J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 34 (3): 2315 - 2324, 2009

PHYSIOLOGICAL STUDIES ON SROWTH AND SPORULATION OF *Altarnaria solani*

Nwara A. Mohamed
Plant Protection Dept., Omar Al-Mukhtar University, El- Bieda - Libya

دراسات فسيولوجية على نمو وتجرثم فطر *Altarnaria solani*

نوارة على محمد
قسم وقاية النبات-كلية الزراعة جامعة عمر المختار ص. ب. ٩١٩ - ليبيا
E-mail: noboshakoa@yahoo.com

الملخص

يعد فطر *Alternaria solani* من الفطريات الناقصة المنتج لجراثيم كونيدية ويمتاز بان له اختلافات فسيولوجية بين العزلات، وهذه الدراسة أجريت على عدة عزلات أخذت من نباتات الطماطم المريضة فى منطقة الجبل الأخضر حيث نميت على بيئات صناعية وطبيعية وتحت ظروف حرارية مختلفة وذلك لتحديد أهم الظروف البيئية المناسبة لنمو وتجرثم الفطر.

وقد تم الحصول على سبع عزلات من منطقة الجبل الأخضر الواقع فى الساحل الشمالي الشرقي من ليبيا والذي يتميز بمناخ البحر المتوسط وقد سجل ظهور الفطر الممرض على نبات الطماطم ابتداء من نهاية شهر أغسطس حتى شهر ديسمبر وذلك لاعتدال الحرارة وارتفاع الرطوبة النسبية وقد تم تعريف العزلات المختلفة بعد دفعها للتجرثم باستخدام بيئات مختلفة وظروف متباينة لحث الفطر على التجرثم، وأظهرت نتائج التجرثم أن طريقة كشط النمو الميسيليومى وتجفيف البيئة وتعرضها للهواء الجوى من أفضل الطرق لحث العزلات المختلفة على التجرثم يليها التنمية على بيئة فاصوليا ليما أجار مقارنة بالطرق الأخرى، ويتراوح متوسط طول الجراثيم المتحصل عليها ١٦٧± ١٠ ميكرون وعرضها ١٧± ٢ ميكرون وسجل من خلال هذه الدراسة عدم وجود اختلافات معنوية فى طول الطرف المستدق، مما يؤكد أن العزلات المختلفة للمسبب المرض هى للفطر *A. solani* وعند اختبار العزلات المختلفة للفطر وجد إنها تفضل البيئات الطبيعية مثل بطاطس دكستروز أجار وطماطم دكستروز أجار وبيئة الخضروات الثمانية مقارنة بالبيئات الصناعية زابكس دوكس اجار Czapek`s Dox agar ، ريتشارد اجار Ritchard`s agar وببتون جلوكوز اجار Pepton Glucose Agar وأعطت الأخيرة اقل نمو وإنتاج للصبغات مقارنة بالبيئات المستعملة الأخرى.

ويتبين من نتائج تأثير درجات الحرارة المختلفة (١٠، ١٥، ٢٠، ٢٥ و ٣٠ °م) على النمو الفطري النامي على بيئتي بطاطس دكستروز أجار وزابكس دوكس أجار Czapek`s Dox agar أن درجة ٢٥°م هى أفضل درجة حرارة ملائمة لنمو الفطر وإنتاج الصبغات وكان اقل نمو له عند ١٠°م كما وجد أيضا انه لا توجد فروق معنوية بين العزلات عند نموها على نفس هاتين البيئتين السائلتين. والهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثير درجات الحرارة والبيئات الغذائية المختلفة على نمو وتجرثم الفطر.

الكلمات المفتاحية: *Alternaria solani* ، بيئات غذائية، درجات الحرارة، تجرثم الفطر، دراسات فسيولوجية

المقدمة

يعد محصول الطماطم من محاصيل الخضر الرئيسية فى منطقة الجبل الأخضر، والتي تعتبر من أجود المناطق الزراعية بليبيا، وذلك لملاءمة الظروف الجوية لنمو الطماطم سواء فى الصيف أو الشتاء، فى الحقول المكشوفة أو داخل البيوت المحمية وهذه النباتات تتعرض لعديد من الإمراض الفطرية منها مرض اللفحة المبكرة والذي يتسبب عن فطر *A. solani* .

