مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (6) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (6) 2013

العزل والتشخيص والشدّة الإمراضية للفطر *Pythium* sp. المسبب لمرض سقوط بادرات البندورة في البيوت المحمية

محمد عماد خريبة*
الدكتورة ابتسام غزال**
الدكتور محمد فواز العظمة***
الدكتورة وفاء شومان****

(تاريخ الإيداع 8 / 7 / 2013. قبل للنشر في 18 / 8 / 2013)

ملخّص

أجريت هذه الدراسة للتحري عن مرض سقوط بادرات البندورة، ولعزل الفطور المسببة وتشخيصها لهذا المرض ولاختبار قدرتها الإمراضية في منطقة الساحل السوري المتمثلة بمحافظتي اللاذقية وطرطوس؛ إذ اختيرت للدراسة أربعة مواقع مختلفة هي جبلة ورأس العين وحريصون ومجدلون البحر .أظهرت النتائج وجود المرض في جميع المواقع المدروسة ضمن المشاتل والبيوت المحمية .تراوحت نسبة البذور غير النابتة في المشاتل من 1,91% إلى 4,61% في حين تراوحت نسبة إصابة البادرات من 0,57%إلى 1,47% أما في البيوت المحمية فقد تراوحت نسبة الإصابة من 1,74% إلى 10,2%. أظهرت نتائج العزل الفطري وجود ستة أجناس مصاحبة للبادرات المصابة، كان أعلاها تردداً جنس الفطر Pythium spp. بنسبة (38%) يليه الفطر Fusarium spp. (18%) ثم الفطر Rhizoctonia spp. (13%)يليه كلٌّ من الفطور Alternaria sp.(12%) و Verticillium sp. (12%) وأخيراً الفطر Phoma sp. بنسبة (7%). تمّ عزل ثماني عزلات وشخصت على أنها تابعة للجنس Pythium spp. اعتماداً على المفاتيح التصنيفية المعروفة، ووجد بأن أربع منها(P1, P2, P5, P6) ، تابعة للنوع P. aphanidermatum، واثنتان (P3, P4) تابعتان للنوع P. ultimum var. ultimum واثنتان (P7, P8) تابعتان للنوع P. paroecandrum. أظهر اختبار القدرة الإمراضية تبايناً بمستوى شراسة العزلات ؛ إذ كانت العزلة P6 التابعة للنوع P. aphanidermatum هي الأكثر شراسة بشدّة مرضية بلغت 68,33% وأقلها شراسة كانت العزلة P4 التابعة لنوع P. ultimum var. ultimum بشدة إمراضية تساوي38% ، مع وجود فروقات معنوية للعزلة P4 مع العزلات P1, P2, P5, P6، في حين لم تكن الفروقات معنوية مع العزلات. P3, P7, P8

الكلمات المفتاحية :البندورة – مرض سقوط البادرات – *Pythium* spp. – البيوت المحمية – الساحل السوري.

* **طالب دكتوراه – قسم وقاية النبات – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية مساعد باحث في الهيئة العامة للتقانة الحيوية.**
** **أستاذ مساعد– قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.**
*** **أستاذ– قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق – سورية، خبير في الهيئة العامة للتقانة الحيوية.**
**** **أستاذ – مركز التقانات الحيوية – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.**

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (6) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (6) 2013

Isolation, identification and pathogenicity of *Pythium* spp. Causing tomato damping-off in greenhouses.

Mohammad Imad Khrieba*
Dr. Ibtissam Ghazal**
Dr. M. Fawaz Azmeh***
Dr. Wafaa Choumane****

(Received 8 / 7 / 2013. Accepted 18 / 8 /2013)

□ ABSTRACT □

This study was conducted in the Syrian coastal area to detect tomato seedlings damping-off disease, to identify and isolate fungi responsible of the disease and to evaluate their pathogenicity. Samples were collected from nurseries and greenhouses from four locations (Jableh and Ras Elain from Lattakia and Hressoun and Majdalon Elbahr from Tartous). Results demonstrated the presence of seedling damping-off disease in all screened sites, where the incidences ranged from 0.57% to 1.47% in the nurseries and from 1.74% to 10.2% in the greenhouses. The proportion of non-germinating seeds in the nurseries ranged from 1.91% to 4.61%. Six fungal genera were isolated from the infected seedlings with different level of frequency. *Pythium* spp. was present in the highest percentage (38%), followed by *Fusarium* spp. (18%), *Rhizoctonia* spp. (13%), *Alternaria* spp. (12%), *Verticillium* spp. (12%) and *Phoma* spp. (7%). Eight isolates were subsidiary diagnosed as belonging to *Pythium* spp., four of them (P1, P2, P5 and P6) were of *P. aphanidermatum*, the two isolates P3 and P4 were of *P. ultimum* var. *ultimum* and the isolates P7 and P8 are from *P. paroecandrum*. The pathogenicity test showed that the P6 was the most virulent isolate (pathogenicity = 68.33%) and P4 was the least virulent one (pathogenicity = 38%). P4 had significant differences with P1, P2, P5 and P6 and non-significant differences with P3, P7 and P8 isolates.

Key words: Tomato, damping-off disease, *Pythium* spp., greenhouses, Syrian coast.

* **Ph.D. Student, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria**, **Research Assistant at NCBT (imadkhrieba@gmail.com).**
** **Assistant Professor, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia , Syria**.
*** **Professor, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria. Expert at NCBT.**
**** **Professor, Biotechnology Center at Tishreen University, Lattakia, Syria**.

