عزل وتعريف الفطر المسبب لموت غراس اللوز في المشاتل في محافظة السويداء/سورية

Isolation and Identification of Fungus Causing the Almond Seedlings Death in the Nurseries in Sweida

عبير رشيد [1] وليـــد نفّـاع[2]

Abeer Rasheed [1] Walid Naffaa[2]

(1) مديرية الزراعة والإصلاح الزراعي – دائرة وقاية النبات في الكوم – السويداء – سوريا.

(1) Directorate of Agriculture and Agrarian Reform - Plant Protection Department in Al-Koum - As-Suwayda – Syria.

(2) جامعة دمشق – كلية الهندسة الزراعية – قسم وقاية النبات – دمشق، سوريا.

(1) Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus – Syria

الملخص

تبين في عام 2013 في مشتل عرى التابع لمديرية زراعة السويداء في سورية انخفاض كبير في نسبة إنبات بذور اللوز، وموت الغراس بعد عدة أشهر من الإنبات. لذلك هدف هذا البحث إلى دراسة هذه الظاهرة، وتعريف المسبب المرضي المسؤول عنها. تبين بعد عملية الحصر أن نسبة الإنبات لم تتجاوز 20 % من مختلف الأصول البذرية المزروعة، حيث تم إنبات 10000 بذرة فقط من أصل 50000 بذرة، كما وصلت نسبة موت الغراس إلى أكثر من 15 %. وعند فحص الغراس الميتة، لوحظ ظهور تغير في اللون عند قاعدة الساق، كما ظهرت منطقة الإصابة متقرحة ورفيعة. وتبين بعد إجراء عملية العزل أن الفطر المسبب لموت الغراس يتبع الجنس *Fusarium*، وتم تأكيد ذلك من خلال إجراء عدوى اصطناعية على اللوز البري *Amygdalus korschinskii* واللوز الشرقي *A. orientalis*، حيث وصلت نسبة الغراس الميتة في كلا النوعين إلى أكثر من 80 %، وقد أبدت غراس الأصول المختبرة أعراضاً مماثلة لتلك التي ظهرت على الغراس في المشتل، كما تم عزل الفطر *Fusarium* مرة أخرى من الغراس المعداة اصطناعياً، وبذلك يُعدّ هذا البحث التسجيل الأول للفطر *Fusarium* sp. كمسبب لموت غراس اللوزيات في سورية.

الكلمات المفتاحية: موت الغراس، المشاتل، اللوز، فيوزاريوم

Abstract

In 2013, was observed significant decrease in the germination percentage of almond seeds, and the seedlings died after several months of germination in the Iraa nursery belonging to directorate of agriculture and agricultural reform in Sweida. The objectives of this research were to study this phenomenon and define the pathogen responsible for it. The inventory process showed that germination percentage was less than 20% of the various rootstocks, 10000 seeds germinated out of 50000 seeds, and the percentage of seedlings death exceeded 15%.

©2022 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-23 (p: 296 - 301)**

The dead seedlings showed discoloration at the base of stem, and the lesion area was cankered and thin. The isolation showed that the fungus causing seedlings death followed *Fusarium* sp., and the results were confirmed through an artificial infection on *Amygdalus korschinskii* and *A. orientalis* rootstocks. The seedlings death percentage was more than 80%, and the seedlings of tested rootstocks showed symptoms similar to those that appeared on the nursery seedlings. also the fungus ' *Fusarium* ' was isolated again from artificially infected seedlings. The results of this study are the first report of root and crown rot of almond seedlings caused by *Fusarium* sp.

Key words: seedlings death, nursery, almond, *Fusarium.*

المقدمة

تُعدّ اللوزيات من الأشجار المثمرة المهمّة اقتصادياً في سورية، حيث بلغ إجمالي المساحة المزروعة 71 ألف هكتار، وإجمالي الإنتاج 86 ألف طن (إحصائيات وزارة الزراعة، 2012).

