووزن 1 غم من جذور النباتات السليمة ونقعت في 10 مل ماء مقطر معقم ورجت لمدة 30 دقيقة ثم حضرت تخافيف عشرية ولقح وسطي King-B و Casein glycerol agar (CGA) (المدعمين من مادة heasamen-diethelene)، حضنت الأوساط في درجة حرارة 28±2 م لمدة 72 ساعة عدت بعدها المستعمرات النامية وفحصت الصفات الظاهرية للمزارع النامية على وسط CGA بالمجهر الضوئي لتشخيص عزلات *Streptomycetes sp*(9). فحصت المستعمرات النامية على وسط King-B باستعمال الأشعة فوق البنفسجية بعد 72 ساعة مع بعض الفحوصات المجهرية (٥).

اختبار قدرة P.fluorescent وSt. sp. في تثبيط F. oxysporum وإنتاج مركبات Sidrophor

اختيرت عزلة الفطر التي أحدثت أعلى نسبة في الإصابة *F. oxysporum f3- y3* لاختبار قدرة التثبيط للفطر بنوعين من عزلتين منتخبة *P.fluorescent f1- y1, f1- y2* و*St. sp. f2-y2,* *f3-y3* لتميز مستعمراتها بأعلى كثافة واقل نسبة ظهور للإصابة معها.

اجري الاختبار بطريقتين:

الأولى: – لقح وسط PDA قبل تصلبه بمعدل cfu/ml.

١٠^٣ او ١٠^٦ من العزلات *P.fluorescent f1- y1, f1- y2* و *St. sp.* *f3-y3 ,F2-y2* رجت الأطباق زرعت قطعة من فطر *F. oxysporum f3- y3* في وسط الأطباق وحضنت في درجة حرارة 28±2 م. أخذت قياسات مزرعة قطر مستعمرة الفطر بعد مدة 2 و ٤ يوم.

الثانيـة:- لقـح وسـط PDA قبل تصـلبه بمعـدل 10^2 و ١٠٤سبور\ مل من فطر *F. oxysporum f3- y3*. زرعت قطعة قطر 2 ملم من مزارع العزلات البكتيرية *P.fluorescent f1- y1, f1-y2* و*St. sp. f2-y2, f3-y3* (معدل 3 قطعة \طبق). حضنت في درجة حرارة 28±2 م وأخذ قياس قطر منطقة التثبيط لنمو الفطر المحيطة بالعزلات البكتيرية بعد ٢ و ٤ يوم (٩). اختبرت قدرة العزلات البكتيرية المنتخبة في إنتاج مركبات sidrophore في أوساط سائلة (12).

تحضير مادة البايوفوس Bio-phos:-

اعتمـاداً علـى المعلومـات المتـوفرة مـن مشاهـدات المسح الميداني للحقول للمواسم الثلاث، نفذت تجربة مختبرية لتحضير مادة البايوفوس Biophos باستعمال مواد من الحقول او النباتات المرافقة للنباتات غير المصابة، حضر خليط مكون من 20 و10و٤٠ و ٣٠ % مسـحوق ثمرة نبات السعد *Cyperus rotundus Linn* وتربة طينية Clay soil ومسحوق سيقان القصب *Phragites austrialis* ومسحوق نشارة خشب اليوكالبتوس Euphratcua على التوالي. مرر مسحوق كل مكون بمنخل 2 ملم، ثم مزجت مع مسحوق الصخر الفوسفاتي (RP: Com. بالنسب (P 8% Rock phosphate 0:1, 1:1,0.5:1. رطبت الخلائط باستعمال الشرش المعقم (Why) (مخلفات معامل الالبان ٤,٥%لاكتوز)، لقحت المعاملات باستعمال لقاح معد من العزلات *P. fluorescent f1-y1* و *S. sp f3-y3.* بمعدل 10^5 cfu/ gوترتبت المعاملات بثلاثة مكررات للمعاملة. وضعت في أكياس بلاستيكية معقمة بمعدل وزن 1 كغم \ للمعاملة، ثم حضنت في درجة حرارة ٢٨±٢ م لمدد ٢٠ و٤٠ و ٦٠ يوم. رطبت المعاملات عند الحاجة من الشرش المعقم. فحصت المعاملات بتقدير الفوسفور والنيتـروجين وحامضـي الهيومـك والفالفيـك (١٤) والكثافـة المكروبيـة (١٥). حللت النتائج احصـائيا باستـعمال CRD وفقا لنظـام التجـارب العاملية (١٣) وانتخبت المعاملات الأفضل.