مقدّمة:

تحتل البندورة مركزاً هاماً بين محاصيل الخضار في جميع أنحاء العالم، وذلك لما تتسم به من قيمة غذائية عالية . وتحتل زراعتها في البيوت المحمية مركزاً مهماً في القطاع الزراعي للمنطقة الساحلية، وقد ازدادت المساحة المزروعة في سورية خلال السنوات الأخيرة نظراً للطلب المتزايد عليها، ولإمكان تصديرها إلى الدول المجاورة .ازداد عدد البيوت المحمية في سورية من 56431 بيت عام 2002 إلى 88787 بيتاً عام 2011 (المجموعة الإحصائية الزراعية, 2011) . تتعرض زراعة البندورة في البيوت المحمية للإصابة بكثير من الأمراض المنقولة بالتربة ومن أكثرها أهميةً وانتشاراً مرض سقوط البادرات الذي يؤدي إلى ضعف النباتات أو موتها مسبباً خسائر كبيرة في الإنتاج كماً ونوعاً، وقد تمّ رصده في المناطق التقليدية لزراعة البندورة في سورية عام 1974 (الشعبي وآخرون, 2007) . يشكلّ مرض سقوط البادرات أحد المشاكل الأساسية لمحصول البندورة في البيوت المحمية، وتختلف الخسائر الناتجة عن المرض باختلاف المسبب وخواص التربة الفيزيائية والكيميائية ودرجة حرارتها . ينجم المرض عن عدد من الفطور تتصدرها الفطور التابعة للجنس *Pythium* spp. (Agrios, 2005; Steven *et al.*, 2005)، التي تشكل أكثر من 200 نوعاً (Abdelghani *et al.*, 2004). إن بعض أنواع هذا الجنس ممرضة للنبات وتصيب العديد من المحاصيل الزراعية المهمة في البيوت المحمية حول العالم وتوجد مجموعة أخرى من الأنواع تتميّز بأنها ممرضات ضعيفة وبعضها الثالث غير ضارة بل مفيدة بفعل قدرته على مهاجمة بعض الطفيليات .(Hayden *et al.*, 2013) كما تتباين القدرة الإمراضية للفطر ما بين عزلات النوع نفسه .(Al-Sheikh and Abdelzaher, 2012) تهاجم فطور *Pythium* spp شتول البندورة في مراحل نموها المبكرة وتسبب عدة أمراض منها عفن البذور، موت البادرات المفاجئ قبل وبعد الانبثاق وعفن الساق .يتكاثر هذا الفطر تكاثراً لا جنسياً بتشكيل الأكياس البوغية (Sporangia) ، كما يتكاثر جنسياً بإنتاج الأبواغ البيضية(Oospores) ، (Agrios, 2005; ..Kucharek and Mitchell, 2000; Sanchez and Gallego, 2005) . تتراوح أعراض الإصابة بين تعفن البذور وعدم إنباتها إلى سقوط الشتول وموتها؛ إذ يظهر على الساق قرب سطح التربة بقعاً مائية تتسع وتسبب تلفاً للخلايا وتتلون باللون البني، ويظهر عليها اختناقاً جانبياً يؤدي إلى انحناء البادرة وسقوطها لأن الساق لا تقوى على حملها (Agrios, 2005). استخدمت مفاتيح التصنيف المعتمدة على الصفات المورفولوجية كمواصفات المستعمرة الفطرية والصفات المورفولوجية للأكياس البوغية وأبواغ وأعضاء التكاثر، لتحديد أنواع الجنس *Pythium* spp. (Plaats-Niterink, 1981; ..Waterhouse, 1968; ..Middleton, 1943).

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لأهمية محصول البندورة المحمية من النواحي الاقتصادية والاجتماعية وقلة الدراسات المتعلقة بمرض سقوط البادرات بشكل عام، وزيادة شكاوى المزارعين منه وما يسببه من خسائر كبيرة، وبهدف المساهمة في تسليط الضوء على مسببات المرض وتعريفها .جاءت هذه الدراسة لتحقيق الأهداف الآتية:

- الحصول على عزلات عديدة من فطور الجنس *Pythium* spp. المسبب لمرض سقوط البادرات في البيوت المحمية في منطقة الساحل السوري .

• تشخيص العزلات وتعريف الأنواع التابعة لها اعتماداً على المفاتيح التصنيفية المعتمدة على المواصفات المورفولوجية و على دراسة القدرة الإمراضية للعزلات المختلفة.

طرائق البحث ومواده :

1 .جمع العيّنات:

جمعت 60 عيّنة من 15 بيتاً من البيوت المحمية المختارة من أربع مناطق في الساحل السوري هي الزهيريات ورأس العين (تابعتان لمحافظة اللاذقية) وحريصون ومجدلون البحر (تابعتان لمحافظة طرطوس)، و 20عيّنة من ثماني مشاتل بمعدل مشتلين من كلّ منطقة، وذلك خلال الموسم .2012 وضعت العيّنات المصابة في أكياس من البولي اتيلين، ووضع داخل كلّ منها بطاقة كتب عليها المعلومات اللازمة وحفظت لأجل عمليات العزل اللاحقة .

