مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (30) العدد (2) 2008
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (30) No. (2) 2008

دراسة الصّفات المظهريّة المميّزة والقدرة الإمراضيّة لعزلات من الفطر *Ascochyta fabae* Speg.، الكائن المسبّب لمرض لفحة أسكوكيتا الفول، مجموعة من محافظات سوريّة مختلفة.

علي صبيح*
الدكتور بسام بياعة**
الدكتور ماثيو أبانغ***
الدكتور محمود حسن****
الدكتورة وطفة الابراهيم*****

(تاريخ الإيداع 23 / 10 / 2007. قبل للنشر في 2008/3/26)

□ الملخّص □

درست الصفات المظهرية المميزة لعزلات الفطر *Ascochyta fabae* مجموعة من محافظات سورية مختلفة (حلب، إدلب، حماه، درعا، اللاذقية، طرطوس). أظهرت النتائج وجود اختلافات كبيرة ما بين العزلات من حيث لون المستعمرة، طبيعة الميسليوم، معدل التبوغ، قطر المستعمرة ومعدل النمو. ووجدت اختلافات ما بين المكررات التابعة للعزلة ذاتها وصلت إلى 18%. ولم يكن بالإمكان تصنيف العزلات في مجموعات متجانسة تبعاً للأصل الجغرافي أو العضو النباتي الذي أخذت منه. وأظهرت دراسة الأنماط المرضّية (Pathotypes)، باستخدام سبعة أصناف تفريقية، لـ 40 عزلة بينها ثلاثون كانت قد جمعت من حقل واحد في محافظة إدلب، وعشرعزلات من محافظات سورية أخرى، وبينت الدراسة وجود ثمانية أنماط مرضية من بينها ستة أمكن تمييزها من حقل واحد. ولم يظهر التحليل العنقودي وجود ارتباط بين العزلات التابعة للنمط المرضي ذاته من حيث صفاتها المورفولوجّية.

الكلمات المفتاحية: لفحة أسكوكيتا الفول– *Ascochyta fabae*– الفول– صفات مورفولوجية مميّزة– قدرة إمراضية– سورية.

* **طالب دراسات عليا (ماجستير)– قسم وقاية النبات –كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.**
** **أستاذ – كلية الزراعة–جامعة حلب.**
*** **باحث – المركز الدولي للبحوث العلمية الزراعية في المناطق الجافة.**
**** **أستاذ – كلية الزراعة– جامعة تشرين.**
***** **باحثة – مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية– اللاذقية– سورية.**

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (30) العدد (2) 2008
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (30) No. (2) 2008

A Morphological and Pathogenic Study of *Ascochyta fabae* Speg. Isolates collected from different Syrian Governorates.

Ali Sbeih*
Dr. Bassam bayaa **
Dr. Mathew Abang***
Dr. Mahmoud Hassan ****
Dr. Watfa Ibrahim *****

(Received 23 / 10 / 2007. Accepted 26/3/2008)

□ ABSTRACT □

A Morphological characterization is carried out on Syrian isolates of *Ascochyta fabae* collected from different Syrian governorates (Aleppo, Idleb, Hama, Lattakia, Tartous). Results reveal differences between isolates in colony color, mycelium texture, sporulation, colony diameter, and growth rate. 18% of single spore isolates show differences in replicates. It is not possible to classify isolates according to their geographical origin or the part collected from it. The patho-types of 30 isolates, taken from the same field (in Idleb), and 10 others taken from different Syrian governorates reveal the presence of 8 pathotypes, 6 of which are from one field. According to cluster analysis results, no correlation could be traced between isolates belonging to the same pathotype and their morphological properties.

Keywords: Ascochyta blight, *Ascochyta fabae*, *Vicia faba*, morphological characteristics, pathogenicity. Syria

***Post graduate student, Department of Plant Protection, Faculty , Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria**
****Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Aleppo University, Aleppo.Syria**
***** Researcher, ICARDA. Aleppo.Syria**
******Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia. Syria.**
*******Researcher, Agriculture scientific research center , Lattakia. Lattakia, Syria.**

المقدّمة:

تعدّ لفحة الأسكوكيتا، التي يحدثها الفطر *Ascochyta fabae* ، من الأمراض الفطرية المهمة التي تصيب الفول، والأكثر ضرراً له، حيث يمكن أن تصل الخسائر في الغلّة إلى 90% عند زراعة صنف فول حسّاس في ظروف بيئية مناسبة لتطوّر المرض (Hanounik, 1980). والمرض مسجّل على الفول في كافّة مناطق زراعته في العالم، وقد يعزا ذلك أساساً لانتشار الكائن المسبب عن طريق البذور (Gaunt, 1983).

تشير الدراسات السابقة إلى وجود عديد من الأنماط الحيوية (Biotypes) عند الفطر *A. fabae* مع وجود اختلافات في الصفات المزرعية، مثل معدّل نمو الميسليوم، معدل التبوغ، وأبعاد الأبواغ الكونيدية، بالإضافة إلى التنوّع الكبير في القدرة الإمراضية (Kharbanda and Bernier, 1980; Kohpina *et al*., 1999). على أنه لم يتوافر حتّى الآن دليل قاطع يشير إلى وجود علاقة ما بين الصفات المظهرية لعزلات الفطر *A. fabae* أو أيّ تأثير في شراستها على العائل (Kharbanda and Bernier, 1980; Ali, 1985). ونظراً لوجود الطور الجنسي للفطر، الذي سجّل حديثاً في سورية (Bayaa and Kabbabeh, 2000)، فإنّ من شأن ذلك الإسهام في زيادة التنّوع في مجتمع الفطر من حيث الصفات المظهرية المميّزة والشراسة، وهذا يجعل عمليّة الحصول على أصناف مقاومة عمليّة صعبة، رغم أنهّا وسيلة أكثر فعالية في مكافحة المرض وأكثر أماناً للبيئة.

