مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (5) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (5) 2013

تأثير مستنبتات مختلفة في بعض خصائص عزلات فطر الفيوزاريوم التي تسبب ذبول وأعفان جذور غراس الحمضيات

الدكتور صباح المغربي*
الدكتور عصام علاف**
تهامة يوسف***

(تاريخ الإيداع 9 / 4 / 2013. قبل للنشر في 27 / 5 / 2013)

□ ملخّص □

تعد مسببات ذبول وعفن جذور غراس الحمضيات *Fusariumoxysporum* و*F. solani* ممرضات متنوعة, أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير مستنبتات مختلفة في الصفات المورفولوجية, التبوغ وإنتاش الأبواغ لعزلات من جنس فيوزاريوم تم الحصول عليها من بذور وبادرات حمضيات. أظهرت النتائج أن مستنبت PSA كان الأفضل لنمو مستعمرات أغلب العزلات تلاه مستنبت PDA لنمو عزلات النوع *F.oxysporium*, والمستنبت CDA لنمو عزلات *F.solani*.كما أظهرت أن أفضل تبوغ لغالبية العزلات كان على مستنبت PSA تلاه مستنبت CDA .وكان مستنبت PDA هو الأفضل لإنتاش أبواغ غالبية العزلات.

الكلمات المفتاحية:حمضيات, فيوزاريوم, مستنبتات غذائية

* أستاذ – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
** أستاذ مساعد – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية – سورية.
*** طالبة دراسات عليا (ماجستير)– قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة تشرين– اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (5) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (5) 2013

The Effect of different media in some properties of *Fusarium* spp. isolates which cause wilt and root rot in citrus seedling

Dr. sabah al- maghrabi [*]
Dr. isam alaaf [**]
Tehama yossef [***]

(Received 9 / 4 / 2013. Accepted 27 / 5 /2013)

□ ABSTRACT □

Fusarium oxysporum and *F. solani*, causal agents of wilt and rot root in citrus seedling are variable pathogens. This study was conducted on the effect of different media in characters, sporulation, and spore germination of *fusarium* spp. Isolates that were isolated from seed and seedling of citrus.

The data revealed that the maximum mycelial growth was obtained in most isolates on Potato Sucrose agar for *F. oxysporum* and *F. solani*, followed by Potato Dextrose agar for *F. oxysporum*, and by Czapek'sDox agar for *F. solani*. The maximum sporulation was recorded in Potato Sucrose agar medium followed byCzapek'sDox agar .

The study also showed that Potato Dextrose agar was the best for germination of spores.

Keyword: Culture media ,Fusarium, Citrus**.**

[*] **Professor, Department of plant protection, Faculty of Agaric, Teshreen University, Lattakia, Syria.**
[**] **Associate professor, Department of plant protection, Faculty of Agaric, Teshreen University, Lattakia, Syria**
[***] **Postgraduate student, Department of plant protection, Faculty of Agaric, Teshreen University, Lattakia, Syria**

مقدمة :

تصاب مراقدبذور وغراس الحمضيات بمرض السقوط المفاجئ Damping off وهو من الأمراض الشائعة في المشاتل حيث يسبب فقدان نسبة كبيرة من الغراس, قد تحدث الإصابة به قبل الانبثاق Pre-emergence وتسبب تحلل البذور وموت الرشيم قبل ظهوره فوق سطح التربة ويسببه عدة أنواع من الفطور

Pythium spp., Rhizoctonia solani (Kuhn) *Pythium aphanidermatum* (Edson), *Phytophthora citrophthora (Sm.& Sm.)*, *P.nicotiana* (Dastur)

وقد تحدث بعد الإنبثاق فوق سطح التربة Post-emergence وتسبب تحلل ساق البادرات والغراس الصغيرة عند سطح التربة, مما يؤدي إلى سقوطها وتظهر المناطق المصابة على شكل بقع خالية من البادرات (Klotz,1978; Naqvi,2004). تعد لفحة الفلقات cotyledon blight أيضاً من أمراض ما بعد الانبثاق والتي تسببها الفطور المحمولة على البذور (Landis,1989 ; Hine,1999).وتعدُّ الأجناس الفطرية التالية المسببات الرئيسية لسقوط ما بعد الانبثاق

Rhizoctonia, Fusarium, Pythium، *Phytophthora*,(Landis,1989 ; Ohazuruike& Obi ,2000; Klotz,1978).