اختبار قدرة وفعالية مواد Biophos المنتخبة في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum f3- y3*

انتخبـت المـواد المحضـرة فـي التجربـة السـابقة للمعـاملتين Biophos-*St.-spf3-y3.* بمدة تخمير 60 يوم و Biophos- *P. fluorescent-f1- y1* بمدة تخمير 40 يوم، حضرت منهما المعاملات التالية ٥٠ و ٥٠ غم \ لترمن المادتين المنتخبتين و٢٥+٢٥ غم \ لتر من المادتين المنتخبة والمستخلص المائي(٥:١) للمعاملات المحضرة استعمل بمقدار ٥٠ و٥٠ و(٢٥+٢٥) مل \ لتر مستخلص كل مادة. لاختبار القدرة في تثبيط *F. oxysporum f3- y3*. أجريت عملية الاختبـار بتـدعيم وسـط PDA المعقـم، مـن المـواد المحضـرة او مستخلصيـها علـى التـوالي. لقحـت الأوسـاط بقطعـة قطـر ٢ ملم من الخيط الفطـري للفطر *F. oxysporum f3- y3* بثلاثة مكررات وحضـنت بدرجـة حرارة 28±2 م أخذت قياسات قطر النمو لمستعمرة للفطر بعد 2 و 4 يوم. حللت النتائج احصـائيا حسب تصميم CRD التجارب العاملية.

التجربة البايلوجية الحقلية

بنـاءً علـى المعلومـات ونتـائج التجـارب السـابق حضـرت المعاملات التالية: مزيج لقاح العزلتين و *P. fluorescent-f1- y1 +spf3-y3* و مزيج مواد المعاملتين المنتخبتين Biophos-*st.-spf3-y3* و Biophos- *P. fluorescent-f1- y1* بنسبة 1 : 1 ومعاملة السيطرة. أضيفت المعاملات بطريقتين:- الاولى:- دفعة واحدة (20 غم \ نبات) مع زراعة البذور والثانية :- بدفعتين متساوية مع الزراعة و بعد٣٠ يوم من الإنبات (استعمل مزيج اللقاح من العزلتين يحتوي 10^6 cfu/ml لكل عزله أضيفت بمعدل 5 مل لك نبات عند الدفعة الواحدة وقسمت الى نصفين مع الإضافة بدفعتين)، وذلك بعمل خندق بعمق 5

سم حول النبات وإضافة المادة ثم دفنت بالتربة. نفذت التجربة في الحقل الثالث في 7/4/2004. استعمل اللقاح السبوري المحضر من *F. oxysporum f3- y3* بمعدل 10^3 سبور / لكل نبات مع وجود معاملة سيطرة (بدون إضافة الفطر). نفذت كل معاملة على عشرة نباتات *Citrullus vulgaris L* (charleston Negara) كوحدة تجريبية وبثلاثة مكررات وزرعت ثلاثة بذور تركت واحدة بعد الإنبات كما أجريت جميع عمليات الخدمة للمحصول عدا الوقاية من الفطر وحسب التوصيات الإرشادية للمحصول، نظمت معاملات التجربة حسب تصميم CRD التجارب العاملية. في نهاية الموسم أخذت نتائج معدل وزن الحاصل الثمري الخالي من الإصابة والصالح للتسويق ومعدل وزن الثمرة، ونسبة الإصابة بالفطر *F. oxysporum f3- y3*.

المسح الحقلي:

بسبب ارتفاع نسبة الإصابة (70-90%) بمرض الذبول الفيوزارمي لنبات الرقي *Citrullus vulgaris L* في المناطق الواقعة على ضفتي نهر الفرات 25 كم غرب مدينة الرمادي والمثبته من خلال مكاتب المكافحة في المحافظة. حددت ثلاثة حقول معرض للإصابة الحقل الأول منطقة زنكورة ذو تربة طينية مزيجة، الحقل الثاني منطقة القرية العصرية ذو تربة مزيجة غرينية والحقل الثالث منطقة ابو طيبان ذو تربة مزيجة غرينية. جمعت معلومات ميدانية شملت نوع التربة الأدغال وعمليات خدمة المحصول وموعد ظهور الإصابة ونسبها ومظهر الجذور المصابة. جلبت الى المختبر بأكياس معقمة معدل عشرة جذور للنباتات الى عمق ٣٠ سم، السليمة والمصابة في معدل موعد ظهور الإصابة ولثلاثة مواسم ٢٠٠١ و٢٠٠٢ و٢٠٠٣.