أهداف البحث وأهميته:

يهدف البحث الحاليّ إلى دراسة الصفات المظهريّة والإمراضيّة لعزلات من الفطر *A. fabae* ، الكائن المسبب لمرض لفحة أسكوكيتا الفول، سورية المنشأ، وتحديد مدى وجود ارتباط ما بين الأنماط المرضية للفطر والصفات المظهرية. وللبحث أهمية أكاديمية من جهة، تتجلى في دراسة تنوّعات الفطر في سورية، وأهمية تطبيقية من جهة أخرى؛ نظراً لأهمية هذه الدراسة في برامج التربية التي تهدف إلى الحصول على أصناف مقاومة للمرض.

موادّ البحث وطرائقه:

1- المسح الحقلي:

جمعت في عام 2006 عيّنات من أجزاء نباتية مختلفة (قرون، أوراق، سوق) من الفول مصابة بمرض الأسكوكيتا، وذلك من بعض المحافظات السورية: حلب (إيكاردا)، إدلب (منطقة سراقب)، حماه (منطقة الغاب)، درعا، اللاذقية، طرطوس). وقد بلغ عدد العيّنات المجموعة 264 عّينة بينها 219 عينة من الأوراق و16 عّينة من السوق و29 عينة من القرون. جمعت العيّنات في جولات متعدّدة كانت نباتات الفول فيها في مراحل فينولوجية مختلفة بدءاً من مرحلة البادرات وحتّى مرحلة نضج القرون.

2- العزل والتنقية

2-1 تحضير العّينات للعزل

تمّ اختيار أجزاء من العينات وتطهيرها سطحياً باستخدام كلوروكس 10% (0.25% مادّة فعالة هيبوكلوريت الصوديوم) لمّدة خمس دقائق، ثمّ زرعت في أطباق بتري بقطر (90 مم). وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 20±2°س تحت ظروف إضاءة مستمرة

2-2المستنبت المستخدم في العزل

استخدم في مراحل الدراسة كافّة ، مستنبت مستخلص الفول– ديكستروز– آغار، الذي تمّ تجهيزه على النحو الآتي:

– سلق 200غ بذور فول من صنف حسّاس للأسكوكيتا (هو صنف Giza 4) في ليتر ماء ضمن دورق مخروطي.
– بعد تمام السلق (في المعقم عند 120° س لمدّة 20 دقيقة)، يصفى باستخدام مصفاة بلاستيكية للحصول على الراشح (المستخلص)
– يضاف 20 غ ديكستروز و18غ آغار ويكمل حجم الأخير إلى واحد ليتر.
– التعقيم عند 120° س لمدّة 20 دقيقة.
– يوزّع المستنبت السائل على أطباق بتري بواقع 20 مل/طبق.

ويترك المستنبت في الغرفة المعقمة (Laminar air flow)، لمدّة 24 ساعة حتّى يتصلّب، وتستبعد الأطباق الملوّثة، قبل استخدامها في العزل.

2–3تنقية العزلات وتسميتها وحفظها

تمّت تنقية العزلات باستخدام طريقة طرف الهيفا أولاً، ثمّ بطريقة البوغ الوحيد حسب(Kohpina *et al.*,1999) أعطيت العزلات رمزاً حسب المحافظة/المنطقة (سراقب (Sar)، الغاب (GH)، اللاذقية (Lat)، درعا (Dar)، طرطوس (Tar)؛ والمواقع التي جمعت منها (A, B, C, D) ضمن الحقل الواحد؛ والأعضاء النباتية (أوراق L، سوق S، قرون P) التي عزلت منها.

حفظت العزلات بوضع أقراص بقطر 5 مم، بوساطة ثاقبة فلين، مأخوذة من أطراف مستعمرة فطريّة نقية بعمر أسبوع واحد، في أنابيب بلاستيكية محكمة الإغلاق (سعة 2 مل) يحوي ثلثاها ماءً مقّطراً معقّماً، ثم تلّف الأنابيب وتوضع في المجّمدة على درجة حرارة (–30)°س لحين الاستخدام.

3–دراسة الصفات المظهريّة المميّزة للفطر

3–1– معدّل نموّ المستعمرة

تمّت زراعة كلّ عزلة في أطباق بتري بوضع قرص قطره 5 مم من مستعمرة حديثة النمّو للفطر ونقّية في مركز الطبق، والتحضين عند 20±2° س وتحت إضاءة مستمرّة. واستخدم لكلّ عزلة 5 مكّررات. وتمّ أخذ قياس قطر المستعمرات بالسنتيمتر مّرة كلّ يومين.

3–2– معدل التبوغ

درس معدل التبوغ بأخذ مساحة واحد سنتيمتر مربع/سم^2 من نمّوات الفطر في كلّ مكّرر من مستعمرة فطريّة بعمر 14 يوماً ووضعها في ليتر ماء، وطحنها في خّلاط كهربائي لمدّة دقيقة. جرى تقدير معدّل التبوغ باستخدام شريحة العدّ (Haemocytometer) من نوع Thoma بعدّ الأبواغ الكونيدّية في 1 مل من المعلّق. وقد تمّ اعتماد خمس مكرّرات للعزلة الواحدة.

3–3– المواصفات المورفولوجية للفطر

تم توصيف الشكل المظهري لكلّ عزلة من مستعمرات الفطر من حيث لون المستعمرة وطبيعة الميسليوم.

4–دراسة القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية:

تمّت زراعة سبعة أصناف تفريقية وفقاً لما اقترحه Kohpina ومساعدوه (Kohpina *et al.*,1999) (أنظر الجدول رقم 1)، من بينها أربعة أصناف تفريقية ((ILB 1820) Giza 4 ، ,BPL 818، BPL 471، و ILB 1814) كان حنونيك وروبرتسون (Hanounik and Robertson, 1989) قد استخدماها، كما استخدم المدخل BPL 230 كونه أبدى صفة المقاومة في تقويمات متتالية أجرتها ايكاردا، أمّا المدخلان الأخيران فهما ILB 463 شديد الحساسّية والصنف Ascot (صنف أسترالي عالي المقاومة). زرعت البذور في أصص بلاستيكية قطر كلّ منها 15 سم مملوءة بخلطة مؤلفّة من تراب– رمل بنسبة (2– 1)، وذلك في 28 تشرين الثاني/نوفمبر 2006 وتمّ ذلك بزراعة ثلاثة بذور في كل أصيص. واعتمدت ثلاث مكررات للتجربة التي اتّبع فيها تصميم القطع المنشقة. وضعت الأصص على طاولات من الألمنيوم في دفيئة بلاستيكية في إيكاردا عند 20±2° س. أعديت البادرات بعمر أسبوعين، برشها بمعلّق بوغي تركيزه 500.000 بوغ / مل من كلّ عزلة، حتّى الجريان. وبعد الرشّ، غطّيت النباتات المعاملة بأكياس من البلاستيك لمدة 72 ساعة وذلك لخلق رطوبة نسبية عالية ضرورية لحدوث الإصابة. تمّ أخذ القراءة الأولى، بعد 14 يوماً من الإعداء، باستخدام سلّم قياس شّدة المرض من1–9، حسب (Bernier *et al.*, 1984) حيث:

الدرجة1: لا يوجد بقع، أوهناك بقع صغيرة قطرها أقلّ من (0.5) مم. لا يوجد عليها تبوغ (نبات عالي المقاومة)؛ الدرجة3: ظهور قليل من البقع المنفصلة الصغيرة الغامقة على الأوراق. لا يوجد عليها تبوغ قطرها (1-2) مم، وقد تنتج في بعض الأحيان عن تفاعل فرط حساسية (نبات مقاوم)؛ الدرجة5: بقع دائرية منفصلة على الأوراق والقرون فيها قليل من الأوعية البكنيدية (نبات متوسط المقاومة)؛ الدرجة7: ظهور عدد من البقع الكبيرة الملتحمة غير منتظمة الشكل على الأوراق والقرون والساق تحوي أوعية بكنيديّة متعدّدة ولا يحصل تعرية لأوراق النبات (نبات حساس)؛ الدرجة9: بقع ملتحمة كبيرة غير منتظمة على الأوراق والساق والقرون تحوي كثيراً من الأوعية البكنيدية. تطوق البقع الساق، وتحصل تعرية لأوراق النباتات، وهناك عدد من النباتات الميتة (نبات حسّاس جداً). ثم أخذت قراءة دورية مّرة كلّ أسبوع لمدة شهر.

كما حسبت المساحة تحت منحنى تطوّر المرض AUDPC باستخدام العلاقة الآتية:

(Chen and Line, 1995) $AUDPC= \sum[(Xi+ Xi_{+1})/2](Ti_{+1}- Ti)$

حيث Xi شدّة الإصابة في القراءة الأولى، Xi_{+1} شدّة الإصابة في القراءة التي تليها وهكذا....

$(Ti_{+1}- Ti)$ المدّة الزمنّية الفاصلة بين كلّ قراءتين متتاليتين.

الجدول رقم (1): الأصناف التفريقية المستعملة في تعريف عزلات الفطر

المدخل/الصنف	الأصل	المصدر	مواصفات البذور
BPL 230	ILB 142	المغرب	صغير البذرة
BPL 818	ILB 549	إثيوبيا	صغير البذرة
BPL 471	ILB 287	لبنان	صغير البذرة
بلدي سوري	ILB 1814	سورية	كبير البذرة
Giza 4	ILB 1820	مصر العربية	صغير البذرة
ILB 463	NEB 463	أفغانستان	صغير البذرة
Ascot	ILB 1593	أستراليا	صغير البذرة

النتائج:

1-الصفات المورفولوجية:

اختلفت ألوان مستعمرّات العزلات الفطريّة المختبرة، حيث سجّل مدى واسع من الألوان تراوح ما بين الرماديّ، الورديّ ، المائل للبياض، الزيتونيّ والأخضر الزيتونيّ، ومستعمرات ذات ميسليوم شفّاف. كما وجدت درجات لونيّة ضمن كلّ مجموعة، فمثلاً ضمن اللّون الرماديّ وجدت مستعمرات بلون رماديّ فاتح، رماديّ غامق، ومائل للبني؛ وضمن اللون الزيتونيّ وجدت مستعمرات بلون أبيض زيتونيّ؛ وضمن اللون الأخضر وجدت مستعمرات بلون أخضر وأخضر غامق وأخضر مصفر.

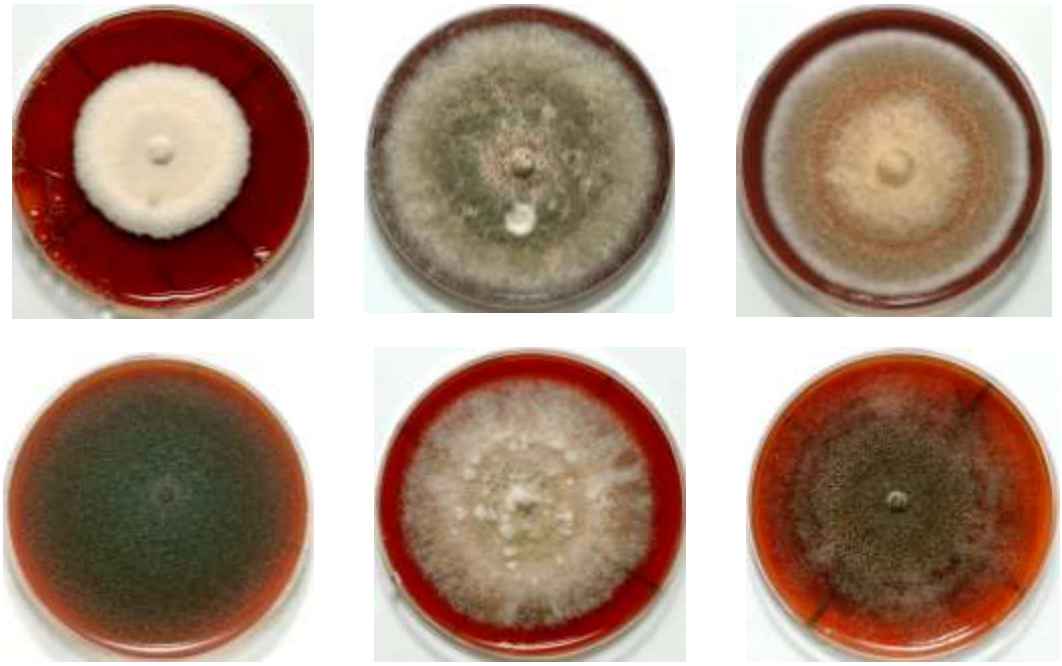
أمّا من حيث طبيعة الميسليوم، فقد قسّمت العزلات إلى مستعمرات ذات بنية وبريّة كثيفة، وبريّة، لبّادية، دون ميسليوم(شكل 1).