تصاب أشجار اللوزيات بالعديد من الأمراض الفطرية، وبعضها قد يبدأ على الغراس في المشتل، ويتطور على الأشجار في البستان، فقد بيّنت دراسة أجريت في كاليفورنيا ظهور تقرحات على غراس التفاح واللوزيات تؤثر بشكل واضح في الغراس في المشاتل، وتتطور الأعراض بعد فترة قصيرة من الزراعة في الحقل، يليها تدهور الأشجار الصغيرة وموتها، وقد عُدّ النوعان *Fusarium avenaceum* و*F. acuminatum* مسببان أوليان لهذه الظاهرة، كما كانت الفطريات *F. solani* و *Ilyonectria robusta*و*Cylindrocarpon obtusiusculum* قادرة على إحداث أعراض مشابهة، ولكنها كانت أقل انتشاراً بكثير من الأنواع السابقة (Marekو Bostock، 2013).

سجل في تركيا في عام 2009 خسائر بلغت 1% مرتبطة بعفن التاج والجذور لغراس اللوز في مشتلين تجاريين في Ankara و Düzce، وشملت الأعراض شحوباً وذبولاً في الأوراق، وكانت الجذور متحللة، كما ظهر تنكرز على الجذور الرئيسة وقاعدة الساق، مما أدى إلى تدهور النباتات بشكل كامل خلال عدة أسابيع. وعزيت هذه الظاهرة إلى النوعين *Phytophthora cactorum* و *P. citrophthora* وذلك بالاعتماد على الخصائص الشكلية والتحليل التتابعي للـ DNA الريبوزومي (Kurbetli و Değirmenci،2010). وصلت الخسائر أيضاً في تركيا عام 2009 إلى أكثر من 5% في محافظة Kayseri بسبب تدهور أشجار اللوز بعمر سنتين في بستان يحوي 600 شجرة مأخوذة بالأصل من مشتل في محافظة Yalova، حيث تميزت الأشجار المصابة بأوراق صغيرة وشاحبة و ذابلة، كما لوحظت تقرحات أسفل الساق، وقد تبين أيضاً أن المسبب لهذه الظاهرة هو الفطر *Phytophthora* sp. (Kurbetli وDeğirmenci ،2011).

خلال مراقبة مشاتل وبساتين اللوز في إقليم Kermanshah (في إيران) في عامي 2010 و2011، اشتبه بإصابة غراس وأشجار اللوز بالفطرين *Pythium* و *Phytophthora* ، وبعد إجراء عملية العزل، تم تعريف أربعة أنواع فطرية تبعاً لخصائصها الشكلية والعديد من الخصائص الفيزيولوجية، وهي *Phytophthora cactorum* و *Pythium aphanidermatum* و *Ovatisporangium helicoides* و *Pythium* group-G (Azizi وزملاؤه، 2013).

يُعدّ مشتل عرى التابع لمديرية زراعة السويداء، والذي يقع على بعد 10 كم تقريباً إلى الجنوب من مدينة السويداء، والبالغة مساحته 800 دونماً، منها 3 دونمات مزروعة بغراس لوز مطعمة على أصول بذرية مختلفة، المشتل الرئيس لإنتاج الأشجار المثمرة في محافظة السويداء. في عام 2013، لوحظت ظاهرة موت غراس اللوز في المشتل بعد عدة أشهر من الإنبات، كما كانت نسبة الإنبات منخفضة جداً، مؤدية إلى خسائر اقتصادية كبيرة.

لذلك كان الهدف من هذا البحث دراسة هذه الظاهرة التي لوحظت لأول مرة في مشاتل إنتاج غراس اللوزيات في محافظة السويداء، وتعريف المسبب المرضي المسؤول عنها.

مواد البحث وطرائقه

- **جمع العينات:** تم بمساعدة المختصين في المشتل حصر عدد الغراس، وحساب نسبة الإنبات، كذلك نسبة الغراس الميتة، وتم أخذ 20 غرسة ميتة بتاريخ 2013/10/1 موزعة بشكل عشوائي، حيث قُلعت الغراس مع جذورها، ووضع كل منها

في كيس بلاستيكي، ونُقلت إلى مخبر أمراض النبات في منطقة الكوم التابع لمديرية زراعة السويداء، حيث غُسلت الجذور بشكل جيد بالماء الجاري، ثم تم وصف الأعراض المرضية التي لوحظت على الغراس.