يعد جنس .*Fusarium*sp من أهم الأجناس الفطرية الممرضة للنبات ,وهو يسبِّبُ لكثير من الأنواع النباتية أمراضاً خطيرة مثل: الذبول, اللفحة, أعفان الجذر, والتقرح, (Agrios ,2005).كما يسبب أيضاً السقوط المفاجئ للغراس (Landis,1989) ويكّون ثلاثة أنواع من الأبواغ الكونيدية:الأبواغ الكونيدية الصغيرة, الأبواغ الكونيدية الكبيرة ,الأبواغ الكلاميدية. ويحافظ على بقائه بالأبواغ الكلاميدية في البذور وعلى بقايا النباتات الموجودة في التربة . (Haware*et al*. 1978)

يعد *Fusarium.solani* المسبب الرئيس لأعفان الجذر وعفن الجذر الجاف على الحمضيات الذي يعدُّ من أخطر الأمراض التي تصيب الحمضيات,أما نوع *Fusarium.oxysporum*, فيسبب الذبول الوعائي

(Menge&Nemec 1997; Gumpf*et al*., 1991) .أظهرت أبحاث عديدة أن هناك تنوعاً واسعاً في المظاهر المورفولوجية للعزلات المختلفة لنوعي جنس الفيوزاريوم المذكورين أعلاه عندما تدرس مخبرياً بظروف بيئية وفيزيائية مختلفة (Chattopadhyay&Sengupta 1955; Dwivedi&Dwivedi 1999).

ذكر Booth (1977) أن مستنبتات:بطاطا – ديكستروز– آغار(PDA), بطاطا – سكروز– آغار(PSA) ومستنبت دقيق الشوفان(oatmeal agar) هي مستنبتات جيدة لنمو *F.solani* و*F.oxysporum*, كما وجد Paulkar و Raut(2004) أنه في دراسة أجريت على عزلات*F.oxysporum*باستخدام ست مستنبتات

(مستنبت فيز أشبيAshby .viz, مستنبت أستانا وهاوكر Asthana و Hawker , مستنبت تشابكCzapek, مستنبت كريخوف Krichoff آغار, مستنبت بطاطا– ديكستروز– آغار PDA, وريشارد آغار Richard Agar أنَّ أفضل نمو كان على مستنبت PDA وأن أقل نمو كان على مستنبت كريخوف.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من أن محصول الحمضيات من أهم محاصيل الفاكهة في سوية, ويسبب جنس الفيوزاريوم له أمراضاً خطيرة في المشتل والحقل لذلك هدف إلى: دراسة الصفات المورفولوجية (شكل ولون المستعمرة, معدل النمو اليومي للمستعمرات, أبعاد الأبواغ) لعزلات الفيوزاريوم على المستنبتات (بطاطا– ديكستروز– آغار), (بطاطا– سكروز– آغار), (تشابك)، وتأثير هذه المستنبتات في كثافة الأبواغ الفطرية وإنتاشها .

طرائق البحث ومواده:

المواد:

1- المستنبتات

–مستنبت بطاطا– آغار–ديكستروز Potato Dextrose Agar (PDA)

– مستنبت بطاطا سكروز آغار Potato Sucrose Agar(PSA)

– مستنبت تشابك CzapekDox Agar(CDA)

2- عشر عزلات فيوزاريوم معزولة من بذور وبادرات حمضيات .

الطرائق:

أجريت هذه التجربة في مخبر وقاية النبات /مديرية زراعة اللاذقية في عام 2012

1. عزل الفطر

تم جمع العينات من مشتل الهنادي, غُسلت البادرات بالماء المقطر، وقطعت المناطق المصابة من الجذر والساق إلى قطع صغيرة, ثم عقمت بوضعها بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم التجاري (ماء جافيل) تركيز 10% لمدة3–4 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر ثلاث مرات, وضعت بعد ذلك على ورق ترشيح معقم وزرعت في أطباق بتري تحوي مستنبت PDA أما البذور فقد تم غسلها وتعقيمها ومن ثم زراعتها على المستنبت PDA, ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة (22±2)س في الظلام. فحصت الأطباق في اليوم السابع للتعرف على الفطور وتصنيفها بالاعتماد على لون المستعمرة وشكلها والسمات المظهرية للوحدات التكاثرية (الأبواغ)، والأبعاد البيومترية لهذه الوحدات (Nelson *et al.*,1994 ; Booth,1977 ; Seifert,1996; Burgess,*et al.*,1994)

تم اختيار خمس عزلات من النوع *F. oxysporum* وخمس عزلات من النوع *F. solani* للدراسة. جدول (1)

جدول (1) عزلات الجنس *Fusarium* المدروسة ومصدرها ونوعها

رقم العزلة	مصدرها	نوع الفطر
1	الساق	*F. oxysporum*
2	الجذر	*F. solani*
3	الجذر	*F. solani*
4	الجذر	*F. solani*
5	الجذر	*F. solani*

6	الجذر	*F.solani*
7	الساق	*F. oxysporum*
8	الجذر	*F. oxysporum*
9	البذرة	*F. oxysporum*
10	البذرة	*F. oxysporum*

2. تحضير المستنبتات :

تحضير مستنبت Potato Dextrose Agar

حضرّ المستنبت PDAبأخذ 39 غ من البودرة وإذابتها في ليتر ماء وغليها ...تم تعقيمها في الأتوغلاف على درجة حرارة 120ْ س لمدة 20 دقيقة. يعدُّ هذا المستنبت ملائماً لنمو الكثير من الانواع الفطرية (الجمعية العربية لوقاية النبات ,1990).