أظهرت النتائج وجود اختلاف حتّى بين المكرّرات التابعة لعزلات ناتجة عن بوغ وحيد، ووصلت نسبة الاختلاف بين العزلات التي أعطت اختلافاً بين المكرّرات من حيث لون المستعمرة وطبيعة الميسليوم إلى18%

وكان الاختلاف كبيراً أيضاً بين العزلات من حيث معدّل التبوّغ، حيث تراوح المجال بين (10.500.000-500) بوغ/مل.

أظهرت النتائج وجود فروقات بين العزلات فيما يخصّ قطر المستعمرة الذي تراوح ما بين 4.4-8 سم بعد 18 يوماً من الزراعة. وتراوح معدّل النمو ما بين 0.8-1.85مم/يوم.

لم تظهر دراسة الارتباط ما بين الصفات المورفولوجيّة المميزة للعزلات التي تمّ تصنيفها إلى أنماط شكلّية (Morphotype) حسب لون المستعمرة وطبيعة الميسليوم عن وجود ارتباط ما بين معدل التبوغ، قطر المستعمرة، ومعدل النمو للأنماط الشكلية المختلفة؛ في حين وجد ارتباط سلبي ضعيف جداً بين بعض هذه الصفات، (جدول 2). وعليه، لا يمكن الاعتماد على الصفات المورفولوجية المدروسة في تمييز العزلات.



الشكل رقم (1): الاختلاف في لون وطبيعة الميسليوم لعزلات مختلفة من الأسكوكيتا *A. fabae*

الجدول رقم (2): معامل الارتباط بين الصفات المورفولوجية المدروسة على عزلات الفطر *A. fabae*

	اللون	طبيعة الميسليوم	معدل التبوغ	قطر المستعمرة	معدل النمو
اللون	1				
طبيعة الميسليوم	0.59	1			
معدل التبوغ	0.018	-0.002	1		
قطر المستعمرة	0.09	0.14	0.01	1	
معدل النمو	0.03	-0.04	0.15	0.79	1

يلاحظ من بيانات الجدول رقم 3 عدم وجود ارتباط ما بين معدل التبوغ والأصل الجغرافي للعزلات، حيث اتسمت العزلات المأخوذة من منطقة الغاب بكثافة تبويغ عالية مقارنة بالعزلات المجموعة من المحافظات الأخرى. وظهر فرق معنويَ بين متوسطات التبوّغ لهذه العزلات، على أنّ معامل الاختلاف كان كبيراً جداً (CV=235.7%) بحيث لم يكن بالإمكان الأخذ بهذه النتيجة.

الجدول رقم (3): أثر الموقع الجغرافي في معدل التبوغ للعزلات المختبرة من الفطر

المحافظة	متوسط كثافة التبوغ (بوغ/مل)
حماة (الغاب)	a4312950
طرطوس	b627604
اللاذقية	b447916
درعا	b419444
إدلب	b240189
حلب	b35433
LSD	1020000

لم تظهر دراسة العلاقة ما بين الصفات المورفولوجية المميزة والجزء النباتي الذي تمّ عزل الفطر منه وجود أيّ ارتباط بينهما، رغم وجود فرق معنوي بين العزلات المأخوذة من الأوراق وتلك المأخوذة من كل من السوق والقرون من حيث معدل التبوغ، إلا أنّ معامل الاختلاف كان كبيراً جداً (CV=243.4%) (جدول 4).

الجدول رقم (4): أثر العضو النباتي في معدل التبوغ للعزلات المختبرة من الفطر

الأعضاء النباتية التي أخذت منها العزلات	متوسط كثافة التبوغ (بوغ/مل)
أوراق	1189335 a
سوق	435133 b
قرون	320568 b
LSD	720000

القدرة الإمراضية:

درست الأنماط المرضية (Pathotypes) لأربعين عزلة من الفطر، ثلاثون منها مأخوذة من حقل واحد في سراقب بمحافظة إدلب (Sar 2)، والعشرة الباقية من حقول في محافظات سورية مختلفة (عزلتان من كل من إدلب، اللاذقية، طرطوس، درعا، والغاب). حيث أخذت قراءة الشدّة المرضية باستخدام سلّم قياس 1–9 واعتبر الصنف مقاوماً (R) إذا كانت درجة الإصابة أقلّ أو تساوي 3 . وحسّاساً (S) إذا كانت درجة الإصابة أكبر من 3 .

أظهرت النتائج (جدول رقم 5) وجود ثمانية أنماط مرضية/سلالات (Pathotypes/races) رتبت حسب عدوانيتها من الرقم 1 الأكثر عدوانية وحتى الرقم 8. حيث تمكّن النمط المرضي رقم 1 من إحداث الإصابة

على الأصناف التفريقية السبعة بدرجة إصابة أكبر من ثلاثة. ولوحظ وجود ستة أنماط مرضية مأخوذة من حقل واحد (Sar 2) في منطقة سراقب بمحافظة إدلب، أمّا النّمطان المرضيّان الآخران فكان أحدهما لعزلة مأخوذة من محافظة طرطوس (Tar) والأخرى لعزلة مأخوذة من منطقة الغاب (GH) في محافظة حماه. وهذا يشير إلى كفاءة الأصناف التفريقية المستخدمة في التمييز بين العزلات تبعاً لعدوانيتها.

لم يلاحظ وجود ارتباط بين الأصل الجغرافي للعزلات وتوزّعها إلى أنماط مرضية، فالعزلتين المأخوذتين من طرطوس كانتا من نمطين مرضيين مختلفين (1 و 7) متباعدين من حيث العدوانية؛ كما صنفت العزلات المأخوذة من منطقة الغاب في نمطين مرضيين مختلفين (2 و 8) وشملت العزلات المأخوذة من درعا واللاذقية النمطين المرضيين (1 و 2).