2.حساب نسبة الإصابة:

تمّ حساب نسبة البذور غير النابتة بسبب الإصابة الفطرية بالمشاتل، ونسبة البادرات المصابة بالمشاتل والبيوت المحمية، وأجريت الحسابات بحسب المعادلات الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100.$$

$$\text{النسبة المئوية للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلي}} \times 100.$$

$$\text{النسبة المئوية لتعفن البذور وموت البادرات قبل البزوغ (البذور غير النابتة)} = \frac{\text{عدد البذور المزروعة} - \text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور المزروعة}} \times 100.$$

(زغير وآخرون، 2010).

3.عزل الفطور المصاحبة للبادرات المصابة:

تمّ تقطيع سويقة البادرة المصابة إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5 سم تقريباً، ثم وضعت في محلول هيبوكلوريت الصوديوم التجاري بتركيز 10% لمدة 5 –3 دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم ثلاث مرات، بعد ذلك وضعت على أوراق ترشيح لتجفّ، ثم زرعت بمعدل أربع مقاطع ساقية في كلّ طبق على وسط الخضار Vegetable Juice Agar (V8) المعقم والمضاف إليه المضاد الحيوي Ampicillin (250مغ / لتر). تمّ التحضين على درجة حرارة 2±25 س °في الظلام لمدة أسبوع.(Ho *et al.*, 2012)

4. تردد الأجناس الفطرية المعزولة:

تمّ حساب معدل تردد الفطور المعزولة من البادرات المصابة بحسب القانون الآتي :

$$\text{التردد\%} = \frac{\text{عدد عزلات الجنس}}{\text{عدد العزلات الكلية}} \times 100$$

وقد تمّ تمييز الفطور المعزولة وتعريفها بالاعتماد على مواصفات المستعمرات من حيث الشكل واللون وعلى السمات المظهرية للوحدات التكاثرية) الأبواغ (Teymoori *et al.*, 2012).

5 . تشخيص أنواع الجنس:.*Pythium* spp

تمّت تنقية العزلات الفطرية بزرع رؤوس الهيفات على وسط آغار طحين الذرة CMA (Corn Meal Agar) ثم أخذت القياسات البيومترية باستخدام المجهر الضوئي (تكبير40×) ، وتمّ تسجيل المواصفات لكلّ عزلة من حيث لون المستعمرة وشكلها وطريقة النمو) منتظمة أو غير منتظمة (وصفات المشيجة وقطر الهيفا وشكل الكيس البوغي وقطره وشكل البوغ البيضي وقطرها والعضو الجاميطي المؤنث والعضو الجاميطي المذكر ومعدّل النمو اليومي للمستعمرة.(Teymoori *et al*., 2012; Plaats-Niterink, 1981))

6. اللقاح الفطري:

تمّ أخذ 100 غرام من بذور الدخن، وإضافتها إلى 200 مل ماء، وضعت في زجاجات حجمها1 لتر، تمّ تعقيمها في الاتوكلاف لمدة 30 دقيقة، على درجة حرارة 120 س°، أضيف الفطر بوضع قطعة من الآغار بقطر5 مم من مستعمرة فطرية لكلّ عزلة بعمر 10أيام، وذلك بعد تنمية العزلات الثمانية على وسط الخضار V8. وحضنت الزجاجات لمدة أسبوعين على درجة حرارة 2±25س °في الظلام.(Teymoori *et al*., 2012)

7 . اختبار القدرة الإمراضية:

تمّ اختبار القدرة الإمراضية للعزلات الثماني التابعة للجنس*Pythium* spp. ، باستخدام صواني الاستنبات المقسمة إلى عيون بقياس 4سم 4 ×سم، وعدد العيون الإجمالي 200 عيّناً في الصينية ؛ إذ تمّ تعبئة العيون بالتورب المعقم وترطيبه بالماء، وإجراء العدوى بإضافة اللقاح إلى التورب في صواني الاستنبات بنسبة (1:10)حجم /حجم، بوجود 4مكررات لكلّ عزلة، وكلّ مكرر يتضمن 5نباتات .بعد 3أيام من إجراء العدوى بالفطر، تمت زراعة بذور البندورة بمعدل بذرة في كل عين (بذور البندورة هي الهجين هدى، وهو من أكثر الهجن المزروعة في البيوت المحمية في الساحل السوري)، غطيت الصواني ببلاستيك شفاف للحفاظ على رطوبة الوسط في ظروف المختبر .(Al-Sheikh and Abdelzaher, 2012)

تم تقييم درجة الإصابة بعد 20 يوماً من الزراعة وفق السلم الرباعي التالي:

1 = لا توجد عوارض.

2 = عوارض ذبول ضعيفة بدون سقوط بادرات.

3 = سقوط البادرات بعد انبثاقها فوق سطح التربة.

4 = سقوط البادرات قبل انبثاقها فوق سطح التربة

تم حساب شدة الإصابة في التجربة باستخدام المعادلة التالية:

$$R= \Sigma(a\times b)\times 100/N\times K$$

حيث R = شدة المرض (%)، a = درجة الإصابة وفقا لسلم التقييم، b = عدد النباتات المصابة بهذه الدرجة في كل مكرر / معاملة، N = عدد النباتات الكلي، K = قيمة سلم التقييم العظمى وتساوي 4 (Matheron and Mircetich, 1985).

8. التحليل الإحصائي:

نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة. تم تحليل التجربة إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي CO-STAT، وتم مقارنة المتوسطات بحساب اقل فرق معنوي LSD عند الدرجة 5%.