توجد أبحاث عديدة توضح وجود سلالات فسيولوجية لفطر *A. solani* حيث قد تختلف فى شكل المزرعة، كثافة الجراثيم ومعدل النمو على البيئات (Bonde 1929)، تجرثمها فى المزرعة النقية (Walker 1952)، وإنتاجها للصبغات على البيئات الغذائية (Koul and Saksena 1989).
ويتبع الاختلافات الفسيولوجية اختلافات فى دراسة العزلات وبعض الخصائص المورفولوجية والمزرعية ذات التحمل الواسع للظروف الجوية (دكسون ١٩٨١)، أن للحرارة تأثير ملحوظ على نمو الفطر وقدرته على إنتاج الصبغات وعلاقة ذلك بتطور المرض فى الحقل حيث تعد درجة حرارة ٢٨ °م هي الدرجة المثلى لنمو فطر *A. solani* (Choulwar and Data 1991) وأن درجة ٢٤ – ٢٨ °م هى الدرجة المثلى لنمو الفطر على بيئة زابكس دوكس أجار (Pound 1951) وان درجة ٣٠ °م هى الأمثل للنمو الميسليومى على بيئة رتيشارد وأن درجة ٢٥ – ٣٠ °م هى المثلى للنمو على بطاطس دكستروز اجار (Assal 1967)وأن درجة ٢٥ °م امثل لإنتاج الصبغات التى تثبط عند درجة اقل من ١٠ °م (Koul and Saksena 1989).
من المعروف أن عزلات الفطر نادرا ما تنتج جراثيم تحت الظروف المعملية لذا اختلفت التقنيات التى تحث الفطر على التجرثم، حيث يختلف معدل التجرثم باختلاف البيئة، والضوء والعزله ودرجة الحرارة والمستحثات الأخرى التى منها العناصر المغذية ودرجة الحموضة ونوع الأشعة لدفع الفطر لإنتاج الجراثيم، وذلك كتعرض ميسيليوم الفطر لأشعة الشمس يتبعها الأشعة تحت الحمراء (Lukens 1965) أو الأشعة فوق البنفسجية (McMcallen 1944) أو بعض الكيماويات المؤكسدة مثل فوق أكسيد الهيدروجين والأوزون أو الضوء الفلورسنتى وكانت هذه المعاملات اقل إنتاج للجراثيم مقارنة بالمعاملة التى عرضت للأشعة فوق البنفسجية (Charlton 1953) ويلعب الظلام والضوء دور فى إنتاج الجراثيم الكونيدية حيث بتعاقبهما وصل الى أن ٧٥% من الحوامل الكونيدية أنتجت جراثيم بينما الضوء المستمر لم ينتج (Lukens 1965) خاصة عند درجة الحرارة المنخفضة (Aragaki 1961)، كما أنتجت الجراثيم باستخدام بيئات مزرعية مختلفة مثل بيئة عصير ثمان خضروات بتركيز ٢٠% (Miller 1955 وChrist 1991)، وبيئة فاصوليا ليما أجار (Barksdale 1969) وكذلك عند استخدم بيئة بطاطس أجار المطورة (Douglas and Pavek 1971) أو على بيئة أجار مستخلص الشعير ثم نقلها إلى بيئة S-medium (Shahin and Shapard 1979) وبيئة أجار دقيق الذرة (Zhu *et al* 1985) وكذلك بيئة بطاطس جزر أجار (Coquoze etal 1995).

مواد وطرق البحث

جمع العينات وعزل فطر *Alternaria solani*

لقد تم جمع العينات من الأنسجة النباتية المصابة وخاصة الأوراق كبيرة السن لنباتات الطماطم والتي تظهر عليها بقع بنية غير منتظمة متحدة المركز وحلقية الشكل وتكون هذه البقع محاطة بهالة صفراء نتيجة للتو كسين (حمض الالترناريك) المفرز بواسطة الفطر والذي يلعب دور فى تطور الإعراض، وأيضا أمكن عزل الفطر من منطقة التصاق الكئوس بالثمار التي يبدو عليها بقع بنية داكنة لاحتوائها على كتل من الجراثيم، وتم جمع العينات من سبع مواقع مختلفة بمنطقة الجبل الأخضر.
تم إجراء العزل للحصول على المسبب المرضي بحالته النقية حيث غسلت الأجزاء النباتية المصابة بالماء الجاري للتخلص من الأتربة والغبار الموجود على سطح النسيج المصاب ثم قطعت تلك الأجزاء بالمشرط ووضعت فى هيبوكلوريت الصوديوم ٠،٢ % لمدة دقيقتين للتعقيم السطحي ثم غسلت بالماء المعقم ثلاث مرات وجففت بورق الترشيح ونقلت إلى أطباق بترى مصبوب بها بيئة الاجار المائي وحضنت على درجة حرارة ٢٥ °م لمدة ٤ أيام. تم تنقيتها بطريقة القمة الهيفية (hyphal tip)، بعدها نقلت إلى بيئة بطاطس دكستروز أجار وبعد الحصول على العزلات بحالة نقية تم تعريفها بعد إجراء اختبارات التجرثم حسب (Barnett and Hunter 1998 و Ellis and Gibson 1975).

تأثير البيئات المختلفة على نمو الفطر

قياس النمو الطولى للفطر

نميت العزلات المختلفة المتحصل عليها على بيئات غذائية صلبة طبيعية وهى بيئة بطاطس دكستروز أجار(PDA)، بيئة طماطم دكستروز أجار (TDA)و بيئة ثمان خضروات V.8 juici agar، أما

البيئات التركيبية المستخدمة فهي بيئة زابكس دوكس أجار Czapek`s Dox agar، بيئة ريتشارد أجار Ritchard`s agar وببتون جلوكوز أجار Pepton Glucose agar حيث عقمت جميع البيئات في جهاز الاتوكليف على درجة حرارة ١٢١°م تحت ضغط جوى ١٥ رطل / بوصة لمدة ١٥دقيقة ووزعت بمعدل ٢٠ مل لكل طبق بترى معقم من كل بيئة بمعدل ٥ مكررات / معاملة وبعد أن تصلبت البيئة في الأطباق وتحت ظروف معقمة لقحت بالفطر الذي قطره ٦مم من مستعمرة حديثة عمرها ٥ أيام في مركز الطبق ثم حضنت على درجة٢٥° م وأوقفت التجربة عندما غطى الفطر احد الأطباق بالكامل وتم قياس النمو الشعاعي للفطر وذلك بقياس القطرين المتعامدين واخذ المتوسط الطولي بالملليمتر (ملم).

