مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية – سلسلة العلوم الزراعية – المجلد /15/ (العدد1) 1413 هـ – 1993 م.

دراسة بعض الخصائص الفيزيولوجية للفطر
ASCOCHYTA RABIEI (PASS.) LAB.
المسبب لمرض التبقع الاسكوكيتي على الحمص في سوريا

د. عصام علاف *

م. زهـــير بيلاني

□ ملخص □

تنمو السلالة R5 للفطر Ascochyta rabiei المعزولة في سوريا من نباتات الحمص المصابة بلفحة الاسكوكيتا جيداً على الأوساط التالية:

أغار تشابك، أغار مستخلص بذور الحمص ووسط PDA. كان النمو أفضل مايكون على وسط تشابك. درجة الحرارة المثلى لنمو الميسليوم وإنبات الكونيديات 20 – 25 م° ودرجة الحموضة المثلى 5 و 5.4 على التوالي. تتناقص حيوية الكونيديات عند تعريضها لدرجات حرارة عالية بحيث فقدت حيويتها بصورة كاملة عند تعريضها لدرجة 45 م° لمدة ساعة. يمكن للكونيديات أن تنبت فقط في قطرات الماء أو في جو مشبع بالرطوبة 100٪، ويساعد على الإنبات وجود بعض المواد الغذائية في الماء.

* الدكتور عصام علاف مدرس في قسم وقاية النبات بكلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سوريا

المهندس زهير بيلاني مدير أعمال في قسم وقاية النبات بكلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سوريا

مقدمة:

يعتبر مرض لفحة الاسكوكيتا أحد الأمراض الهامة التي تصيب نبات الحمص وينتشر أحياناً بصورة وبائية ويكون الضرر الناتج عنه كبيراً في كثير من بلدان العالم مثل المغرب (LABROUSSE 1930)، والباكستان (1965 SATTAR؛KAUSAR 1933)، وبلغاريا (KOVACHEVSKI 1936)، وإسبانيا (BENLLOCH1941)، واليونان (DEMETRIADES 1959)، والاتحاد السوفيتي (1968 ASKEROV, 1966 VEDYSHVA)، وإيران (KAISAR 1972)، والهند (NENE 1982)، وسوريا(أضواء على أبحاث الإيكاردا 1982 - 1983، أضواء على أبحاث الإيكاردا 1984).

يصيب المرض جميع أجزاء النبات فوق سطح التربة، وتكون البقع على الوريقات مستديرة أو متطاولة تتوزع عليها نقط بنية منخفضة دون انتظام وتحاط البقع بحافة حمراء بنية، وعلى القرون الخضراء تكون البقع دائرية وذات حواف داكنة وتتوزع بكنيديات الفطر على سطحها في حلقات دائرية. وتظهر على البذور المصابة بقع غالباً، وتكون البقع على السويقة الجنينية السفلى والساق بنية متطاولة (3-4سم) وعليها نقاط سوداء وغالباً ما تحيط بالجزء المصاب إحاطة كاملة وتؤدي إلى موت أجزاء النبات فوق منطقة الإصابة (شكل 1،2).

هناك عدة تقارير حول الأوساط الملائمة لنمو الفطر Ascochyta rabiei حيث وجد REDDY & NENE (1979)و KAISAR (1973) أن آجار دقيق الشوفان وآجار مسحوق بذور الحمص (4-8٪) كانا جيدين لنمو الفطر وإنتاج البكنيديات، كما وجد NENE (1982) أن الفطر Ascochyta rabiei يكوّن على وسط آجار دقيق الشوفان مستعمرات مسطحة منغمرة يكون الميسليوم فيها غير كثيف أبيض في البدء ويصبح داكناً فيما بعد.

ويشير باحثون عديدون إلى أن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر وتكوين البكنيديات وإنبات الأبواغ البكنيدية هي نحو 20م° (ZACHOSET et.al., 1970 1936 BEDI & AUJLA, 1973 CHAUHAN, 1973 KAISAR, 1975 MADEN et.al.)

أما درجات الحرارm أعلى من 30م° وأدنى من 10م° فتعتبر غير ملائمة لنمو الفطر LUTHRA & BEDI 1932, CHAUHAN 1973, KAISAR 1973.

وتؤثر الإضاءة في نمو الفطر على البيئات الصناعية، حيث وجد (1973 KAISAR) أن الإضاءة المستمرة بتسبب زيادة في تكوين الأبواغ، في حين وجد (1973 CHAUHAN) أن تكوّن الأبواغ يقل على النباتات المصابة والنامية في ظروف إضاءة مستمرة داخل البيوت الزجاجية.

