Studying of the effect of temperature and culture media on growth of fungus *Darluca filum* (Biv.)Cast. Isolated from *Puccinia coronata* Corda. Parasitoid on *Avena sterilis* L. L.

Rihab ALNAKKAR*

(Received 8 / 8 / 2023. Accepted 29 / 11 /2023)

□ ABSTRACT □

Darluca filum (Biv.)Cast. was isolated from rust fungus *Puccinia coronata* Corda. parasitoid on *Avena sterilis* L.

The effect of temperatures 15, 20, 25, 30, 35 C° was studied on the growth of *D.filum* and its ability to produce and germinate conidia. The optimum temperature for growth mycelium was 35C°, and the optimum degree for sporulation and germination was 30 C° and germination decreased at temperatures 20 C°. The fungus was able to produce conidia at temperatures from 20-35 C°, and the highest production was at the temperature 30 C° and 25 C°, reached 1.32x 10^6 spores/ml and 1.13x 10^6 spores/ml, respectively.

The effect of different media (PDA, SDA, MEA, PGA) on the growth of *D.filum* was studied under the influence of a constant temperature of 25±1 C°. The results showed that the growth of mycelium was the fastest on MEA culture, and the results showed ability of *D.filum* to produce spores on all studied cultures with Significant differences between some cultures, and no significant differences others, the fungus gave the best production on SDA culture with 1.532x 10^6 spores/ml, the highest germination rate was on MEA and PDA cultures, and it ranged between 79.6% and 65% on straight.

Key words. : *Darluca filum* ،*Puccinia coronata*، *Avena sterilis*, PDA, SDA, MEA, PGA

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **PhD, Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
rehabsaer@gmail.com

دراسة تأثير درجات الحرارة وأوساط الاستزراع في نمو الفطر *Darluca filum* المعزول من صدأ *Puccinia coronata* Croda. المتطفل على نبات *Avena sterilis* L.

رحاب النقار*

(تاريخ الإيداع 8 / 8 / 2023. قبل للنشر في 29 / 11 / 2023)

ملخّص

عُزل النوع الفطري *Darluca filum* (Biv.)Cast. عن فطر الصدأ *Puccinia coronata* Corda. المتطفل على نبات *Avena sterilis* L.

دُرس تأثير درجات الحرارة 15، 20، 25، 30، 35 س° في نمو فطر *D. filum* وقدرته على إنتاج الأبواغ الكونيدية وإنباتها. بلغت درجة الحرارة المثلى لنمو الميسيليوم 35°س، أما الدرجة المثلى للتبوغ والإنبات فكانت 30 س° وتناقص الإنبات عند درجة الحرارة 20 س°، وكان الفطر قادراً على إنتاج الأبواغ الكونيدية عند درجات الحرارة من 20–35 س°، وكان أعلى إنتاج عند درجة الحرارة 30 س° و25 س°، وصل إلى 1.32× 10^6 بوغ/مل 1.13× 10^6 بوغ/مل على التوالي.

ودُرس تأثير أوساط مختلفة PDA،SDA، MEA، PGA في نمو الفطر *D. filum* تحت تأثير درجة حرارة ثابتة 25±1 س°، بينت النتائج أن نمو الميسيليوم كان الأسرع على مستنبت MEA، وأظهرت النتائج قدرة الفطر على إنتاج الأبواغ على كل المستنبتات المدروسة مع فروق معنوية بين بعض المستنبتات، وعدم وجود فروق معنوية بين بعضها الآخر، أعطى الفطر أفضل إنتاج على مستنبت الـ SDA مع 1.532× 10^6 بوغ/مل، كان أعلى معدل إنبات على مستنبتي MEA وPDA، وتراوح بين 79.6% و 65% على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Darluca filum*، *Puccinia coronate*، *Avena sterilis*، PDA، SDA، MEA،PGA

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY–NC–SA 04

* **دكتوراه –قسم النبات، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية rehabsaer@gmail.com**

مقدمة:

ينتمي الفطر *Darluca filum* (Biv.) Cast. [*Sphaerellopsis filum*] إلى فصيلة Phaeosphaericeae، رتبة Pleosporales، صف فطريات Dothideomycetes، شعبة الفطريات الزقية Ascomycota وفقاً للتصانيف العالمية الحديثة المعتمدة (Trakunyingcharoen *et al*., 2014)، وهو يتطفل طبيعياً ضمن بثرات فطور الصدأ (Uredinales) التي هي من الفطور إجبارية التطفل على النباتات البرية والمزروعة، وتضم حوالي 8000 نوعاً، تتبع لـ 160 جنساً، موزعة في 14 فصيلة (Vanderweyen & Fraiture, 2007; Riquelme, 2005; Driessen, 2005; Agrios, 2005; Schubert *et al*., 1991; Blumer, 1963).

تظهر الأوعية البكنيدية Pycnidia للنوع *D.filum* منغرسة بشكل كلي أو جزئي ضمن بثرات فطريات الصدأ (البثرات البكنيدية، الإسيدية، اليوريدية، والتيليتية)، شكلها كروي أو متطاولة، سوداء لامعة، قطر الوعاء البكنيدي (90–200) µm، له فتحة لخروج الأبواغ الكونيدية Conidia المغزلية الشكل، لزجة، شفافة، ذات حاجز واحد، وقد تكون مكونة من 3–4 خلايا، لها زائدة هلامية في إحدى نهايتيها أو كلتيهما، أبعاد البوغة (13–18)×(3–5)µm (Plachecka, 2005; Swendsrud & Calpouzos,1972).

يعد الطور الجنسي *Eudarluca caricis* قليل الانتشار. أشار Spegazzini (1908) ارتباطه بالبثرات اليوريدية لفطر الصدأ *Canna* sp. في البرازيل، وأثبت Keener (1951) العلاقة بين *E. caricis* و *D. filum* والتي تم تأكيدها من قبل Yuan *et al*. (1998) على فطر الصدأ *Phragmidium violaceum* جنوب غرب إنكلترا.