النتائج والمناقشة

المسح الميداني الحقلي:

تبين من خلال نتائج المتابعة الميدانية الحقلية لمراقبة إصابة نبات الرقي (*Citrullus vulgaris L* charleston Negara.) بمرض الذبول الفيوزارمي لثلاثة حقول زراعية خلال مواسم ٢٠٠١ و٢٠٠٢ و٢٠٠٣ ان النباتات المصابة وجذورها تبقى طبيعية حتى موعد ظهور الإصابة الذي سجل معدله ٤٨ يوم، إذ تتحول الجذور المصابة إلى لون بني محمر، يموت النبات بعدها بمدة ١٥-٨ يوم. تبين إن نسب الإصابة تزداد مع تكرار الموسم الزراعي وتراوحت النسب بين ٦١% و٩٦% باختلاف الحقول والمواسم. وتنخفض نسب الإصابة في الحقل مع زيادة نسبة الطين بالتربه كذلك تقل نسب الإصابة مع انتشار نبات السعد والقصب قرب النبات (جدول١).

تحديد المسبب المرضي للذبول الفيوزارمي للجذور المصابة:

تبين النتائج في جدول 2 إن أعلى كثافة سبورية بلغت 1.6 10^4 x سبور \ غم في الجذور المصابة لنباتات الحقل الثالث خلال الموسم 2003 الذي كانت نسبة إصابته 96.1% بينما بلغت اقل كثافة سبورية ٩,٢ 10^2 x سبور \ غم في جذور نباتات الحقل الأول للموسم 2001 الذي بلغت نسبة الإصابة فيه 61% وأظهرت النتائج للكثافة السبورية ونسب الإصابة علاقة خطية معنوية موجبة ($R=+ 0.832$) وأكدت نتائج الفحص المجهري إن 90% من العزلات الفطرية التي بلغت ٤٠ عزلة من الجذور المصابة تعود *F. oxysporum* انتخب منها العزلة *F. oxysporum f3-y3* التي سببت أعلى نسبة إصابة في نباتات الحقل الثالث للموسم 2003 للتجارب اللاحقة.

محتوى الجذور السليمة من عزلتي .P. sp و .St. sp:

بلغت أعلى كثافة 10^6 x 2.8 cfu/g لعزلات *Pseudomonas sp* النامية على وسط King-B في جذور نباتات الحقل الأول خلال الموسم 2001، وبلغت اقل كثافة cfu/g 8.0 x 10^4 لها في جذور النباتات السليمة في الحقل الثالث خلال الموسم 2003، واظهر فحص العزلات تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) ان نسبة 18-30% منها يعود للعزلة *P. fluorescence* انتخب منها

عزلتين *P. fluorescence f1-y1* و *P. fluorescence f1-y2* لتميز مستعمراتها بأكثر وضوح وأعلى نسبة انتشار.

بينما بلغت الكثافة الميكروبية لعزلات *Streptomyces sp.* النامية على وسط CGA من جذور النباتات السليمة للحقل الثالث والثاني للموسم ٢٠٠٣ أعلى قيمة ٣٢ cfu/g 10^5 X و 30×10^5 على التوالي (جدول 3) انتخبت العزلتين *St. spf3-y3* و *St.sp f2-y3* لتميز مستعمراتها بأعلى كثافة وأفضل نمو.

قدرة عزلتي *sp f3-y3* و *St.sp f2-y3* وعزلتي *f1-y1* و *P. fluorescence f1-y2* في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum f3-y3*:

أوضحت نتائج الاختبارات الموضحة في جدول 4 إن قدرة عزلات البكتريا المستعملة في تثبيط نمو الفطر قد ازدادت بزيادة كثافة اللقاح البكتيري المستعمل لكلا العزلتين إلا انه انخفض بزيادة كثافة سبورات الفطر في الوسط. وحصلت أفضل قدرة تثبيط لنمو الفطر بشكل تام من العزلة *St.sp f3-y3* بكثافة لقاح 10^6 cfu/ml بعد مدتي الحضن 2 و 4 يوم. وتمكنت عزلة *P. fluorescence f1-y1* من التثبيط الكامل لنمو الفطر عند كثافة ومدة حضن 2 يوم.