ويهدف هذا البحث إلى دراسة بعض الخصائص الفسيولوجية لإحدى سلالات الفطر Ascochyta rabiei المعزولة من نباتات الحمص المصابة في سوريا.

الطرق والمواد المستعملة:

أجريت الدراسة على إحدى سلالات الفطر (R5) المأخوذة من مركز أبحاث الإيكاردا بحلب. قمنا بدراسة تطور نمو مستعمرات الفطر على وسط PDA بزرع بعض أبواغه على هذا الوسط. ولمعرفة أفضل الأوساط لنمو الفطر، زرعنا الفطر في أطباق بيتري على البيئات: بيئة PDA، بيئة تشابك وبيئة آجار مستخلص بذور الحمص وذلك بمعدل ثلاثة أطباق لكل وسط، وتم تقدير درجة نمو المستعمرة بأخذ متوسط قطريها المتعامدين بعد 10-15 يوماً.

ولدراسة أثر الحرارة في نمو وتطور الفطر تمت تنميته على وسط PDA في درجات حرارة مختلفة: 5،20،25،30م° وبمعدل ثلاثة أطباق لكل درجة حرارة وتم تقدير درجة نمو الفطر كما سبق.

أما تأثير الضوء في نمو الفطر فقد تمت دراسته على بيئة PDA، حيث ترك الفطر ينمو في أطباق بيتري مغلفة بورق أسود (ظلام) وتمت مقارنة نموه بعد 15 يوماً مع أطباق أخرى تركت في ظروف الإضاءة العادية للمخبر.

ولدراسة تأثير الحموضة على نمو الفطر Ascochyta rabiei زرع الفطر في درجات حموضة مختلفة: 12.11,9.3,7.3,5.3.4 مستخدمين لهذه الغاية محلول نظامي من كل NAOH،HCL، أجريت التجربة في دوارق مخروطية (سعتها 250مل) بكل منها 50مل من الوسط وبمعدل أربعة مكررات لكل درجة حموضة. تم تقدير متوسط الوزن الجاف للميسليوم بعد 15 يوماً من النمو في درجة حرارة المخبر.

وقد قمنا بدراسة العوامل المؤثرة في إنبات كونيديات الفطر Ascochyto rabiei، فلدراسة تأثير الحرارة قمنا بتحضير معلق من أبواغ الفطر في الماء المقطر، أخذت الأبواغ من مستعمرة عمرها 45 يوماً نامية على وسط PDA بحيث تحتوي القطرة من المعلق في الحقل المجهري الواحد بتكبير 10 ×10 على 20-25 كونيدة، ووضعت قطرات من هذا المعلق على شرائح زجاجية مستندة إلى قضيبين زجاجيين داخل أطباق بيتري فيها ورق نشاف مرطب وتم وضع الأطباق مع قطرات المعلق في درجات حرارة مختلفة: 5،10،15،15،20،25،30،35م° داخل حضانات، أجريت التجربة في أربعة مكررات (4 قطرات) وقدرت نسبة الأبواغ النابتة بعد: 4،8،24 ساعة.

كذلك تم القيام بدراسة تأثير الحرارة المرتفعة في حيوية كونيديات الفطر وذلك بتعريضها لدرجات حرارة مختلفة ولفترات مختلفة وبعدها قدرت نسبة إنباتها في الماء المقطر في ظروف المخبر بعد: 4،8،24 ساعة.

ولدراسة تأثير الرطوبة في إنبات الكونيديات تم وضع كمية قليلة من أبواغ الفطر على شرائح زجاجية، ثم وضعت الشرائح في درجات رطوبة نسبية (100٪، 90٪، 70٪) داخل مجففات وأمكن الحصول على درجات الرطوبة السابقة باستخدام الماء المقطر، محلول 18.5٪ حمض الكبريت المركز ومحلول 30.4 حمض الكبريت المركز على التوالي، وتم تقدير

نسبة الأبواغ النابتة بعد: 4،8،24 ساعة أجريت التجربة في ظروف المخبر وبمعدل أربعة مكررات لكل معاملة.

ولمعرفة مدى تأثير الوسط الغذائي في إنبات الكونيديات تم إنباتها في أوساط مختلفة: ماء مقطر، ماء عادي، مستخلص بذور الحمص، 1٪ غلوكوز في الماء المقطر بطريقة القطرة الجالسة كما سبق شرحه وذلك في ظروف المخبر وبمعدل أربع قطرات لكل معاملة.