تحضير المستنبت Potato Sucrose Agar

أخذ 200 غ بطاطا مقشرة ومقطعة, غليت مع 800 مل ماء مقطر لمدة 10 دقائق, ثم رشحت بواسطة قطعة شاش, أكملت الرشاحة الى 1000 مل ثم أضيف لها 20 غرام سكروز و15 غرام آغار, ثم عقمت في الأتوغلاف على درجة حرارة 120ْس لمدة 20 دقيقة.وهو مستنبت جيد للتعريف بفطر .*Fusarium* sp ودراسة الصفات المورفولوجية لأنواعه (Nelson *et al.*,1983)

تحضير المستنبت CzapekDoxAgar

تم تجهيز المستنبتCDA بأخذ 49 غ من البودرة وإذابتها في ليتر ماء وغليها ...تم تعقيمها في الأتوغلاف على درجة حرارة 120ْ س لمدة 20 دقيقة.

3. دراسة الصفات المورفولوجية للعزلات على المستنبتاتPDA, PSA, CDA

تمت زراعة عزلات فطر الفيوزاريوم المدروسة على المستنبتات الثلاث في أطباق بتري قطرها 9 سم يحوي كل منها 15 مل مستنبت, بأخذ قرص قطره 5 مم من أطراف المستعمرة الفطرية ووضعه بشكل مقلوب في مركز الطبق. بمعدل 5 مكررات لكل عزلة على كل من المستنبتات, وحضنت على درجة حرارة (25±2)ْس لمعرفة تأثير المستنبت في نمو الفطر وتبوغه. بعد ذلك تم:

1- حساب متوسط قطر ومعدل النمو اليومي للمستعمرات : تم قياس أقطار المستعمرات النامية بعد 2, 4, 6, 8, 10 يوم من الزراعة, وتم حساب معدل النمو اليومي للعزلات المدروسة في اليوم السادس من الزراعة .

2- دراسة صفات المستعمرات: سجلت صفاتها من حيث الشكل, واللون لكل من السطحين العلوي والسفلي للطبق في اليوم العاشر من الزراعة.

3- قياس أبعاد أبواغ عزلات الفيوزاريوم على المستنبتات الثلاث PDA,PSA,CDA حيث تم قياس أبعاد الأبواغ الميكروكونيدية, والماكروكونيدية والكلاميدية بواسطة العدسة الميكرومترية.

4. تقدير كثافة التبوغ على المستنبتات المختبرة:

تم تحضير معلق بوغي من كل مستعمرة فطرية، وذلك بأخذ 9 مربعات من كل عزلة, طول ضلع كل منها 1سم, مأخوذة من ثلاث مكررات (أطباق), أضيفت هذه المربعات الى 10 من ماءٍ مقطر معقم, رجت جيداً ورشحت باستخدام ورق الترشيح, وتم حساب متوسط عدد الأبواغ في 1مل معلق لكل عزلة على المستنبتات المختلفة باستخدام شريحة مالاسيه وتطبيق المعادلة الحسابية الآتية :

$$N= n \times v \times 1000$$

N : عدد الأبواغ في(1) مل من المعلق البوغي

n : عدد الأبواغ في الشكل المختار للفحص في شريحة مالاسيه

V : مخرج الكسر المعبر عن حجم الشكل المختار (حيث حجم المربع الصغير 2000/1 مم^3 أي المخرج 2000)

1000: عامل تحويل من مم^3 الى مل (1 مل = 1000 مم^3) (طويل وصقر,2002).

5. تقدير نسبة إنتاش أبواغ مستعمرات العزلات المدروسة على المستنبتات باستخدام شريحة مقعرة:

تم تحضين المعلق البوغي السابق المتحصل عليه من المستعمرات الفطرية للعزلات المدروسة على حرارة 23±2 ْس، وتم أخذ القراءات بعد 24 و48 ساعة.

6. التحليل الإحصائي:

تم التحليل الإحصائي باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS V.18 باستخدام اختبار One Way ANOVA عند أقل فرق معنوي LSD مستوى المعنوية 5 %.

النتائج والمناقشة:

أولاً- دراسة الصفات المورفولوجية لعزلات الفيوزاريوم المدروسة على المستنبتات الثلاث:

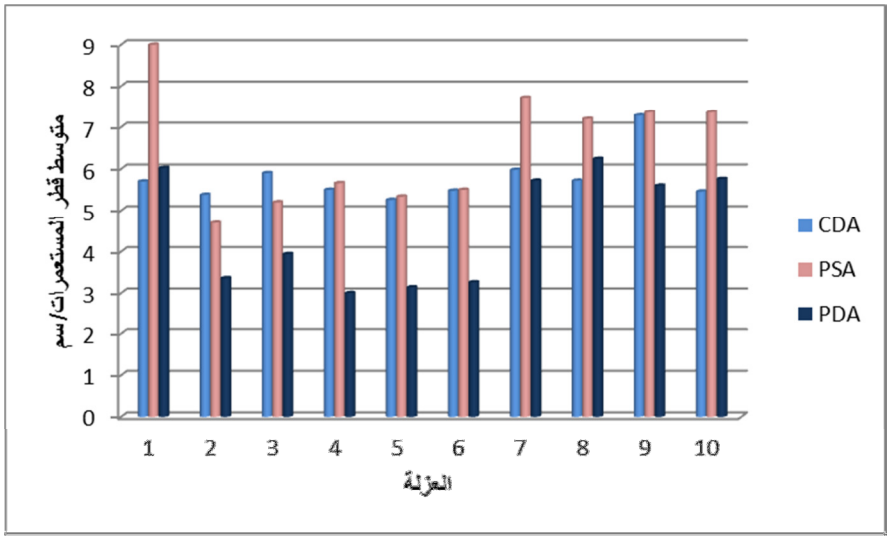
1- حساب متوسط قطر مستعمرات العزلات على المستنبتات

تم حساب متوسط قطر مستعمرات عزلات الفيوزاريوم في اليوم السادس من الزراعة على المستنبتات الثلاث الجدول (2), الشكل(1).

جدول (2): متوسط قطر مستعمرات عزلات فطر الفيوزاريوم على المستنبتات / سم في اليوم السادس من الزراعة

العزلة / المستنبت	العزلة									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PDA	6.02a	3.36a	3.94a	3a	3.14a	3.26a	5.72a	6.24a	5.6a	5.76a
PSA	9b	4.7b	5.2b	5.66b	5.34b	5.5b	7.72b	7.2b	7.36b	7.36b
CDA	5.7c	5.38c	5.9c	5.5b	5.26b	5.48b	5.98c	5.72c	7.28b	5.46a
LSD 5%	0.29	0.24	0.33	0.36	0.25	0.22	0.2	0.3	0.33	0.35

الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات (المعاملات متشابهة)



شكل (1) متوسط قطر مستعمرات عزلات فطر الفيوزاريوم على المستنبتات / سم في اليوم السادس من الزراعة

نلاحظ من الجدول (2) والشكل (1) أن: معدل نمو مستعمرات عزلات *F.oxysporum*(1, 7, 8,9,10) كان أعلى وبفروق معنوية على مستنبت PSA عنه في المستنبتين PDA وCDA (Czapek) باستثناء العزلة (9) حيث لم يكن الفرق معنوياً بين المستنبتين PSA وCDA, تلاه مستنبت PDA وبفروق معنوية عنه في المستنبت CDA باستثناء العزلتين (7, 9) حيث كان متوسط النمو أفضل بمعنوية على مستنبت CDA.

ومتوسط نمو مستعمرات عزلات *F.solani* (2, 3, 4, 5): كان أفضل وبفروق معنوية على المستنبت PSA عنه في المستنبتين PDA وCDA باستثناء العزلات (4, 5, 6), فالفروق لم تكن فيهما معنوية بينه وبين المستنبت CDA وكان متوسط نمو مستعمرات العزلات أعلى وبفروق معنوية على المستنبت CDAمنه على المستنبت PDA

2- حساب معدل النمو اليومي للعزلات المدروسة في اليوم السادس من للزراعة .

جدول (3): متوسط أقطار مستعمرات العزلات المدروسة (سم) ومعدل النمو اليومي(سم /يوم) بعد 6 أيام من الزراعة على المستنبتات الثلاث

المستنبت / العزلة	PDA		PSA		CDA	
	المتوسط	معدل النمو اليومي	المتوسط	معدل النمو اليومي	المتوسط	معل النمو اليومي
1	6.02	1.003	9	1.5	5.7	0.95
2	3.36	0.56	4.7	0.78	5.38	0.89
3	3.94	0.66	5.2	0.87	5.9	0.98
4	3	0.5	5.66	0.94	5.5	0.92
5	3.14	0.52	5.34	0.89	5.26	0.88
6	3.26	0.54	5.5	1.09	5.48	0.91
7	5.72	0.95	7.72	1.29	5.98	0.99
8	6.24	1.04	7.2	1.2	5.72	0.95
9	5.6	0.93	7.36	1.23	7.28	1.2
10	5.76	0.96	7.36	1.23	5.46	0.91

يبين الجدول (3) أن: معدل النمو اليومي لمستعمرات غالبية العزلات كان أفضل على مستنبت PSA للنوعين *F.oxysporum* و*F.solani*, تلاه المستنبت PDA للنوع *F.oxysporum*, وهذا يوافق ما ذكره (Gupta وآخرون ,2010) بأن نمو *F.oxysporum* أسرع من نمو *F.solani* على مستنبت PDA, وكذلك يوافق ما ذكره (Chittem و Kulkarn ,2007) و(Kishora وآخرون ،2010) الذين ذكروا أن مستنبت PDA أفضل من مستنبت CDA لنمو فطر *F.oxysporum*.