النتائج والمناقشة:

1: الدراسة المسحية في البيوت المحمية والمشاتل:

1.1: النسبة المئوية للإصابة بمرض سقوط البادرات في البيوت المحمية:

بينت نتائج المسح (جدول1)، إن أعلى نسبة إصابة لسقوط البادرات في البيوت المحمية كانت 10.28% في طرطوس (مجدلون البحر)، وأدنى نسبة إصابة كانت في اللاذقية (رأس العين) 1.74%. يعزى ارتفاع نسب الإصابة في البيوت المحمية إلى وجود مسبب المرض في تربة البيوت، وعدم قدرة المزارع على تعقيم تربة البيت البلاستيكي بسبب ارتفاع أسعار مواد التعقيم، وإلى عدم انتشار طريقة بسترة التربة بالتشميس.

الجدول (1): النسبة المئوية للإصابة بمرض سقوط البادرات في البيوت المحمية في محافظتي اللاذقية وطرطوس.

المحافظة	المنطقة	الموقع	هجن البندورة المزروعة	عدد نباتات العينة	عدد النباتات المصابة	نسبة الإصابة %	متوسط نسبة الإصابة%
اللاذقية	جبلة- الزهيريات	الأول	هدى	2445	184	7.52	7.51
		الثاني	هدى	980	65	6.63	
		الثالث	أستونا	1035	87	8.40	
	رأس العين	الأول	هدى	876	45	5.13	5.35
		الثاني	بستونا	896	65	7.25	
		الثالث	هدى	759	49	6.45	
		الرابع	شانون	875	54	6.17	
		الخامس	شانون	976	17	1.74	
طرطوس	حريصون	الأول	ميموري	715	61	8.53	7.13
		الثاني	اكسيوم	764	48	6.28	
		الثالث	اكسيوم	805	46	5.71	
		الرابع	سيدرا	839	67	7.98	
	مجدلون البحر	الأول	بستونا	970	73	7.52	7.99
		الثاني	ميموري	987	61	6.18	
		الثالث	هدى	768	79	10.28	

2.1. النسبة المئوية لإصابة البذور في المشاتل:

تتمثل إصابة البذور بالفطور في المشاتل بعدم إنباتها، وقد أظهرت نتائج المسح تبايناً واضحاً بنسبة البذور غير النابتة ما بين المواقع المدروسة (جدول 2)، حيث بلغت أعلى نسبة للبذور غير النابتة 4.61% في طرطوس(مجدلون البحر)، وأدنى نسبة لها 1.91% في اللاذقية (جبلة – الزهيريات). يعزى انخفاض نسبة إصابة البذور في المشاتل إلى كون أغلب المشاتل تستخدم البذور الهجين وهي تكون عادة معالجة بمبيدات فطرية مثبطة للكائنات الممرضة.

3.1. النسبة المئوية لإصابة البادرات في المشاتل:

أظهرت نتائج المسح الذي أجري في المشاتل تبايناً واضحاً بنسبة إصابة البادرات بالفطور ما بين المواقع المدروسة (الجدول2)، حيث وجدت أعلى نسبة إصابة بمرض سقوط البادرات ضمن المشاتل في طرطوس–حريصون (1.47%)، وأدنى نسبة في طرطوس – مجدولون البحر (0.5%)، ويعزى انخفاض نسبة إصابة البادرات في المشاتل إلى كون أغلب المشاتل تستخدم التورب المعقم الخالي من الممرضات، ولاستخدام مبيدات كيميائية متخصصة ضد أمراض الشتول.

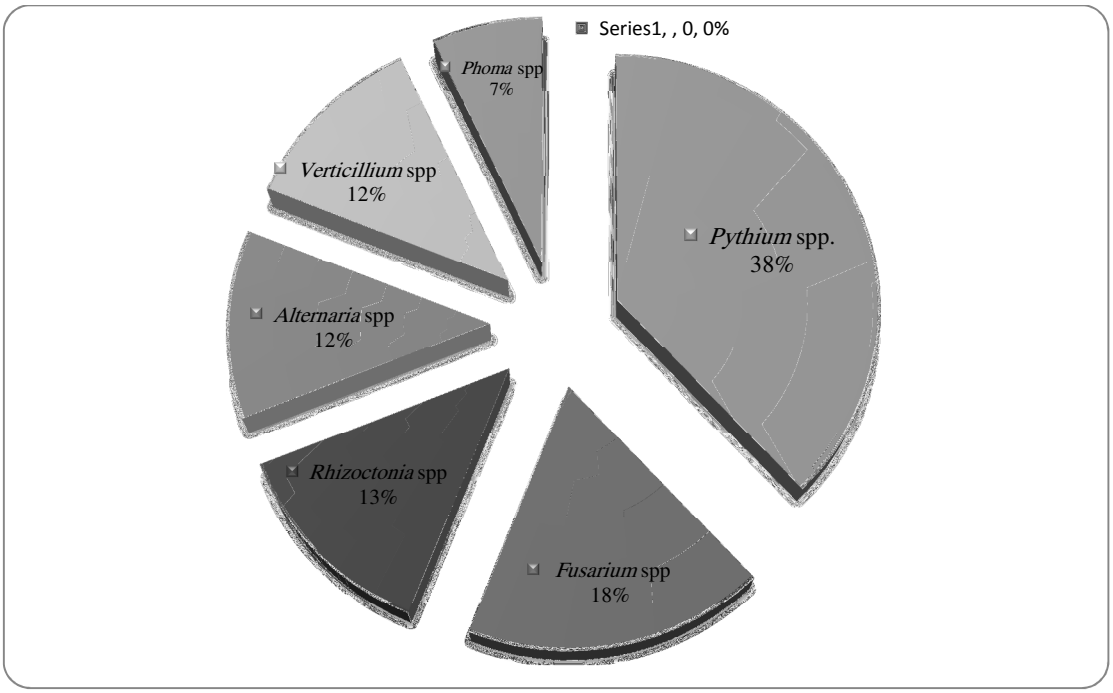
الجدول(2). نسبة الإصابة بمرض سقوط البادرات ونسبة إنبات البذور في المشاتل في محافظتي اللاذقية وطرطوس.

