J. Plant Prot. and Path., Mansoura Univ., Vol. 2 (10): 829 - 834, 2011

IDENTIFICATION OF SPOT AND LEAF BLIGHT OF TOMATO ON THE SOUTHERN REGION OF SYRIA , AND TESTING THE PATHOGENICITY.

Saad Aldean, A.[1]; W. Nafaa[2] and T. Abu Alfadhel[3]

[1]- Qunietra Countryside Center for (S.A.R)

2- Plant Protection Dept., Faculty of Agriculture, Damascus Univ.

3- General Commission For Scientific Agric. Res. Damascus, Duma

تحديد العامل المسبب لمرض لفحة و تبقع أوراق الطماطم (البندورة) في المنطقة الجنوبية من سورية و اختبار قدرته الممرضة

احمد سعدالدين[١] ، وليد نفاع[٢] و تيسير أبو الفضل[٣]

١- مركز بحوث القنيطرة

٢- قسم وقاية النبات _ جامعة دمشق

٣- الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – دوما

الملخص

نفذت هذه الدراسة في المنطقة الجنوبية من سورية (درعا ، ريف دمشق و القنيطرة) بهدف تحديد العامل المسبب لمرض لفحة و تبقع أوراق محصول الطماطم، و اختبار القدرة الممرضة لعزلات العامل الممرض المحلية . بينت النتائج أن العامل المسبب الرئيس لمرض لفحة و تبقع أوراق الطماطم هو الفطر *Alternaria alternata* Keissler بنسبة اصابة ٩٣.٢% ، إضافة إلى الفطر *Stemphylium sp.* الذي وجد بنسبة اصابة ٦.٨% . و قد تباينت عزلات الفطر الممرض بقدرتها الممرضة ، **فقد كان بعضها شرساً جداً بنسبة ١٨.٧٥% من مجموع العزلات المدروسة فيما** كان بعضها الآخر متوسط الشراسة ٣١.٢٥% إلى منخفض الشراسة ٦.٢٥% كما وجدت بعض العزلات غير الممرضة ٤٣.٧٥% .

الكلمات المفتاحية : طماطم ، لفحة و تبقع أوراق ،*Alternaria alternata* ، قدرة ممرضة.

المقدمة

يعد محصول الطماطم واحداً من أهم محاصيل الخضر اقتصادياً ، و أوسعها انتشاراً في العالم . و حسب إحصائيات منظمة الأغذية والزراعة الدولية (FAO, 2010) ، فقد بلغت المساحة الإجمالية المزروعة في العالم حوالي ٤.٣٩ مليون هكتاراً. وعلى الصعيد المحلي ، وحسب إحصائيات وزارة الزراعة و الإصلاح الزراعي السورية ، فقد بلغت المساحة الإجمالية المزروعة بالطماطم حوالي 17.9 ألف هكتاراً، و وصل الإنتاج إلى 639531 طناً (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2008) . تصاب نباتات الطماطم في الحقل و بعد القطاف بعدد من الأمراض الفطرية الهامة مثل اللفحة المتأخرة (*Phytophthora infestans*) واللفحة المبكرة (*Alternaria solani*) ، والذبول الفيوزاريومي (*Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*) ، والبياض الدقيقي (*Leveillula taurica*) ، و التبقع الألترناري (*Alternaria alternata*) ، وتعفن الساق و الثمار (*Rhizoctonia solani*) . و من الأمراض الفيروسية: اصفرار و تجعد أوراق الطماطم(الزعترة) (TYLCV) و موزاييك الخيار(CMV) و موزاييك التبغ(TMV) و فيروس البطاطس Y (PV Y)..

ونظراً للأهمية الاقتصادية لنبات الطماطم ، والانتشار الواسع للإصابة بمرض اللفحة المبكرة و تبقع الأوراق في أماكن الزراعة في سوريا ، و في المنطقة الجنوبية خصوصاً، فقد هدف هذا البحث إلى تحديد العامل الممرض و الكشف عن بين عزلاته المختلفة ، و اختبار قدرتها الممرضة.