كما لم يكن للعضو النباتي الذي عزل منه الفطر أي تأثير في توزع العزلات بين الأنماط المرضية. حيث أظهرت النتائج أن الأنماط المرضية التي تحوي عدداً كبيراً من العزلات هي في الواقع لعزلات مأخوذة من السوق، الأوراق والقرون. كما أن الأنماط المرضية التي تضم عزلة واحدة هي في الواقع معزولة من أجزاء نباتية مختلفة (النمط المرضي 5: أوراق، النمط المرضي 6: قرون، النمط المرضي 7: سوق، النمط المرضي 8: أوراق).

لم يكن لكثافة التبوغ ارتباط في التوزّع إلى أنماط مرضية، حيث لوحظ أنّ النمط المرضي الواحد يضم عزلات تتسم بتباين كبير في كثافة تبوغها، فمثلاً كان متوسط كثافة التبوغ للعزلة Sar 2-D-S5، 31.000 بوغ/مل في حين كان هذا المتوسط للعزلة Sar 2-D-L2 أعلى 833.770 بوغ/مل وكلتاهما انتمتا للنمط 1. وفي النمط 2 ، كان متوسط كثافة التبوغ للعزلة Sar 2-C-L7 12.000 بوغ/مل بينما كان المتوسط في العزلة GH-S (1.083.333 بوغ/مل). كما كانت العزلة التي اتسمت بأعلى كثافة تبوغ GH-L1 ذات عدوانية ضعيفة (النمط المرضي 8) بينما كانت العزلة التي تلتها في متوسط كثافة التبوغ GH-S ذات عدوانية عالية (النمط المرضي 2).

تمكن الصنف Ascot من التمييز بين النمط المرضي 1 و النمط المرضي 2 اللذين كان تفاعلهما متشابهاً مع الأصناف التفريقية الأخرى، على أنّ الصنف Ascot كان حساساً للنمط المرضي 1 ومقاوماً للنمط المرضي 2، كما ميّز المدخل BPL 471 ما بين النمطين المرضيين 5 و6.

لدى دراسة معايير متعددة لمقارنة القدرة الإمراضية للعزلات الفطرية (النسبة المئوية للأوراق المصابة، عدد البقع على كلّ من الساق والأوراق، ودرجة الإصابة على سلم قياس شدة الإصابة، والمساحة تحت منحني تطور المرض لجميع المعايير السابقة) تبين وجود اختلاف بين العزلات المختبرة في المعايير المدروسة (جدول 6). ولدى دراسة الارتباط بين المعايير السابقة، تبين وجود ارتباط إيجابي قويّ بين كلّ المعايير زاد عن 75% باستثناء الارتباط ما بين النسبة المئوية للأوراق المصابة مع باقي المعايير حيث تراوحت قيمه مابين (43–46)% بالنسبة للارتباط مع عدد

البقع على الساق وعلى الأوراق ودرجة الإصابة والمساحة المحصورة تحت منحني تطور المرض لكلّ منها، ووصل الارتباط إلى 55% بالنسبة للمساحة تحت منحني تطور المرض لدليل المرض، أما الارتباط مع كل من المساحة تحت منحني تطور المرض للنسبة المئوية للأوراق المصابة ودليل المرض فكان (66–76)%، على الترتيب.

يلاحظ من الجدول رقم 7 وجود ارتباط إيجابي قوي وصل إلى 87.4% بين كل من عدد البقع على الساق والأوراق، وتبين ظهور الإصابة، في بعض الأصناف، على الأوراق فقط دون الساق عند إعدائها ببعض العزلات. حيث لم تظهر كل الأصناف التفريقية مثلاً أعراضاً على سوقها عند إعدائها بالعزلتين GH-S1,Tar-L1.

كما لم تظهر أعراض على ساق الصنف التفريقي Ascot عند إعدائه بالعزلات الآتية: (Sar 2-B-P1، Sar 2-D-P1، Sar 2-D-L3 ، Sar 2-C-L2, Sar 2-B-P3، GH-S، Dar-p1، Lat-P2، Sar 2-A-L4، Sar 2-B- S1، Sar 2-B-L2، Sar 1-D-L1، Sar 2-D-S5، Sar 2-D-S4، Sar 2-D-S1).

أمّا على الصنف التفريقي BPL 471، فقد ظهرت الأعراض على الأوراق فقط عند إعدائه بالعزلات الآتية: (Sar 2-D-S6 ، Sar 2-D-S4 ، Sar 2-D-P1، Sar 2-D-L1، Sar 2-C-L5، Sar 2-B-L2، Sar 2-B-S1، Sar 2-A-P1، Sar 2-A-L4، Sar 2-A-S1 ، Sar 2-A-L1، Sar 2-D-S5، Sar 2-D-S3).

كما ظهرت حالة معاكسة تمثلت بظهور أعراض الإصابة على الساق فقط دون الأوراق عند الصنف التفريقي Ascot لدى إعدائه بالعزلة Sar 2-A-L3. كما أصيب الصنف التفريقي Giza 4 في مكرر واحد على الساق فقط عند إعدائه بالعزلة Sar 2-B-P3 في حين ظهرت الإصابة في المكرّرين الباقيين على الساق والأوراق معاً.

كما ظهرت حالة من التخصّص الفيزيولوجي بين بعض العزلات والأصناف التفريقية حيث أصيبت بعض الأصناف التفريقية بعزلات محدّدة دون أخرى كما يبين ذلك الشكل (2).