وكذلك جرى دراسة تأثير PH الوسط في إنبات الكونيديات ولهذه الغاية تم إنبات الكونيديات بطريقة القطرة الجالسة في درجات PH مختلفة هي: 3.6، 5.4، 6.5، 8، 9.2، 11.7، 12.3 مستخدمين لهذه الغاية الماء المقطر الذي عدلت فيه درجة الـ PH إلى الدرجة المطلوبة باستخدام محلول نظامي من NaoH و HcL وقدرت نسبة الأبواغ في ظروف المخبر بعد 4،8،24 ساعة.

النتائج والمناقشة:

آ- تبدأ مستعمرات الفطر A. rabiei (R5) في الظهور بدءاً من اليوم الثاني بصورة ميسليوم أبيض اللون، وتبدأ الكونيديات في التشكل بدءاً من اليوم الرابع وتكون بنية فاتحة، تنمو المستعمرة الفطرية بشكل دائري، ويبدأ تغيير لون المستعمرة إلى اللون الداكن بدءاً من اليوم السادس، ويكون لون مركز المستعمرة أدكن من حوافها. ويصل قطر المستعمرة إلى نحو 2-3سم بعد عشرة أيام من النمو و 5 - 6 سم بعد 15 يوماً (شكل 3).

ب - العوامل المؤثرة في نمو الفطر A. rabiei

1- تأثير نوع الوسط الغذائي:

يبين الجدول رقم (1) تأثير نوع الوسط الغذائي في نمو الفطر A. rabiei

جدول رقم (1) نمو الفطر A. rabiei على أوساط غذائية مختلفة:

الوسط الغذائي	قطر المستعمرة (سم)	
	10 أيام	15 يوم
مستخلص بذور الحمص	1.2	5.3
آجار البطاطا	3.1	6.2
تشابك	3.5	8

النتائج السابقة تبين أن وسط تشابك يمثل أفضل الأوساط المختبرة حيث بلغ قطر المستعمرة بعد 15 يوماً على هذا الوسط (8 سم) وكان الميسليوم الهوائي كثيفاً بالمقارنة مع الوسطين الآخرين، كما كان لون المستعمرة داكناً على وسط تشابك، وفاتحاً على كل من وسط مستخلص بذور الحمص ووسط آجار البطاطا.

2- تأثير الحرارة:

يبين الجدول رقم (2) أثر الحرارة في نمو الفطر A.rabiei

جدول رقم (2) تأثير الحرارة في نمو الفطر A.rabiei

درجة الحرارة م°	قطر المستعمرة (سم)	
	10 أيام	15 يوم
5	–	–
10	–	1.2
20	2.5	7.7
25	2.7	7.8
30	0.3	3.5

يتبين من الجدول رقم 2 أن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر A.rabiei على وسط PDA تقع بين 20 – 25 م° حيث بلغ قطر المستعمرة عند هاتين الدرجتين 7.7 و 7.8 سم على التوالي، وتعيق درجات الحرارة النخفضة (10) م° والمرتفعة (30) م° نمو الفطر، ولم ينمُ الفطر إطلاقاً في درجة حرارة (5) م° حتى بعد مرور 15 يوماً.

3- تأثير الضوء:

لم يكن للضوء تأثير في قطر المستعمرات النامية في الضوء العادي والظلام الدائم، فيما كانت المستعمرات النامية في الضوء ذات ميسليوم هوائي غزير، قاتمة اللون، أما المستعمرات النامية في الظلام فكانت أفتح لوناً وذات ميسليوم هوائي قليل، ويعزى اللون الداكن للمستعمرات النامية في الضوء إلى غزارة تكوين البكنيديات فيها بالمقارنة بتلك النامية في الظلام.

4- تأثير الحموضة PH:

يبين الجدول رقم (3) تأثير الحموضة في نمو الفطر A.rabiei على وسط تشابك.

جدول رقم (3): تأثير الحموضة في نمو الفطر A.rabiei

درجة الـ PH	الوزن الجاف للميسليوم بعد 15 يوماً (ملغ)
3.4	–
5	650
7.3	370
9.3	75
11	35
12	–

يتضح من الجدول السابق أن أفضل درجه PH لنمو الفطر المدروس كانت PH = 5 حيث بلغ متوسط الوزن الجاف للميسليوم عندها 650 ملغ بعد 15 يوماً من النمو، وقل النمو كثيراً في درجات PH الأعلى من 5 بحيث بلغ الوزن الجاف للميسليوم 35 ملغ

فقط بعد 15 يوماً من النمو على درجة PH =
11، بينما لم يستطع الفطر النمو في درجات
PH = 3.4 و 12.