مواد و طرائق البحث

نفذ البحث خلال عام ٢٠٠٩ و ٢٠١٠

١- جمع العينات:

جمعت العينات من المحافظات الجنوبية { درعا ، ريف دمشق ، القنيطرة } و شملت معظم مناطق زراعة الطماطم فيها ، جمعت العينات من ٣٧ حقلاً للزراعة المكشوفة من درعا و ريف دمشق و القنيطرة (١٣-١٢-١٢) على الترتيب . تم جمع العينات من الحقل بالاختيار العشوائي لثلاثة نباتات متباعدة مصابة و من صنف واحد و من كل نبات ثلاث أوراق ، و اعتبرت أوراق كل نبات عينة مستقلة .

٢- عزل العامل الممرض :

أخذت عينات من الأوراق من بقعة الإصابة مع جزء من النسيج السليم المجاور للبقعة المتماوتة ، ثم طهّرت سطحياً باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم ٢% لمدة دقيقة واحدة ، و غسلت بالماء المقطر ، ثم جففت بين ورق نشاف معقم . زرعت القطع في أطباق بتري بلاستيكية قطر ٩ سم تحتوي على بيئة مغذية { بطاطس دكستروز آجار PDA } ، و حضّنت الأطباق عند درجة حرارة ٢٣± ١ م° في الظلام لمدة عشرة أيام ، ثم درست المزارع الفطرية النامية على البيئة المغذية باستخدام المجهر الضوئي ، و تم تحديد الأجناس و الأنواع الفطرية بالإعتماد على الخصائص المرفولوجية للمشيجة و الأبواغ (خيوط الميسيليوم والحوامل الجرثومية والجراثيم الكونيدية) و ذلك حسب المرجع (C.M.I.1970 Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria).

٣- اختبار القدرة الممرضة:

تم الحصول على مزارع نقية من عزلات الفطر *Alternaria alternate* بتقنية البوغ الواحد single spore على بيئة PDA ، ثم حضّ من كل منها معلق الجراثيم بتركيز ١٠^٥ جرثومة/مل . و استخدم في هذه الدراسة هجين الطماطم BIOKAN من إنتاج شركة BIOTEK ، حيث زرعت البذور في صواني فلينية لإعداد الشتلات (٤×٤×٨ سم) في وسط زراعة مكون من بتموس معقم ، و تم تحضين الصناديق في غرفة النمو المتحكم بها phototron في إدارة بحوث وقاية النبات /دوما/ عند ٢٤±١ م°، و نظام إنارة ١٦ ساعة إضاءة فلوروسنت .نقلت الشتول بعد ثلاثة أسابيع إلى أصص بلاستيكية سوداء معقمة بقطر ١٠ سم تحتوي على خليط مكون من طين و رمل وبتموس معقم(١:١:١ ح). وضعت الأصص البلاستيكية في غرفة الإنبات ، و حضّنت تحت الشروط السابقة . أجريت العدوى الإصطناعية على شتلات بعمر خمسة أسابيع باستخدام طريقة القطرة (٢٠ µl) من المعلق الجرثومي بواسطة ميكروبيبيت معقمة (Petro *et al*;1999) و ذلك بمعدل ثلاثة مكررات (أصص) لكل عزلة إضافة إلى الشاهد (الكنترول)غير المعدى . و ضعت قطرة على نصل الورقة و على العروق و على الغمد و غطيت النباتات باكياس من بالبلاستيك لمدة ٤ أيام ، و ذلك للحفاظ على الرطوبة و ضمان نجاح العدوى ، و خلال هذه الفترة تم رفع الرطوبة النسبية في غرفة الإنبات إلى ٨٥% و درجة الحرارة إلى ٢٦ م° . اختبرت في هذه الدراسة القدرة الممرضة لـ ١٦ عزلة من الفطر ، حيث أخذت القراءات بعد ١٠ أيام من العدوى الإصطناعية باستخدام سلم خماسي (مجال القياس scale)(١-٥) ، ثم يحول مقياس المرض إلى نسبة مئوية من EB(Early blight) و تسمى PEBI لكل نبات باستخدام القانون (Pandey *et al*,2003) :

$$PEBI = \frac{\text{sum off all ratings}}{\text{no.of leaves sampled} * \text{maximum disease scale}} * 100 .$$

و تم تحليل النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي SPSSv15 باستخدام جدول تحليل التباين One-Way ANOVA و عند مستوى احتمال ٠.٠١ .