الجدول رقم (5): ردة فعل الأصناف التفريقية* تجاه العدوى بأربعين عزلة**

النمط المرضي	ASCOT	GIZA 4	ILB 463	BPL 818	ILB 1814	BPL 471	BPL 230	اسم العزلة
1	S	S	S	S	S	S	S	Dar P4-6, Lat-P1, Sar 2-B-L1, Sar 2-C-L4, Sar 2-D-L2, Sar 2-D-L4, Sar 2-D-S5, Sar 2-D-S6, Tar-S2
2	R	S	S	S	S	S	S	GH-S, Dar-P2, Lat-P2, Sar 1-B-L1, Sar 2-A-L3, Sar 2-B-P3, Sar 2-C-L1, Sar 2-C-L3, Sar 2-C-L6, Sar 2-C-L7, Sar 2-D-S2, Sar 2-D-L3, Sar 2-D-P1, Sar 2-D-S1, Sar 2-D-S3, Sar 1-D-L1
3	S	S	S	S	S	R	S	Sar 2-A-S1, Sar 2-A-L2
4	R	S	S	S	S	R	S	Sar 2-A-L4, Sar 2-A-L1, Sar 2-B-S1, Sar 2-B-L2, Sar 2-

								B-P1, Sar 2-B-P2, Sar 2-C-L5, Sar 2-D-L1, Sar 2-D-S4
5	R	S	S	S	S	S	R	Sar 2-C-L2
6	R	S	S	S	S	R	R	Sar 2-A-P1
7	R	R	S	R	R	R	S	Tar-S1
8	R	R	R	R	R	R	R	GH-L1

*R: مقاوم، S: حسّاس.

**أعطيت العزلات رمزاً حسب المحافظة/المنطقة، والمواقع التي جمعت منها (A, B, C, D) ضمن الحقل الواحد ، والأعضاء النباتية (أوراق L، سوق S، قرون P) التي عزلت منها.

الشكل رقم (2): المباينة في ردة فعل صنفين تفريقيين معديين بعزلات مختلفة من الفطر

الجدول رقم (6): متوسط نتائج اختبار 40 عزلة من الفطر *A. fabae* على الأصناف التفريقية المختبرة في ظروف الدفيئة البلاستيكية، إيكاردا

اسم العزلة	% للأوراق المصابة	عدد البقع على الساق	عدد البقع على الأوراق	شدة الإصابة	AUDPC % للأوراق المصابة	AUDPC لعدد البقع على الساق	AUDPC لعدد البقع على الأوراق	AUDPC لشدة الإصابة
G H-L1	15.3	0	1.2	2.1	132.2	0	4.2	28.9
G H-S	37.0	5.81	14.2	4.4	659.5	43.5	63.8	71.3
Da r-P4-6	41.2	6.19	24.3	5.3	716.6	55.8	101.2	79.9
Da r-P1	34.0	4.76	20.6	4.9	615.2	40.8	85.0	78.0
Lat -P1	47.6	6.57	31.3	5.1	836.7	61.0	144.0	82.7
Lat -P2	39.6	6.52	22.1	5.0	685.8	59.3	89.0	77.6
Sa r 2-A-L1	38.9	7.42	29.2	5.3	702.0	69.0	154.5	86.9
Sa r 2-A-S1	31.4	6.38	23.6	4.5	517.2	50.8	105.0	69.0
Sa r 2-A-L2	37.2	7.76	25.9	5.3	675.8	55.3	116.7	85.1
Sa r 2-A-L3	37.9	7.19	28.4	5.2	641.1	65.3	125.7	81.6
Sa	83.6	4.52	18.7	4.4	690.0	40.8	89.5	68.9

								r 2-A-L4
66.9	123.7	48.6	588.0	4.1	25.2	5.14	33.1	Sa r 2-A-P1
85.6	115.2	74.7	685.5	5.6	25.1	10.4	44.3	Sa r 2-B-L1
65.5	77.3	45.5	520.5	4.3	19.2	5.29	30.1	Sa r 2-B-S1
75.8	110.8	56.3	671.0	4.7	22.7	7.52	39.2	Sa r 2-B-L2
75.8	103.2	60.3	594.9	4.7	24.3	6.95	36.4	Sa r 2-B-P1
74.9	96.3	54.8	636.8	4.7	20.6	7	35.3	Sa r 2-B-P2
75.8	97.5	61.8	538.9	4.9	23.2	7.38	31.4	Sa r 2-B-P3
81.4	108.7	57.5	633.6	5.0	23.5	6.66	39.2	Sa r 2-C-L1
70.7	101.8	51.7	527.7	4.5	22.4	5.61	31.3	Sa r 2-C-L2
87.0	116.3	78.7	694.4	5.6	24.7	9.42	38.2	Sa r 2-C-L3
77.6	109.2	54.2	636.1	5.0	23.1	6.14	36.4	Sa r 2-C-L4
73.8	90.8	54.0	678.6	4.6	23.6	5.9	37.7	Sa r 2-C-L5
84.8	107.2	60.7	732.4	5.0	23.4	7.19	40.4	Sa r 2-C-L6
84.0	105.0	70.7	761.0	5.4	24.2	10	44.1	Sa r 2-C-L7
44.0	14.2	2.67	251.5	3.6	4.0	0.47	24.5	Sa r 2-D-L1
77.0	119.1	66.7	699.0	5.1	27.5	7.33	41.6	Sa r 2-D-S2
75.0	72.7	57.5	661.5	5.2	18.8	6.24	39.2	Sa r 2D-L2
87.0	156.5	92.7	770.4	5.3	32.0	10.7	42.5	Sa r 2-D-L3
74.8	88.2	58.0	612.0	5.1	19.2	6.52	37.5	Sa r 2-D-L4
83.9	153.8	76.5	764.2	5.4	34.7	8.48	43.9	Sa r 2-D-P1
78.9	103.2	63.5	719.3	5.0	20.6	6.33	41.7	Sa r 2-D-S1
64.6	67.3	14.7	503.0	4.4	15.6	2.38	34.7	Sa r 2-D-S3
79.0	121.0	73.7	693.3	4.8	28.7	7.67	40.7	Sa r 2-D-S4
78.1	126.3	74.8	738.7	5.0	30.6	7.90	42.4	Sa r 2-D-S5
75.8	80.2	41.0	704.0	5.0	18.0	4.90	41.6	Sa r 2-D-S6
74.9	105.0	44.2	669.5	4.7	22.0	5.71	42.4	Sa r 1-B-L1
79.7	106.2	54.0	670.2	4.9	22.5	6.1	39.2	Sa r 1-D-L1
28.9	0	0	106.8	2.3	0.0	0	16.5	Ta r-S1