يوجد *D.filum* على 369 نوعاً فطرياً تتبع لـ 30 جنساً، في أكثر من 50 منطقة جغرافية في العالم، في شمال وجنوب أمريكا، أوروبا، وآسيا(Yuan, *et al.,* 1998; Plachecka,2005). أشارت علي وآخرون، (2017) إلى تطفل الفطر *D.filum* على 12 نوعاً لفطور الصدأ تتبع لـ 3 أجناس مختلفة وهي: *Puccinia*, *Uromyces*, and *Phragmidium* في المنطقة الساحلية من سوريا، وفي عام 2020 وجد الفطر متطفلاً *D.filum* على 18 نوعاً فطرياً جديداً تتبع لـ 5 أجناس، هي: *Puccinia, Uromyces, Phragmidium, Tranzschelia, Melampsora* (علي، وآخرون؛ 2021).

توجد عدة أنواع للجنس *Darluca* منها النوع *D. paraphysata* Crous & Alfenas و *D. macroconidialis* Crous & Trakun. (Trakunyingcharoen *et al.,* 2014; Sri *et al.,* 2019; Fraser *et al.,* 2021)

زُرع *D.filum* على أوساط استنبات مختلفة، منها PDA، V8، وخليط بينهما PDV8A، فكان نمو مستعمرات *D.filum* أسرع على وسط V8، خلال الأسبوعين الأولين، ولقحت الأبواغ اليوريدية للنوع *Puccinia emaculata* بالأبواغ الكونيدية لـ *D.filum*، فانخفض عدد الأبواغ اليوريدية في كل بثرة بمعدل 246 بوغة بالمقارنة مع البثرات غير المعاملة (Black, 2012).

بيّن Carling *et al*. (1976) أنّ الخيوط الفطرية لـ *D.filum* تخرب جدار البوغة اليوريدية بإفراز أنزيمات محللة بينما Plachecka (2005) بيّن أنّ هيفا *D.filum* تلتف حول البوغة اليوريدية، وتقوم الهيفا المتخصصة التي تشبه عضو الالتصاق نتيجة ذلك بتخريب وانتزاع أشواك وتزيينات البوغة اليوريدية.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من أهمية *D.filum* كمتطفل على فطور الصدأ الممرضة للنباتات، والتي تسبب خسائر اقتصادية وموت للعديد من الأنواع النباتية الهامة، ومن ضرورة البحث عن عزلات محلية لفطر *D.filum* تتناسب مع ظروف البيئة المحلية لاستخدامها لاحقاً في المكافحة الحيوية لفطور الصدأ، فضلاً عن أنّ هذا الفطر حديث الدراسة في سوريا، لذلك هدف هذا البحث إلى دراسة الشروط المناسبة لنمو فطر *D.filum* وتبوغه وإنباته تحت تأثير درجات الحرارة والمستنبتات المختلفة.

طرائق البحث ومواده:

نفذ البحث في مختبر الدراسات العليا في كلية العلوم، قسم النبات في جامعة تشرين، في العام 2022.

1. جمع عينات النبات

جمعت عينة نبات *Avena sterilis* L. (Poaceae) المصاب بفطر الصدأ طبيعياً في شهر آذار من عام 2018 من قرية يحمور من محافظة طرطوس في المنطقة الساحلية من سوريا، وضعت كل عينة في كيس من البولي اتيلين مرفقة ببطاقة معلومات عن مكان وتاريخ الجمع، وأحضرت إلى المختبر في كلية العلوم في جامعة تشرين

2. دراسة عينات النبات في المختبر وتصنيف العزلات الفطرية

تم الكشف مخبرياً عن إصابة النبات، وفحصت الأوراق والسوق مجهرياً، عرّف فطر الصدأ المتطفل على أوراق وساق النبات على أنّه *Puccinia coronata* Corda.، بعد ذلك تم الكشف عن وجود الأوعية البكنيدية للنوع *D. filum* (Biv)Cast. ضمن البثرات اليوريدية لفطر الصدأ. صنف النوع الفطري المدروس بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية الموضوعة من قبل (Brandenburger, 1985)، وصنف العائل النباتي استناداً إلى (Moutterde,1966-1970-1983)، وحدد النوع الفطري المتطفل على فطور الصدأ حسب (Barnett & Hunter, 1979).

3. عزل النوع *D.filum* من فطر الصدأ *Puccinia coronata* Corda. عن نبات *Avena sterilis* L.

نُقل وعاء بكنيدي واحد لفطر *D. filum* بوساطة إبرة معقمة من البثرات اليوريدية لكل من فطر الصدأ *P. coronata* (الشكل2.2) إلى أطباق بتري قطر 9 سم تحوي وسط الآجار المائي لتحفيز نمو الأبواغ الكونيدية وحُضنت عند الدرجة (1±25) س° مدة 48 ساعة، ثم نُقلت إلى أطباق بتري تحوي وسط PDA، وبعد ثلاثة أيام زُرعت على أوساط استزراع مختلفة (Hunter *et al.*, 2003)، حُضنت الأطباق عند درجة حرارة (1±25) س° مدة أسبوعين. تمت تنقية الفطر على أوساط الاستزراع ذاتها المستخدمة في بداية الزرع، قيست أقطار المستعمرات الفطرية خلال فترات زمنية مختلفة (1-3-5-7-9-14) يوماً، حددت الصفات المورفولوجية الخاصة بالفطر على أوساط الاستزراع المختلفة، كما جُدد زرع الفطر كل 6-8 أسابيع وحفظ في درجة حرارة (4) س° لاستخدامه في دراسات لاحقة

أوساط الاستزراع المستخدمة

Potato Dextrose Agar (PDA) وسط خلاصة البطاطا السكرية: مستخلص 200غ البطاطا+ 20غ دكستروز+15 غ آغار

Malt Extract Agar (MEA) وسط خلاصة الشعير: 30 غ مستخلص شعير+ 15 غ آغار

Sabouraud agar (SDA): 40غ دكستروز+ 10غ ببتون+ 20ع آغار

Potato Glucose Agar+ Pipton (PGA) وسط خلاصة البطاطا- ببتون: 4غ ببتون البطاطا+ 20غ غلوكوز+15 غ آغار

Water Agar (WA) : 15 غ آغار

أذيبت مكونات كل وسط في 1000 مل من الماء المقطر عُقمت في الأوتوغلاف عند الدرجة 121 س° مدة 15 دقيقة (Kreisel & Schauer, 1987).

