

التحري عن الفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا وتأثيرها في المجموع الخضري للنبات

كامل سلمان جبر
استاذ
قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة بغداد
Kamil_s_juber@yahoo.com

رحمن عيسى سعيد
مدرس مساعد
قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة
ahmanissa52@gmail.com

المستخلص

اجريت هذه الدراسة للكشف عن الفطريات الداكنة *Dematiaceous hyphomycetes* المرافقة لبذور الزينيا واختبار مقدرتها الامراضية وتأثيرها في انبات البذور واصابة المجموع الخضري. بينت نتائج العزل والتشخيص وجود 8 انواع من الفطريات الداكنة مرافقة لبذور الزينيا. وكان النوع *Alternaria alternata* هو السائد اذ ظهر في 81.8% من العينات وكان أعلى تكرار له 77% في العينة 1 التي جمعت من منطقة ابو غريب - كلية الزراعة. بينت نتائج الاختبار الاولي للكشف عن العزلات الممرضة بأستعمال بذور اللهانة ان عزلات الفطريات المختبرة البالغة 34 احدثت خفضا معنويا في النسبة المئوية لانبات بذور اللهانة قياسا بمعاملة السيطرة بأستثناء العزلة (B18) للنوع *Phoma eupyrena*. اعطت العزلتان H7 و B39 للفطر *A. alternata* أعلى خفض في نسبة الانبات اذ كانت نسبة الانبات في معامليتهما 0% قياسا بمعاملة السيطرة 98%. واوضحت نتائج اختبار تأثير العزلات الممرضة في نسبة انبات بذور الزينيا في المختبر والتي تضمنت تجربتين ان العزلات المستخدمة احدثت خفضا معنويا في النسبة المئوية لانبات بذور الزينيا قياسا بمعاملة السيطرة بأستثناء العزلة H6. واعطت العزلتان B39 و H7 للفطر *A. alternata* أعلى نسبة خفض معنوي في الانبات اذ كانت نسبة الانبات في معامليتهما 18% و 20% على التتابع قياسا بمعاملة السيطرة (98%). واطهرت نتائج رش المجموع الخضري لنباتات الزينيا عمر 21 يوما بعالق ابواغ الفطريات المختبرة تحت ظروف البيت الزجاجي ان جميع العزلات المستخدمة وهي H7 و B39 (*A. alternata*) ، A13 (*D. state of cochliobolus spicifer*) و B8 (*P. exigua*) كانت ممرضة لنبات الزينيا وينسبة مرض عالية بلغت 100% . و تراوحت شدة المرض بين 65 - 80% قياسا بمعاملة السيطرة التي كانت نسبة وشدة المرض في معامليتها 2.5%. كما ادت جميع العزلات الى خفض معايير نمو النبات.

الكلمات المفتاحية: المقدرة المرضية، نسبة الانبات، شدة المرض
البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 47(4):1101-1110, 2016

Saeed & Juber

DETECT THE FUNGI THAT ASSOCIATED WITH ZINNIA SEEDS AND IT'S EFFECT TO PLANT GROWTH STAGE

R. I. Saeed
Assist Lecturer
rahmanissa52@gmail.com

K. S. Juber
Prof.
Kamil_s_juber@yahoo.com

ABSTRACT

This study was carried out to detect the Dematiaceous hyphomycetes fungi that associated with Zinnia seeds and to test their pathogenicity and effect on seed germination and foliage. Results of isolation and identification showed the existence of 8 species of these fungi associated with Zinnia seeds. *Alternaria alternata* was presented in 81.8% of seed samples with highly rate of frequency 77% in sample No.1. The preliminary test of the pathogenicity by cabbage seeds which included three separated experiments, showed that the 34 tested isolates caused a significant reduction in the rate of cabbage seeds germination except B18 isolate (*Phoma eupyrena*). Isolates B39 and H7 (*Alternaria alternata*) were highly Pathogenic which the percentage of germination in their treatments were 0% compared to 98% in the control. Also test the results of effect of pathogenic isolates on Zinnia seeds germination by using blotter method which included two experiments, Showed that all isolates caused a significant reduction in Zinnia seeds germination in comparing with control treatments except H6 isolate. two isolates B39 and H7 (*A. alternata*) gave a highly significant reduction which the percentage of germination in their treatments was 18% and 20% respectively compared with control treatment. Under green house conditions, isolated H7 and B39 (*A. alternata*) , A13 (*D. state of cochliobolus spicifer*) and B8 (*P. exigua*) were pathogenic for Zinnia plants with 100% disease incidence and 65-80% disease severity in comparing with control which the disease incidence and severity in their treatment was 2.5%. All these isolates significantly decreased the plant growth parameters.

Key words: Pathogenicity, Percentage of germination , disease incidence .