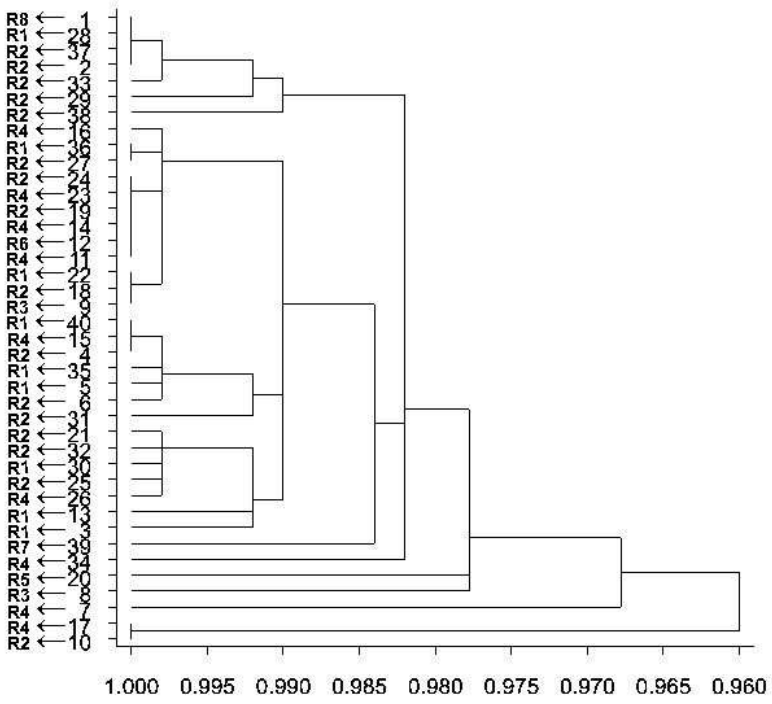
Tar-S2	46.4	10.2	40.9	5.7	868.1	102.2	192.2	93.2

الجدول رقم (7): معامل الارتباط للمعايير المدروسة لمقارنة القدرة الإمراضية لـ40 عزلة من فطر

	دليل المرض	AUDPC دليل المرض	AUDPC % للأوراق المصابة	AUDPC لعدد البقع على الأوراق	AUDPC لشدة الإصابة	AUDPC لعدد البقع على الساق	درجة الإصابة	أوراق % مصابة	عدد البقع على الأوراق	عدد البقع على الساق
دليل * المرض	1									
AUDPC دليل المرض	0.935	1								
AUDPC % للأوراق المصابة	0.913	0.948	1							
AUDPC لعدد البقع على الأوراق	0.81	0.907	0.84	1						
AUDPC لشدة الإصابة	0.812	0.895	0.886	0.84	1					
AUDPC لعدد البقع على الساق	0.846	0.92	0.792	0.89	0.816	1				
درجة الإصابة	0.801	0.843	0.837	0.756	0.952	0.755	1			
أوراق % مصابة	0.761	0.55	0.666	0.44	0.46	0.438	0.449	1		
عدد البقع على الأوراق	0.814	0.91	0.843	0.98	0.855	0.897	0.774	0.443	1	
عدد البقع على الساق	0.85	0.91	0.79	0.87	0.83	0.97	0.78	0.44	0.87	1

* دليل المرض (Disease index) ويحسب كحاصل جداء النسبة المئوية للأوراق المصابة بقيمة درجة الإصابة على سلم القياس المستعمل

ولدراسة مدى التشابه في الصفات الظاهرية للعزلات (لون المستعمرة، بنية الميسليوم، كثافة التبوغ، قطر المستعمرة، ومعدل النمو) التي تنتمي إلى نمط مرضي واحد، أجري تحليل عنقودي ورسمت الشجرة التي تشير إلى درجة التشابه بين العزلات المدروسة، ولم يظهر التحليل والرسم وجود ارتباط بين الصفات الظاهرية المميزة للعزلات والنمط المرضي؛ حيث كانت العزلات المتشابهة جداً فيما بينها في الصفات الظاهرية المميزة تنتمي إلى أنماط مرضية مختلفة، كما توزّعت العزلات التي تنتمي إلى نمط مرضي واحد على مخطط درجة التشابه كاملاً؛ مما يشير إلى وجود تباعد فيما بينها من ناحية الصفات الظاهرية المّميزة. (الشكل 3).



Ri: رقم النمط المرضي

الشكل رقم (3): درجة التشابه بين العزلات التي تنتمي لأنماط مرضية متعددة وفقاً لصفاتها الظاهرية المميزة

المناقشة:

إن الاختلافات الملاحظة بين العزلات من حيث لون المستعمرة وطبيعة الميسليوم متوافقة مع دراسات سابقة، حيث يعدّ الفطر *Ascochyta fabae* فطراً شديد التنّوع على كلّ من المستنبت الغذائي والعائل (Kohpina *et*

al.,1999). كما أظهر اختبار 70 عزلة، في دراسة أخرى، ناتجة من بوغ وحيد مأخوذة من عينة بذور مصابة بالمرض، اختلافاً كبيراً بين العزلات من حيث لون المستعمرة وطبيعة الميسليوم (Tivoli and Maurin,1992).

إنّ الاختلاف بين العزلات من حيث معدل التبوغ يتوافق مع ما ذكره (Kohpina *et al*.,1999) الذين أشاروا إلى وجود تباين في إنتاج الأبواغ في العزلات التي اختبروها تراوح ما بين (0– 1.000.000) بوغ/مل، حتى بين المكررات التابعة لعزلة ناتجة عن بوغ وحيد، وكان التباين ضمن العزلات بالأهمية ذاتها بالنسبة للتباين بين العزلات. ولم يكن للعزلة أي تأثير معنوي عند تحليل الاختلافات بين العزلات.