4. دراسة بعض الشروط المناسبة لنمو الفطر *D.filum* مخبرياً

دُرس تأثير درجات الحرارة والمستنبتات الغذائية الصنعية في نمو الفطر *D.filum* في المختبر، واستُخدمت العزلة المأخوذة من فطر الصدأ *P.coronata*، من نبات *Avena sterilis* L. (Poaceae)

4.1. تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطر *D.filum*

لُقحت أطباق بتري (9 سم) تحوي 10مل من المستنبت الغـذائي PDA مـركزياً بقطعة بقطر 3مم مأخوذة من مستعمرة فطرية نشطة غير متبوغة (بعمر ثلاثة أيام)، حضنت الأطباق في الظلام في حاضنات مستقلة عند درجات حرارة مختلفة (15، 20، 25، 30، 35) ±1 س° مدة 14يوماً. استخدم 5 مكررات لكل معاملة (عزلة- درجة حرارة)، واعتمدت المعايير التالية لتقييم تأثير درجة الحرارة (معدل النمو، إنتاج الأبواغ، وإنبات الأبواغ).

أ- معدل النمو Growth Rate

سُجل النمو الشعاعي على الوسط الغذائي في أيام (3-5-7-9-14)، وحُسب معدّل النمو بأخذ قياس قطر النمو في أيام (3-5-7-9-14) عند درجات الحرارة المختلفة باستخدام قطرين متعامدين مرسومين مسبقاً في مركز كل طبق بتري وذلك بمتوسط خمسة مكررات، وحسبت سرعة النمو في اليوم الرابع عشر من التحضين بالوحدة مم/يوم

$$\text{سرعة النمو} = \frac{\text{متوسط طول قطر المستعمرة في اليوم الرابع عشر}}{14}$$

(Inglis *et al.*, 2012).

إنتاج الأبواغ Conidia Production

جُمعت الأبواغ الكونيدية من كل طبق في اليوم الأخير (اليوم الرابع عشر من التحضين) باستخدام 10 مل ماء مقطر معقم مضافاً إليه 0.05 محلول توين 80 [Tween 80]. كُشط سطح المستعمرة باستخدام إبرة معقمة للحصول على أكبر كمية ممكنة من الأبواغ، رُشّح المعلق الناتج باستخدام طبقتين من الشاش لإزالة قطع الميسيليوم والبيئة العالقة، ثمّ وُضع المعلّق النهائي على رجّاج كهربائي لمدة 10 دقائق لضمان توزع متجانس للأبواغ، استُخدمت شريحة مالاسيز Malassez Counting Chamber لحساب عدد الأبواغ باستخدام المجهر الضوئي بتكبير 40x.

جـ- إنبات الأبواغ Conidia Germination

اختُبرت حيوية الأبواغ من خلال قدرتها على الإنبات، استخدمت ماصة ميكرولترية، وأُضيف 100 ميكرولتر من المعلّق البوغي الذي حُصل عليه في الفقرة السابقة إلى مستنبت ماء الآجار وحُضّنت الأطباق على درجات الحرارة (15-20-25-30-35)±1 س° لمدة 24 ساعة.

حُسبت النسبة المئوية للإنبات بالعدّ العشوائي لما لا يقل عن 300 بوغة لكل ساحة رؤية تحت المجهر الضوئي و5 ساحات رؤية لكل معلّق. واعتُبرت البوغة منبتة في حال كان طول أنبوبة الإنبات أكثر من نصف طول البوغة.

4.2. تأثير مستنبتات غذائية مختلفة في نمو الفطر *D.filum*

دُرس تأثير عدة مستنبتات غذائية في نمو الفطر *D.filum* وهي PDA–SDA–MEA–PGA ، وحضرت وفق الكميات المنصوح بها على العبوات التجارية. تُذاب مكونات كل وسط في 1000 مل من الماء المقطر ثم تعقم في الأوتوغلاف عند 121 س° لمدة 15 دقيقة، بُرّدت إلى 45 س°، أُضيف إلى كل منها مضاد حيوي واسع الطيف (Amoxicillin) بتركيز 10 ملغ لكل 500 مل من المستنبت لتثبيط نمو البكتريا، صُبّت في أطباق بتري تحت شروط التعقيم وتُركت لتتصلّب، ثُقّحت الأطباق باستخدام أقراص قطرها 3 مم مأخوذة من حواف مستعمرة الفطر غير متبوغة بعمر 3 أيام، وحُضّنت على الدرجة 25±1 س° في الظلام، بمعدّل 5 مكررات لكل معاملة (عزلة– مستنبت)، أُخذت القراءات بشكل دوري لحساب كلّ من معدّل النمو، إنتاج الأبواغ، وإنبات الأبواغ.

النتائج والمناقشة:

1. عزل الفطر *D.filum* (Biv.)Cas*t.* من فطر الصدأ *P.coronata* Corda.

تمّ الحصول على عزلة من النوع *D.filum* (Biv.)Cas*t.* من فطر الصدأ *P.coronata* Corda. المتطفل على نبات *Avena sterilis* L. (Poaceae).