*Part of MSc thesis of first author

المقدمة

الزينيا *Zinnia elegans* Jacq نبات حولي نو ازهار جميلة زاهية الالوان تابع للعائلة النجمية Asteraceae، ويعد احد الازهار الشائعة التي تنتشر زراعتها بالبذور صيفاً وخريفاً وفي مختلف انحاء العالم (28، 34). يصاب هذا النبات بعدد من الأنواع الفطرية وكذلك الفيروسات والبكتريا والفابيتولازما (16، 27). تعد البذور وسيلة فعالة في انتشار مسببات المرضية من حقل لآخر ومن منطقة لآخرى ومن بلد لآخر، وتعتبر البذور الحاملة للمسببات الفطرية المصدر الرئيسي لأمراض النباتات ومنها تلك التي تصيب المجموع الخضري، وقد تحمل البذور الفطريات اما كتلوث خارجي فتحمل مرافقة للبذور دون الالتصاق بها او تكون على شكل لقاح سطحي فيوجد لقاح الفطر على سطح البذرة او في غلاف الثمرة او يكون على شكل لقاح داخلي اذ يوجد في انسجة غلاف البذرة او في السويداء في الجنين، وقد ينجح اي من اللقاح اعلاه عند توفر الظروف الملائمة له في احداث اصابة للبذور قبل او اثناء انباتها او للبادرات والنباتات البالغة ويحدث امراضا مختلفة (1، 21، 26)، يعد الفطر الداكن *Alternaria alternata* واحدا من الانواع الواسعة الانتشار في العالم ويوجد كمتطفل اختياري وسرعان ما يغير سلوكه الى مسبب رئيسي فيؤدي الى ظهور المرض و تسريعه على العائل (19) وهو من الفطريات المصاحبة للبذور التي تعد المصدر الاولي للاصابة (9) ولديه القدرة على انتاج العديد من السموم التي يسهم بعضها في احداث الاصابة (35) كما تصاب الزينيا بعدد اخر من الفطريات الداكنة Dematiaceous hyphomycetes منها الأنواع العائدة إلى الاجناس : *Curvularia*، *Drechslera*، *Phoma* و *Ulocladium* (24، 32). نظرا لاهمية نبات الزينيا الذي تنتشر زراعته بالبذور التي قد تكون حاملة للفطريات الداكنة المتحملة للظروف والتي تؤثر على البذور عند زراعتها وتحدث اصابة في المجموع الخضري مما يؤثر على جمالية النبات وتسويقه، لذلك هدفت هذه الدراسة الى تشخيص الفطريات المرافقة لبذوره وتقييم تأثيرها في انبات البذور واصابة المجموع الخضري.

المواد وطرائق العمل

عزل وتشخيص انواع الفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا

جمعت سبع عينات من بذور الزينيا *Zinnia elegans* Jacq من مناطق في بغداد للفترة من 2012/7/2 حتى 2012/10/17 وهي: (1) ابو غريب، (2) حي البنوك، (3) الزعفرانية، (4) الكريعات، (5) مدينة الصدر، (6) الدورة، و(7) الزوراء. وضعت كل عينة في كيس من البولي اثيلين سجل عليه اسم منطقة الجمع وتاريخه وحفظت في الثلاجة بدرجة 4 م° لحين اجراء العزل منها. كذلك تم الحصول على 4 عينات من بذور الزينيا المستوردة من انكلترا وغير المعفرة التي يمتد تأريخ صلاحيتها الى عام 2017، وهي Pink zinnia (8)، Red zinnia (9)، Yellow zinnia (10) و Pompon liliput (11). لأجراء العزل تم اخذ 400 بذرة من كل عينة بشكل عشوائي، وعقمت سطحياً بمحلول هايبيوكلوريت الصوديوم (1% كلور حر) لمدة دقيقتين. بعدها غسلت بالماء المعقم وجففت بورق ترشيح معقم، وزرعت في اطباق بتري قطر 9 سم حاوية على الوسط الزراعي أكار الديكستروز والبطاطا Potato Dextrose Agar (PDA) بمقدار 10 بذور/طبق. حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 ± 2 لمدة 4 - 5 ايام. نقيت المستعمرات الفطرية النامية على البذور بزرعها على PDA بطريقة البوغ المنفرد، وحضنت في درجة حرارة 25 ± 2 م° لمدة 7 ايام. شخصت انواع والتراكيب الاخرى التي تكونها وبالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية المعتمدة (8، 10، 11). تم حساب النسبة المئوية لظهور الفطر في العينات:

(عدد العينات التي ظهر فيها الفطر/العدد الكلي للعينات) × 100
كما حسبت النسبة المئوية لتكرار الفطر في كل عينة على وفق المعادلة الآتية:-

(عدد البذور الملوثة بالفطر/العدد الكلي للبذور المستخدمة) × 100

اختبارات المقدرة الامراضية

أ- الكشف عن العزلات الممرضة من الفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا باستخدام بذور اللهانة للكشف عن العزلات الممرضة اختيرت 34 عزلة من مختلف انواع فطريات الداكنة المعزولة من عينات بذور الزينيا، باتباع طريقة Bolkan و Butler (5). وزعت هذه العزلات

في المختبر بإستعمال طريقة ورق النشاف بحسب ما اشار اليه Okoro واخرون (25). نميت العزلات الفطرية على الوسط الزراعي PDA. وبعد 7 أيام من عمر المزرعة حضر العالق البوغي لجميع عزلات الفطريات باضافة 10 سم³ من الماء المقطر المعقم وبشكل تدريجي لكل طبق بإستعمال فرشاة ناعمة، جمع العالق البوغي لكل عذلة في دورق زجاجي، ورشح خلال طبقتين من قماش الشاش، اضيفت اليه قطرتان من الزيت المعدني Tween 20 لكسر الشد السطحي للعالق والحيلولة دون تكتلها، وحسب تركيز الابواغ بأستخدام شريحة العد Haemocytometer وضبط التركيز على 1×10⁶ بوغ/سم³ لكل عذلة فطرية. غمرت بذور الزينيا صنف Red Zinnia بالعالق البوغي لكل عذلة ولمدة 40 دقيقة، أما في معاملة السيطرة فقد غمرت البذور بالماء المقطر المعقم فقط، بعدئذ زرت البذور في اطباق يحتوي كل طبق على 3 أوراق نشاف مشبعة بماء مقطر معقم و بمقدار 25 بذرة لكل طبق وبعد اسبوع حسب عدد البذور النابتة ومنها حسبت النسبة المئوية للإنبات.