جـ – العوامل المؤثرة في إنبات كونيديات الفطر Ascochyta rabiei

1- تأثير نوع الوسط الغذائي:

يبين الجدول رقم (4) أثر نوع الوسط الغذائي في إنبات كونيديات الفطر A.rabiei

جدول رقم (4): تأثير الوسط الغذائي في إنبات كونيديات الفطر المدروس.

الوسط الغذائي	٪ للأبواغ النابتة (ساعة)		
	4	8	24
ماء مقطر	–	9.35	78.5
ماء عادي	–	34.41	85.3
مستخلص بذور الحمص	–	52.39	88.75
1٪ غلوكوز في الماء المقطر	3.4	35.24	96

نلاحظ من الجدول (4) أن كونيديات الفطر المدروس تنبت بشكل جيد في الماء المقطر والعادي، إلا أن وجود بعض المواد الغذائية في الوسط شجع على الإنبات، حيث أدت إضافة الغلوكوز في الماء المقطر بنسبة 1٪ إلى رفع نسبة الإنبات بعد 24 ساعة إلى 96٪.

2- أثر الحرارة: .

الجدول رقم (5) يوضح تأثير الحرارة في إنبات كونيديات الفطر المدروس.

جدول رقم (5): تأثير الحرارة في إنبات كونيديات الفطر A. rabiei

درجة الحرارة	٪	للأبواغ النابتة	بعد (ساعة)
م°	4	8	24
5	–	–	4.25
10	–	–	7.6
15	–	10.5	42.2
20	3.2	15.4	76
25	3.5	28.65	82.6
30	–	–	6.45
35	–	–	–

من الجدول رقم (5) يمكن ملاحظة أن كونيديات الفطر يمكنها الإنبات في مجال حراري يقع بين 5 -30 م°، ودرجة الحرارة المثلى للإنبات تقع بين 20 - 25 م° حيث بدأ الإنبات عند هاتين الدرجتين بعد أربع ساعات وبلغت نسبته 82.6٪ بعد 24 ساعة عند درجة حرارة 25 م°.

أما الإنبات على درجات حرارة 5،10،30م° فلم نلاحظه إلا بعد 24 ساعة وبنسبة منخفضة جداً أما عند درجة حرارة 15 م° فقد بدأ الإنبات بعد 8 ساعات وبلغت نسبته 42.2٪ بعد 24 ساعة.

3- تأثير الحرارة المرتفعة:

يبين الجدول رقم (6) تأثير الحرارة المرتفعة ومدة التعرض لها في حيوية أبواغ الفطر A.rabiei

جدول رقم (6): تأثير الحرارة المرتفعة في حيوية أبواغ الفطر المدروس

درجة الحرارة (م°) ومدة التعرض لها	٪ للأبواغ النابتة بعد (ساعة)		
	4	8	24
ساعة (40) م°	-	9.1	42.35
ثلاث ساعات (40) م°	-	-	3.8
ساعة (45) م°	-	-	-
شاهد بدون معاملة حرارية	2.25	15.2	78.6

من هذا الجدول نجد أن كونيديات الفطر A. rabiei تفقد حيويتها بسرعة مع ارتفاع درجة الحرارة وزيادة فترة التعرض لها بحيث فقدت حيويتها تماماً عند تعرضها لدرجة حرارة 45 م° لمدة ساعة، وأدى تعريضها لدرجة حرارة 40 م° لمدة ساعة إلى انخفاض نسبة إنباتها بعد 24 ساعة من 78.6٪ (في الشاهد) إلى 42.35٪، أما تعريضها لمدة 3 ساعات لدرجة حرارة 40 م° فقد تسبب في خفض نسبة إنباتها بعد 24 ساعة إلى 3.8٪.

4- تأثير الرطوبة النسبية:

يوضح الجدول رقم (7) تأثير درجة الرطوبة النسبية في إنبات كونيديات الفطر A.rabiei

جدول رقم (7): تأثير الرطوبة النسبية في إنبات كونيديات الفطر A.rabiei

الرطوبة النسبية ٪	٪ للأبواغ النابتة بعد (ساعة)		
	4	8	24
100	5.4	22.3	68.7
90	-	-	-

تبين هذه النتائج أن كونيديات الفطر تحتاج إلى رطوبة نسبية مرتفعة (100٪) لإنباتها، و لم تنبت إطلاقاً عند درجة رطوبة 90٪.