لكن (FAROOQ وآخرين ,2005) و(Sharma و Pandey ،2010) وجدوا أن مستنبت CDA (Czapek) أفضل من المستنبت PDA لنمو*F.oxysporum*, وهذا يختلف مع نتائجنا. والمستنبتCDA(Czapek) أفضل من المستنبت PDA للنوع *F.solani*, كما لوحظ من الجدول (3) أن الفرق كبير بين معدل النمو اليومي لعزلات *F.oxysporum* وعزلات *F.solani* على مستنبت PDA ومتقارب على مستنبتي PSA و CDA.

يبين الجدول(4) الصفات الشكلية لمستعمرات عزلات الفيوزاريوم على المستنبتات الثلاث في اليوم العاشر من الزراعة

جدول (4): الصفات الشكلية لمستعمرات عزلات الفيوزاريوم على المستنبتات الثلاث(في اليوم العاشر من الزراعة)

المستنبت / العزلة	سطح المستعمرة	PDA	PSA	CDA
1	علوي	الميسيليوم كثيف,المستعمرة بيضاء إلى زهرية, مشرشرة	كثيف,بيضاء,دائرية.	كثيف,بيضاء,دائرية.
	سفلي	أصفر مع برتقالي	بيضاء إلى بنفسجية	شفافة
2	علوي	كثيف, بيضاء الى زهرية,مشرشرة	كثيف, بيضاء إلى رمادية,دائرية.	كثيف,بيضاء إلى خضراء,دائرية.
	سفلي	صفراء مع أورانج ,بشكل تزييني	بيضاء مع أخضر	صفراء إلى زيتونية
3	علوي	كثيف,بيضاء إلى زهرية, مشرشرة	كثيف, بيضاء إلى رمادية, دائرية.	كثيف,بيضاء إلى خضراء.دائرية.
	سفلي	بيضاء إلى زهرية	بيضاء مع أخضر	أخضر زيتوني
4	علوي	متوسط الكثافة,بيضاء إلى زهرية, مشرشرة	كثيف,بيضاء, دائرية.	كثيف,بيضاء,يحيط بها هالة رمادية.
	سفلي	أصفر الى أورانج	بيضاء شفافة	شفافة يحيط بها هالة سوداء

تابع الجدول 4

5	علوي	كثيف, بيضاء . زهرية في المركز , مشرشرة	كثيف, بيضاء, دائرية.	كثيف, بيضاء, دائرية.
	سفلي	صفراء	شفافة مع قليل من الأخضر	بيضاء إلى زيتوني
6	علوي	كثيف, بيضاء الى زهرية, مشرشرة.	كثيف ,بيضاء ,دائرية.	كثيف, بيضاء, دائرية.
	سفلي	بيضاء إلى زهرية	بيضاء مع بني فاتح	بيضاء مع زيتوني مع بيج
7	علوي	كثيف,بيضاء إلى زهرية, مشرشرة	كثيف, بيضاء,دائرية.	كثيف, بيضاء, دائرية.
	سفلي	أورانج متماوج مع أبيض مصفر	بنفسجية	بيضاء إلى وردية
8	علوي	الميسيليوم كثيف,تتفرع أطرافه كالشجرة, المستعمرة زهرية, دائرية.	الميسيليوم كثيف, أبيض, المستعمرة دائرية.	كثيف, بيضاء, دائرية.
	سفلي	زهرية, دوائر متحدة المركز	بيضاء شفافة	بيضاء شفافة
9	علوي	الميسيليوم مخملي, زهرية,مشرشرة قليلاً, دائرية.	كثيف,بيضاء, دائرية.	كثيف, بيضاء, دائرية.
	سفلي	زهرية وكريمية شجيرية النمو	بنفسجي مع زهري على المحيط	وردي خفيف مع أسود
10	علوي	مخملي كثيف,زهرية, دائرية.	كثيف, بيضاء, دائرية.	كثيف,بيضاء, دائرية.
	سفلي	أورانج مع أصفر	بنفسجية	وردي خفيف

نجد من الجدول (4) أن مستعمرات عزلات *F.oxysporum* كانت قطنية بيضاء على مستنبت PSA السطح العلوي، وقد تراوح لونها من الأبيض إلى البنفسجي على السطح السفلي للطبق، أما على مستنبت CDA (Czapek) فكانت قطنية بيضاء على السطح العلوي للطبق وتراوح لونها بين الأبيض والأبيض المتسخ وأحياناً متشح بالبني الفاتح على السطح السفلي للطبق, أما على مستنبت PDAفقد كانت قطنية أو مخملية زهرية على السطح العلوي وتراوح لونها بين الزهري الفاتح والأورانج على السطح السفلي.

أما مستعمرات عزلات *F. solani*فتراوحت بين القطنية البيضاء إلى متسخة على السطح العلوي, وعلى السطح السفلي تراوح اللون من الأبيض إلى الزيتوني, على مستنبت PSA وتراوحت بين القطنية البيضاء والمتسخة على السطح العلوي, وتراوحت بين الأبيض والمتسخ والزيتوني على السطح السفلي على مستنبت CDA, أما على مستنبت PDA فكانت اسفنجية بيضاء على السطح العلوي وتراوحت بين الأبيض المصفر إلى الأورانج على السطح السفلي.