جدول 1. العزلات التي اختبرت أمراضيتها بإستخدام ورق

النشاف

ارقام العينات التي ظهرت فيها العزلات	رمز العزلات	الفطريات
8 ، 6 ، 2 ، 11 ، 10 ، 9	J1 ، K4 ، K10 ، I6 ، H7 ، J8 ، B39 ، F26	<i>Alternaria alternata</i>
2	B33	<i>Curvularia lunata</i>
6	F2	<i>Drechslera australiensis</i>
5 ، 1	A13 ، E11	<i>D. state of cochliobolus spicifer</i>
11 ، 5 ، 1	E21 ، K5 ، A7	<i>Phoma eupyrena</i>
2	B8	<i>P. exigua</i>
10	J4	<i>Ulocladium oudemansii</i>

ج- تقييم كفاءة عزلات بعض الفطريات الداكنة في اصابة المجموع الخضري للزينيا بإستعمال طريقة الرش بالعالق البوغي

استعمل في هذا الاختبار اربع عزلات تعود الى ثلاثة أجناس من الفطريات التي أثبت الاختبار السابق انها ممرضة وهي *Alternaria alternata* (B39 و H7) و *Drechslera state of cochliobolus spicifer* و *Phoma exigua* (A13) و (B8). حضر لقاح كل عذلة بأضافة 10 سم³ ماء مقطر معقم الى مزرعة الفطر النامية

على ثلاث تجارب: الاولى شملت 16 عذلة للفطر *Alternaria alternata* والثانية شملت عزلتين للفطر *Curvularia lunata* وأربع عزلات للفطر *Drechslera australiensis* وعزلتين للفطر *Drechslera state of cochliobolus* . والثالثة شملت ست عزلات للفطر *Phoma eupyrena* وعزلتين للفطر *P. exigua* وعذلة للفطر *U. oudemansii*، فضلا عن معاملة السيطرة في كل تجربة. تم تحضير اطباق بتري قطر 9 سم تحتوي على وسط الاكر المائي water Agar بنسبة 2 % والمعقم بالموصدة في درجة حرارة 121 م° وضغط 1.5 كغم / سم² ولمدة 20 دقيقة (يحتوي كل طبق على 15 - 20 سم³ من هذا الوسط). لفق كل طبق بقرص قطره 5 ملم اخذ بوساطة ثاقب الفلين من قرب حافة المزرعة الفطرية النامية على الوسط الزرع PDA بعمر خمسة ايام، ولكل عذلة من العزلات المختارة، بعد ثلاثة ايام عقت بذور اللهانة سطحيا بمحلول هايبيوكلوريت الصوديوم 1 % كلور حر ولمدة دقيقة واحدة. بعد الانتهاء من التعقيم السطحي غسلت البذور بالماء المقطر المعقم ثم زرعت بشكل دائري قرب حافة الطبق وبمقدار 25 بذرة لكل طبق، كررت المعاملة بأربعة اطباق لكل عذلة، فضلا عن معاملة السيطرة التي نفذت مع بذور اللهانة من دون الفطر. حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 ± 2 م°. سجلت النتائج بعد 7 أيام من الزراعة بحساب عدد البذور النابتة ومنها حسبت نسبة الإنبات.

ب- تأثير العزلات الممرضة للفطريات الداكنة في انبات بذور الزينيا

لإجراء هذا الاختبار انتخبت 17 عذلة أثبت الاختبار السابق أنها ممرضة (جدول 1) ونفذ في تجربتين : التجربة الأولى شملت 8 عزلات للفطر *Alternaria alternata* وعذلة للفطر *Curvularia lunata* وعذلة للفطر *Drechslera australiensis* و عزلتين للفطر *Drechslera state of cochliobolus* . والتجربة الثانية شملت 3 عزلات للفطر *Phoma eupyrena* وعذلة للفطر *P. exigua* وعذلة للفطر *U. oudemansii* فضلا عن معاملة السيطرة في كل تجربة، ويهدف هذا الاختبار الى معرفة تأثير هذه العزلات الفطرية في إنبات بذور الزينيا

ظهر في 45.5% من العينات وبمعدل تكرار قدره 3.65% وبلغ اعلى تكرار له 10% في العينة رقم 6 التي جمعت من منطقة الدورة بينما سجل النوع الاخر التابع لهذا الجنس وهو *D. state of cochliobolus spicifer* ظهورا في 3 عينات فقط بمعدل تكرار قدره 1.5%. وقد عزل Mebalds واخرون (24) الجنس *Drechslera* كفطر مرافق لبذور الزينيا من دون تحديد النوع مما يعد تسجيلا جديدا لهذين النوعين. عزل الفطر *Ulocladium atrum* من 4 عينات بمعدل تكرار قدره 0.95% وبلغ اعلى تكرار له 1.1% في العينة رقم *U. oudemansii*, *Ulocladium atrum*, *D. australiensis*, *P. exigua*, *Phoma eupirina* (جدول 2) وهي تشخص لأول مرة على نبات الزينيا في العراق. واطهرت النتائج ان الفطر *Alternaria alternate* هو السائد اذ ظهر في 81.8% (شكل 1) من العينات المدروسة وبمعدل تكرار بالبذور 20.4% وكان اعلى تكرار له في العينة رقم 1 التي جمعت من منطقة ابو غريب - كلية الزراعة وهو 77%. ان وجود الفطر في معظم العينات يتفق مع ما وجدته العديد من الباحثين مثل *Kiecana* و *Mielniczuk* (16) و *Mebald* واخرون (24) و *O'Neill* (26) و *Richardson* (29) و *Szopinska* و *Wojtaszek* و *Tylkowskq* (32) و *Szopinska* و *Wojtaszek* (33). وهذا ربما ناتج عن تكرار زراعة هذا النبات في هذه المناطق مما ادى الى تراكم لقاح الفطر فيها، كما ان الفطر قد يكون كامنا في اعماق البذور مما وفر له حماية من تاثير التعقيم السطحي (1,7,16,19). اما التكرار العالي لهذا النوع في عينة ابو غريب فقد يعود الى البيئة الملائمة وتكرار زراعة البذور في الموضع نفسه. ولم يتمكن من عزل الفطر من العينتين اللتين جمعنا من الزعفرانية والزوراء وقد يعود سبب ذلك الى زراعة هذا النبات لأول مرة في هذه المناطق مما يعني عدم تركيز اللقاح الفطري فيها، ويأتي من بعده الفطر *Phoma eupirina* حيث ظهر في 27.7% من العينات مسجلا معدل تكرار قدره 15.3%، وكان اعلى تكرار له 80% في العينة رقم 2 التي جمعت من حي البنوك، وربما تعود هذه النسبة العالية لوجود هذا النوع من العينات وتكراره في البذور الى وجوده داخل اغلفة البذور وهربه من التعقيم المتمثلة بالصنف المستورد *Yellow zinnia*، بينما سجل النوع *U. oudemansii* ظهورا في عينتين فقط وبلغ