وفيما يخصّ معدل نمو المستعمرات، ذكر تيفولي وموران (Tivoli and Maurin,1992) أنّ معدل نمو العزلات في دراستيهما تراوح ما بين (0.8–2.7) مم/يوم، وهي قيم قريبة لما سجلناه في دراستنا، كما أشار Kharbanda and Bernier (1980) إلى وجود فروقات معنوية بين متوسّطات أقطار مستعمرات العزلات بعد 21 يوماً من الإلقاح، ولم يتمكّنا من تشكيل مجموعات متجانسة من العزلات من حيث معدل التبوغ ومتوسط أبعاد الأبواغ الكونيدية بسبب التنوّع الكبير ضمن كل صفة مدروسة. وأشار كوهبينا ومساعدوه (Kohpina *et al*.,1999) إلى وجود فروقات معنوية في أقطار المستعمرات بين العزلات، أسهمت العزلات بنسبة (75)% من الاختلاف بينما أسهمت الاختلافات الناتجة عن بوغ وحيد بنسبة (20)% من الاختلاف. كما تجدر الإشارة إلى أنّهم لم يتمكّنوا من عزو الاختلاف الكبير في الصفات المورفولوجية إلى أسباب محدّدة واضحة مثل الأصل الجغرافي للعزلات أو الأجزاء النباتية التي أخذت منها. وكان علي (Ali, 1985) قد أشار في أطروحته إلى عدم وجود ارتباط ما بين الصفات المزرعية أو الأصل الجغرافي للعزلات مع الشراسة.

تتفق النتائج المتحصل عليها بالنسبة لوضع العزلات في أنماط مرضية مع نتائج دراسات سابقة (Rashid *et al*., 1991؛ Kohpina *et al*., 1999)؛ و(Hanounik and Robertson, 1989) اللذين تمكنا في سورية من تحديد أربع سلالات من بين ثماني عزلات لـ *A. fabae* تم اختبارها. ووجد خراط ورفاقه (Kharrat *et al*., 2000)، في تونس أن معظم العزلات التي اختبروها تنتمي للسلالتين 3–4 في الدراسة السابقة. وفي دراسة على عزلات استرالية المنشأ، تبين وجود عدة سلالات في مجتمعات الفطر المدروسة (Yakop *et al*., 1997).

تتوافق نتائج هذه الدراسة فيما يخص اختلاف عدوانية الأنماط المرضية باختلاف الجزء من العائل الذي تظهر عليه الإصابة مع نتائج دراستين سابقتين أشارتا إلى أن بعض الأنماط الوراثية أظهرت مقاومة فقط على الساق، مما يشير إلى وجود عوامل وراثية مختلفة تتحكم بالمقاومة في كل من الساق والأوراق عند هذه الأنماط (Rashid *et al*., 1991؛ Kharrat *et al*., 2000).

الاستنتاجات والتوصيات:

1–أثبتت النتائج وجود تنوع كبير في الصفات الظاهرية المميزة وفي القدرة الإمراضية لعزلات الفطر *A. fabae* المدروسة في سورية.

2– لم يكن للأصل الجغرافي أو للعضو النباتي الذي أخذ منه الفطر أيّ أثر في كلّ من الصفات الظاهرية المميزة أو القدرة الإمراضية للعزلات.

3– لم يكن هناك ارتباط بين العزلات التابعة لنمط مرضي واحد في الصفات الظاهرية المميّزة لها.

المراجع:

ALI, F. H. *Evaluation of the components of resistance to Ascochyta fabae* Speg. *on faba bean inbred lines (Vicia faba* L.) *and the effect of temperature on mycelia growth of ten isolates of A. fabae*. MSc Thesis, The University of Manitoba, Winnipeg, Canada. 1985.

BAYAA, B.; KABBABEH, S. *First Record in Syria of Didymella fabae Jellis & Punithalingam, the Teleomorph of Ascochyta fabae Speg. and the Causal Organism of Faba Bean Blight*. Plant Disease, 2000, 84, 9,1044

BERNIER, C. C.; HANOUNIK, S. B.; HUSSEN, M. M. and MOHAMED, H. A. *Feild manual of comon bean diseases in the Nile valley*. ICARDA inform. Bull., 1984,3, 40.

CHEN, X.; LINE, R. F. *Gene action in wheat cultivars for durable, high-temperature, adult plant resistance and interaction with race-specific, seedling resistance to Puccinia striiformis*. Phytopathology.1995, 85, 567-572

GAUNT, R .E. *Shoot diseases caused by fungal pathogens.* In:Hebblethwaite PD, ed. The Faba Bean (*Vicia fa*ba L.). London, UK: Butterworths, 1983, 463-492.

HANOUNIK, S. B. *Effect of chemical treatments and host genotypes on disease severity/ yield relationships of Ascochyta blight in faba beans*. *FABIS Newsletter. 1980, 2, 50.*

HANOUNIK, S. B., and ROBERTSON, L. D. *Resistance in Vicia faba germplasm to blight caused by Ascochyta fabae*. *Plant Disease*, 1989, 73, 202- 205.

KHARBANDA, P. D., and BERNIER, C. C. *Cultural and pathogenic variability among isolates of Ascochyta fabae*. Canadian Journal of Plant Pathology, *1980*, 2, 139- 142.

KOHPINA, S., R. KNIGHT and STODDARD, F. L. *Variability of Ascochyta fabae in South Australia*. Australian Journal of Agricultural Research, 1999, 50, 1475–1481

KHARRAT, M. B.; TIVOLI, J.; LEGUEN. *characterisation of Tunisian Ascochyta fabae isolates, causel agent of blight of faba bean*. Annels de l'INRAT, 2000, 73, 91-104.

RASHID, K. Y., BERNIER, C. C., and CONNER, R. L. *Evaluation of Fava bean for resistance to Ascochyta fabae and development of host differentials for race identification*. Plant Disease, 1991, 75, 852- 855.

TIVOLI, B.; MAURIN, N. *Strain variability of Ascochyta fabae*. Proc. Of the First European conference on Grain Legume, Angers (France), 1992, 339-340.

YAKOP, U. M.; PAULL, J. G. RAMSEY, M. Variation in the resistance of faba bean (Vicia faba L.) to Ascochyta blight in Australia. Abstract. Third International of