الوزن الجاف للفطر

تم وضع قرص قطره ٦مم من كل عزلة على البيئتين السائلتين وهما بيئة طبيعية بطاطس دكستروز (PDB) وبيئة تركيبية زابكس دوكس Czapek`s Dox المعقمة والموزعة بمعدل ٥٠ مل بيئة في دورق مخروطي سعته ١٠٠ مل ولعدد ٤ مكررات لكل عزلة تحت ظروف التعقيم وحضنت على درجة حرارة ٢٥ °م لمدة ١٠ أيام ، ثم رشحت باستخدام ورق الترشيح للحصول على النمو الميسليومى ودون الوزن الطازج ثم وضعت في الفرن على درجة حرارة ٧٠ °م لمدة ٢٤ ساعة وسجلت قراءة الوزن الجاف بالجرام.

تاثير الحرارة المختلفة على نمو الفطر

تم الإختبار باستخدام بيئتان صلبتان وهما بيئة بطاطس دكستروز اجار PDA وبيئة زابكس دوكس اجار Czapek`s Dox agar لمعرفة تأثير الحرارة على نمو الفطر حيث وزعت كل بيئة في أطباق بترى معقمة بمعدل ٢٠ مل لكل طبق ولقحت بالعزلات المختلفة للفطر المختبر بقرص قطره ٦ مم من المستعمرة الحديثة في مركز الطبق بمعدل ٥ مكررات لكل معاملة ووزعت الإطباق في حضانات متفاوتة الحرارة وهى ١٠، ١٥، ٢٠، ٢٥ و ٣٠ °م ، وبعد أن غطى النمو الفطرى احد الأطباق بالكامل أوقفت التجربة وقيس النمو الشعاعي بقطرين متعامدين واخذ متوسط الطول بالمليمتر.

انتاج جراثيم الفطر

لقد استعملت عدة بيئات مختلفة وظروف إضاءة وحرارة متباينة لحث الفطر على التجرثم (Demiric 1997)، بالإضافة لذلك نمى الميسليوم على بيئة PDA ثم تم معاملتها بالمعاملات الاتيه:

عمليات ميكانيكية منها تمزيق البيئة النامي عليها مستعمرة عمرها ١٠ أيام بواسطة إبرة معقمة وتجفيفها عند ٢٦ °م، وأيضا بواسطة كشط النمو الميسليومى ثم وضعها تحت ماء جارى لمدة ٢٤ ساعة أو كشطها وتجفيف البيئة (Luddwig 1962) .

التعريض لإشعات مختلفة تم تعريض ميسليوم عمره ١٢ يوم لضوء الشمس (Bonde 1929)، وعلى أطباق أخرى تعرض النمو الميسليومى للأشعة فوق البنفسجية (McMcallen 1944) أو لضوء فلورسنتى لميسليوم عمره 14 يوم (Leben 1954) .

درجات الحرارة المنخفضة حيث وضع الميسليوم في حضان ١٨ °م (Aragaki 1961)

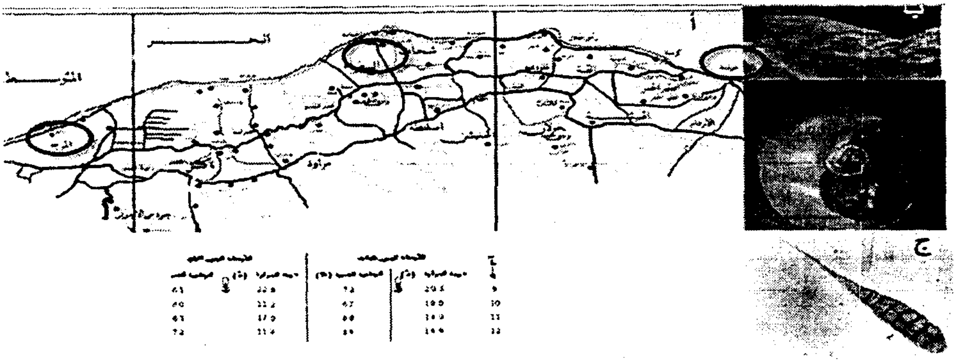
تعاقب الضوء والظلام حضنت الأطباق تحت ١٦ساعة ضوء / ٨ ساعة ظلام عند ٢٠°م(Leach 1967)

بيئات مختلفة منها بيئة عصير الثمان خضروات أجار V.8 juice agar (Christ 1991) وفاصوليا ليما أجار(Barksdale 1969)، بطاطس دكستروز المحورة (Douglas and Pavek 1971) و بيئة أجار مستخلص الشعير ثم نقلها إلى بيئة S-medium (Shahin and Shapard 1979) بيئة أجار دقيق الذرة (Zhu etal 1985) بيئة بطاطس جزر أجار (Coquoze etal 1995).

النتائج

تم عزل الفطر *A. solani* من العينات النباتية للطماطم التي ظهرت عليها أعراض اللفحة المبكرة والتي تمثلت في بقع على الأوراق محاطة بهالة صفراء، أما على الثمار كما هو مبين بشكل (١ب) فان الأعراض كانت تظهر بوضوح عند منطقة اتصال الثمرة بالنبات على شكل بقعة بنية داكنة مائلة للسواد نتيجة تواجد النمو الميسليومى وجراثيم الفطر وقد جمعت الأجزاء النباتية المصابة من موقعين في منطقة درنة هما الفتائح والدبوسية وأربع مواقع في البيضاء هم الوسيطة ، مسه ، الغريقة و الحنية وفى حين جلبت نباتات طماطم مصابة من العويلية تحمل نفس الأعراض المدروسة ومن خلال خريطة الجبل الأخضر المبين