على الوسط الزرعي PDA بعمر 7 أيام، تمت ازالة الابواغ باستعمال فرشاة ناعمة، ورشح العالق البوغي من خلال طبقتين من قماش الشاش المعقم، واستحصل التركيز $10^6 \times$ بوغ/سم³ بشريحة Haemocytometer بالتخفيف بالماء المقطر، ورشت نباتات الزينيا المزروعة في اصص بقطر 17 سم بمقدار 8 نباتات لكل اصيص بالعلق البوغي بعد 21 يوماً من الإنبات باستعمال مرشة يدوية معقمة خاصة بكل فطر بمقدار 10 سم³ لكل مكرر. اما معاملة السيطرة فقد رشت بالماء المعقم فقط، غلفت الاصص بأكياس البولي ايثيلين المثقب ووضعت في البيت الزجاجي تحت درجة حراره 25 - 30م°، على وفق التصميم تام التعشبية، استعملت 4 مكررات لكل معاملة، وأعيد الرش بالعلق البوغي بعد يومين لضمان حصول الاصابة (37). رفعت الاكياس بعد 3 أيام، وبعد 30 يوماً سجلت الاعراض على الاوراق وقدرت شدة المرض على وفق الدليل الآتي:

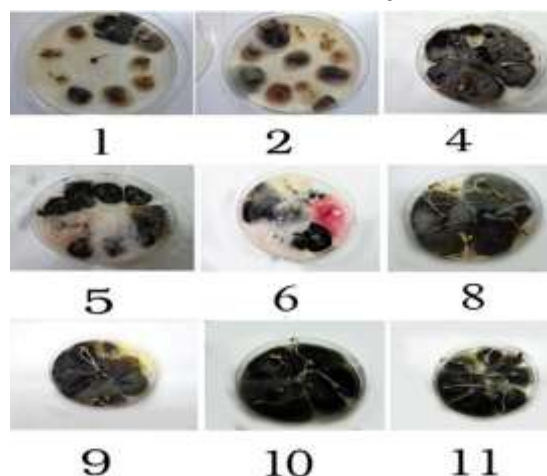
0 = الورقة سليمة، و 1 = تغطي البقع 1 - 20 % من مساحة الورقة، و 2 = تغطي البقع 21 - 40 % من مساحة الورقة، و 3 = تغطي البقع 41 - 60 % من مساحة الورقة و 4 = تغطي البقع 61 - 80 % من مساحة الورقة، و 5 = تبقع الورقة بأكملها وموت النبات. (15). وقدرت النسبة المئوية لشدة المرض على وفق معادلة Mckinney (23). كما حسب الوزن الرطب والجاف ومعدل ارتفاع النباتات وأعيد عزل الفطريات من النباتات المصابة للتأكد من ان الاصابة ناتجة عن الفطريات المستخدمة في التجربة .

النتائج والمناقشة

أ- عزل وتشخيص الفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا تم عزل وتشخيص ثمانية انواع من الفطريات الداكنة وهي *Curvularia lunata*, *Alternaria alternata*, *Drechslera state of cochliobolus spicifer* السطحي او انه من الفطريات التي تنتقل داخل البذور. وأشار بعض الباحثين الى عزل الجنس *Phoma* من بذور الزينيا (24,33) من دون الاشارة الى هذا النوع او الى النوع الاخر *P.exigua* الذي ظهر في 3 عينات وكان معدل تكراره 34% واعلى تكرار له 71% في العينة رقم 2 التي جمعت من حي البنوك، مما يعد تسجيلا جديدا لهذين النوعين. كما سجل الفطر *Drechslera australiensis* الترتيب الثالث بين الفطريات المعزولة اذ

خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لإنبات بذور اللهانة قياساً بمعاملات السيطرة بأستثناء عزلة الفطر *Phoma eupyrina* (B18) (جداول 3-5). تراوحت نسبة الإنبات في عزلات الفطر *Alternaria alternata* بين 0-94% قياساً بمعاملات السيطرة التي كانت نسبة الإنبات في معاملتها 99% (جدول 3). اعطت العزلتان B39 و H7 أعلى نسبة خفض في الإنبات إذ كانت نسبة الإنبات في معاملتيهما 0% في حين اعطت العزلة E12 أقل نسبة خفض في الإنبات فقد كانت نسبة الإنبات في معاملتها 94%. وكانت نسبة الإنبات في معاملات عزلات الأنواع *Drechslera australeinsis* و *Curvularia lunata* و *D. state of cochliobolus spicifer* (جدول 4) وقد احدثت العزلة A13 أعلى نسبة خفض في الإنبات (25%) في حين لم تحدث 50% من العزلات نسبة خفض عالية بالإنبات. كما كانت العزلات العائدة لأنواع الجنس *Phoma* و *Ulocladium* متباينة التأثير في نسبة الإنبات إذ تراوحت نسبة الإنبات في معاملات جميع العزلات بين 34 - 96% قياساً بمعاملات السيطرة التي كانت نسبة الإنبات في معاملتها 97% (جدول 5). وقد يعود اختلاف العزلات في تأثيرها في النسبة المئوية للإنبات الى الاختلاف الوراثي بين عزلات الفطر التي جمعت من مناطق مختلفة وقد اشير الى تأثير هذا العامل في عدد من الدراسات التي اجريت على أنواع نباتية مختلفة (3، 22).