5- تأثير الحموضة:

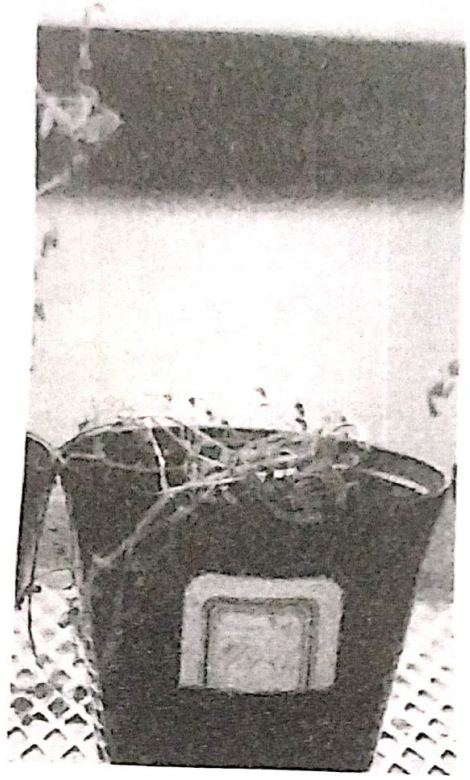
يبين الجدول رقم (8) تأثير الحموضة في إنبات أبواغ الفطر A.rabici

جدول رقم (8): تأثير PH الوسط في إنبات كونيديات الفطر المدروس.

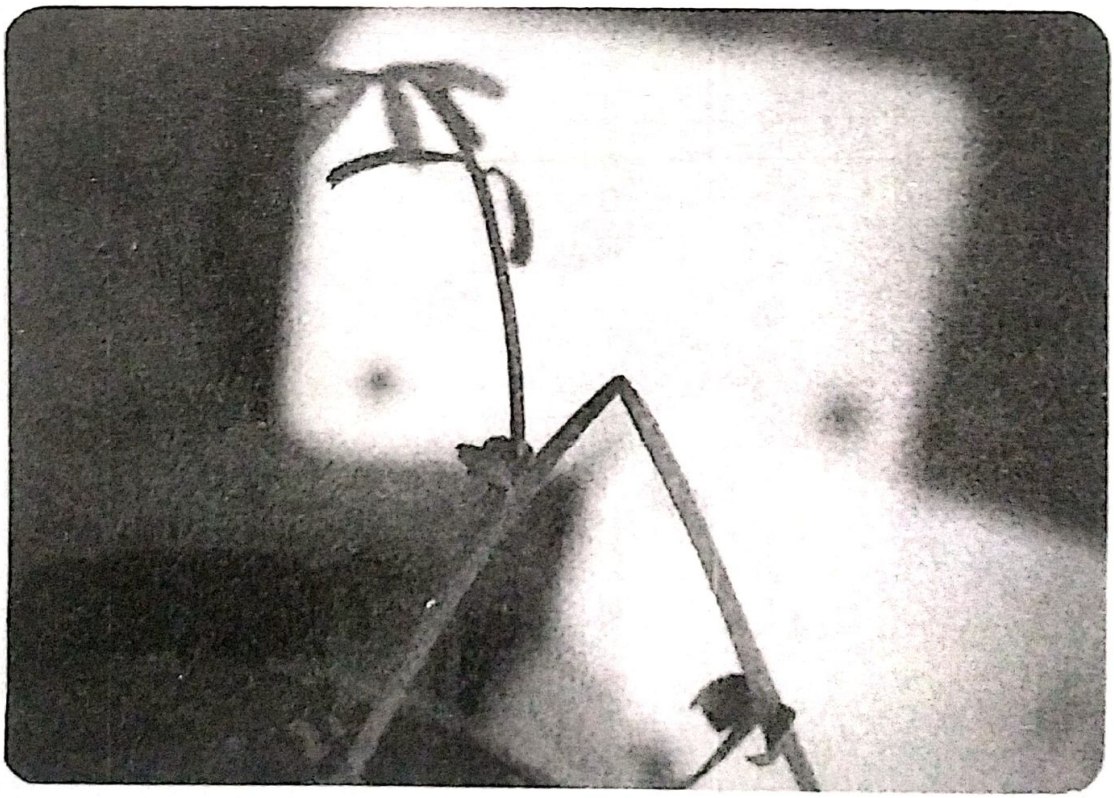
درجة PH	٪ لإنبات الكونيديات بعد (ساعة)		
	4	8	24
3.6	–	5.1	60.85
5.4	1.25	20.2	73.45
6.5	0.87	8.8	68.7
8	–	4.6	25.7
9.2	–	3.1	10.5
10	–	–	8.5
11.7	–	–	6.2
12.3	–	–	1.4