بالشكل (أ١) تم تحديد مواقع الدراسة ودرجات الحرارة والرطوبة للمنطقة خلال فترة الجمع ويتضح انخفاض درجات الحرارة وارتفاع الرطوبة النسبية حيث تصل إلى ٨٤% فى شهر ديسمبر وقد أعطى رقم لكل عزلة بعد ان تم تعريفها بناء على شكل الجراثيم والتي كانت أساس التصنيف وهى مميزة بطرفها الطويل المستدق المبين بالشكل (١ج)



الشكل (١) الاعراض الظاهرة على الاجزاء النباتية المجموعة من مواقع الدراسة المختلفة بالمنطقة المتسببة عن الفطر *Alternaria solani*

أ- اهم المواقع التى جمعت منها العينات فى الدراسة الموضحة على خريطة الجبل الاخضر وجدول يبين اهم الدرجات الحرارية والرطوبة النسبية خلال فترة جمع العينات

ب- أعراض مرض اللفحة المبكرة على نبات الطماطم المتسببة عن الفطر *A. solani*

ج- جراثيم فطر *A. solani* ذات المنقار الطويل

تأثير البيئات المختلفة على نمو الفطر

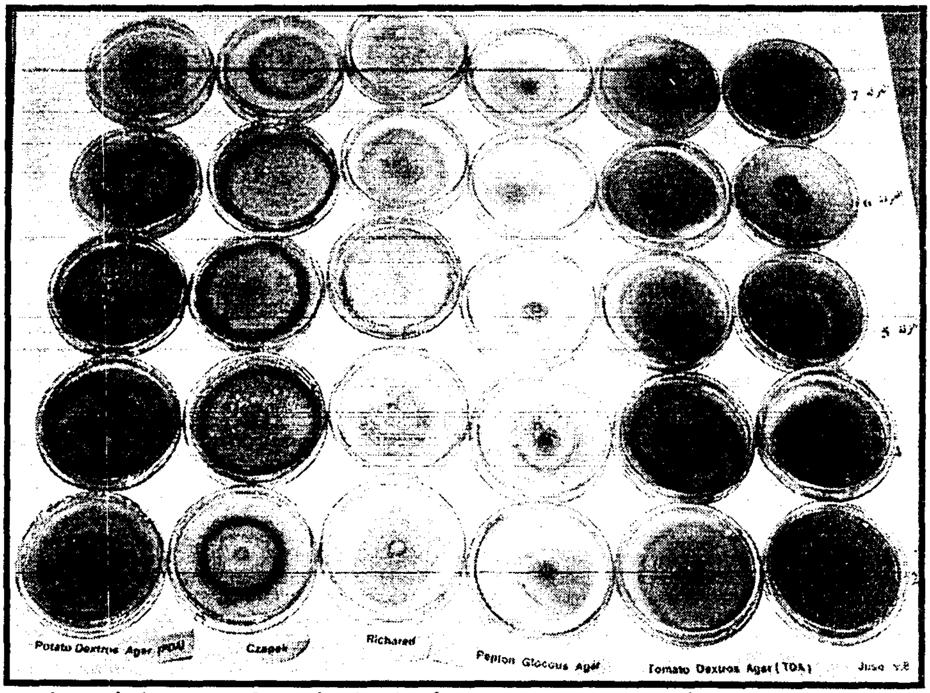
قياس النمو الطولى للفطر

نميت عزلات الفطر على أوساط غذائية صلبه مختلفة عند درجة حرارة ٢٥ °م فى الظلام وقيس النمو الطولي للميسليوم فى اتجاهين متعامدين بعد ٧ أيام واخذ المتوسط. حيث النتائج مبينة بالجدول (١) يشير التحليل الاحصائى إلى أن البيئات الطبيعية أفضل لنمو الفطر من البيئات الصناعية عند ٥% LSD= ٣,٣٦. وتعتبر بيئة بطاطس دكستروز أجار PDA أفضل البيئات جميعا لنمو الفطر حيث كان متوسط النمو الطولي لميسيليوم الفطر 75,96مم يليها طماطم دكستروز أجار TDA حيث أعطت ٦٢،٣٩ مم أما بيئة ثمان خضروات V.8 juice فكانت٥٨،٧٩ مم في حين أعطت البيئات الصناعية زابكس دوكس أجار Czapek`s Dox agar ، بيئة ريتشارد أجار Ritchard`s agar و بيتون جلوكوز أجار Pepton Glucose agar نمو ميسيليومى متوسط طول قطره ٥٣، ٤٥،١٤ و ٣٥،٣٩ مم على التوالي

جدول (١): يبين طول النمو الفطري (بالملليتير) لسبعة عزلات من فطر *A. solani* نامية على بيئات مختلفة فى الأطباق البتريه عند درجة ٢٥°م فى الظلام.