المحافظة	المنطقة	الموقع	عدد البذور المزروعة	عدد النباتات المصابة	نسبة الإصابة %	متوسط نسبة الإصابة%	عدد البذور غير النابتة	البذور غير النابتة %	متوسط نسبة البذور غير النابتة%
اللاذقية	جبلة– الزهيريات	مشتل 1	3300	23	0.7	0.7	105	3.18	2.5
		مشتل2	3960	31	0.7		76	1.91	
	رأس العين	مشتل 1	2220	16	0.74	0.7	86	3.87	3.1
		مشتل2	5280	38	0.73		124	2.34	
طرطوس	حريصون	مشتل 1	3740	41	1.14	1.3	156	4.17	4.3
		مشتل2	4620	65	1.47		205	4.43	
	مجدولون البحر	مشتل 1	4180	23	0.57	0.6	193	4.61	3.8
		مشتل2	2420	18	0.7		74	3.05	

2.عزل الأجناس الفطرية وتقدير نسبة ترددها:

تم التعرف على ستة أجناس فطرية مصاحبة للبادرات المصابة ومتباينة بنسبة ترددها، تميزت أنواع جنس الفطر .*Pythium* spp بترددها بأكبر نسبة مئوية (38%) في حين ترددت فطور .*Phoma* spp بأقل نسبة (7%)، (شكل1)، وهذه النتائج تتطابق مع نتائج دراسة أجريت على محصول البندورة وتم الحصول على عدة فطور عزلت من

سيقان وجذور النبات، وتبين إن فطور الجنس .*Pythium* sp قد وجدت بأعلى نسبة (31%) بين الأجناس التي تم التعرف عليها ومن ثم أتى الفطر *F. solani* في المرتبة الثانية بنسبة تردد وصلت حتى 24%، وظهور فطور عديدة خلال العزل إلا أنها أهملت لقلة ترددها (زغير وآخرون، 2010).



الشكل (1): النسب المئوية لتردد الأجناس الفطرية المعزولة.

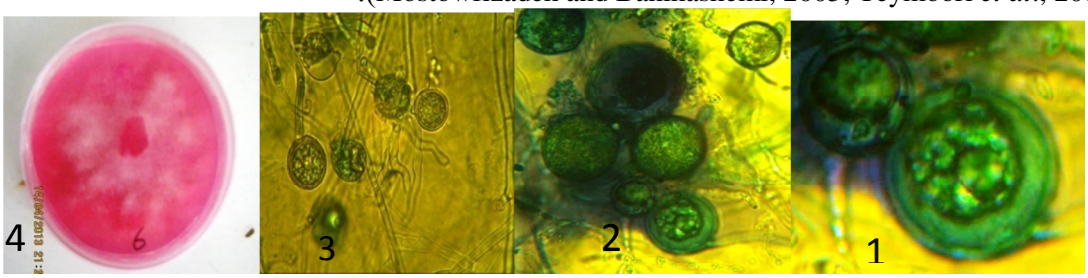
3. التوصيف الشكلي (المورفولوجي) لفطور .*Pythium* spp:

اعتماداً على الصفات التي ميزت مجموعة الفطور البيضية Oomycetes وصفات رتبة Perenosporales وصفات فصيلة Pythiaceae بالإضافة إلى المفاتيح التصنيفية التي ذكرها Plaats-Niterink (1981) والتي ميز بها أنواع الجنس *Pythium*. كالصفات المورفولوجية للأعضاء الجنسية واللاجنسية، ومواصفات المستعمرة الفطرية، ومعدل نمو المستعمرة اليومي والقياسات البيومترية، تم تمييز ثمان عزلات فطرية تابعة للجنس *Pythium* سميت هذه العزلات P1,P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8 كما تم تعريفها ضمن 3 أنواع هم:,*P. aphanidermatum* (P1, P2, P4, P5) ،*P. ultimum var. ultimum* (P3, P4) ،*P. paroecandrum*(P7, P8).

1.3. خصائص عزلات النوع: *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzp

لقد زرعت عزلات *P. aphanidermatum* على وسط CMA وأعطت مستعمرات فطرية تميزت بكونها بيضاء اللون ذات مظهر قطني غير منتظمة الحافة. المشيجة فيها غير مقسمة، وهي متفرعة ذات جدر شفافة دقيقة. تجاوز قطر الهيفا 10 ميكرومتر. تميز الكيس البوغي بشكله البيضوي، بقطر تراوح بين 34 و37 ميكرومتر، بمتوسط 35.7 ميكرومتر. كان البوغ البيضي محاط بجدار مزدوج، ولا يملأ العضو المؤنث، كروي الشكل قطره 18- 24 ميكرومتر بمتوسط قدره 21.3 ميكرومتر (شكل2). كان معدل النمو اليومي على وسط الزراعة المستخدم (CMA) هو 26 مم عند درجة الحرارة 25±2 س°. تمثل هذا النوع بأربع عزلات P6, P5, P2 ,P1 وقد تماثلت صفاتها

المورفولوجية مع الصفات المرجعية للفطر *P. aphanidermatum* (Al-Sheikh and Abdelzaher, 2012; Mostowfizadeh and Banihashemi, 2005; Teymoori *et al*., 2012).