2. دراسة بعض الشروط المناسبة لنمو الفطر *D.filum* مخبرياً

2.1. تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطر *D.filum*

أ- معدل النمو Growth Rate

بينت النتائج بأن الفطر *D.filum* كان قادراً على النمو عند درجات الحرارة بين 20–35 س°، في اليوم الرابع عشر بلغت درجة الحرارة المثلى لنمو الميسيليوم 35 س°، وتناقص النمو عند الدرجة 20 س°، لكن في اليوم الخامس والتاسع كانت الدرجة 25 س° هي الأفضل، مع بقاء نمو الميسيليوم أقل عند الدرجة 20 س°، فشلت كل الأطباق في النمو على درجة الحرارة 15 س° كان هناك فروق معنوية في اليوم الرابع عشر بين درجات الحرارة المختبرة ولم يكن هناك فروق معنوية بين درجتي الحرارة 20 س° و 25 س° جدول(1)، ويظهر الجدول(1) قطر النمو في الأيام (3–5–7–9–14) عند درجات الحرارة المختبرة.

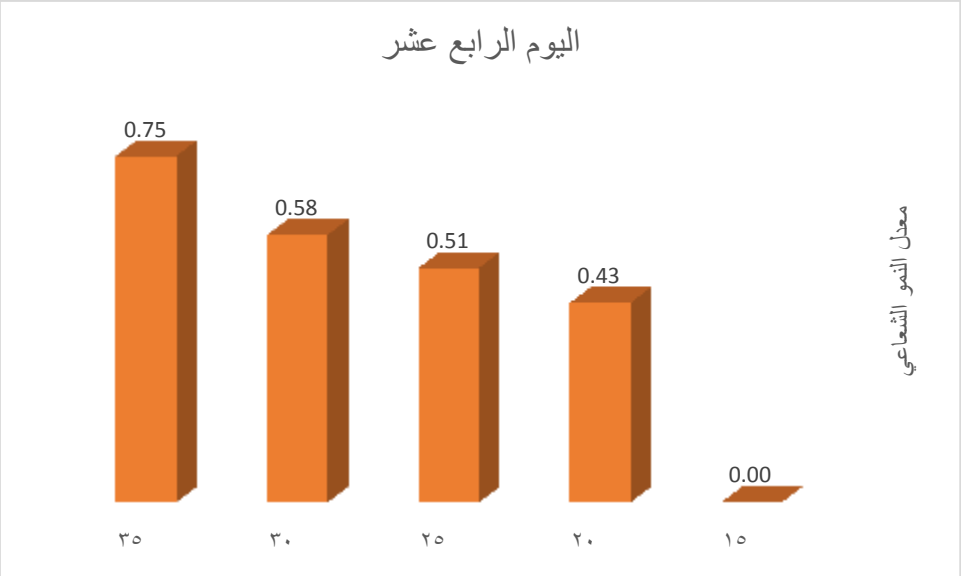
حُسب معدل النمو الشعاعي (مم/يوم) لعزلة *D.filum* عند درجات الحرارة المختبرة في اليوم الرابع عشر فكان 0 مم/يوم عند درجة الحرارة 15 س°بينما وصل إلى 0.75 مم/يوم عند درجة الحرارة 35 س° الشكل(1)، كما دُرست العلاقة بين معدل النمو والزمن خلال 14 يوم من التحضين وبينت النتائج بأن قطر نمو المستعمرة تناقص خطياً بين اليوم الثالث والرابع عشر من التحضين، ويظهر ذلك واضحاً من خلال قيم معامل التحديد R^2 التي تبين علاقة ارتباط خطي قوي بين معدل النمو والزمن لدرجات الحرارة المدروسة الشكل(2).

جدول(1) متوسط نصف قطر النمو لعزلة *D.filum* خلال أربع عشر يوم من التحضين عند درجات الحرارة المختبرة

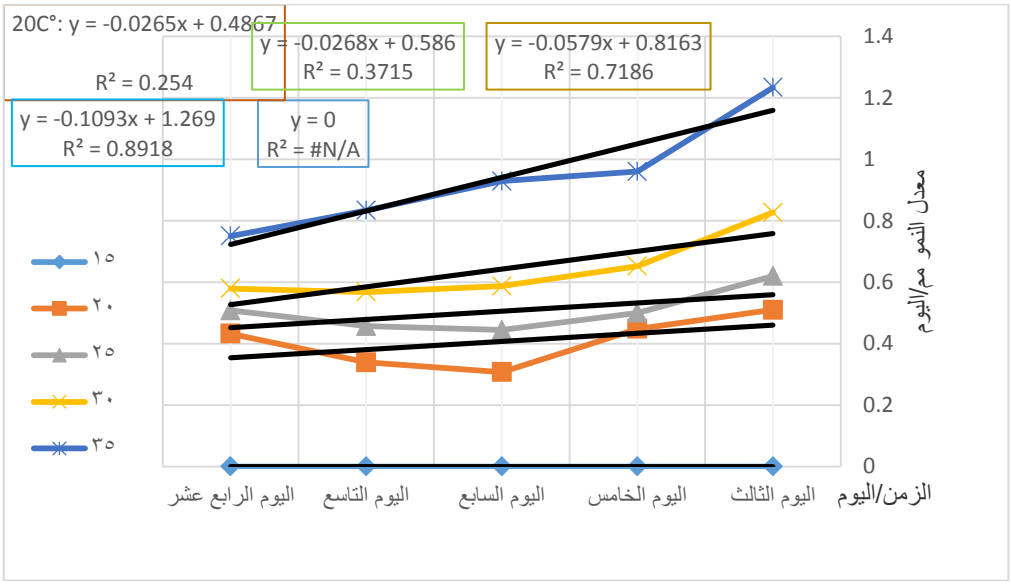
المعاملة	متوسط نصف قطر النمو (مم) ± SD				
	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم السابع	اليوم التاسع	الرابع عشر
15 س°	0±0d	0±0d	0±0d	0±0d	0±0d
20 س°	0.03 ± *1.53c**	0.23±2.24c	0.38 ± 2.35c	0.24 ± 3.05c	0.33 ± 6.05c
25 س°	0.42 ± 1.86c	0.61±2.5c	1.5 ± 3.11bc	1.58 ± 4.11bc	1.58 ± 7.11bc
30 س°	0.71 ± 2.48b	0.01 ±3.26b	1.58 ± 4.11b	1.54 ± 5.11b	1.58 ± 8.11b
35 س°	0.57 ± 3.7a	0.57 ±4.8a	0.67 ± 6.5a	0.67 ± 7.5a	0.67 ±10.3a
LSD 5%	0.590	0.702	1.397	1.392	1.392