من الجدول السابق نجدأن أبواغ الفطر A.rabiei تحتاج إلى وسط حامضي لإنباتها، حيث كانت نسبة إنباتها مرتفعة في درجات PH من 3.6 – 6.5 وانخفض إنباتها كثيراً في درجات الـ PH المرتفعة بدءاً من درجة PH = 8 وفقدت قدرتها على الإنبات بصورة كاملة تقريباً عند درجة PH = 12.3، وأفضل نسبة للإنبات كانت درجة PH = 5.4، حيث بلغت بعد 24 ساعة 73.45٪.

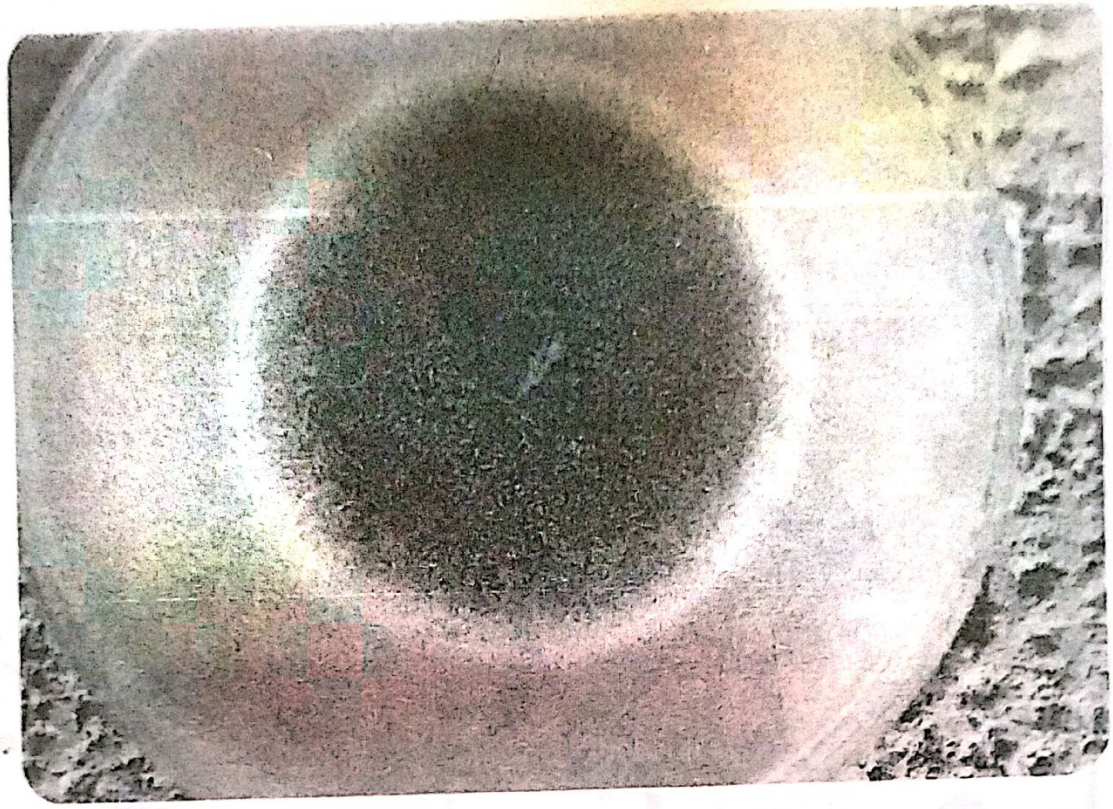
تدل النتائج السابقة على أن المرض يشتد في ظروف الطقس الماطر أو في الجو المشبع بالرطوبة مع توفر درجات حرارة بين 20 –25 م° خلال فترة نمو النباتات.