3-قياس أبعاد أبواغ عزلات فطر *Fusarium* على المستنبتات الثلاث PDA,PSA,CDA

تم قياس أبعاد الأبواغ الكونيدية الصغيرة والكبيرة والأبواغ الكلاميدية(طول ,عرض) على المستنبتات الثلاث ودونت النتائج في الجدول (5)

جدول (5): أبعاد أبواغ العزلات المدروسة على المستنبتات الثلاث مقاسة بالميكرون

العزلة	PDA			PSA			CDA		
	كونيدية صغيرة	كونيدية كبيرة	كلاميدية	كونيدية صغيرة	كونيدية كبيرة	كلاميدية	كونيدية صغيرة	كونيدية كبيرة	كلاميدية
1	-5 -2.5×12.5 3.75	-12.5 7.5-2.5×25	-8.75 10	2.5×7.5-5	-12.5 -2.5×20 5	10-5	-5 ×12.5 5-2.5	-12.5 ×17.5 -2.5 3.75	-8.75 10
2	-5×17.5-10 7.5	5×32.5-25	10-5	-5 2.5×12.5 5-	-17.5 5×42.5	7.5	-7.5 3.75×15 5-	-15 5×35	10-7.5
3	-7.5 -3.75×12.5 5	5×35-17.5	7.5	-5 2.5×12.5 5-	5×30-15	12.5-5	-6.25 ×12.5 5-2.5	-15 5×32.5	12.5-5
4	-7.5 5-2.5×15	5×27.5-15	7.5-5	-8.75 5-2.5×15	-22.5 5×35	7.5-5	-5 ×12.5 5-2.5	-15 2.5×35 5-	7.5-5
5	-7.5 5-3.75×15	-10 -5×42.5 6.25	7.5-5	-7.5 -2.5×15 3.75	5×40-20	10-5	-10 5×17.5	-22.5 5×37.5 6.25-	-7.5 11.25
6	-5 5-2.5×17.5	-17.5 7.5-5×40	-7.5 12.5	-5 2.5×12.5 5-	5×25-15	7.5-5	-5 ×12.5 5-2.5	-20 -5×40 6.25	7.5

7	−2.5×7.5−5 5	−20 −2.5×45 3.75	7.5−5	−5 2.5×8.75 5−	5×25−15	12.5−5	−5 2.5×7.5 5−	−17.5 2.5×35 3.75−	7.5−5
8	−5 5−2.5×12.5	×37.5×12.5 5−2.5	7.5−5	−5 2.5×12.5 5−	−15 3.75×25 5−	7.5−5	−3.75 ×12.5 5−2.5	−12.5 ×37.5 5−2.5	7.5−5
9	−5 5−2.5×12.5	−25−17.5 5−3.75	5	−5 2.5×12.5 3.75−	−20 5×22.5	10−7.5	−7.5 −2.5×10 3.75	−22.5 5×35	5
10	−5 5−2.5×12.5	−20 −5×27.5 6.25	10−5	−5 5−2.5×10	5×25−15	15−7.5	−5 −2.5×15 5	−17.5 5×30	15−7.5

نجد من الجدول (5)أنّ: أبعاد الأبواغ الكونيدية الصغيرة للنوع *F.oxysporum* على مستنبت PDA (عرض, طول) تراوحت بين (2.5 −5) و(5 −12.5) ميكروناً أما أبعاد الابواغ الكونيدية الكبيرة فتراوحت بين (2.5 – 6.25) و(12.5 – 45) والكلاميدية بين (5 – 10) ميكرون.

أما على المستنبت PSA فتراوحت أبعادالأبواغ الكونيدية الصغيرة بين (2.5 – 5) (5 – 12.5) ميكروناً, والأبواغ الكونيدية الكبيرة فتراوحت أبعادها بين(2.5− 5) (12.5 – 25) ميكروناً و(5 – 15) ميكروناً للكلاميدية.

وكانت أبعاد الأبواغ الكونيدية الصغيرة على مستنبت CDA(Czapek) (2.5 – 5) (5 – 15) ميكروناً أما الأبواغ الكونيدية الكبيرة فكانت أبعادها (2.5 – 5) (12.5 – 37.5) ميكروناً والكلاميدية (5 – 15) ميكروناً .

النوع *F. solani*على مستنبت PDA: تراوحت أبعادالأبواغ الكونيدية الصغيرة (2.5 – 7.5) (5 – 17.5) ميكروناً والأبواغ الكونيدية الكبيرة (2.5 – 7.5) (10 – 42.5) ميكروناً والكلاميدية (5 – 12.5) ميكروناً.

أما على المستنبت PSA فكانت أبعاد الأبواغ الكونيدية الصغيرة (2.5 – 5) (5 – 15) ميكروناً والأبواغ الكونيدية الكبيرة (2.5 – 5) (15 – 42.5) ميكروناً والكلاميدية (5 – 12.5) ميكروناً.