معدل تكراره فيها 1%. وأشار Szopinska و Tylkowska (33) الى هذا الجنس من دون الاشارة الى النوع. وتكرر الفطر *Curvularia lunata* في عينتين بمعدل ضئيل قدره 0.87%.



شكل 1. سيادة النوع *Alternaria alternata* في

عينات البذور التي جرى العزل منها

الارقام تمثل ارقام العينات التي عزلت منها الفطريات
اختبارات المقدرة الأمراض

ب- الكشف عن العزلات الممرضة للفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا باستعمال بذور اللهانة
اظهرت نتائج التجارب الثلاث التي استخدمت للكشف عن العزلات الممرضة للفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا باستخدام بذور اللهانة ان جميع عزلات أنواع الفطريات العائدة الى الاجناس *Curvularia*، *Alternaria*، *Drechslera*، *Ulocladium*. قد احدثت

جدول 2. أنواع الفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا ونسب تكرارها في العينات المختبرة

الفطر	رقم العينة التي ظهر فيها الفطر	(%) تكرار الفطر		% لظهور الفطريات بالعينات
		أقل تكرار	أعلى تكرار	
<i>Alternaria alternata</i> (Fres) Keissler	1، 2، 4، 6، 11-8	0.25	77.00	81.81
<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn	9، 2	0.75	1.00	81.81
<i>Drechslera australiensis</i> (Bugnicourt) Subram and Jain	1، 2، 4، 6	0.25	10.00	45.45
<i>D. state of cochliobolus spicifer</i>	1، 2، 5	1.00	2.00	27.27
<i>Phoma eupyrina</i> Sacc.	1، 2، 4، 6، 11-9	0.50	80.00	72.72
<i>P. exigua</i> Desm.	2، 6، 11	13.00	71.00	27.27
<i>Ulocladium atrum</i> Preuss	2، 5، 10، 11	0.75	1.10	36.36
<i>U. oudemansii</i> Simmouss	2، 10	0.50	1.50	18.18

عدة دراسات الى ان بعض أنواع الجنس *Alternaria* تنتج عدداً من الانزيمات مثل Pectinase و Cellulase لتحليل مكونات النسيج النباتي (17، 18). وربما ينتج عنه كذلك

وان الاختلاف الوراثي ربما ينتج عنه اختلاف في افراز الانزيمات فالفطريات الممرضة توظف خليطاً من النشاط الانزيمي والضغط الميكانيكي لاختراق العائل، وقد اشارت

Ulocladium و *Phoma* احدثت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لإنبات بذور الزينيا قياساً بمعاملة السيطرة بإستثناء العزلة *A. alternata* (H6) (جدول 6 و7). تراوحت نسبة الإنبات في عزلات الفطر *A. alternata* بين 18 - 93 % قياساً بمعاملة السيطرة التي كانت نسبة الإنبات في معاملتها 98% (جدول 6). واعطت العزلتان B39 و H7 أعلى نسبة خفض في الإنبات (شكل 2) إذ كانت نسبة الإنبات في معاملتيهما 18% و 20% بالتتابع، في حين اعطت العزلة H6 اقل نسبة خفض في الإنبات حيث بلغت نسبة الإنبات في معاملتها 93%.

جدول 5. تأثير عزلات الفطريات *Phoma eupyrena* و

U. atrum و *P. exigua* و

audemansii في إنبات بذور اللهانة

الفطر	العزلة	% للإنبات
<i>P. eupyrena</i>	A7	35
	A36	83
	A23	87
	B18	96
	E21	46
<i>P. exigua</i>	K5	37
	B8	34
	K7	77
<i>U. atrum</i>	B34	86
<i>U. audemansii</i>	J4	44
السيطرة		97
L.S.D تحت مستوى 0.05		6.7

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

كانت نسبة الإنبات في معاملات عزلات الفطر *Curvularia lunata* و *Drechslera state of australiensis* و *D. state of cochliobolus spicifer* 27-70% قياساً بمعاملة السيطرة التي كانت نسبة الإنبات في معاملتها 98% (جدول 6) . ونتج عن الفطر *D. state of cochliobolus spicifer* (A13) أعلى نسبة خفض في الإنبات 27%. تباينت العزلات العائدة لأنواع الجنسين *Phoma* و *Ulocladium* بتأثيرها في نسبة الإنبات فقد تراوحت نسبة الإنبات في جميع معاملتها بين 32 - 80 % قياساً بمعاملة السيطرة التي كانت نسبة الإنبات في معاملتها 98% (جدول 7) . جاءت نتائج هذا الاختبار مؤكدة لنتائج الاختبار السابق إذ اتضح من هذه النتائج (جدول 6 و 7) أن العدد الأكبر من العزلات الفطرية البالغ عددها 17 ضعيفة الأمراض إذ تراوحت نسبة إنبات

اختلاف في كمية المواد السامة التي تفرزها للمساعدة على الاختراق (36). ويتميز الفطر *A. alternata* بقدرته على إنتاج أنواع مختلفة من السموم phytotoxins التي تسهم في غزو النسيج النباتي واحداث الاصابة مثل Tenuazonic acid (35).