***بيانات قطر النمو هي عبارة عن متوسط خمسة مكررات،**

****الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات**



الشكل(1): تأثير درجات الحرارة (35،30،25،20،15 س°) في معدل نمو ميسيليوم عزلة *D.filum* في اليوم الرابع عشر بعد التحضين



الشكل(2). معدل النمو الشعاعي الخطي (مم/يوم) لعزلة *D.filum* خلال 14 يوم من التحضين على درجات الحرارة (30،30،25،20،15 س°)

ب- إنتاج الأبواغ Conidia production:

أظهرت النتائج قدرة الفطر *D.filum* على إنتاج الأبواغ على درجات الحرارة بين 20–35 س°، أدت درجة الحرارة 30 س° و 25 س° إلى أعلى تبوغ، وصل إلى 1.32× 10^6 بوغ/مل و 1.128× 10^6 بوغ/مل على التوالي، وانخفض إنتاج الأبواغ إلى 0.602× 10^6 بوغ/مل عند درجة الحرارة 35 س°، و1.036× 10^6 عند درجة الحرارة 20 س° بينما توقف إنتاج الأبواغ بشكل كلي عند درجة الحرارة 15 س°، مع عدم فروق معنوية بين درجات الحرارة (20–25–30) س°، ويوجد فروق معنوية بين الدرجات السابقة ودرجة الحرارة 35 س° جدول(2).

جدول(2): متوسط إنتاج الأبواغ (بوغ/مل) لعزلة الفطر *Darluca filum* المزروعة في درجات الحرارة المختلفة

المعاملة	متوسط إنتاج الأبواغ ± SD ($\times 10^6$)
15	0±0c*
20	5.08±1.036a
25	13.52±1.128a
30	20.66±1.32a
35	29.44±0.602b
LSD 5%	0.347

***: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات**

ج- إنبات الأبواغ Conidia Germination:

أظهرت النتائج قدرة عزلة *D.filum* على الإنبات ضمن المجال الحراري 20-35 س°، مع إنبات أمثل ضمن المجال 25-30 س° ، وصلت نسب الإنبات إلى 56.8% عند درجة الحرارة 25 س° ، 39% عند درجة الحرارة 30 س° بينما كانت 33.6%-7.6% عند درجات الحرارة 35-20 س° على التوالي، وكان هناك فروق معنوية بين درجات الحرارة المختبرة، وعدم وجود فروق معنوية بين درجتي الحرارة (25 و 30) س° وبين (30 و 35) س° جدول(3).

جدول(3): متوسط النسبة المئوية لإنبات الأبواغ الكونيدية لعزلة *D.filum* بعد 24 ساعة من التحضين على درجات حرارة مختلفة

المعاملة (س°)	متوسط النسبة المئوية لإنبات الأبواغ الكونيدية ±SD
15	0±0c*
20	0.08 ±7.6c
25	0.39 ±56.8a
30	0.38 ±39ab
35	0.167 ±33.6b
LSD 5%	22.872

***: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات**

2.2. تأثير مستنبتات غذائية مختلفة في نمو الفطر *D.filum*

أ- معدل النمو

أبدت عزلة الفطر *D.filum* قدرة على النمو على المستنبتات المختلفة، يوجد فروق معنوية في النمو على المستنبتات خلال أيام التحضين، تفوق مستنبت MEA، فكان معدل النمو عليه أسرع مقارنة بالمستنبتات الأخرى في اليوم الرابع عشر، ويليه مستنبت SDA ولم يكن هناك فروق معنوية بينهما، وتفوق مستنبت SDA حتى اليوم التاسع على باقي المستنبتات، وكان 7.45 مم، لم يختلف النمو معنوياً بين مستنبتي PDA، ،PDAP وكان هناك فروق معنوية بين بعذ المستنبتات خلال أيام التحضين، تبين النتائج من خلال القيم التي سجلناها لمتوسط نصف قطر النمو لعزلة *D.filum* أنّ نمو الفطر يكون بطيئاً حيث وصل نموه في اليوم الرابع عشر إلى 10.7 مم/يوم جدول(4). دُرست العلاقة بين معدل النمو والزمن خلال 14 يوم من التحضين وبينت النتائج بأن قطر نمو المستعمرة تناقص خطياً بين اليوم الثالث والرابع عشر من التحضين، عند النمو على مستنبتي PDA وSDA بينما ازداد قطر نمو المستعمرة خطياً عند