وكانت أبعادالأبواغ الكونيدية الصغيرة على المستنبت CDA(2.5 – 5) (5 – 15) ميكروناً والأبواغ الكونيدية الكبيرة (2.5 – 6.25) (15 – 40) ميكروناً والكلاميدية (5 – 12.5) ميكروناً.

وهذا توافق معBooth (1977) ومع *Gupta* وآخرين (2010) اذ كانت متوسطات أبعاد الأبواغ الكونيدية الصغيرة والأبواغ الكونيدية الكبيرة للنوعين *F. solani* و*F.oxysporum* المذكورة في دراساتهم تقع ضمن مجال أبعاد الأبواغ المذكورة أعلاه على مستنبتي PDA وتشابك.

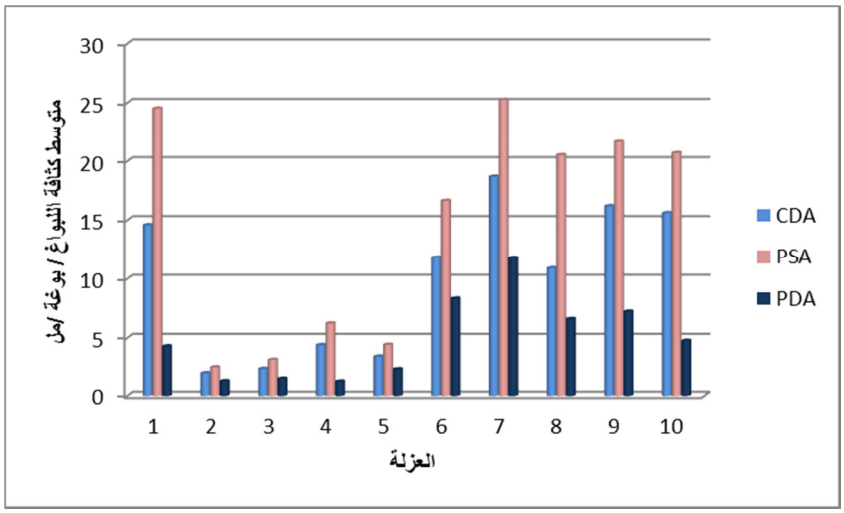
ثانياً – تقدير كثافة التبوغ على المستنبتات المختبرة:

تم أخذحجم معين (1مل) من المعلق البوغي الذي تم تحضيره بواسطة ماصة مدرجة ووضع على شريحة مالاسيه, تم عد الأبواغ في 50 مربعاً صغيراً, كررت العملية ثلاث مرات, بعدها تم حساب متوسط عدد الأبواغ في 1مل معلق بوغي لكل عزلة من العزلات على المستنبتات الثلاث, ودونت النتائج في الجدول (6) والشكل(2)

جدول (6) : متوسط كثافة ابواغ العزلات المدروسة في 1 مل معلق بوغي على المستنبتات الثلاث

LSD 5 %	CDA	PSA	PDA	المستنبت / العزلة
5.14×10^5	14.6×10^5c	24.53×10^5b	4.3×10^5a	1
0.62×10^5	2.03×10^5b	2.53×10^5b	1.36×10^5a	2
1.06×10^5	2.4×10^5ab	3.16×10^5b	1.57×10^5a	3
1.76×10^5	4.4×10^5c	6.23×10^5b	1.33×10^5a	4
0.81×10^5	3.43×10^5c	4.43×10^5b	2.36×10^5a	5
4.91×10^5	11.83×10^5ab	16.66×10^5b	8.33×10^5a	6
6.91×10^5	18.7×10^5ab	25.26×10^5b	11.8×10^5a	7
2.81×10^5	10.9×10^5c	20.53×10^5b	6.6×10^5a	8
4.13×10^5	16.2×10^5c	21.66×10^5b	7.23×10^5a	9
1.21×10^5	15.62×10^5c	20.7×10^5b	4.76×10^5a	10

الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين العزلات (المعاملات متشابهة)



شكل (2) متوسط كثافة ابواغ العزلات المدروسة في 1 مل على المستنبتات الثلاث

أظهرت نتائج الدراسة المدونة في الجدول رقم (6) التي يوضحها الشكل رقم (2) أن تبوغ مستعمرات العزلات المدروسة المزروعة على مستنبت PSA كان أعلى وبفروق معنوية باستثناء العزلات (2,3,6,7) المزروعة على مستنبت CDA(Czapek), تلاه مستنبت CDA حيث كان التبوغ عليه أعلى منه على مستنبت PDA وبفروق معنوية باستثناء العزلات (3,6,7) وهذا يتفق مع (Chittem و Kulkarn، 2007) ومع(Gupta وآخرين، 2010), حيث ذكروا أن التبوغ أفضل على المستنبت CDA(Czapek) منه في PDA و يختلف مع (Chavan، 2007) ومع (Kishora وآخرين، 2010) الذين ذكرا أن التبوغ أفضل على المستنبت الغذائي PDA.