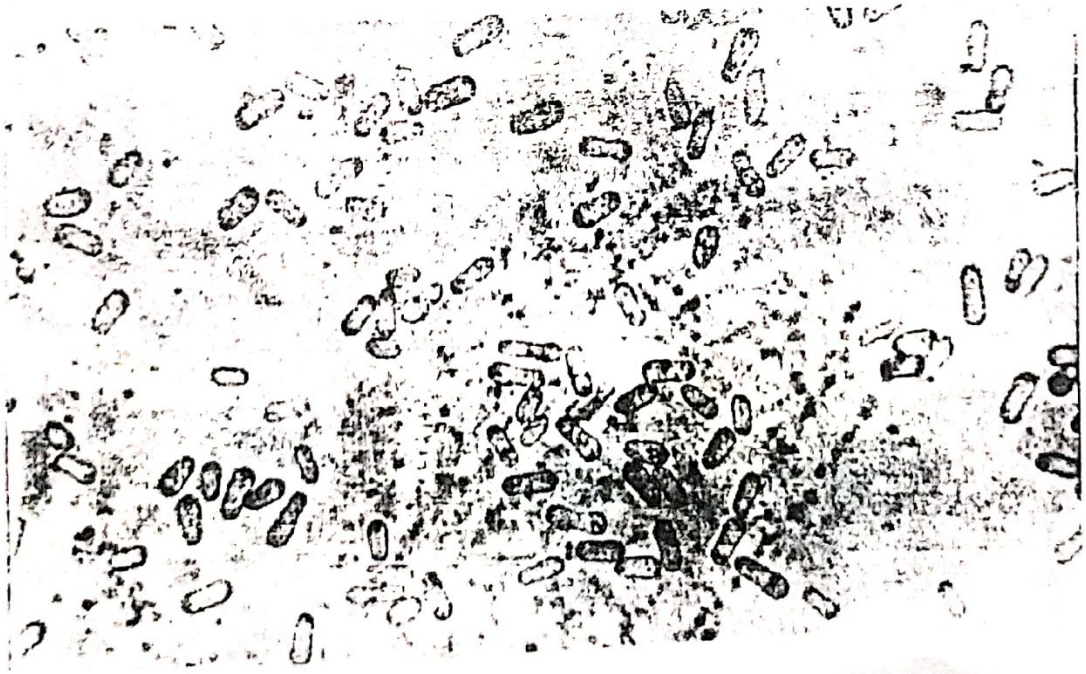
شكل (1) نباتات حمص مصابة بشدة بالفطر A- rabici