البيئات	العزلات							المتوسط
	Iso 1	Iso 2	Iso 3	Iso 4	Iso 5	Iso 6	Iso 7	
بطاطس دكستروز اجار PDA	٨٨,٧٥	٨٣,٢٥	٧٥,٥	٦٨,٧٥	٦٦,٧٥	٧٨,٧٥	٧٠,٠٠	75.964
طماطم دكستروز اجار TDA	٧٠,٥٠	٦٧,٥٠	٥٠,٠٠	٤٧,٥٠	٦٢,٠٠	٧٠,٥٠	٦٨,٧٥	62.393
عصير ثمان خضروات اجار V.8 juici agar	٤٥,٠٠	٥٧,٠٠	٦٣,٧٥	٦٣,٢٥	٥١,٢٥	٧٢,٥٠	٥٨,٧٥	58.786
زابكس دوكس اجار Czapek`s Dox agar	٤٤,٠٠	٦٣,٧٥	٢٨,٧٥	٤٣,٧٥	٥٨,٢٥	٧٣,٧٥	٥٨,٧٥	53.000
ريتشارد اجار Ritchard`s agar	٢٩,٥٠	٥٣,٧٥	٣١,٢٥	٤١,٧٥	٤٦,٠٠	٥٠,٠٠	٦٣,٧٥	45.143
بيتون جلوكوز اجار Pepton Glucose agar	٣١,٠٠	٣١,٢٥	١٥	٣٦,٢٥	٤٥,٠٠	٤٥,٠٠	٤٤,٢٥	35.393
المتوسط	51.46	59.42	44.04	50.21	54.88	65.08	60.71	

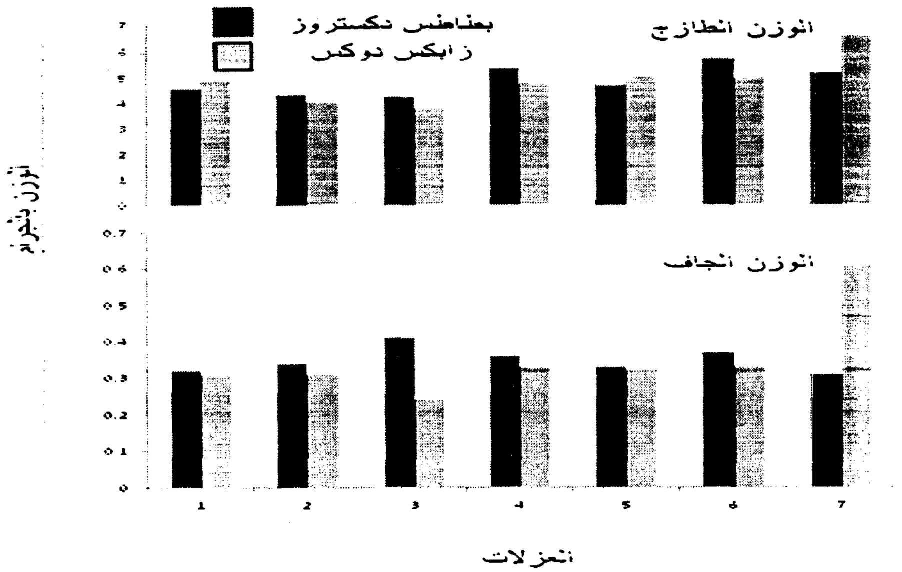
ويتبين من النتائج أن اقل نمو ميسليومى للفطر كان على بيئة ببتون جلوكوز أجار، وتختلف العزلات فيما بينها فى معدل النمو الطولي على البيئات، وان أعلاها نموا كان للعزلة ٦ بمتوسط 65.08 مم واقلها عزلة ٣ بمتوسط ٤٤,٠٤مم وتشير النتائج أيضا إلى أن عزلات الفطر تختلف فى إنتاجها الصبغات باختلاف البيئات المستخدمة كما هو مبين بشكل (٢) وقد أنتج لفطر صبغة صفراء داكنة ونمو ميسليومى رمادي داكن على بيئة PDA بينما كانت الصبغة برتقالية مائلة للاحمرار على البيئتين الطبيعيتين الاخريين فى حين كانت الصبغة ذات لون احمر قاتم مائل للسواد على بيئة زابكس دوكس أجار بينما على بيئة رينشارد أجار كانت ذات صبغة حمراء داكنة ونمو ميسليومى ابيض فى حين على بيئة ببتون جلوكوز اجار كان النمو الميسليومى ابيض ومنتج لصبغة صفراء.



شكل (٢): يبين تاثير البيئة على نمو عدة عزلات مختلفة لفطر *A. solani* عند ٢٥°م فى الظلام وإنتاجها للصبغات

تاثير البيئات السائلة على وزن النمو الفطرى

يتبين من شكل (٣) عدم وجود فروق معنوية بين العزلات المختلفة بالنسبة للوزن الجاف على بيئتي النمو السائلة بطاطس دكستروز و زابكس دوكس، ويلاحظ أيضا ان العزلة Iso 1 اقل العزلات وزن جاف على بيئتي بطاطس دكستروز و زابكس دوكس حيث كانتا ٠،٣٢ و ٠,٣١ جرام على التوالي. بينما أعلى وزن كان العزلة Iso 7 (٠,٣١ و ٠،٦١ جرام) على التوالى، كما توجد فروق معنوية بين البيئتين بالنسبة للوزن الطازج فقد سجلت عزلة Iso 7 أعلى نمو على البيئتين بينما كانت العزلتين Iso ٢ وIso٣ اقلهما وزنا.