وأكدت نتائج قياس قطر منطقة التثبيط حول المستعمرات البكتيرية قابلية العزلات على تثبيط نمو الفطر وبصورة عامة ازدادت قابلية التثبيط بتقادم مدة الحضن من ٢ الى ٤ يوم، تميزت العزلة *St.sp f3-y3* بتحقيق اعلى معدل بلغ 2.95 سم في تثبيط الفطر بكثافة 10^2 سبور \ مل حولها خلال اليوم الرابع للنمو. وانخفض قطر التثبيط مع زيادة كثافة الفطر $١٠^٤$ سبور \ مل لتصل ١,٦٥ سم. بينما بلغ معدل التثبيط ٠,٨٥ و ١,٣٢ سم مع عزلة *P. fluorescence f1-y1* وانخفض الى 0.35 و ٠,٦٥ سم مع كثافتي الفطر ١٠٢ و ١٠٤ سبور \ مل ومدة ٢ و ٤ يوم على التوالي. وأثبتت هذه النتائج إن السيطرة البايلوجية تعتمد على كثافتي المسبب المرضي والعزلة المثبطة، إضافة الى قابلية العزلة على النمو وكتلتها الحيوية المتكونة في الوسط، إذ تميزت عزلة *St.sp f3-y3* بقابليتها على النمو فوق نمو الفطر وتحليله. كلما تقدمت مدة الحضن. كذلك أكدت نتائج الفحص المختبري لإنتاج مركبات sidrophores إن العزلتين منتجه للمركبات بدرجة (+++ و ++) للعزلتين *P. fluorescence f1-y1* و *St.sp f3-y3* على التوالي. انتخبت العزلتين *St.sp f3-y3* و *P. fluorescence f1-y1* لإجراء التجارب اللاحقة.

تحضير مادة Biophos:

أظهرت النتائج المبينة في جدول 5 إن أفضل نسبة خلط للمواد المحضرة حصلت من الخلائط هي RP: Com. 1: 1، بينما تباينت أفضلية مدة التخمير باختلاف العزلتين وبلغت ٤٠ يوم مع العزلة *P. fluorescence f1-y1* و ٦٠ يوم مع العزلة *St.sp f3-y3*، إذ أعطت المعاملة *P. fluorescence f1-y1* -Biophos بنسبة خلط ١ : ١ أعلى كثافة بكتيرية بلغت 8.8×10^7 cfu/ g وأعلى قيمة للفسفور الجاهز والنيتروجين الكلي 21.81 و 32.41 ملغم P و N \ كغم على التوالي. كما أعطت المعاملة Biophos– *St.sp f3-y3* بنسبة الخلط 1 : 1 ومدة حضن 60 يوم بأفضل محتوى لقيم الصفات المقدرة من حامضي الفالفيك والهيومك إذ بلغا ١٣,٦٦ و ٤,٥٠ غم \ كغم، وبمحتوى خلايا ٤,٣ 10^6 X cfu/ g. تبين إن مواد المعاملات التي خلت من RP تميزت بأعلى محتوى من النيتروجين خلال مدة التخمير 20 يوم لكنها انخفضت مع تقادم مدة التخمير وربما يعود ذلك الى حدوث عملية الدنتره Denitrification. وربما يعود زيادة الكثافة العددية للعزلة *P. fluorescence f1-y1* مقارنة بالعزلة الأخرى لقابليتها السريعة في النمو عند توفر المركبات سهلة التحلل وعند نفاذها

مع تقدم مدة التخمير وسيادة المركبات صعبة التحلل تنخفض مقابل زيادة كثافة خلايا العزلة *St.sp f3-y3* (جدول٥).