الشكل (2): المواصفات المورفولوجية للنوع *P. aphanidermatum*: (1) مستعمرة الفطر على وسط CMA، (2) مشيجة الفطر وأكياس بوغية، (3) العضو الجاميطي المؤنث و البوغ البيضي (4) البوغ البيضي المحاط بجدار مزدوج، (تكبير 40X)

2.3. خصائص عزلات النوع: *P. ultimum var. ultimum* Trow

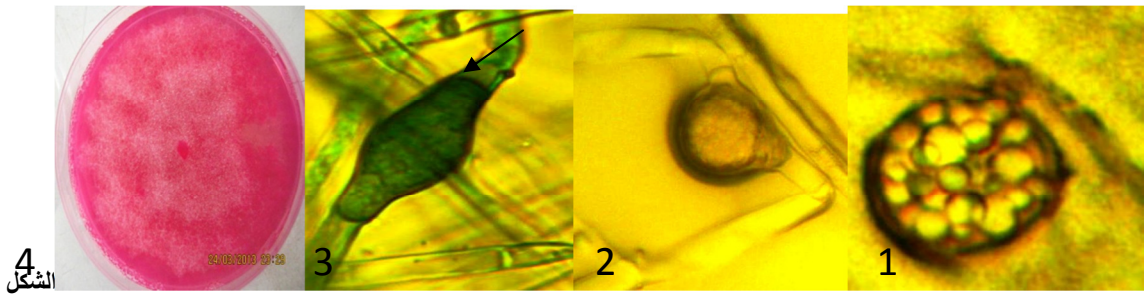
ظهرت المستعمرات الفطرية على وسط CMA بيضاء اللون ذات نمو منتظم، كثيفة قطنية سطحية النمو. لم يلاحظ وجود أبواغ هدبية وأكياس بوغية، يمكن أن يصل قطر الهيفا إلى 8 ميكرومتر. يوجد في نهاية الميسيليوم جزء منتفخ يمثل العضو الجاميطي المؤنث، وهو كروي الشكل يكون إما في نهاية الهيفا أو في وسطها وله في بعض الأحيان حلمة طرفية، يتراوح قطره بين 15– 27.5 ميكرومتر، بمتوسط قدره 22.67 ميكرومتر. يملأ البوغ البيضي العضو المؤنث بشكل كامل (شكل3). كان معدل النمو اليومي على الوسط المستخدم 4 سم، وتمثل هذا النوع بالعزلتين P4 وP3. لم تظهر الصفات المورفولوجية لهذه العزلات اختلافات رئيسة عند مقارنتها مع مواصفات النوع *P. ultimum var. ultimum* في دراسات مرجعية سابقة (Al-Sheikh and Abdelzaher, 2010; Lodhi et al., 2005; Plaats-Niterink, 1981; Teymoori et al, 2012).

الشكل (3): المواصفات المورفولوجية للنوع *P. ultimum* var. *ultimum*: (1) مستعمرة الفطر على وسط CMA، (2) العضو الجاميطي المؤنث في طرف المشيجة وله حلمة، (3) التقاء العضو الجاميطي المذكر والمؤنث(3a). (4) العضو الجاميطي المذكر والمؤنث. (تكبير×40).

3.3. خصائص عزلات النوع: *P. paroecandrum* Drechsler

عند زراعة العزلات على وسط CMA ظهرت المستعمرات الفطرية بيضاء اللون، ذات نمو قطني غير منتظم، تميز الكيس البوغي بشكل كروي إلى بيضوي متوضع في نهاية الهيفا أو في وسطها، قطره 12– 33 ميكرومتر، بمتوسط قدره 23.46 ميكرومتر. كان العضو الجاميطي المؤنث كروي له شكل برميلي في بعض الأحيان (شكل4)، قطره 17–24 ميكرومتر، بمتوسط قدره 20.53 ميكرومتر. البوغ البيضي قطره 15– 23 ميكرومتر بمتوسط 18.46

ميكرومتر، وسماكة جدار الكيس البوغي 1.5 ميكرومتر، كان معدل النمو الفطري اليومي 18 مم، تمثل هذا النوع بالعزلتين P8, P7. لقد تشابهت المواصفات التي لوحظت عند عزلات هذا النوع مع مواصفات نفس النوع في دراسات مرجعية سابقة (Abdelghani *et al*. 2004; Plaats-Niterink, 1981).