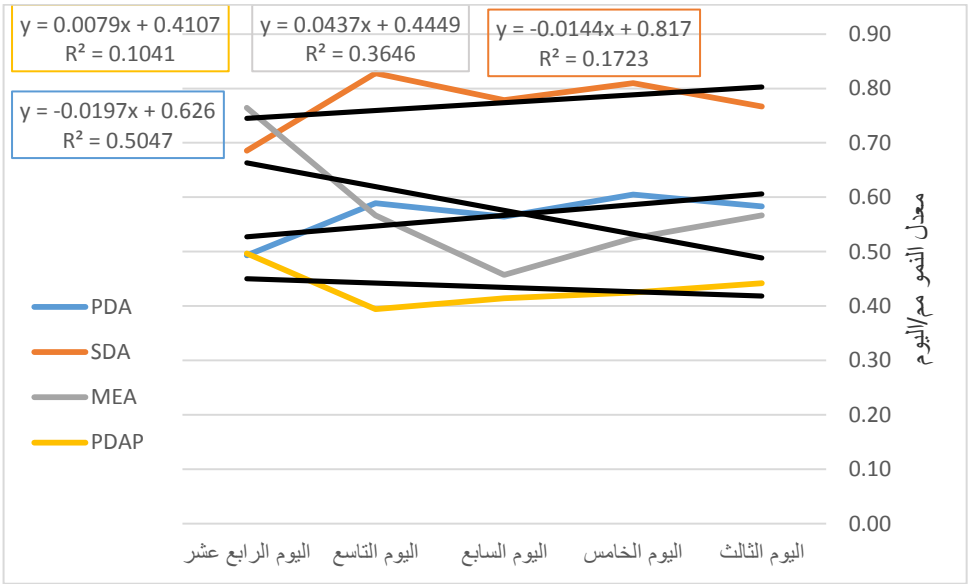
مستنبتي MEA و PDAP ويظهر ذلك واضحاً من خلال قيم معامل التحديد R^2 التي تبين علاقة ارتباط خطي قوي بين معدل النمو والزمن لدرجات الحرارة المدروسة الشكل (2).

حُسب معدل النمو الشعاعي (مم/يوم) لعزلة *D.filum* عند المستنبتات المختلفة في اليوم الرابع عشر فكان 0.76 مم/يوم عند مستنبت MEA بينما وصل إلى 0.49 مم/يوم عند مستنبت PDA الشكل(4)

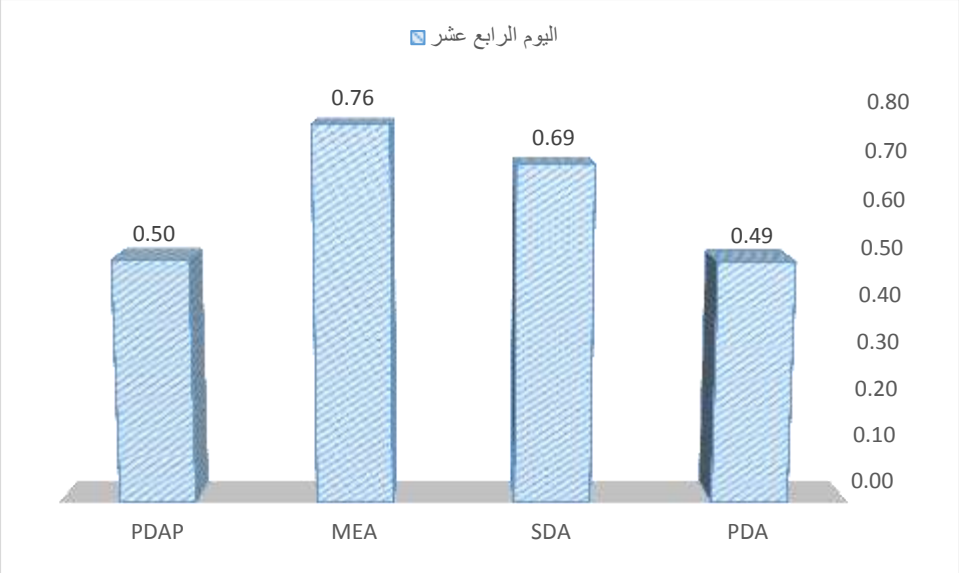
جدول(4): متوسط نصف قطر النمو لعزلة *D.filum* خلال أربع عشر يوم من التحضين على المستنبتات المختبرة

المعاملة	متوسط نصف قطر النمو (مم) ± SD				
	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم السابع	التاسع	الرابع عشر
PDA	0.34 ± 3.75ab*	0.41 ± 3.03b	0.37 ± 3.95b	0.541 ± 5.3b	1.66 ± 6.9b
SDA	0.54 ± 2.3a	0.79 ± 4.05a	0.27 ± 5.45a	0.67 ± 7.45a	1.38 ± 9.6a
MEA	0.41 ± 1.7b	0.37 ± 3.63b	0.33 ± 3.2c	0.63 ± 5.1b	0.76 ± 10.7a
PDAP	0.33 ± 1.33b	0.91 ± 2.13b	0.38 ± 2.9c	0.74 ± 3.55c	0.54 ± 6.95b
LSD 5%	0.56	0.95	0.46	0.87	1.58

*: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات



الشكل(3). معدل النمو الشعاعي الخطي (مم/يوم) لعزلة *D.filum* خلال 14 يوم من التحضين على أوساط استنبات مختلفة



الشكل(4): تأثير أوساط الاستنبات في معدل نمو ميسيليوم عزلة *D.filum* في اليوم الرابع عشر بعد التحضين

ب- إنتاج الأبواغ:

أظهرت النتائج قدرة الفطر *D.filum* على إنتاج الأبواغ على كل المستنبتات المدروسة مع فروق معنوية بين بعض المستنبتات، وعدم فروق معنوية بين بعضها الآخر، أعطى الفطر أفضل إنتاج على مستنبت SDA مع 1.532× 10^6 بوغ/مل، وانخفض إنتاج أبواغ الفطر عند مستنبت MEA إلى 0.492× 10^6 بوغ/مل جدول(5).