جدول ١ : سلم مجال القياس شدة الإصابة بمرض تبقع الأوراق الألترناري المتسبب عن الفطر *A. alternata* (Thirthamallappa and Lohithaswa, 2000)

درجة سلم التقييس	طبيعة الإصابة	
	النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة	قطر البقعة (مم)
١	صفر	لا يوجد بقع
٢	اقل من ١٠ %	اقل من ٢
٣	%٢٥-١٠	٥-٢
٤	%٤٩-٢٦	٧.٥-٥
٥	%١٠٠-٥٠	اكبر من ٧.٥

النتائج و المناقشة

١- جمع العينات :

تبين من خلال الجولات الحقلية انتشار مرض تبقع أوراق الطماطمفي جميع الحقول التي تمت زيارتها في المحافظات محل الدراسة، و قد تراوحت معدلات الإصابة بين الشديدة و الشديدة جداً إضافة إلى العديد من الأمراض الأخرى ، إلا أن مرض لفحة و تبقع الأوراق كان الأكثر انتشاراً على نباتات الطماطم في الزراعات المكشوفة .

و عليه فإنه لا يوجد أي حقل سليم من تبقع الأوراق الألترناري و بنسب متفاوتة و يعود ذلك بشكل عام إلى التأخر في بدء عمليات المكافحة و لوحظ استخدام عشوائي للمبيدات مما أدى إلى ظهور حالة وبائية للمرض ، وقد يعود ذلك لصعوبة إجراء عمليات التقليم في الحقول المكشوفة مقارنة بالزراعة المحمية و الذي يؤدي بدوره إلى عدم ظهور المرض الذي تبدأ مراحله الأولى على الأوراق السفلية (Ben-noon *et al* .,2003. Srivastava *et al* ,2005) ، و قد يعود عدم ظهور مرض اللفحة المبكرة في أي من الحقول إلى عدم توفر **الظروف الجوية** الملائمة لانتشار المرض .

٢- عزل العامل الممرض :

أظهرت نتائج الدراسة المرفولوجية أن ٩٣.٢% من العزلات الفطرية المتحصل عليها تتبع النوع *A. alternata* بينما ٦.٨ % تتبع الجنس Stemphylium . تباينت العزلات فيما بينها من حيث اللون (زيتوني أو أخضر و أحيانا فضي)، و مظهر المزرعة الفطرية (زغبي أو أملس)، مع ملاحظة أن معظم المزارع الفطرية كانت مكونة من حلقات متداخلة متحدة المركز . الحوامل **الجرثومية** مفردة ، بسيطة أو متفرعة ، مستقيمة أو منحنية لونها بني أو زيتوني شاحب ، ملساء يصل طولها حتى ٥٠ µ و قطرها حتى ٦ µ . ويتكون على نهاية الحامل البوغي أبواغ كونيدية تشكل غالباً سلاسل طويلة متفرعة ، الأبواغ كمثرية الشكل تستدق لتشكل منقار شاحب اللون و قد يصل طوله حتى ثلث طول البوغ ، البوغ مقسم بحواجز عرضية يصل عددها إلى ٨ و حواجز طولية مائلة قليلة العدد ، لون الأبواغ بني شاحب ، و قد تكون ملساء أو ذات ثآليل ، و يتراوح طولها بين ٢٠-٦٣ µ و سماكتها عند الطرف العريض ٩-١٨ µ ، و كل هذه الخصائص متوافقة مع خصائص الفطر *A. alternate* *C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* . و يدل عدم ظهور مرض اللفحة المبكرة إلى الخطأ الشائع في تسمية مرض تبقع الأوراق الألترناري باللفحة المبكرة و هذا يتفق مع ما وجده (**عتيق و آخرون ٢٠٠٧**) .