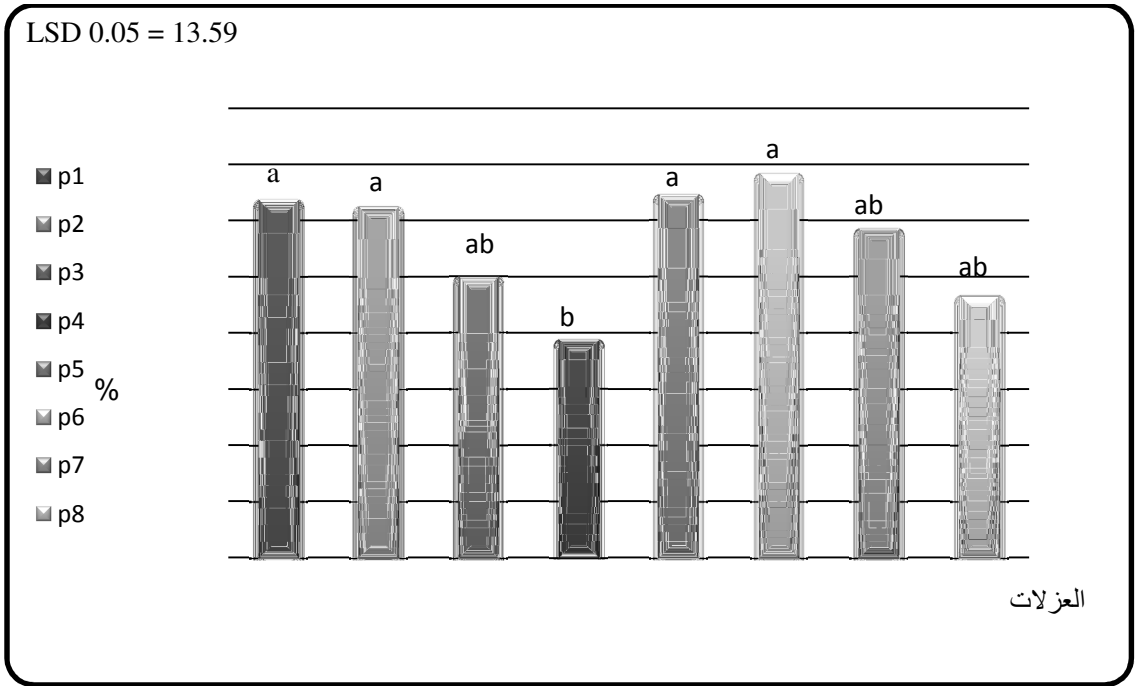


الشكل

(4): المواصفات المورفولوجية للنوع *P. paroecandrum* المنبت على بيئة (1) مستعمرة الفطر على وسط CMA (2) العضو الجاميطي المؤنث متطاول برميلي الشكل، (3) التقاء العضو الجاميطي المؤنث والمذكر، (4) العضو المؤنث الذي يحوي عدداً كبيراً من الأبواغ البيضية. (تكبير 40X)

4. اختبار القدرة الإمراضية:

أجريت العدوى الاصطناعية لبذور وبادرات البندورة بفطور الجنس *Pythium* spp. وأظهرت النتائج بأن هذا الفطر قادراً على إحداث الإصابة الشديدة للبذور و البادرات. كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لاختبار القدرة الإمراضية (شكل5) وجود فروقات معنوية بين العزلات المختلفة في تأثيرها على إنبات بذور ونمو بادرات البندورة، حيث أحدثت العزلة P6 والممثلة للنوع *P. aphanidermatum* شدة إمراضية وصلت إلى 68,33%، وكانت من أكثر العزلات شراسة حسب درجات سلم الإصابة، وتفوقت معنوياً على العزلة P4 الممثلة للنوع *P. ultimum* var. *ultimum* والتي بلغت شدتها الإمراضية 38%. أما على مستوى البادرات فقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي تبايناً بين العزلات المختلفة بتأثيرها على بادرات البندورة، حيث تراوحت شدة الإصابة بالمرض ما بين 46.6% في العزلة P8 و 64.5% في العزلة P5، ولم يلاحظ وجود أية فروقات معنوية بين العزلة P4 والعزلات P3 وP7 وP8 في حين أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية للعزلة P4 مع العزلات P1 وP2 وP5 وP6 بتأثيرها على بادرات البندورة، وهذا يتفق مع دراسات مرجعية سابقة تناولت دراسة القدرة الأمراضية للنوع *P. aphanidermatum* (Al-Sheikh and Abdelzaher, 2012). حيث أن *P. aphanidermatum* يعتبر النوع الأكثر انتشاراً وشراسة.



الشكل (5): مخطط بياني للشدة الأمراضية لعزلات أنواع الجنس *Pythium* spp. الثمانية على بادرات صنف البندورة هدى.

الاستنتاجات والتوصيات:

اعتمادا على القراءات والنتائج التي تم الحصول عليها يمكن استنتاج التالي:

-ينتشر مرض سقوط بادرات البندورة ضمن المشاتل والبيوت المحمية في المنطقة الساحلية، وقد اختلفت نسبة الإصابة مابين المشاتل حيث تراوحت من 0.57% الى1.47% و في البيوت المحمية من 1.74% إلى 10.2%، وتراوحت نسبة البذور غير النابتة في المشاتل من 1.91-4.61%.

-بينت نتائج العزل الفطري وجود ستة أجناس فطرية مصاحبة للبادرات المصابة، كان أعلاها نسبة ي فطور الجنس *Pythium* spp. (38%) تلتها فطور *Fusarium* sp. (18%) من ثم فطور الجنس *Rhizoctonia* sp. (13%) ثم كل من الفطور *Alternaria* spp. (12%) و*Verticillium* spp. (12%) وأخيرا فطور الجنس *Phoma* spp. بنسبة (7%).