الشكل (٣): الوزن الطازج والوزن الجاف لعزلات الفطر النامى على بيئة بطاطس دكستروز و زابكس دوكس السائلة عند٢٥ °م فى الظلام

LSD عند مستوى ٥%

	العزلات	البيئات	العزلات x البيئات
الوزن الطازج	١,٣٤	٠,٣٣	١,٨٧
الوزن الجاف	٠,١٤٧	٠,٢٠	٠,٣٤

تأثير درجات الحرارة على النمو الفطرى

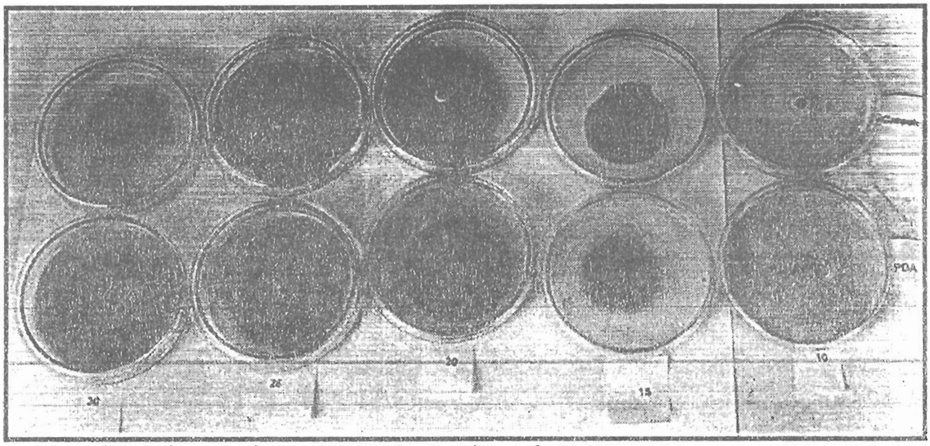
يتضح من النتائج الموضحة بجدول (٢) انه هنالك فروق معنوية عالية بين الدرجات الحرارية المختبرة وان أعلى نمو ميسليومى عند ٢٥°م 84.0 مم على بيئة PDA ، و ٧٦,٣ على بيئة زابكس دوكس اجار لذا تعد هى الدرجة المثلى للنمو الفطرى بينما اقل نمو عند١٠ °م بمعدل ٧,٥ مم على بيئة PDA ، و ٦مم على بيئة زابكس دوكس اجار وتعد العزلة Iso 5 اكثر العزلات نموا واسرعها مقارنة بعزله Iso 1 التى هى اقل العزلات نموا.كما يتبين من النتائج ايضا ان هنالك فروق معنوية بين البيئات الغذائية حيث كانت بطاطس دكستروز افضل لنمو العزلات من البيئة الصناعية فى تنمية العزلات ويوضح الشكل (٤) النمو الفطرى للعزلات المختلفة على البيئات وتفاوت فى اللون بين المعاملات المختلفة كما يوضح الشكل تفاوت الصبغات ما بين الأصفر الفاتح إلى الأحمر المائل للسواد.

جدول (٢): تاثير درجات الحرارة على النمو الميسليومى لفطر *A. solani* تحت الظروف المعملية.

الدرجات °م	النمو الفطرى بالملميتر على البيئات المختبرة															
	بطاطس دكستروز اجار							متوسط	بيئة زابكس دوكس اجار							متوسط
	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧		١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	
١٠	٧,٥	١٤,٣	١٢,٣	١١,٥	١٣,٠	١١,٣	١٤,٥	12.1	٦,٠	٠٨,٥	٠٨,٨	٠٦,٥	١٠,٥	٨,٨	١٣,٥	8.9
١٥	٣٩,٠	٤٥,٨	٤١,٣	٤٢,٣	٤٩,٨	٣٢,٣	٤٨,٠	42.6	٢٥,٥	٤١,٣	٤٢,٨	٣٣,٨	٥٣,٨	٢٨,٨	٢٥,٥	35.9
٢٠	٦٣,٣	٨١,٣	٧٠,٨	٧٧,٠	٨٠,٠	٦٠,٠	٥٥,٠	69.6	٣٠,٠	٦٠,٠	٧٦,٣	٦١,٣	٦٠,٠	٥٦,٨	٥٢,٥	56.7
٢٥	٤٣,٨	٨٣,٨	٧٥,٠	٧٣,٠	٨٤,٠	٨١,٣	٧٨,٨	74.2	٣٠,٠	٥٧,٥	٦٧,٥	٦٧,٣	٧٦,٣	٦٠,٠	٧٦,٣	62.1
٣٠	٠٦,٠	٤٦,٠	٣٦,٠	٤٤,٥	٥٤,٠	٦١,٣	٦٧,٠	45.0	٦,٠	٢٩,٥	٣٧,٥	٤٤,٣	٥٤,٥	٤٤,٥	٥٤,٨	38.7
متوسط	31.9	54.2	47.1	49.7	56.2	49.2	52.7	٤٨,٧	19.5	39.4	46.6	42.6	51.0	39.8	44.5	٤٠,٥

مصادر الاختلاف LSD عند مستوى معنوية اقل $P<0.05$

العزلات = ٣,١٣ البيئات = ١,٦٧ درجات الحرارة = ٢,٦٥ العزلات مع درجات الحرارة مع البيئات = ٣,٣٨



شكل (٤): يبين تأثير درجات الحرارة المختلفة على فطر *A. solani* النامية على بيئة طبيعية بطاطس دكستروز اجار **PDA** وبيئة تركيبية **Czapex agar**