٣- القدرة الممرضة :

ظهرت أولى أعراض الإصابة على نباتات الطماطم(الهجين BIOKAN) بعد ٤ أيام من إجراء العدوى الإصطناعية بالفطر *A.alternata* حيث ظهرت بداية الإصابة على شكل بقع صغيرة الحجم ،دائرية الشكل تضم على الأغلب دوائر متحدة المركز ، و لم تظهر حواف صفراء حول بقعة الإصابة ثم إتسعت المساحة المصابة ، و تداخلت البقع مما أدى إلى لفحة الأوراق ، و تساقط الأوراق السفلية ، و احتراق نهاية الوريقة الطرفية للورقة المركبة . و تتماثل هذه الأعراض مع أعراض الإصابة على أوراق الطماطمالمتسببة عن الفطر *A. alternata* التي أشار إليها Akhtar و آخرون في باكستان (Akhtar *et al* .,2004).

تباينت العزلات في قدرتها الممرضة من جهة و في شراستها من جهة أخرى ، حيث كانت ٧ عزلات غير ممرضة بينما تباينت العزلات الأخرى في شراستها بين عالية الشراسة (D2.3، Q12.4) و المتوسطة و الضعيفة و ذلك كما هو مبين في الجدول (٢) .

جدول ٢:نسبة وشدة الإصابة بعزلات من الفطر *A.alternata* على نباتات الطماطم(هجين Biokan) .

مصدر العزلة	اسم العزلة	نسبة الإصابة%	شدة الإصابة%
درعا	D3.7	63.3 a	38.9 a
درعا	D4.3	78.5 a	57.2 b
درعا	D2.3	96.4 b	89.0 c
ريف دمشق	R3.2a	52.4 a	41.8 a
ريف دمشق	R5.7	53.6 a	38.0 a
ريف دمشق	R6.4	26.2 b	26.6 b
ريف دمشق	R6.1a	83.4 c	75.4 c
القنيطرة	Q7.5	70.5 a	51.8 a
القنيطرة	Q12.4	90.9 a	82.3 b

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية ضمن المحافظة عند مستوى إحتمال ٠.٠٥.

يعود وجود عزلات غير ممرضة من العامل الممرض إلى الطبيعة الرمية للفطر (Neergard,1979) و لا يعتبر *A.alternata* فطراً رمياً نموذجياً مثل *Aspergillus* و *Penicillium* حيث أنه يمتلك القدرة على تشكيل أعضاء التصاقabresoria في نهاية أنابيب الإنبات (Chelkowski and Visconti.1992; Bart,2003). و مع ذلك يمكن أن يكتسب الفطر *A.alternata*، نتيجة الطفرات الطبيعية أو التغيرات الوراثية الأخرى ، القدرة على إنتاج سم (توكسين) متخصص بالمضيف بالعائل Host-Specific Toxin (HTS) كناتج استقلاب (تغيير) ثانوي و يصبح عالي التخصص و شرس لطراز وراثي معين من النبات العائل (المضيف) ،و يبدو أن إنتاج مثل هذه السموم ضروري لحدوث المرض (Nishimura.,1980; Nishimura and Kohmoto .,1983) .و لذا فهو يسبب العديد من أمراض التبقع مثل البقعة السوداء على الفراولة (الفريز) (Maekawa *et al*.1984.,Wada *et al*.,1996) و التبقع البني على التبغ الدخان (Slavov *et al*.2004) و تبقع أوراق البازلاء (Kohmoto *et al* .1995) و لم تتم الإشارة سابقاً إلى أن *A.alternata* يسبب لفحة أوراق الطماطم في المنطقة الجنوبية من سوريا .

المراجع

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية ٢٠٠٨ . المكتب المركزي للإحصاء .الجمهورية العربية السورية

عتيق،عمر .أحمد الأحمد،محمد أبو شعر،محمد موفق بيرق.٢٠٠٧.مسح حقلي لأمراض الطماطم/الطماطم المتسببة عن الجنس Alternaria و البحث عن مصادر وراثية مقاومة لهذه الأمراض في سورية .

Akhtar, K.P., M.Y. Saleem, M. Asghar and M.A.Haq. 2004. New report of Alternaria alternate causing leaf blight of tomato in Pakistan. Plant Pathology, 53: 816.

Bart P. H. J. Thomma(2003), Alternaria spp.: from general saprophyte to specific parasite, MOLECULAR PLANT PATHOLOGY (2003) 4(4), 225–236

Ben-Noon, E., D. Shtienberg, E. Shlevin and A. Dinoor. 2003. Joint action of disease control measures: A case study of Alternaria leaf blight of carrot. Phytopathology, 93: 1320-1328.