جدول(5): متوسط إنتاج الأبواغ (بوغ/مل) لعزلة الفطر *Darluca filum* المزروعة على المستنبتات المختلفة

المعاملة	متوسط إنتاج الأبواغ ± SD (× 10^6)
PDA	0.428 ± 1.246a
SDA	0.678 ± 1.532a
MEA	0.291 ± 0.492b
PDAP	0.31 ± 0.572b
LSD 5%	0.61

ج- إنبات الأبواغ:

كان أعلى معدل إنبات على مستنبتي MEA وPDA، وتراوح بين 79.6% و 65% على التوالي، ويوجد فروق معنوية بين هذين المستنبتين، ولا يوجد فروق معنوية في الإنبات على مستنبتي (MEA وPDAP)، وكذلك بين مستنبتي (PDA و SDA) وكان معدل الإنبات الأقل على PDAP بمعدل 62.8% جدول (6).

جدول(6): متوسط إنبات الأبواغ الكونيدية لعزلة الفطر *Darluca filum* المزروعة على المستنبتات المختلفة بعد 24 ساعة من التحضين

المعاملة	متوسط إنبات الأبواغ ±SD
PDA	4.12±65b*
SDA	6.92±59b
MEA	12.3±79.6a
PDAP	1.66±62.8a
LSD 5%	10.39

***: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات**

النتائج والمناقشة:

بينت النتائج قدرة الفطر *D.filum* على النمو والتبوغ والإنبات عند درجات الحرارة بين 20–35 س°، وبلغت الدرجة المثلى لنمو الميسيليوم 35 س°، وتناقص النمو على الدرجة 20 س° ، وتوقف النمو عند درجة الحرارة 15 س°، يُعتقد بأن سلوك النمو هذا يتعلق بمناخ منطقتنا المعتدل التي عُزل منها الفطر، علماً بأنّ Pei, *et al.,* (2010) استطاعوا تنمية الميسيليوم على وسط PDA في درجة 15 س° مدة (2–3) أسابيع، حيث كانت عزلة *D.filum* مأخوذة من فطر الصدأ *Melampsora* من نبات الصفصاف willows في منطقة ذات شتاء بارد. وبين Kuhlman و Mathews (1976) أن *Sphaerellopsis filum* يكون فعّالاً كعامل مكافحة حيوية خلال فترة الشتاء، حيث المناخ الدافئ والرطب. ووجد Ranbo و Bean (1970) أن الأبواغ الكونيدية لا تنتش في حرارة 15 س° وهذا يتوافق مع نتائجنا، بينما Gordon (2011) استطاع تنمية الأبواغ عند درجات الحرارة 8،15 ،20 ،25 ،30 ،35 س°.

يتعلق إنتاج الأبواغ والإنبات بدرجات الحرارة أيضاً، فبينت النتائج أن درجات الحرارة المثلى للتبوغ والإنبات هي 25 س°، وتناقصت النسبة المئوية للإنبات عندما حُضن الفطر على درجات الحرارة 20 س°.

أظهرت النتائج قدرة الفطر *D. filum* على الإنبات ضمن المجال الحراري 20–35 س°، مع إنبات أمثل ضمن المجال 25–30 س°، وهذا يتوافق مع Gordon (2011) الذي بيّن أن الدرجة المثلى لنمو الأبواغ الكونيدية لـ *D. filum* بين 20–30 س°. وصلت نسب الإنبات إلى 56.8% عند درجة الحرارة 25 س°، و39% عند درجة الحرارة 30 س°، بينما كانت 33.6%–7.6% عند درجات الحرارة 35 و 20 س° على التوالي، أظهر Ranbo و Bean (1970) أن نسب الإنتاش عند درجة الحرارة 30 س° (95%)، وعند الدرجة 25 س° (93%)أما في الحرارة 35 س° فكان الإنتاش 88% ولا يوجد إنتاش عند الحرارة 5 س°.

أظهرت نتائج الدراسة أن النوع *D. filum* ينمو على وسط الزرع PDA مشكلاً الأجواف البكنيدية خلال عشرة أيام بدأت الأجواف بالتشكل في اليوم الخامس، بينما بيّن Black (2012) أن نمو الأجواف البكنيدية على مستنبت V8 juice agar كان في الأسبوع الثاني، وتشكلت الأجواف على مستنبت PDV8A في الأسبوع الرابع، بينما تشكلت على مستنبت PDA في آخر الأسبوع الرابع. بينما عند Ashmitha, *et al.*, (2019) تشكلت الأبواغ على مستنبت V8 في الأسبوع الثالث من الحضن.

وصل معدل النمو في اليوم الأخير من التجربة إلى 10.7 ± 0.76 و 9.6 ± 1.38 (مم±SD) على مستنبتي MEA و SDA على التوالي، وبينت نتائج الدراسة أن مستنبت الـ SDA كان الأفضل لإنتاج الأبواغ والإنبات مع 1.53× 10^6 بوغ/مل، وانخفض إنتاج الأبواغ إلى 0.49× 10^6 بوغ/مل عند مستنبت MEA، وكان أعلى معدل

إنبات على مستنبتي MEA و PDA، وتراوح بين 79.6%و 65% على التوالي، بينما كان مستنبت SDA الأقل 59%. بيّن Swendsrudو Calpouzos (1970) أنّ الأبواغ الكونيدية تنتش على مستنبتي الآغار وPDA بنسبة 42% و46% على التوالي.

الاستنتاجات والتوصيات:

1. أظهرت نتائج الدراسة قدرة الفطر *D.filum* على النمو والتبوغ والإنتاج على البيئات المستخدمة ودرجات الحراة المختلفة
2. كان مستنبتي MEA و PDA الأفضل في إنبات الأبواغ الكونيدية.
3. كان أفضل إنتاج على مستنبت SDA، وأفضل إنبات وإنتاج ضمن المجال الحراري 25–30 س°، ولم يتم إنبات عند الدرجة 15 س°.
4. نوصي بدراسة فطر *D.filum* بهدف إنتاج مبيد فطري حيوي وفعال ضد أمراض فطريات الصدأ.