- **تحضير الأوساط المغذية**: تم تحضير ثلاثة أوساط مغذية مختلفة وهي: 1- وسط الذرة الصفراء Corn meal agar (CMA)، حيث أضيف 30 غ من الذرة الصفراء المطحونة إلى ليتر من الماء المقطر، وغُليت بشكل جيد مع التحريك المستمر لمدة 15 دقيقة، ثم تمت تصفيتها بوساطة قطعة من الشاش، وأضيف إليها 20غ من الآغار. 2- بطاطا ديكستروز آجار Potato dextrose agar (PDA)، حيث تمت إضافة 39غ من محضر الـ PDA الجاهز إلى ليتر من الماء المقطر. 3- وسط البندورة (TA) المكون من 150مل عصير بندورة، و 0.3 غ كربونات الكالسيوم $CaCO_3$ ، و10غ آغار، وأُكمل الحجم بالماء المقطر حتى 500 مل. تم تعقيم الأوساط المغذية بعد تحضيرها بالأوتوكلاف عند درجة حرارة °121م لمدة 20 دقيقة، وأضيف إليها المضاد الحيوي Maxipen (Amoxycillin+Flucloxacillin) بتركيز 100 جزء بالمليون.
- **عزل المسبب المرضي:** نُزع جزء من اللحاء من منطقة التقرح عند قاعدة الساق (منطقة التاج)، وتم تطهير العينات النباتية سطحياً بالكحول الايثيلي 70 % لمدة 30 ثانية، ثم غُسلت بالماء المعقم، ووضعت في محلول هيبوكلوريت الصوديوم 3 % (Sodium hypochlorite) لمدة 5 دقائق، وغُسلت 3 مرات بالماء المعقم، وقُطّعت إلى أجزاء صغيرة (5 مم)، ثم وضعت على الأوساط المغذية PDA و TA و CMA، بمعدل 5 قطع في كل طبق بتري. وحُضنت الأطباق عند درجة حرارة 21 ± 1°م. وبعد إجراء عملية التنقية للمزارع الفطرية المتحصل عليها تم تصنيف الفطريات بالاعتماد على الصفات الشكلية للمزارع الفطرية، ولمشيجة الفطر وأبواغه حسب دليل تصنيف الفطريات والبكتيريا الممرضة (C. M. I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria، 1986).
- **تحضير المعلق البوغي:** أضيف 10 مل من الماء المقطر لكل طبق بتري حاوٍ على المزرعة الفطرية بعمر 10 أيام، تم تحريك المزرعة الفطرية بفرشاة ناعمة، وصفي المعلق البوغي بوساطة قطعة شاش، ثم أضيف ماء مقطر للحصول على تركيز 10^5.
- **العدوى الاصطناعية**: نُفّذت التجربة في أحواض بلاستيكية صغيرة نظيفة ومعقمة بأبعاد 50x 25 x 20 سم، في كل منها 3 كغ من تربة الزراعة والتي تتركب من خليط من تربة طينية ورمل وسماد عضوي بنسبة (1 : 1: 1 حجماً)، ومعقمة بالأوتوكلاف لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 121 مْ. تم تطهير البذور سطحياً بمحلول من هيبوكلوريت الصوديوم 3% لمدة دقيقة، ثم غُسلت بالماء المقطر. تمت زراعة 3 بذور في كل أصيص على مسافة 15 سم بين البذرة والأخرى (12 بذرة من اللوز البري *A. korshinskii* ، و12 بذرة من اللوز الشرقي *A. orientalis*)، وأضيف 10 مل من المعلق البوغي حول كل بذرة، بينما أضيف الحجم نفسه من الماء المعقم لمعاملات الشاهد (3 بذور من كل صنف). تم ري الأصص عند الحاجة، ومراقبتها بشكل مستمر.