جدول 3. تأثير عزلات الفطر *Alternaria alternata* في

إنبات بذور اللهانة

العزلة	% للإنبات
A1	93
A6	63
A35	87
B39	0
D1	73
E12	94
F10	71
F26	20
H1	71
I4	79
H6	34
H7	0
J8	32
K4	30
K10	12
J1	4
السيطرة	99
L.S.D. تحت مستوى 0.05	4.9

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

جدول 4. تأثير عزلات الفطريات *Drechslera state of*

D. australiensis و *cochliobolus spicifer*

و *C. lunata* في إنبات بذور اللهانة

الفطر	العزلة	% للإنبات
<i>C. lunata</i>	B32	66
	B33	42
	A11	82
<i>D. australiensis</i>	B5	79
	D9	74
	F2	39
<i>D. state of cochliobolus spicifer</i>	A13	25
	E11	30
السيطرة		98
L.S.D تحت مستوى 0.05		6.1

كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

3- تأثير العزلات الممرضة للفطريات في إنبات بذور الزينيا

ظهر من نتائج التجريبتين اللتين اجرينا لمعرفة تأثير بعض العزلات الممرضة للفطريات الداكنة المرافقة لبذور الزينيا بطريقة ورق النشاف، ان جميع عزلات الفطريات العائدة للاجناس *Alternaria* ، *Curvularia* ، *Drechslera* ،

بين 12.67 – 15.97 سم قياسا بمعاملة السيطرة التي بلغ معدل طول النباتات فيها 22.17 سم، وأحدثت عزلة الفطر *A. alternata* (H7) أعلى خفض في الطول اذ بلغ معدله في معاملتها 12.67 سم، فيما أحدثت عزلة الفطر *P. exigua* (B8) ادى خفض معنوي اذ بلغ المعدل في معاملتها 15.97 سم قياسا بمعاملة السيطرة .

جدول 6. تأثير عزلات الفطريات *Alternaria alternata*

و *Curvularia lunata* و *Drechslera*

D. state of cochliobolus و *australiensis*

spicifer في إنبات بذور الزينيا بطريقة ورق النشاف

الفطر	العزلة	% للإنبات
<i>Alternaria alternata</i>	B39	18
	F26	66
	H6	93
	H7	20
	J8	80
	J1	55
	K4	86
<i>Curvularia lunata</i>	K10	77
	B33	70
<i>Drechslera australiensis</i>	F2	63
<i>D. state of cochliobolus spicifer</i>	A13	27
	E11	54
السيطرة		98
L.S.D تحت مستوى 0.05		7.08

كل رقم في الجدول يمثل معدلا لأربعة مكررات

جدول 7. تأثير عزلات الفطر *Phoma eupyrena* و

P. exigua و *Ulocladium audemansii* على إنبات

بذور الزينيا بطريقة ورق النشاف

الفطر	العزلة	% للإنبات
<i>Phoma eupyrena</i>	A7	71
	E21	80
<i>P. exigua</i>	K5	60
	B8	32
<i>Ulocladium audemansii</i>	J4	64
		98
السيطرة		98
L.S.D تحت مستوى 0.05		7.61

كل رقم في الجدول يمثل معدلا لأربعة مكررات



شكل 2. تأثير العزلتين H7 و B39 في إنبات بذور الزينيا

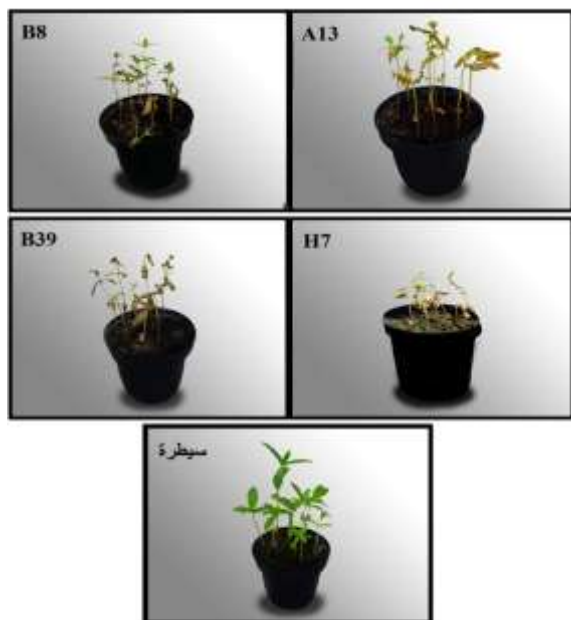
بطريقة ورق النشاف

بذور الزينيا في معاملاتها بين 54 – 93 % وكانت هناك عزلتان متوسطتا الأمراض اذ كانت نسبة إنبات بذور الزينيا في معاملتها 27 – 32% وهما A13 *D. state of* *cochliobolus spicifer* و B8 *P. exigua* في حين كانت هناك عزلتان عالية الأمراض اذ بلغت نسبة الإنبات في معاملتها 18 و 20% وهما : B39 و H7 *(A. alternata)*. على الرغم من أن الانخفاض في نسبة إنبات بذور الزينيا ليس عالياً مع أكثر العزلات الفطرية الا انه مهم حقلياً؛ يضاف الى ذلك تأثير بعض الفطريات والمسببات الاخرى في المراحل اللاحقة من عمر النبات وموت البادرات وتأثيرها في المجموع الخضري والجذري وانعكاس ذلك على معدل نمو النبات و تزهيده (2، 6، 31). يعزى التباين في تأثير العزلات العائدة لمختلف الاجناس بتأثيرها في نسبة إنبات بذور الزينيا الى عدة عوامل منها الحالة المظهرية للبذور، ومراحل تطورها (1، 12) فضلا عن العوامل التي اشير اليها في الاختبار السابق وهي الاختلاف الوراثي بين العزلات (3) والذي ربما يؤدي الى الاختلاف في افراز الانزيمات المحللة لخلايا العائل او افراز المواد الايضية ذات التأثير السام التي تؤدي الى فشل الإنبات (4، 13، 17) ومن ثم التباين في نشاط الفطريات في اصابة البذور (1) .