تأثير الطرق المختلفة على تجرثم الفطر

يوضح الجدول (٣) تأثير الطرق المختلفة علي التجرثم والتى يمكن تقسيمها إلى طرق ميكانيكية ، الإشعاعات والضوء والظلام وبيئات مغذية مختلفة أخري، لحث جميع العزلات على التجرثم. وكان أفضلها طريقة كشط النمو الميسليومى وتجفيف البيئة يليها طريقة تمزيق النمو الميسليومى وتجفيف البيئة عند٢٦ °م أما بيئة فاصوليا ليما فإنها تدفع العزلات للتجرثم بكمية اقل، ويتضح أن هنالك طرق دفعت بعض العزلات على التجرثم دون التأثير على البعض الأخر ومنها تنمية ميسليوم الفطر على بيئة بطاطس دكستروز اجار لمدة ١٢ يوم ثم تعريضها لمدة ٤٨ ساعة لضوء الشمس، طريقة كشط الميسليوم ووضعه تحت الماء الجاري ٢٤ ساعة مع تعاقب الضوء والظلام على الميسليوم النامي على بيئة الثمان خضروات بدرجة حرارة ٢٣ °م تحت الضوء الفلورسنتى، كذلك بيئة دقيق الذرة أجار المنقول إليها العزلات بعمر يومين ٤ساعات ضوء و١٢ساعة ظلام عند ١٨°م وبتنميتها على بيئة بطاطس جزر اجار عند ٢٢ °م ورطوبة ١٠٠% فى الظلام بينما الطرق الأخرى لا تحث العزلات المختلفة على التجرثم.

جدول (٣): تأثير الطرق المختلفة التي أجريت فى المعمل لحث الفطر على التجرثم

البيئة	المعاملات	خطوات العمل*	العزلات						
			١	٢	٣	٤	٥	٦	٧
بطاطس دكستروز اجار PDA	الميكانيكية	تمزيق البيئة وتجفيف عند ٢٦م°	±	−	+	±	+	+	+
		يكشط ويوضع تحت الماء الجارى ٢٤ ساعة	±	±	−	±	+	−	−
		يكشط وتجفف البيئة	±	±	+	+	+	+	+
	الاشعاعات	بعمر ١٢ يوم تعرض ٤٨ ساعة لضوء الشمس	±	±	−	±	−	±	±
		تعرض لاشعة فوق البنفسجية	−	−	−	−	−	−	−
		تعرض للضوء الفلورسنتي	−	−	−	−	−	−	−
	ضوء -ظلام	١٦ساعة ضوء مستمر ٨ ساعات ظلام	−	−	−	−	−	−	−
	اضافة املاح	+ ٠،٢ % كلوريد الصوديوم	−	−	−	−	−	−	−
v.8 juice agar	ضوء -ظلام	عند ٢٣م° ثم للضوء الفلورسنتى ٢٤ ساعة	±	−	±	±	−	−	−
فاصوليا ليما اجار	الميكانيكية	بعد ٦ايام (٢٢م° وضوء يومى عادى) يكشط الميسليوم ويقلب بدون غطاء ٢٤ ساعة	±	±	±	+	±	±	±
بيئة مستخلص الشعير		عند ٢٥م° وظلام ثم ينقل الى بيئة S- medium يضاف اليها ٢مل وتوضع فى الظلام عند ١٨م°	−	−	−	−	−	−	−
بيئة دقيق الذرة اجار	ضوء -ظلام	٤-١٢ ساعة عند ١٨م°	±	−	−	±	−	±	+
بيئة بطاطس جزر اجار		٢٢م° و١٠٠% رطوبة فى الظلام	±	±	−	−	−	±	−

* بمعدل ٤ اطباق لكل معاملة   + انتاج الجراثيم   ±جراثيم بكمية اقل   − لا تنتج الجراثيم

المناقشة

اوضحت نتائج عزل الفطر من العينات المصابة التى تم جمعها من مواقع متعددة من منطقة الجبل الاخضر والتى تمثلت فى اوراق وثمار من نباتات الطماطم التى تظهر عليها اعراض اللفحة المبكرة بينت النتائج المتحصل عليها ان كشط ميسليوم النمو الفطرى وتعرضه للهواء الجوى وتركه بدون غطاء فى الضوء اليومى العادى على درجة حرارة الغرفة يؤدى الى تجرثم العزلات المختلفة بدرجات متفاوته وهذا يتفق مع نتائج Luddwing 1962 و Barksdale 1969 كما حصل على تجرثم للعزلات المختلفة ولكن بكمية اقل بعد عملية تمزيق النمو الميسليومى يحث الفطر على التجرثم بوضعها فى ظروف هوائية يتواجد بها اكسجين ويقل ثانى اكسيد الكربون مما تدفع الفطر الى التجرثم وهذا ما توصل اليه (Rands 1917 ، Lukens 1965، McMcallen 1944 ، Charlton 1953 Luddwing 1962 و Barksdale 1969)

وتشير النتائج الى وجود اختلافات بين العزلات فى الصفات الفسيولوجية من حيث معدل نموها على البيئات الطبيعية والصناعية وانتاجها للصبغات ذات اللون ما بين الاصفر والاحمر وذلك بان البيئات الطبيعية التى تفضلها عزلات الفطر تنتج عليها صبغات اكثر من البيئات الصناعية وهذا يتفق مع ما ذكره Bonde 1929 و Walker 1952, 1969. اظهرت النتائج المتحصل عليها ان افضل درجة حرارة ملائمة لنمو عزلات الفطر هى ٢٥°م سواء على البيئات الطبيعية او الصناعية وهذا يتفق مع (Walker 1952, 1969 و Choulwar and Data 1953) حيث توصلوا إلى إن درجة الحرارة المثلى للنمو الفطرى تتراوح ما بين ٢٥ - ٣٠°م وهى أيضا الدرجة المثلى لتطور المرض وهذا ما يفسر انتشاره فى منطقة الجبل الأخضر خلال الفترة ما بين شهري ٩و ١٢ حيث تشتد الإصابة وكذلك تعتبر درجة ٢٥°م أفضل درجة حرارة لإنتاج الصبغات وهذا يتفق مع ما توصل اليه Koul and Saksena 1989.