النتائج والمناقشة

بيّنت دراسة ظاهرة موت غراس اللوز في مشتل عرى في محافظة السويداء، أن نسبة إنبات بذور اللوز لم تتجاوز 20 %، حيث نبت 10000 بذرة فقط من أصل 50000 بذرة تمت زراعتها، وقد وصلت نسبة الغراس الميتة إلى أكثر من 15 %. وعند فحص هذه الغراس تبيّن وجود تغيّر لوني في منطقة العنق الجذري مع تقرحات مختلفة الشدة، وكان قطر الساق في هذه المنطقة أقل بكثير منه أعلى وأسفل هذه المنطقة. كما تبيّن أن بعض الغراس الميتة أعطت نموات حديثة تحت منطقة الإصابة (الشكل 1). وبعد حوالي سبعة أيام من إجراء العزل تم فحص المزارع الفطرية النامية على الأوساط المغذية، ظهرت المزارع الفطرية على الوسط المغذي CMA بلون أبيض، وذات نمو قطني كثيف، ومن الخلف بلون كريميّ، مع وجود تلون زهري، كما لوحظ وجود أبواغ كونيدية كبيرة هلالية الشكل، يحتوي معظمها على حاجزين، وبعضها على حاجز واحد أو ثلاثة حواجز (الشكل 2)، كما لوحظ وجود أبواغ كلاميدية مفردة أو على شكل سلاسل. وظهرت المزارع الفطرية على الوسط المغذي TA بالمواصفات نفسها على الوسط السابق، ولكن لوحظ وجود ضفائر فطرية (Sporodochia). أما على الوسط المغذي PDA فكان لون المزارع الفطرية زهرياً، مع ملاحظة أن نسبة التبوغ كانت أقل منها على TA. وبالعودة لدليل تصنيف الفطريات والبكتيريا تبين أن الفطر يتبع الجنس Fusarium. بيّنت هذه الدراسة أن موت غراس اللوز في مشتل عرى في محافظة السويداء يتسبب عن الفطر Fusarium sp.، ونظراً لندرة أو لقلة الدراسات المتعلقة بأمراض غراس اللوزيات في المشاتل، كان من الصعوبة مقارنة نتائج هذا البحث مع نتائج دراسات

أخرى، ولكن من المعروف أن العديد من أنواع الجنس Fusarium تسبب أمراضاً نباتية مختلفة للكثير من المحاصيل الحقلية ومحاصيل الخضار وأشجار الفاكهة، والتي تشمل تعفن الجذور والساق والثمار والبذور، وأمراض تقرح وذبول (Leslie وSummerell، 2006).

يُعدّ عفن التاج الفيوزاريومي Fusarium crown rot (FCR) مرضاً خطيراً على محاصيل الحبوب، والذي يتسبب عن أنواع عديدة من الجنس *Fusarium*، حيث يُعدّ النوع *F. pseudograminearum* (*Gibberella coronicola*) و*F. culmorum* أكثر مسببات هذا المرض انتشاراً في استراليا (Akinsanmi وزملاؤه، 2004 و Chakraborty وزملاؤه، 2006). وقد أصبح هذا المرض ذا أهمية متزايدة في العديد من مناطق زراعة الحبوب الأخرى بما في ذلك جنوبي إفريقيا وايطاليا ومصر وتركيا وسورية والمغرب والأرجنتين والصين (Chakraborty وزملاؤه، 2006 و Smiley وزملاؤه، 2005). كما سُجل *Fusarium semitectum* مسبباً لتقرح أغصان الجوز الأمريكي في إيطاليا للمرة الأولى عام 2010 (Belisario وزملاؤه، 2010). كما سُجل *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. مسبباً لعفن الجذور على أشجار الفستق الحلبي *Pistacia vera* L. في تونس عام 2011، حيث تم عزله في الحقل والمشاتل من الجذور المتعفنة لأشجار الفستق الحلبي التي تبدي أعراض ذبول وموت تراجعي (Triki وزملاؤه، 2011).