References:

علي، نوال، أحمد، محمد، والنقار، رحاب، حصر الفطر *Darluca filum* (Biv.) Cast. المتطفل على فطور الصدأ (Uredinale) في الساحل السوري. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية،2021، المجلد (43)، العدد (2).

Ali, Nawal, Ahmed, Muhammad, and Al-Naqqar, Rehab, Darluca filum (Biv.) Cast. The rust parasite (Uredinale) on the Syrian coast. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies, 2021, Volume (43), Issue (2.

علي، نوال، أحمد، محمد، والنقار، رحاب، حصر ودراسة مرجعية على الفطر *Darluca filum* (Biv.) Cast. المتطفل على فطور الأصداء (Uredinales) التي تصيب نباتات مختلفة في المنطقة الساحلية من سوريا. المجلة الأردنية في العلوم الزراعية، 2017 المجلد (13)، العدد (2)، ص493–502

Ali, Nawal, Ahmed, Muhammad, and Al-Naqqar, Rehab, inventory and reference study on the fungus Darluca filum (Biv.) Cast. A parasite of the Uredinales fungus that infects various plants in the coastal region of Syria. Jordanian Journal of Agricultural Sciences, 2017, Volume (13), Issue (2), pp. 493-502

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 5th. Ed. Elsevier Academic Press. 2005. 922.

ASHMITHA, S,P, RAGUCHANDER, T, & JOHNSON, I. Occurrence of mycoparasitic fungi *Sphaerellopsis paraphysata* on pearl millet rust pathogen, *Puccinia substriata* in India. Madras Agric, doi: 10.29321/Maj. 0002555 .2017 ، 249-254.

BARNETT, H.L. and B.B. HUNTER. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3th. Ed. Burgess Publishing Company.1979, 215pp

BLACK, J,A. The epidemiology of *Puccinia emaculata* (rust) in switchgrass and evaluation of the mycoparasite *Sphaerellopsis filum* as a potential biological control organism for switchgrass rust. Master Thesis, University of Tennessee, Knoxville, 2010, 62Pp.

BLUMER, S. Rost- Und Brand Pilze Auf Kulturpflanzen. Veb Gustav Fischer Verlag Jena. 1963. 364pp.

BRANDENBURGER, W. Parasitische Pilzean Gefässpflanzen in Europ. Gustav Fischer verlag, Stuttgart, New York. 1985, 1248pp.

CARLING, D.E., M.F. BROWN., and Df. MILLIKAN. Ultrastructural Examination of the *Puccinia graminis- Darluca filum* Host- Parasite Relationship. Phytopathology، 1975, 66: 419-422

DRIESSEN, S. Lifecycle, Biology and Diversity of *Puccinia boroniae* Western Australia: Sphaerellopsis filum: Mycoparasite of *Puccinia boroniae*. School of Biological Sciences and Biotechnol- ogy Murdoch University, Perth, Western Australia, 2005, 92-101.

Gordon, T,C. Overwintering Survival of Stem Rust on Perenial Ryegras: Construction Simulation Model, and Effects of The Mycoparasite *Sphaerellopsis filum*. Master Thesis, Oregon State University, 2011, 111Pp.

KEENER, P.D., Biological specialization in *Darluca filum*. Torrey Botanical Society, Vol.61, No.9, 1934, pp: 475-490.

KREISEL, V.H, and SCHAUER, F. Methoden des Mykologischen laboratoriums, FISHER Verlag Jena, GERMANY, 1987, Pp181.

KUHLMAN, E, MATHEWS, F. Occurrence of *Darluca filum* on *Cronartium Strobilinum* and *C.fusiformes* infecting Oak. 1976.

MOUTTERDE,P.Nouvelle Flore Du LibanEt De La Syrie. Darel- Machreque, Beirut, Tome I, II, III. 1966-1970-1983

PLACHECKA, A. Microscopical observations of *Sphaerellopsis filum*, a parasite of Puccinia recondita. Acta Agrobotanic, 58, 2005, 67-71.

PEI, M,H, RUIZ, c, HUNTER, T,and BAYON, C.Interaction between *Melampsora larici-epita* Pathotypes and the mycoparasite *Sphaerellopsis* filum *from* Willow Rust. 2010.

RANBO, G,W, and BEAN, G,A. Survival and Growth of Mycoparasite *Darluca filum*. 1970.

RIQUELME, M. Fungal Cell Biology. Centerpiece for a New Department of Microbiology in Mexico. Supplement to Mycologia, V:56(4), 2005, 78pp.

SWENDSRUD, D,P, CALPOUZOS, L. Rust Uredospores Increase the Germination of Pycnidiospores of *Darluca filum*. Scientific Journal Series paper, 1970, No. 7167:1445-1447.

SCHUBERT, R., E.H. Benedix., S.J. Casper., S. Danert., K.E. Linder., P. HÜBSCH., and M. SCHMIEDEKNECHT. Urania Pflan Zen –Reich. Urania –Verlag Leipzig. Jena. Berlin, 1991, 664pp.

TRAKUNYINGCHAROEN, T, LOMBARD, L, GROENEWALD, J.Z, CHEEWANGKOON, R, TOANUN,C, ALFENAS,A.C, and CROUS,P.W. Mycoparasitic species of *Sphaerellopsis*, and allied lichenicolous and other genera. IMA FUNgUs, 2014. 5(2): 391–414

VANDERWEYEN, A. and A. FRAITURE. Catalogue des Uredinales de Belgique: Chaconiaceae, Coleosporiaceae, Cronartiaceae, Melampsoraceae, Phragmidiaceae, Pucciniastraceae, Raveneliaceaeet, Uropyxidaceae. Revue De Botanique, N: 183, 2007, 36pp.

YUAN ZW, PEI MH, HUNTER T, ROYLE DJ. *Eudarluca caricis*، the teleomorph of the mycoparasite *Sphaerellopsis filum*, on blackberry rust *Phragmidium violaceum*. Mycological Research. 1998, 868–866 :102.