-تم توصيف وتصنيف ثمان عزلات فطرية تابعة للجنس*Pythium*. وفقاً لصفاتها المورفولوجية والمجهرية

-تم تعريف 3 أنواع من الفطر *Pythium* spp. هي: *P. aphanidermatum*، *P. ultimum* var. *ultimum P. paroecandrum*.

-أشار اختبار القدرة الإمراضية إلى إن العزلة P6 التابعة *P. aphanidermatum* هي الأكثر شراسة، بشدة إمراضية بلغت 68.33% وأقلها العزلة P4 بنسبة 38%.مما سبق يمكن اقتراح متابعة العمل على العزلات الثمان المشخصة مورفولوجياً وتأكيد توصيفها. من خلال التحاليل الجزيئية باستخدام البادئات المتخصصة التي تسمح بتمييز كافة فطور الجنس *Pythium* كما تسمح بالتفريق وبدقة بين أنواع الجنس المختلفة.

المراجع:

1- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2011. مديرية الإحصاء الزراعي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.

2- الشعبي، صلاح؛ ملوحي، جورج؛ مطرود، لينا. *مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة. Rhizoctonia Solani باستخدام الفطر Tirchoderma koningi والمبيدين فلوتولانيل وتولكلوفوس ميتيل*. مجلة وقاية النبات العربية، مجلد25 ،2007، العدد1، 15-27.

3- زغير، فاضل سامي؛ عبيس، عبد علي عبيد؛ رشيد. *تقدير نسبة الإصابة بمرض تعفن بذور الطماطم وموت بادراتها لبعض مزارع كربلاء الصحراوية وإمكانية مكافحتها كيميائياً*. مجلة الفرات للعلوم الزراعية، مجلد2، 2010، العدد1، 104- 114.

4- ABDELGHANI, E.Y.; BALA, K.; PAUL, B. *Characterization of Pythium paroecandrum and its antagonism towards Botrytis cinerea, the causative agent of grey mould disease of grape*. FEMS Microbiology Letters. Vol. 230, 2004, 177-183.

5- AGRIOS, G.N., *Plant Pathology*, Elsevier Academic Press, 2005, 948.

6- AL-SHEIKH, H.; ABDELZAHER, H. M.A., *Differentiation Between Two Isolates of Pythium ultimum var. ultimum Isolated from Diseased Plants in Two Different Continents.* Journal of Biological Sciences. Vol. 10, 2010, 306-315.

7- AL-SHEIKH, H.; ABDELZAHER, H. M.A., *Materials for Pythium Flora of Saudi Arabia (I) Occurrence, Pathogenicity and Physiology of Reproduction of Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzp. Isolated from North and East Regions of Saudi Arabia*. Research Journal of Microbiology. Vol. 7, 2012, 82-100.

8- HAYDEN, K, J., HARDY, G, E.ST.J AND GARBELOTTO, M., *Oomycete Diseases*, CAB International, Gonthier_Ch25.indd, 2013, 518-545.

9- Ho, H.H.; Chen, X.X.; Zeng, H.C.; Zheng, F.C., *The occurrence and distribution of Pythium species on Hainan Island of South China.* Botanical Studies. Vol. 53, 2012, 525-534.

10- KUCHAREK, T.; MITCHELL, D., *Diseases of agronomic and vegetable crops caused by Pythium. Plant Pathology Fact Sheet*, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricutural Service, University of Florida, USA, 2000, 53.

11- LODHI, A. M.; QAYOOM, A.; SHAHZAD, S.; GHAFFAR, A., *Pythium ultimum var. ultimum .A new record from Pakistan*. Pak. J. Bot. Vol. 37, 2005, 779-782.

12- MATHERON, M.E.; MIRCETICH, S.M., *Influence of flooding duration on development of Phytophthora root and crown rot of Juglans hindsii and `Paradox' walnut rootstocks.* Phytopathology. Vol. 75, 1985, 973-976.

13- MIDDLETON, J.T., *The taxonomy, host range and geographic distribution of the genus Pythium*. Memories Torrey Bot. Club. Vol. 20, 1943, 1-171.

14- MOSTOWFIZADEH-GHALAMFARSA, R.; BANIHASHEMI, Z., *Identification of soil Pythium species in Fars Province Of Iran*. Iranian Journal of Science & Technology, 29, 2005, 79-89

15- PLAATS-NITERINK A.J., *Monograph of the genus Pythium.* Studies in Mycology. Vol. 21, 1981,1-242

16- SANCHEZ, J.; GALLEGO, E., *Pythium sp. present in irrigation water in the Poniente region of Almeria (south-eastern Spain).* Mycopathologia. Vol. 150, 2005, 29-38.

17- STEVEN, J.; SCHEUERELL, D. M.S.; WALTER F.M., *Suppression of Seedling Damping-Off Caused by Pythium ultimum, P. irregulare, and Rhizoctonia solani in Container Media Amended with a Diverse Range of Pacific Northwest Compost Sources*. Phytopathology. Vol. 5, 2005, 306-315

18- TEYMOORI, S.; SHAHRI, M. H.; RAHNAMA, K.; AFZALI, H., *dentification and Pathogenicity of Pythium Species on Cantaloupe in Khorasan Razavi Province of IRAN*. J. Crop Prot. Vol. 1, 2012, 239-247

19- WATERHOUSE, G.M., *The genus Pythium pringsheim.* Mycological Papers. 1968, Vol. 110, 1-50.