أكدت النتائج (جدول5) انه مع زيادة نسبة RP في الخلطات تزداد نسبة حامض الفالفيك: حامض الهيومك وربما يعود ذلك إلى زيادة نسبة الكلس $CaCO_3$ مع RP الذي يزداد ذوبانه ويزيد من عملية التحويل (14) الذي أكد على إن الكلس الفعال يحفز النشاط الانزيمي الحيوي ويسمح ببداية سريعة لعملية تحلل المواد العضوية وتكوين نسب أعلى من حامض الفالفيك مقارنة بحامض الهيومك مع ارتفاع نسبة الكلس.كذلك لوحظ انخفاض محتوى المواد المحضرة من الفوسفور بانخفاض نسبة RP في الخلطة وهذا أمر طبيعي لانخفاض المحتوى الكلي للخلطة من للفسفور. واختيرت المادتين Biophos− *St.sp f3-y3* و Biophos− f1-*y1* *P. fluorescence* المحضرة للتجارب اللاحقة لتميزهم بأفضل محتوى غذائي وكثافة ميكروبية.

قدرة مواد Biophos والمستخلص المائي المنتخب في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum f3*−*y3*:

تبين نتائج الاختبار الموضحة في جدول٦ تميز المعاملة المحضرة من مزيج المعاملتين المنتخبتين بقدرة تثبيط كامل لنمو الفطر خلال مدتي الحضن 2 و ٤ يوم. اما معاملة مزيج المستخلص المائي للمادتين المنتخبتين فقد أعطى قدرة تثبيط كاملة أيضا لكن خلال مدة الحضن 2 يوم لكن نمو الفطر سجل بقطر ٠,٨٥ سم بعد ٤ يوم. بينما نتائج استعمال المواد دون مزج فقد تميزت المعاملة Biophos− *St.sp f3-y3* رغم ظهور نمو الفطر بقطر 1.46سم بعد 2 يوم إلا إن نمو الفطر تلاشى بعد 4 يوم وهذا ما يؤكد قدرة خلايا العزلة على النمو وتحليل خلايا الفطر. بينما تميزت معاملة المستخلص المائي Biophos− *P. fluorescence f1-y1* بقدرة تثبط كاملة خلال مدة 2 يوم ثم ظهر نمو الفطر بقطر. 21 سم عند 4−يوم، وهذا ما يؤكد ان فعالية العزلة تكمن في المواد المنتجة خارج الخلية من مركبات sidrophores (12).

التجربة البايلوجية الحقلية:

أكدت نتائج التجربة البايلوجية الحقلية الموضحة في جدول 7 أهمية استعمال مزيج المادتين المحضرة من خليط بنسبة 1 :1 Biophos- *St.sp f3-y3* و Biophos− *P. fluorescence f1-y1* بدفعتين وبمعدل 10غم \ نبات ولدفعتين التي تفوقت معنويا بأقل نسبة إصابة وأعلى معدل إنتاج بلغا 8.51% و 40.0 طن \ هـ. وقد انخفض الإنتاج وزادت نسبة الإصابة مع إضافة لقاح الفطر *F. oxysporum f3-y3* ليبلغا 13.6% و 33.63 طن \ هـ. كذلك انخفض الإنتاج وزادت نسبة الإصابة أيضا مع استعمال مزيج المادتين بدفعة واحدة وهذا توافق مع نتائج استعمال مزيج اللقاح للعزلتين، وربما يعود ذلك إلى انخفاض نشاط العزلتين في موعد ظهور الإصابة. رغم إن استعمال مزيج لقاح العزلتين خفض نسبة الإصابة وزاد الإنتاج مقارنة بمعاملة السيطرة إلا إن ذلك يؤكد أهمية المواد المتكونة أثناء تخمير الخلائط الذي أدى إلى توفير كثير من متطلبات نمو وتغذية النبات وزيادة جاهزية العناصر وتخفيف حدة العوامل البيئية في التربة. علاوة على دور المادة في الحفاظ على نشاط وفعالية الأحياء طيلة الموسم، وقد بينت نتائج وزن الثمرة عدم وجود فروق معنوية عند استعمال المعاملات بدفعة أو دفعتين وتراوح بين ٨,٤٦−٧,٩٦ كغم \ ثمرة بينما كان ٦,٨٥−٥,٢٥ مع معاملات مزيج اللقاح، أي إن إضافة اللقاح الفطري لم تؤثر معنويا في وزن الثمرة وربما يعود لان الثمار المسجلة هي السليمة والصالحة للتسويق.

REFERENCES

[1] Biophos, conitued .Copyright C. Sinclair 2002, Edition 1. 06/03/2002.