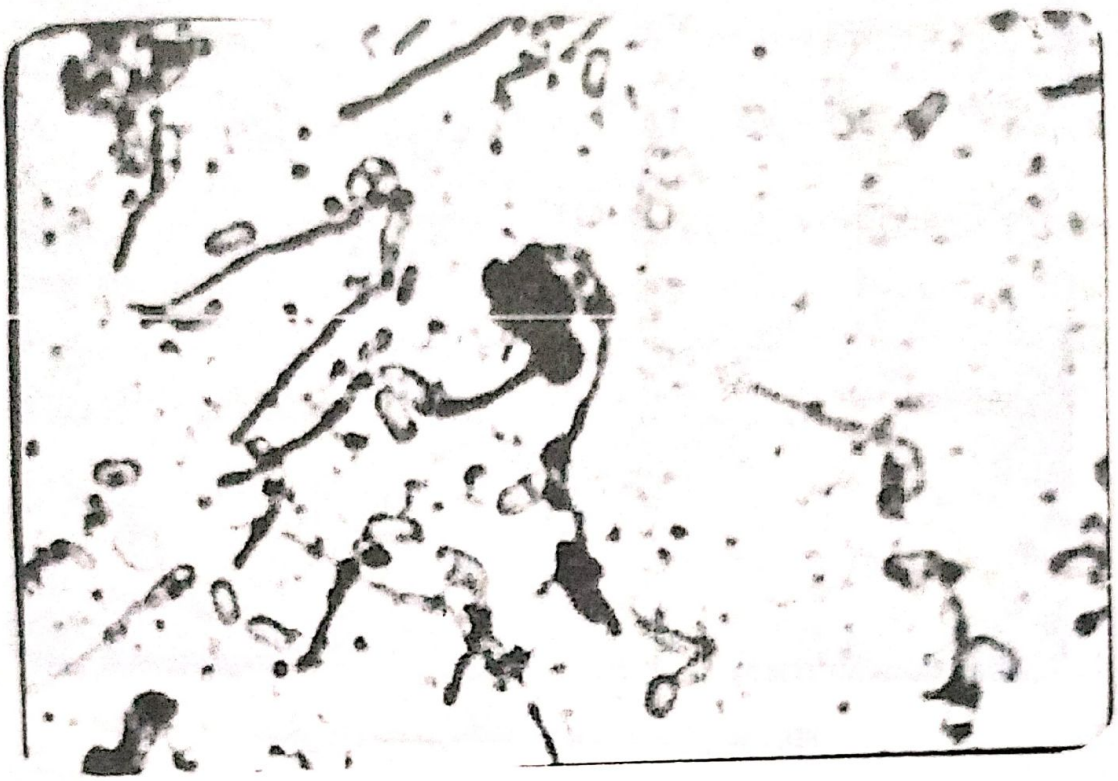
شكل (2) أعراض الاصابة على الساق



شكل (3) مستعمرة الفطر A - rabici على وسط PDH



دكونيديات الفطر A - rabici



كونيديات الفطر A - rabici في حالة الانبات

REFFRENCE

ASKEROV I.B. (1968): Ascochyta blight of chick pea
Jou pl port, N3, 52-53 (in russian).

BEDI.P.S. and AUJLA S.S.(1970): Factors affecting the mycelial growth and the size of pycnidia produced by phyllostica rabiei.
Res. punjab Agr univ. 4: 606 - 609

BENLLOCH M. (1941): Some phytopathological characteristics of
the year 1941 (in spanish).
BOL.pat.veg.Ent.Agr.Madr.x. 29-32: 1-14

CHUHAN R.K.S.(1973): Effect of varying temperature humidity and light during incubation in relation to disease development in blight of gram (cicer arietinum) caused by ascochyta rabiei.
proc.Natn. sciacad.India B37: 473-482.

DEMETRIADES S.D. ZACHOS D.G. CONSTANTINOU P.T
PANAGOPULOS C.G. and HOLEVAS C.D. (1959):
Brief eports on the principal plant diseases observed
in greece during the year 1958 (in french)
Ann.Jnst.phytopath.Banaki.N.S.21: 3-11

KAISAR W.J. (1972): Occurrence of three fungal diseases of chickpea
in Iran. FAO plant port.
Bull. 20: 74-78.

KAISAR.W.J.(1973): Factors affecting growth.
sporulation pathogenicity and survival of ascochyta rabiei
Mycologia 65: 444-457.

KAUSAR A.G. (1965): Epiphytology of recent epiphytoties of gram
blight in west pakistan Agr.Sci.2: 185-195.

KOVACHEVSKI I.C. (1936) parasitic fungi new for Bulgaria fourth
contribution (in Russian) Trav.SOC.Bulg.
SCI.Nat. 27:13-24.

LABROUSSE F. (1930): Anthracnose of the chick pea
(cicer arietinum) (in french) Rev.path.veg.etent.Agr.
27: 174-177.

MADEN S. SINGH.D.MATHUR S.B. and NEERGARD P. (1975):
Detection and location of seed -borne inoculum of
Ascochyta rabiei and its transmission in chick pea
(cicer arietinum) seed sci &tech: 667-681.

NENE Y.L. (1982): Review of Ascochyta blight of chick pea
(cicer arietinum)
tropical pest management 28(1), 61-70.

REDDY M.V. and NENE Y.L. (1979): Acase for induced mutation in chick pea for ascochyta blight resistance pages 398-408 in pro c.symp.on the rolr of jnduced.

SATTARA.(1934): A comparative study of the fungi associated with blight diseases of certain cultivated leguminous plants.Irans.Brit Mycol. soc. 18: 276-301.

VEDYSHEVA R.G. (1966): Evaluation of the resistance of cicer arietinum to ascochyta rabiei (in Russian) vest. sefkhoz, Nauki, 12,109-111

ZACHOS D.G. PANAGOPULOS G.G. and MAKRIS S.A. (1963) Researches on the biology. epide miology and the control of anthracnose of chick pea (in French) Ann ls. jnst. phytopath.Benaki. N.S. 5(2): 167-192.

المراجع العربية:

1 – أضواء على أبحاث الإيكاردا 1982 – 1983.

2 – أضواء على أبحاث الإيكاردا 1984.

ABSTRACT

THE race (R5) of the fungus ascochyta rabiei isolated from infected plants of chickpea in Syria grows well on the following media: czapek dox agar, chickpea extract agar and PDA. Best growth was obtained on czapek dox agar. Optimum temperature for mycelial growth and spore germination is 20 – 25C° and optimum PH is 5, 5.4 respectively.

viability of spones decreases when exposed to high temperature

Spores completely lost their viability when exposed to 45C° for one hour.

Conidia can germinate only in drops of water or in 100% R.H. ,

THE presence of some nutrients in water slightly helps spore germination.