4 - تقييم كفاءة عزلات بعض الفطريات الداكنة في اصابة المجموع الخضري

أظهرت النتائج ان العزلتين H7 و B39 للفطر *A. alternata* والعزلة A13 للفطر *spicifer* و *Drrechslera state of cochliobolus* والعزلة B8 للفطر *Phoma exigua* كانت ممرضة لنبات الزينيا اذ احدثت نسبة مرض عالية بلغت 100% وبفروق معنوية كبيرة عن معاملة السيطرة التي كانت نسبة المرض فيها 2.5%، كما احدثت هذه العزلات شدة مرض عالية تراوحت بين 65 – 80 % قياسا بمعاملة السيطرة التي كانت النسبة المئوية لشدة المرض في معاملتها 2.5% واحدثت العزلتان H7 و B39 للفطر *A. alternata* أعلى شدة مرض بلغت 80% و 70% على التتابع قياسا بمعاملة السيطرة ، بينما احدثت العزلة B8 للفطر *P. exigua* أقل شدة مرض بلغت 65% (جدول 8 و شكل2). أثرت هذه العزلات الفطرية الاربع تأثيرا معنوياً في طول النباتات اذ تراوح معدل طولها

P. exigua و *D. state of cochliobolus spicifer* نظراً لما أحدثاه من نسبة وشدة مرض عاليتين وخفض مهم في الوزن الرطب والجاف للنباتات ، ولا شك في ان ارتفاع نسبة الرطوبة في البيت الزجاجي هيأ ظروفًا ملائمة لنمو هذه الفطريات مما أدى الى الحاق هذا الضرر الكبير بالمجموع الخضري للنباتات.



شكل 3. تأثير بعض الفطريات الداكنة في إصابة المجموع الخضري لنبات الزينيا

أدت الإصابة بالفطريات الممرضة الى خفض الوزن الرطب والجاف للنباتات اذ تراوح معدل الوزن الرطب في جميع معاملات عزلات الفطريات الاربع بين 3.07 – 4.03 غم، بينما تراوح معدل الوزن الجاف بين 0.58 – 0.79 غم قياساً بمعاملة السيطرة التي كان المعدل فيها 8.23 و 1.58 غم على التتابع. وحدثت عزلتنا الفطر *A. alternata* (H7 و B39) أعلى خفض معنوي للوزن الرطب والجاف في معاملتيهما بلغ 3.07 ، 3.57 غم و 0.58 ، 0.62 غم على التتابع. تأتي هذه النتائج مؤكدة لنتائج التجارب السابقة على فعالية الفطر *A. alternata* بعزلاته المختلفة في رفع نسبة وشدة المرض وتقليل الوزن الرطب والجاف للنباتات، وهذه النتائج مطابقة للدراسات التي اشارت الى هذا الفطر كأحد مسببات الممرضة المعروفة المرافقة لبذور الزينيا والتي تحدث ضرراً كبيراً في هذا النبات (20، 26، 29، 30). ويعد هذا الفطر واحداً من الأنواع الواسعة الانتشار في العالم كمتطفل اختياري وهو مصدر للإصابة الأولية اذ يؤدي الى ظهور المرض على النبات (9، 19) ويتميز هذا الفطر بقدرته على انتاج مختلف السموم التي تسهم في غزو النسيج النباتي واحداث المرض (35). وعلى الرغم من ان بعضهم عزل الجنسين *Drechslera* و *Phoma* من بذور الزينيا من دون الاشارة الى النوع او الى احداثهما للإصابة، الا ان النتائج التي توصلنا اليها تشير الى الاهمية المرضية للنوعين

جدول 8. تأثير الرش بعالق ابواغ بعض عزلات الفطريات الداكنة في نباتات الزينيا عمر 21 يوماً تحت ظروف البيت الزجاجي

الفطر	العزلة	نسبة المرض (%)	شدة المرض (%)	معدل طول النبات (سم)	
				الرطب	الجاف
<i>Alternaria alternata</i>	B39	100	70.0	3.57	0.62
	H7	100	80.0	3.07	0.58
<i>Drechslera state of cochliobolus spicifer</i>	A13	100	67.5	4.00	0.76
	B8	100	65.0	4.03	0.79
السيطرة		2.50	2.50	8.23	1.58
L.S.D تحت مستوى 0.05		11.35	11.35	0.17	0.29

كل رقم يمثل معدل اربعة مكررات

REFERENCES

1. Agarwal, V. K. and J. B. Sinclair. 1997. Principles of Seed Pathology. Vol. I, II. CRC Press. Boca Raton. FL.560pp.
2. Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Academic Press Inc. New York. USA. 922pp.