[2] Peter A. Vandenbergh, Carlos F. Gonzalez, Ann M. Wright, and Blair S. Kunka.1983.Iron-Chelating Compounds Produced by Soil *Pseudomonads*: Correlation with Fungal Growth Inhibition. Appl Environ Microbiol. 1983 July; 46(1): 128–132.

[3] Saikia R, Singh T, Kumar R, Srivastava J, Srivastava AK, Singh K, Arora DK.2003.Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas fluorescens* against *Fusarium oxysporum f. sp. ciceri* in chickpea. Microbiol Res. 2003; 158(3):203-13.

[4] Reports on plant Diseases.1983. RPD No.904-Fusarium Wilt of Watermelon and Muskmelon.

[5] Zhou,X.G. and Everts,K.L.2004. Quantification of root and stem colonization of watermelon by Fusarium oxysporum f.sp.niveum and its use in evaluating resistance. American phytpathological Soc.94.8.832-841.

[6] Crawford, D.L.; Lynch, J.M.; Whipps, J. M. and Ousley, M.A. 1993.Isolation and characterization of actenomycete antagonists of a fungal root pathogen. Applied and Environmental Microbiology 59.3899-3905.

[7] Franco, M. and Valenica, H. 2005. Evaluation of actenomycetes as growth inhibitor of *Fusarium oxysporum f. sp dianthi* in carnations. Abstract. Marcela, Franco corlea 7ª No.43-82

[8] Lixiang Cao, Zhiqi Qiu, Xin Dai, H ONGMING Tan, Yongcheng Lin and Shining Zhou.2004. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of banana plants and their activities against *Fusarium oxysporum f. sp cubense*.World J. of Microbiology and Biotechnology 20; 501-504.

[9] Aghighi, S.; Shahidi Bonjar, G.H; Rawashdeh, R.; Batayneh, S. and Saadoum,I.2004.First report of antifungal spectra of activity of Iranian actenomycetes straians against *Alternria solani* , *Alternaria alternate* , *Fusarium solania*, *Phytophthora megasperma*,*Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*.Asian J. of Plant Sciences 3;463-471.

[10] Tulemisova KA, Chormonova NT.1989. Search for actinomycetes--antagonists of fungi causing sugar beet root rot. Antibiot Khimioter. 1989 Nov; 34(11):816-9.

[11] Pagne, W. J. 1970. Yield and growth of heterotrophs. Ann. Rev. Microbial. 24:17.

[12] Cox,C.D. and Graham, R. 1979. Isolation of ionbinding compound from *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 137; 357-364.

[13] Program static GEN532-2.

[14] Hayes, M. H.; Swift, R.S.; Wardle, R.E. and Brown, J. K. 1975. Humic material from an organic soil . Geoderma 13; 231-245.

[15] Louw, H.A.; Webley, D.M.A. 1958. Plate method for estimating the number of phosphate devolving and acid productivity bacteria in soil. Natur. Lond.; 182;1317-1318.

جدول (1) موعد ظهور الإصابة بالذبول الفيوزارمي ونسبها في حقول الدراسة

الموسم	الحقل: الأول		الحقل: الثاني		الحقل: الثالث	
	موعد الإصابة / يوم	الإصابة%	موعد الإصابة / يوم	الإصابة%	موعد الإصابة يوم	الإصابة%
2001	54.2	61.0	48.3	79.1	45.0	83.1
2002	48.2	72.2	45.5	82.3	44.2	90.2
2003	50.0	78.3	40.1	88.6	40.0	96.1

LSD 0.05 موعد الإصابة –الحقل = 4.56، الموسم= 2.62، نسبة الإصابة– الحقل= 5.71، الموسم =10.1

f1-y2	0.46	1.05	0.35	0.55
f1-y1	0.85	1.32	0.35	0.63
f2-y3	1.91	2.42	0.87	1.22
f3-y3	1.90	2.95	0.90	1.65
	10^2		10^4	
f1-y2	2.68	3.23	0.21	0.24
f1-y1	2.30	2.59	0.0	0.18
f2-y3	0.24	0.40	0.0	0.18
f3-y3	0.0	0.26	0.0	0.0
	2	4	2	4
	10^3		10^6	