سَجل النوع *Fusarium oxysporum* مسبباً لعفن قاعدة ساق الصبار (*Cereus peruvianus monstruosus*) في إيطاليا (Garibaldi وزملاؤه، 2011). وقد عزى العديد من الدراسات ظاهرة عفن الرقبة والجذور وموت غراس العديد من أنواع الصنوبر *Pinus* في المشاتل إلى النوع *Fusarium circinatum* (Vogler وزملاؤه، 2004 وBragança وزملاؤه، 2009 وSteenkamp وزملاؤه، 2012). كما سُجل النوع *Fusarium temperatum* لأول مرة مسبب للفحة الشتول وعفن الساق على الذرة في إسبانيا (Scauflaire وزملاؤه، 2011)، وللتأكد من أن الفطر Fusarium هو المسبب لهذه الظاهرة أُجريت عدوى اصطناعية على أصول بذرية تستخدم عادةً لإنتاج غراس اللوزيات في مشتل عرى الزراعي، ومن هذه الأصول البذرية اللوز البري *A. korschinskii* واللوز الشرقي *A. orientalis*. أظهرت النتائج أن الأعراض بدأت تظهر على غراس كلا النوعين المختبرين بعد 3 إلى 5 أشهر من الزراعة، حيث لوحظ تغير في اللون عند قاعدة الساق عند مستوى سطح التربة، كما أصبحت الساق في منطقة الإصابة رفيعة (الشكل 3)، وفي بعض الأحيان غير قادرة على حمل الغرسة مما يؤدي إلى سقوطها على الأرض، وهي ذات الأعراض التي ظهرت على الغراس في المشتل، وقد وصلت نسبة الموت في غراس كلا النوعين إلى أكثر من 90 %. كما تبين بعد إجراء العزل مرة أخرى من الغراس المعداة اصطناعياً أن الفطر المعزول هو الفطر ذاته الذي تم عزله من مناطق الإصابة في المرة الأولى، وهذا يؤكد أن الفطر Fusarium هو المسبب لموت غراس اللوزيات في المشتل. ومن خلال مقارنة الصفات الشكلية للمزارع الفطرية والأبواغ الكونيدية للفطر المسبب مع صفات الأنواع المعروفة سابقاً، لم نستطع إتباع العزلات المتحصل عليها لأي من هذه الأنواع بالاعتماد على صفاتها الشكلية، فمن المحتمل أن تمثل هذه العزلات نوعاً جديداً من الفيوزاريوم، ولكن تأكيد ذلك يتطلب إجراء اختبار تفاعل البلمرة التسلسلي PCR وتحليل تتابع نيكليوتيدي Sequencing، والذي يمكن أن يتم لاحقاً عندما تتوافر الإمكانات اللازمة. وأخيراً فإن هذا البحث يعد التسجيل الأول للفطر *Fusarium* sp. مسبباً لعفن التاج وموت بادرات اللوز في المشاتل في سورية، وقد يكون في منطقة الشرق الأوسط.

الاستنتاجات والمقترحات

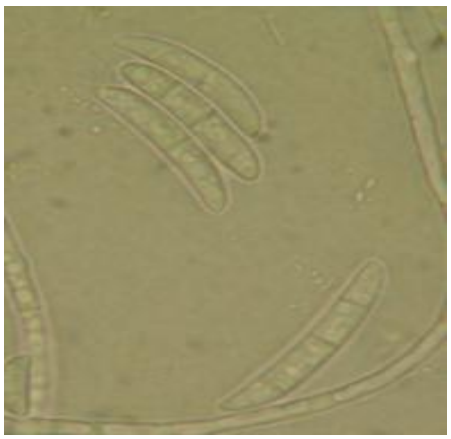
ينتج موت غراس اللوز في مشتل عرى التابع لمديرية الزراعة في محافظة السويداء عن الفطر *Fusarium* sp. . لذلك تقترح الدراسة على الفنيين إتباع دورة زراعية لا تتكرر فيها زراعة اللوز قبل 2 إلى 3 سنوات في نفس المكان من أرض المشتل، وتبوير الأرض لعدة سنوات، وتعقيم تربة المشتل بالأشعة الشمسية (Solarization) في حال توافرت الإمكانات اللازمة لذلك، كما تُقترح إجراء اختبار زراعة بذور لوز في قطعة تجريبية من أرض المشتل والتي ظهرت فيها الإصابة قبل إعادة زراعته من جديد بشكل كامل لتخفيف التكاليف المادية فيما لو كانت هذه المشكلة مازالت قائمة.

المراجع

- **المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية**. 2012. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي في الجمهورية العربية السورية، الجدول (166).

