ABSTRACT

Fusarium oxysporum f.sp. *nevium* (FON)caused wilt in watermelon plants. Nineteen isolates of (FON) were collected from different localities of Egypt. Isolates No. 2 and 7 were the most virulent on Sugar baby cv., while Calhoun Gray was the most resistant one but Giza 1 and Giza 21 showed intermediate responses.

Biotechnological techniques were used to inducing somaclonal variation *in vitro* on watermelon cvs. Giza 1 and Giza 21 to produce some plants resistant to (FON).

Adventitious shoots can be obtained in cotyledon of both cvs. by using 2 mg/L Benzyl adenine (BA) but have also high degree of hyperhydricity. Using indole butaric acid (IBA) at 1.0mg/L compined with BA at 0.1 mg/L produced high number of nodes and plant length without hyperhydricity.

Tetraploid plants were obtained by treat single bud of both cvs. *in vitro* at different concentrations of colchicine and dinitroaniline, number of chloroplast in the guard stomatal cells was regard 18.8 – 19.9 in tetraploid plants and 9.2-11.8 in the diploid plants.

Cytoledon of triploid seeds of Giza 1 cv. Produced high number of adventitious shoots when cultured onto MS medium modified with 2 mg/L (BA).

Also callus of both cvs. produced from cotyledon and hypocotyls by using 2.5 mg/L BA combined with 1 mg/L IBA from and adventitious shoots were obtained by culturing callus on MS modified with 0.1 mg/L NAA.

All formed shoots from diploid (direct and indirect adventitious), triplpoid and tetraploid were screened for resistant to (FON) *in vitro* and *ex vitro,* seedless triploid shoots were the most resistant against culture filtrate (*in vitro*) and artificial infection in greenhous of (FON) followed by indirect adventitious shoots and direct adventitious shoots while tetraploid shoots were susceptible.

المستخلص

يسبب فطر فيوزاريوم أوكسيسبوم نيفيم الذبول الفيوزاريومى فى البطيخ ، وفى هذه الدراسة تم عزل ١٩ عزلة من هذا الفطر من أماكن مختلفة فى ج.م.ع. ووجد أن أعزلة رقم ٢ ، ٧ كانتا أكثر دراوة على صنف شوجر بيبى بينما أظهر صنف كالهون جرى مقاومة عالية فى حين أظهر صنفى جيزة ١ وجيزة ٢١ قابلية للإصابة بهذا الفطر.

تم إنتاج الأفرع العرضية على فلقات الصنفين باستعمال مادة البنزيل أدنين بتركيز ٢ ملليجرام / لتر ولكنها أيضاً أظهرت درجة عالية من الظاهرة الزجاجية ولكن عند الزراعة على بيئة تحتوى على ١ ملليجرام / لتر إندول حامض بيوتريك مع ٠,١ ملليجرام / لتر بنزيل ادنين أعطى أعلى عدد من العقد كذلك أكبر طول نبيتة دون حدوث ظاهرة زجاجية.

وكذلك تم إنتاج نباتات رباعية المجموعة الكروموسومية بمعاملة البراعم المفردة لنبتات البطيخ فى المعمل بمعاملتها بتركيزات مختلفة من الكلوشسين والداى نيتروأنيلين وكانت عدد البلاستيدات الخضراء الموجودة فى الخلايا الحارثة للثغر فى النباتات الرباعية تتراوح بين ١٨,٨-١٩,٥ أما فى النباتات الثنائية كانت تتراوح بين ٩,٢-١١,٨.

أيضاً تم انتاج أفرع عرضية من فلقات بذور النباتات ثلاثية المجموعة الكروموسومية لصنف جيزة ١ عند زراعة الفلقات على بيئة تحتوى على ٢ ملليجرام/ لتر بنزيل ادنين.

اشتملت الدراسة أيضاً على إنتاج الكالوس بزراعة السويقة الجنينية السفلى كذلك الفلقات للصنفين جيزة ١ ، جيزة ٢١ على بيئة تحتوى على ٢,٥ ملليجرام /لتر بنزيل أدنين مع ١ ملليجرام / لتر إندول حامض البيوتريك ، وتم إنتاج الأفرع العرضية من الكالوس عند زراعته على بيئة تحتوى على ٠,١ ملليجرام / لتر نفثالين حامض الخليك.

تم انتخاب النباتات المقاومة للراشح الفطرى لفطر فيوزاريوم أكسيسبوريم نيفيم كذلك فى الصوبة من النباتات الناتجة معملياً عن الطريق المباشر وغير المباشر وكانت نباتات ثلاثية المجموعة الكروموسومية أكثر النباتات مقاومة تلتها النباتات الناتجة من الكالوس ثم الأفرع العرضية المباشرة أما النباتات رباعية المجموعة الكروموسومية كانت حساسة جداً فى المعمل والصوبة.

CONTENTS

Page

INTRODUCTION 1
REVIEW OF LITERATURE 3
MATERIALS AND METHODS 23
EXPERIMENTAL RESULTS 38
Part I: Pathological Studies 38
I.1. Isolation and identification of the causal organism(s) 38
I.2. Pathogenicity test 39
I.3. Inoculum potential 41
I.4. Host range 44
I.5. Varietal reaction 46
Part II: Tissue culture experiments for induce somaclonal variation 48
II.1 Production of free-contaminated cotyledons 48
II.1.1. Effect of seed surface disinfectants 48
II.1.2. Effect of dual seed and cotyledon surface disinfectants 50
II.2. Production of the diploid adventitious shoots of two watermelon cultivars via direct organogenesis: 54
II.2.1. Effect of cytokinin type and concentrations on formation of the diploid adventitious shoots 54
II.2.2. Effect of different concentrations and combinations of IBA and BA on regeneration of the diploid watermelon plantlets 58
II.3. Effect of colchicine and dinitroalanine on production of the tetraploid watermelon plantlets 76
II.3.1. Growth characters of the regenerated tetraploid plantlets 76
II.3.2. Examination for inspecting tetraploid plants 80
II.4. Production of triploid (seedless) watermelon adventitious shoots via direct organogenesis 81
II.4.1. Germination of triploid seeds 81
II.4.2. Effect of cytokinin type and concentrations on the production of the adventitious shoots of seedless (triploid) watermelon 84
II.5. Production of diploid adventitious shoots via indirect organogenesis 86
II.5.1. Effect of different concentrations and combinations of BA and IBA on percentage of callus formation 86
II.5.2. Effect of naphthalene acetic acid (NAA) on callus differentiation. 89

Part III: Screening for resistance against watermelon Fusarium wilt *in vitro* **92**
III.1. Effect of different concentrations of cultural filtrate of the wilt pathogen on watermelon shoots **92**
III.2. Evaluation of watermelon shoots regenerated from different explant sources for Fusarium wilt resistance..... **93**
III.3. Regeneration of watermelon plantlets showing *in vitro* resistance against culture filtrate of the wilt pathogen..... **95**
III.4. Acclimatization **97**
III.5. Effect of greenhouse artificial infection by *F. oxysporum*-isolate No.2 on the *ex-vitro* resistance of the screened watermelon plants **99**
III.6. Biochemical changes in watermelon shoots showing *in vitro* resistance against culture filtrates of the wilt pathogen **101**
III.7. Isozyme analysis **103**
III.8. Evaluation of diploid, triploid and tetraploid watermelon plants to Fusarium wilt under field conditions: **106**
DISCUSSION **108**
SUMMARY **118**
REFERENCES **124**
ARABIC SUMMARY .....