LSD 0.05 لقاح بكتيري= 0.102،مدة حضن= 0.21، عزلات=0.14، لقاح فطر= 0.22،مدة حضن= 0.24 عزلات= 0.23

جدول (2) معدل الكثافة السبورية على وسط PDA المدعم (سبورا \ غم) للجذور المصابة

الحقل	الأول	الثاني	الثالث
موسم 2001	9.2×10^2	3.2×10^3	5.0×10^3
موسم 2002	3.3×10^3	4.0×10^3	4.8×10^3
موسم 2003	4.3×10^3	4.6×10^3	1.6×10^4

LSD 0.05 الحقل= $0.4 X10^2$ ، الموسم= $1.42X 10^2$

جدول (3) معدل كثافة عزلات P. sp و St.sp على وسطي King-B وCGA للجذور السليمة (cfu / g)

الحقل	موسم 2001		موسم 2002		موسم 2003	
	St.sp	P. sp	St.sp	P. sp	St.sp	P. sp
الأول	$3.0 x10^5$	2.8×10^6	6×10^5	14×10^4	11×10^5	16×10^5
الثاني	8.0×10^5	16×10^5	11×10^5	18×10^4	30×10^5	8×10^5
الثالث	6×10^5	11×10^4	2.3×10^5	12×10^4	32×10^5	8×10^4

جدول (4) قدرة sp f3-y3 و St.sp f2-y3 و f1-y1 و P. fluorescence f1-y2 في تثبيط نمو الفطر F. oxysporum f3-y3

مدة حضن يوم Cfu/ml bacterial	قطر مستعمرة الفطر سم		سبور \ مل	قطر التثبيط حول مستعمرة البكتريا سم	
	St.sp	P. fluorescence		St.sp	P. fluorescence

جدول (5) مكونات مواد Biophos المحضرة حسب نسب الخلط ومدة التخمير ونوع العزلات

الصفة المقدرة ملغم \ كغم		N	P	Humic A.	Falvic A.	TM. cfu/g	N	P
مدة التخمير يوم		20					40	
RP:Com. 1: 1	P.fluorescence f1-y1	25.40	9.40	1.83	2.66	$2.2x10^7$	32.41	21.81
	St.sp f3y3	24.30	8.80	1.65	2.35	$9x10^5$	28.60	21.82
RP:Com. 0.5:1	P.fluorescence f1-y1	28.40	7.10	1.98	2.71	$2.3x10^7$	31.60	12.61
	St.sp f3y3	28.10	7.21	1.75	2.14	$9.5x10^5$	30.4	9.61
RP:Com.0 :1	P.fluorescence f1-y1	29.10	2.33	1.95	2.65	$3.6x10^6$	26.20	2.61
	St.sp f3y3	28.86	2.12	1.72	2.10	$9x10^4$	28.7	2.65

مدة الحضن يوم	مواد Biophos St.sp f3y3	مواد Biophos P.fluorescence f1-y1	خليط 1:1 المواد Biophos	مستخلص مائي ١:٥ St.sp f3y3	مستخلص مائي ١:٥ P.fluorescence f1-y1	مستخلص مائي ١:٥ للخليط ١: ١ مواد Biophos
2	1.46	1.94	0.0	1.80	0.0	0.0
4	0.0	1.40	0.0	1.20	1.21	0.85

LSD 0.05 المعاملات = 0.21 و مدة احضن = 0.32

TM. cfu/g	Falvic A.	Humic A.	P	N	TM. cfu/g*	Falvic A.	Humic A.
60							
$19x10^5$	12.60	3.61	21.41	30.41	$8.8x10^7$	12.48	4.30
$4.3x10^6$	13.66	4.51	20.95	31.30	$12x10^5$	9.51	3.60
$9.5x10^5$	9.62	3.93	12.41	29.60	$6.4x10^7$	11.51	4.41
$4x10^6$	11.61	4.81	10.85	30.10	$18x10^5$	10.31	4.82
$2x10^5$	9.15	2.65	2.51	23.20	$11x10^6$	9.68	3.61
$2x10^6$	9.46	3.16	2.71	27.50	$6x10^5$	7.81	3.81

LSD 0.05	
الخلطات	N=2.36 P=3.61 Hu=1.20 FA=2.14 TM=90
مدة التخمير	N= 2.91 P=4.10 Hu= 1.95 FA= 3.12 TM= $2X10^2$
العزلات	N= 1.21 P=1.46 Hu=.056 FA=1.23 TM= $1.2X 10^2$