Betrto,P.; P. Commenil, I. Belingheri and B. Dehorter.1999. Occurrence of a lipase in spores of Alternaria brassicicola with a crucial role in the infection of cauli£ower leaves. FEMS Microbiology Letters 180 (1999) 183-189

Chelkowski, J. and A. Visconti. 1992. *Alternaria*: Biology, Plant Diseases and Metabolites. Elsevier Science Publisher, Amsterdam.

C.M.I.1970 Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria.(240).

FAO. 2010., FAOSTAT statical data base.

Kohmoto, K., U.S. Singh and R.P. Singh. 1995. Pathogenesis and Host Specificity in Plant Disease:Histological, Biochemical, Genetic and Molecular Bases. Vol. II. Eukaryotes. Pergamon/Elsevier Science Ltd. N.Y. 407 pp.

Maekawa, N., M. Yamamoto, S. Nishimura, K.Kohmoto, M. Kuwada and Y. Watanabe. 1984.Studies on Host-Specific AF-toxins Produced by *Alternaria alternata* Strawberry Pathotype Causing Alternaria Black Spot of trawberry: Production of Host-Specific Toxins and their Biological Activities. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 50: 600-609.

Neergard, P. 1979. Seed Pathology, Vol. 1. MacMillan Press Ltd., London. 861 pp.

Nishimura, S. 1980. Host–specific toxin`s from *Alternaria alternate* . Problems and prospects.Proceedings of the Japan Academy, 56B: 362-366.

Nishimura, S. and K. Kohmoto. 1983. Host –specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. Annual Review of Phytopathology, 21: 87-116 .

Pandey KK, Pandey PK, Kallo G, Banerjee MK. 2003. Resistance toearly blight of tomato with respect to various parameters of disease epidemics. J Gen Plant Pathol 69:364–371

Slavov, S., S. Mayama and A. Atanassov. 2004. Some aspects of epidemiology of *Alternaria alternate* tobacco pathotype. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 18: 28-33.

Srivastava, K.C., V. Mishra and T. Gupta. 2005. Effect of conidial concentration of *Alternaria alternata* on germination and intensity of blight of tomato. Annals of Plant Protection Science, 13: 510- 512.

Thirthamallappa and H. C. Lohithaswa. (2000). Genetics of resistance to early bloght [Alternaria solani Sorauer] in tomato [Lycoperrsicon esculentum L.] Euphytica 113: 187-193.

Wada, H., P. Cavanni, R. Bugiani, M. Kodama, H. Otani and K. Kohmoto. 1996. Occurrence of the strawberry pathotype of *Alternaria alternata* in Italy. Plant Disease, 4: 372-374.

IDENTIFICATION OF SPOT AND LEAF BLIGHT OF TOMATO ON THE SOUTHERN REGION OF SYRIA , AND TESTING THE PATHOGENICITY.

Saad Aldean, A.[1]; W. Nafaa[2] and T. Abu Alfadhel[3]

[1]– Qunietra Countryside Center for (S.A.R)

2- Plant Protection Dept., Faculty of Agriculture, Damascus Univ.

3- General Commission For Scientific Agric. Res. Damascus, Duma

ABSTRACT

The study was conducted in the southern region of Syria (Daraa, Reef Dimashq , Al Qunytira) in order to determinate the casual agent of spot and leaf blight of tomato , testing the pathogenicity of the pathogen Isolates .

The results showed that the main agent of this disease is the fungus *Alernaria alternata* Kiessler in frequency (93.2%) and the fungus *Stemphylium* in frequency (6.8%) the pathogen Isolates showed a variation of pathogenicity , some of them was virulence 18.75 %, but the rest ranged from medium 31.25% to low 6.25 % in virulence, in addition some of the Isolates nonpathogenic 43.75 % .

Keywords: Tomato, Spot and leaf blight, *Alternaria alternata*, Pathgenicity

قام بتحكيم البحث

أ.د / محمد الششتاوي عبد ربه — كلية الزراعة – جامعة المنصورة

أ.د / عبد الودود زكي عاشور — مركز البحوث الزراعية