المراجع

دكسون ،غ.ر.(١٩٨١).أمراض محاصيل الخضر .ترجمة عبد النبى محمد أبوغنية وصالح النويصرى - الدار العربية للنشر والتوزيع.

Aragaki, M. (1961). Radiation and temperature interaction on the sporulation of *Alternaria* tomato. Phytopathology 51 :803-805.

Assal, W. M. A. (1967). Comparative studies on the pathogenicity and physiology of *Alternaria solani* and *Alternaria tenuis* of tomato and their control. M. Sc. Thesis, Fac. Agric. Zagazig Univ. Egypt.

Bonde, R.(1929). Physiological strains of *Alternaria solani.* Phytopathology 19 : 533-548.

Barnett, H. L. And Hunter, B. B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. The american phytopathological Societ pp 130, 132.

Barksdale T.H(1969) .Resistance of tomato seedling to early blight. phytopathology 59:443-446.

Charlton, K. M. (1953). The sporulation of *Alternaria solani* in culture. Brit. Mycol. Soc. Trans. 36 :349-355.

Choulwar, A. B.; and Datar, V. V. (1991).Physiological studies on *Alternaria solani* causing early blight. Plant Dis. 79 :426.

Christ, B. J. (1991). Effect of disease assessment method on ranking potato cultivars for resistance to early blight. Plant Dis. 75 : 353-356.

Coquoze, J. L.; Buchala, A. J.;Meuwly, Ph. and Metraux, J.P. (1995). Arachidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani.*Phytopathology 85 : 1219-1224.

Demirci, E.(1997). Factors affecting the sporulation of *Alternaria solani*. Turkish,J.Biol. 21 :353-358.(cf. Rev. Plant patholo. 77 :172.1998).

Douglas, D. R. and Pavek, J. J. (1971). An efficient method of inducing sporulation of *Alternaria solani* in pure culture. Phytopathology 61 : 239.

Ellis,M. B. and Gibson, I. A. S. (1975). *Alternaria solani*.No. 475 in : Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Comme W. Mycol. Inst./Assoc. Appl. Biol. Kew, Surrey. England.

Koul, A.K.; Saksena, H.K. (1989). Conidial morphology of isolates of *Alternaria solani* showing cultural and pathogenic variability. Plant Disease Research 4 (2): 184-186.

Leben,C.(1954). Influence of acidic buffer sprays on infection of tomato leaves by *Alternaria solani*. Phytopathology 44:101-106.

Leach,C.M.(1967). Interaction of near-ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi *Alternaria, Cercosporella, Fusarium, Helminthosporium* and *Stemphylium* .Can.J.Bot.45:1999-2016.

Lukens, R. J.(1965). Reversal by red light of blue light inhibtion of sporulation in *Alternaria solani*. Phytopathology 55 : 1032.

Luddwig,R.A.;Richardson ,L.T.;and Unwin,O.H. (1962). A method for inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture .Can.Plant Dis.Surv.42:149-150.

McMcallen, S. E. A.;and Chan, S. Y.(1944). Inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture. Contrib. Boyce. Thompson Inst. 13 : 323-335.

Miller,P. M.(1955). V.8 juice agar as a general purpose medium for fungi and bacteria. Phytopathology 45 : 461-462.

Pound, G. S. and Stachmann, M. A. (1951). The production of a toxin material by and its relation to the early blight disease of tomato. Phytopathology 41: 1104-1114.

Rands,R.D.(1917).The production of spores by *Alternaria solani* in pure culture . Phytopathology 7:316-317.

Shahin, E. A.; and Shapard,J. F.(1979). An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria* species. Phytopathology69 : 618-620.

Walker,J.C.(1952). Diseases of vegetable crops.McGraw-Hill Book Co., Inc. New York . 529 pp.

Walker, J. C. (1969). Plant pathology. McGraw-Hill Book Co., Inc. New York. Pp 819.

Zhu, Z. Y.;Huang, X. M.;and Li, Y. H.(1985). An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria solani* in pure culture. Acta. Mycol. Sinica. 4 :180. In : Dhingra,O.D. and Sinclair, J. B. (1995). Basic plant pathology methods. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL. 434Pp.

PHYSIOLOGICAL STUDIES ON SROWTH AND SPORULATION OF *Altarnaria solani*

Nwara A. Mohamed
Plant Protection Dept., Omar Al-Mukhtar University, El- Bieda - Libya

ABSTRACT

This study aims to isolate and identify the causal agent of early blight dieases infesting tomato plant (*A. solani)*. from Green mountaindistrict and investigate the pathogen by making some lab, and physiological tests

The reslts of lab. experiments showed that the causal agent is *Alternaria solani* and has a normal exsistance in Green mountain, whereas it was identified in 7 isolates on tomato plants from different locations (Derna, El-Bedia and El-Marj).

Also the results show that best way to induce the different isolates of the pathogen for sporulation was by scraping the mycelium growth, dry the medium and expose it to air or by growing it on the lima bean agar medium.

Although all the tested isolates have the same peck lenght which provided evidance that all of them belong to the same causal agent, however, they are greatly different in morphological characteristics, whereas the spore length is ranged from 157.25 to 177.50 µm and width of (15-19µm).

The experiments concerned with temperature effect on fungal growth at different tempratures (10, 15, 20, 25 and 30°C) and indicated that the optimum growth and high pigment production are obtained at 25°C.