=* الكثافة العددية

جدول (٦) قدرة مواد والمستخلص المائي المنتخب في تثبيط نمو الفطر F. oxysporum f3-y3

جدول (٧) نتائج الحاصل الثمري ونسب الإصابة ومعدل وزن الثمرة للتجربة البايلوجية

المعاملات	لقاح *F. oxysporum f3- y3* الإنتاج طن \ هـ	لقاح *F. oxysporum f3- y3* وزن الثمرة كغم	لقاح *F. oxysporum f3- y3* الإصابة %	بدون لقاح الإنتاج طن \ هـ	بدون لقاح وزن الثمرة كغم	بدون لقاح الإصابة %
السيطرة	1.50	3.20	96.00	3.20	3.40	80.40
مزيج اللقاح دفعة	7.80	5.25	54.21	10.80	6.50	46.60
مزيج اللقاح دفعتين	9.32	6.00	48.42	14.30	6.85	32.31
مزيج المعاملتين دفعة	26.51	7.96	18.60	38.00	8.46	15.20
مزيج المعاملتين دفعتين	33.63	8.35	13.60	40.00	8.23	8.51

LSD 0.05 الإنتاج– المعاملات =4.55 لقاح الفطر=5.45 التداخل = 6.25، نسبة الإصابة المعاملات =5.12 لقاح الفطر=6.45 التداخل = 8.24، معدل وزن الثمرة– المعاملات =1.85 لقاح الفطر=1.51 التداخل = 2.02

PREPARATION AND ROLE OF BIOPHOS IN NUTRINT AND RESISTANCE Citrullus vulgaris L. TO THE INFECTION OF Fusarium wilt d.

A.A. Assaffii , D. F. Alrawi and A. A..Sabee

ABSTRACT:

Lab. Experiments to prepare Biophos has been carried out. The experiments was based on a field observation for three seasons at the area Zankoria west Ramadi city 25 km Anbar governorate, Iraq. From field observation and Lab analysis, we have *F.oxysporum* that infected plant and cause fusarium wilt disease, and two isolate *Streptomycets sp.f3-y3* , *Streptomycets sp.f3-y3*.that had ability to inhibitor *F.oxysporum*. A clay soil and plants powder (*Cyperus rotundus Linn*., *Phragites austrialis* ,*Eucalyptus microtheca*) were used in percentage 20,10,40,30% respectively. The prepare compos were mixed up with powder of rock phosphate –appetite with compos in ratio 1:1,0.5:1, 0:1.The mixture was wet with sterilization whey and then it was inoculated with *St.ts sp.f3-y3*., *P. fluorescence f1-y1*, that has been isolated from the observation aria (as to be at the highest total density microbes on the roots of un affected plants). The treatments was incubated in 28± 2 cº for 20,40,60 days. Some of lab. Test were carried out analysis had been carried out on the results of the lab. test. The results indicated that prepared material for the Biophos - *St sp.f3-y3* for an incubated period 60 days, was recorded the highest contents of phosphorus, nitrogen, humic and falvic acids in additions biomass, the rafter the treatment of the prepare material with inoculated P. *fluorescence f1-y1* for an incubated period 40 days. The ability of the prepared material and their extract 5:1 w.d. Ratio. Were tested in the inhibition of the *F.oxysporum*. The result indicated the activity of the extracted the mixture of two materials Biophos and the material mixture as the give the highest ability for completely inhibition *F.oxysporum.* Both characterizing material were used to prepare treatment from Biophos *St. sp.f3-y3*, Biophos-*P. fluorescence f1-y1* with a ratio of 1:1. The treatment were adding in an amount of 20 g. / plant by using two different methods-with seeds 2-partitioning the quantity on two share, first gave with seeds, while the other after a month of plantation-adding after one month of plantation. Another treatment was carried out by used mixture from two isolates inoculums were added with like method. Inoculums of *F.oxysporum* uses with treatments or without it (control treatment). The treatments were carried out in the same field area which planted with watermelon (Charleston Negara *Citrullus vulgaris L*) the percentage of infected and average productions were recorded. The result revealed the superiority of the mixture that parting in two shares, to given the lowered infection percentage 8.5% and highest productivity 40 ton/ha.