3. Appel, D.J. and T.R. Gordon. 1996. Relationships among pathogenic and non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* based on the partial sequence of the intergenic spacer region of the ribosomal DNA. Mol. Plant-Microbe Interact. 9: 125 – 138.
4. Baker, R.A, H. James and N. J. Stanley. 1981. Toxin production by *Fusarium solani*

- from fibrous roots of blight diseased citrus
Phytopathology 71(9): 951 – 953.
5. Bolkan, H.H. and E. E. Butler. 1974. Studies on heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 64: 513
 6. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*, Commonwealth mycological institute, Kew, Surrey, England, 237pp.
 7. Colbaugh, P.F., W.A. Mackay and S. George. 2001. *Alternaria alternata* flower blight of *Zinnia acerosa* in Texas. Plant Dis. 85: 228.(Abst.)
 8. Domsch, K.H., W. Gams and T. Anderson. 2007. Compendium of soil fungi, Second edition. IHW- Verlag. Eching. 672pp.
 9. Dubey, S. C. and B. Patel. 2000. Mode of perpetuation and spread of *Alternaria* blight of broad bean. Indian Phytopathology. 53(2): 175 – 177 (Abst.) .
 10. Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes, Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England. 608 pp.
 11. Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes, Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England, 507 pp.
 12. Gambogi, P., E. Triolo and G. Vannacci. 1976. Experiments on the behaviour of the seed-borne fungus *Alternaria zinniae*. Seed Sci. Technol. 4: 333 – 340
 13. Inoue, I., F. Namiki and T. Tsuge. 2002. Plant colonization by vesicular with fungus *Fusarium oxysporum* requires FOW1, Gene encoding a mitochondrial protein. The Plant cell, American Society of Plant Biologists 14: 1869- 1883.
 14. Joly, P. 1967. Key for determination of the most common species of the genus *Alternaria* Wiltsh. Emend. Joly. Plant Dis. Rep. 51: 296 - 298.
 15. Kavan, N., H. Zamanizadeh, B. Moride, H. Taheri and S. Hagmanson. 2012. Study on pathogenic and genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from citrus hybrids of Iran, based on RAPD – PCR technique. European J. of Experimental Biology. 2 (3): 570 – 576.
 16. Kiecana, I. and E. Mielniczuk. 2010 Fungi infected the *Zinnia elegans* Jacq .concerning susceptibility of cultivators to selected pathogens. Acta Sci. Pol . Hortorum 9(3): 107 – 160.
 17. Knogge, K. 1998. Fungal pathogenicity. Plant Biology 1:324-328.
 18. Kolattukudy, P. E. 1985. Enzymatic penetration of the plant cuticle by fungal pathogens. Annu. Rev. Phytopathology. 23: 223 – 250.
 19. Kwasana, H. 1992. Occurrence of *Alternaria* species in Poland. In: *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites. Eds J. Chelkowski, and A. Visconti. Elsevier Publishers B. V. Amsterdam, London, New York, Tokyo: 301 – 336.
 20. Machado, J. C., C. J. Longtrak and D. S. Jaccoud – Filho. 2002. Seed borne fungi: a contribution to routine seed health analysis. International Seed Testing Association, Basserdorf, Switzerland. 154pp.
 21. Maude, R. 1996. Infection of seeds. In R.B. Maude: Seedborne diseases and their control, principles and practice. CAB Int., Walingford, U.K. 6-31.
 22. Mc Donald, B. A. 1997. The population genetics of fungi: Tools and Technique . Phytopathology 87 (4): 448 – 453.
 23. McKinney, H. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture of infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum* J. Agric. Res. 26: 156 – 217.
 24. Mebalds, M., B. Henderson, and G. Hepworth. 1997. Development of steam air treatments of control seed-borne diseases of vegetable and flowers .HRDC Project No. NY 536, 1-12pp.
 25. Okoro, J. K., A. O. Nwankiti and E. O. Ogunwolu. 2010. Studies on Soybean pathogens in the southern Guinea Savanna Zone of Nigeria. J. of Animal and Plant Sci. 8(2): 944 – 952.
 26. O'Neill, T.M. 2009. Protected ornamentals .Detection, prevalence and control of seed-borne diseases. Agriculture and Horticulture Dev. Board 252: 1 – 52.
 27. Panday, N. and A. K. Tiwari . 2012. Identification of *Zinnia* leaf curls Virus infecting *Zinnia elegans* in India .ISAAB Journal of Biotechnology and Bioinformatics. 2(1): 6 -10.
 28. Pinto, A., T. Rodrigues, I. Leite and J.C. Barbosa. 2005. Growth retardations on development and ornamental quality of potted *Zinnia elegans* Jacq .Sci. Agric. 62(4):337-345.
 29. Richardson, M. J. 1990. An annotated list of seed – borne disease. International Seed

- Testing Association, Zurich, Switzerland .183-184.
30. Seehachai, W. 2009. Seed Transmission of *Alternaria zinniae* Causing Leaf Spot in Zinnia. Master of Science Degree. Graduate Kasetstart University .64pp
31. Shrestha, S. K., S.B. Mathur and L. Munk. 2000. *Alternaria brassicae* in seeds of rapeseed and mustard, its location in seeds, transmission from seeds to seedling and control. Seed Sci. and Technol. 28: 75 – 84.
32. Szopinska, D. and A. Wojtaszek. 2011. Effect of hydropriming on germination and location of fungi in *Zinnia elegans* Jacq. Seeds. Nauka Przyroda Technologie 6: 1-13.
33. Szopinska, D. and S. Tylkowska. 2009. Effect of osmopriming on germination, vigour and location of fungi in *Zinnia elegans* seeds. Phytopathologia 54: 33 – 44.
34. Tusanee, S. 1996. Selection and maintenace of male sterility on Pink Zinnia (*Zinnia elegans*). Special problem. Kasetasart University. 19 pp.
35. Thomma, P. H. 2003. *Alternaria spp.* from general saprophyte to specific parasite. Mol. Pl. Pathol. 25: 225 – 336.
36. Van Dyke, C. G. and R. N. Trigiano. 1987. Light and scanning electron microscopy of the interaction of the biocontrol fungus *Alternaria cassia* with sicklepod (*Cassia obtusifolia*). Canadian Journal of Plant Pathology 9: 230 – 235.
37. Yandoc, C. B. 2005. Evaluation of fungal pathogens as biological control agents for cogongrass (*Imperata cylindric*). Weed Technodgy. 19: 19-26