- **Akinsanmi, O. A., V. Mitter, S. Simpfendorfer, D. Backhouse and S. Chakraborty**. 2004. Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. Aust. J. Agric. Res. 55:97-107.
- **Azizi, Z., J. Amini, M. Sheikholeslami and S. Abbasi**. 2013. Pathogenicity of some isolates of *Pythium* and *Phytophthora* on detached shoots and seedlings of almond. J. Plant Path., 49 (1) : 11 – 13.
- **Belisario, A., L. Luongo, S. Vitale and A. Santori**. 2010. First Report of *Fusarium semitectum* as the Agent of Twig Cankers on Persian (English) Walnut in Italy, *Plant Disease* 94(6): 791
- **Bragança, H., E. Diogo, F. Moniz and P. Amaro**. 2009. First report of pitch canker on Pines caused by *Fusarium circinatum* in Portugal. Plant Disease, 93 (10), p. 1079.
- **Chakraborty, S., C. J. Liu, V. Mitter, J. B. Scott, O. A. Akinsanmi, S. Ali, R. Dill-Macky, J. Nicol, D. Backhouse and S. Simpfendorfer**. 2006. Pathogen population structure and epidemiology are a key to wheat crown rot and Fusarium head blight management. Plant Pathol. 35:1-13.
- **C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria**. 1986. Commonwealth Mycological Institute (Great Britain).
- G**aribaldi, A., P. Pensa, D. Bertetti, A. Poli and M. L. Gullino**. 2011. First report of basal stem rot of apple cactus (*Cereus peruvianus monstruosus*) caused by *Fusarium oxysporum* in Italy. Plant Disease 95 (7): 877-877.
- **Kurbetli, I. and K. Değirmenci**. 2010. First Report of Root and Crown Rot of Almond Caused by Phytophthora spp. in Turkey. Plant disease. 94 (10), P. 1261.
- **Kurbetli, I and K. Değirmenci**. 2011. First report of *Phytophthora* taxon *niederhauserii* causing decline of almond in Turkey. *New Disease Reports* 23 (14), [http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2011.023.014]
- **Leslie, J. F. and B. A. Summerell**. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Ames (IA): Blackwell Publishing.
- **Marek, S. M. and R. M. Bostock**. 2013. *Fusarium* spp., *Cylindrocarpon* spp. and environmental stress in the etiology of a canker disease of cold-stored fruit and nut tree seedlings in California. Plant Diseases. 97(2): 259-270.
- **Scauflaire, J., M. Gourgue and F. Munaut**. 2011. *Fusarium temperatum* sp. nov. from maize, an emergent species closely related to *Fusarium subglutinans* Mycologia 103:586-597.
- **Smiley, R. W., J. A. Gourlie, S. A. Easley, L. M. Patterson and R. G. Whittaker**. 2005. Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. Plant Dis. 89:595-604.
- **Steenkamp, E. T., C. A. Rodas, M. Kvas and M. J. Wingfield**. 2012. *Fusarium circinatum* and pitch canker of *Pinus* in Colombia. *Australasian* Plant Pathology, 41(5): 483-491.
- **Triki, M. A., A. Rhouma, A. C. Chaabouni and R. Ioos**. 2011. Emergence of *Fusarium solani* causing root rot of pistachio trees in Tunisia. ACTA HORT. (ISHS) 912:717-721 HTTP://WWW.ACTAHORT.ORG/BOOKS/912/912_107.HTM
- **Vogler, D. R., T. R. Gordon, B. J. Aegerter, S. C. Kirkpatrick, G. A. Lunak, P. Stover and P. Violett**. 2004 First Report of the Pitch Canker Fungus (*Fusarium circinatum*) in the Sierra Nevada of California Plant. Disease 88(7), p. 772.

الشكل 1. تغير في اللون وتقرح المنطقة المصابة عند قاعدة الساق في الغراس الميتة، مع ملاحظة ظهور نموات حديثة تحت منطقة الإصابة.



الشكل 2. الأبواغ الكونيدية الكبيرة Macroconidia للفطر *Fusarium* sp. المسبب لموت غراس اللوز في المشتل.

الشكل 3. أعراض الإصابة عند قاعدة الساق على الغراس المعداة اصطناعياً بالفطر *Fusarium* sp.

N° Ref: 549