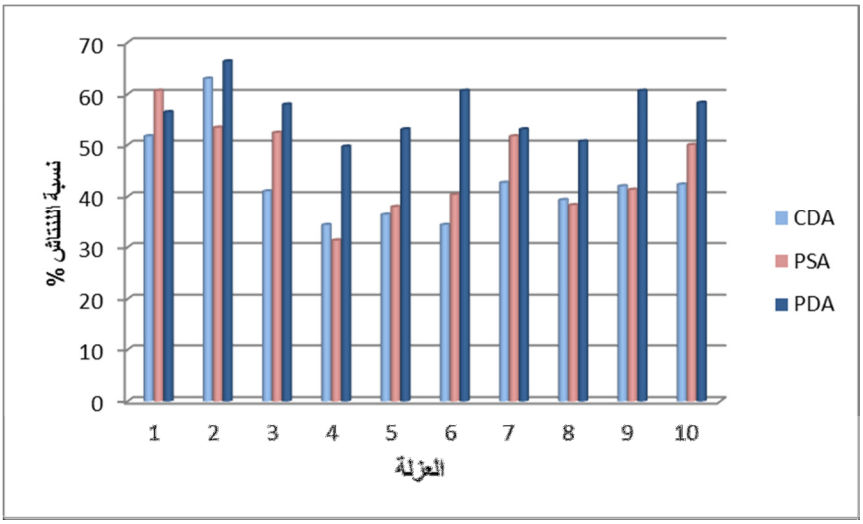
ثالثاً – تقدير نسبة إنتاش أبواغ مستعمرات العزلات المدروسة على المستنبتات الثلاث:

تم تحضين المعلق البوغي السابق المتحصل عليه من المستعمرات الفطرية للعزلات المدروسة على حرارة 23 ْسوتم أخذ القراءات بعد 24 و48 ساعة وذلك بوضعه في شريحة مقعرة. والجدول (7) يبين النسبة المئوية للإنتاش بعد 48 ساعة.

جدول (7): نسبة إنتاش أبواغ العزلات المدروسة على المستنبتات الثلاث بعد 48 ساعة:

LSD 5 %	المستنبت			المستنبت / العزلة
	CDA	PSA	PDA	
18.45	51.66a	60.66a	56.33a	1
12.51	63ab	53.33b	66.33a	2
11.89	41b	52.33ab	58a	3
12.47	34.33b	31.33b	49.66a	4
16.82	36.33a	38a	53a	5
8.07	34.33b	40.33b	60.66a	6
6.96	42.66b	51.66a	53a	7
6.62	39.33b	38.33b	50.66a	8
7.96	42b	41.33b	60.66a	9
8.91	42.33b	50ab	58.33a	10

الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين العزلات (المعاملات متشابهة)



شكل (3) : نسبة إنتاش ابواغ العزلاتالمدروسة على المستنبتات الثلاثبعد48 ساعة

يظهر الجدول (7) والشكل (3) بأن : نسبة الإنتاش لأبواغ العزلات (4,6,8,9,) المزروعة على المستنبت PDA أعلى وبفرق معنوي عنه في المستنبت PSA وCDA(Czapek), ولم يكن الفرق معنوي بين المستنبت PSA والمستنبت CDA في كل العزلات باستثناء العزلة (7) حيث كانت نسبة الإنتاش أعلى على المستنبت PSA, ولم يكن هناك فروق معنوية بين نسبة الإنتاش على المستنبتات الثلاث في العزلتين (5, 1).

الاستنتاجات والتوصيات:

نستنتج مما سبق أن :

1- مستنبت PSA هو الأفضل بين المستنبتات المختبرة لنمو مستعمرات فطر *F.oxysporium* تلاه مستنبت PDA ثم CDA (Czapek), أما فطر *F.solani* فكان نموه أفضل على مستنبت PSA تلاه مستنبت CDA .

2- كان تبوغ غالبية العزلات أفضل على مستنبت PSAثمCDAللنوعين *F.oxysporium* و *F.solani*.

1- كان إنتاش أبواغ غالبية العزلات أفضل على مستنبت PDA وتقارب المستنبتين الآخرين بالنتائج, ولم يكن لنوع الفطر تأثير على هذه الصفة تحت ظروف درجة حرارة 23 ±2.

التوصيات:

1- دراسة الصفات المورفولوجية لأنواع الفيوزاريوم الأخرى .

2- استخدام مستنبتات أخرى لدراسة فطر الفيوزاريوم عليها.

المراجع:

1 - الجمعية العربية لوقاية النبات. *المرشد الوجيز في أمراض النبات* . ترجمة بسام بياعة,الطبعة الثانية, بالاشتراك مع منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة ومكتب الكومنولث الزراعي ,1990, 559 .

2 - طويل, محمد زكريا؛ صقر, ابراهيم عزيز. *السموم واختباراتها الحيوية*. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية – جامعة تشرين, 2002, 387.

3. Agrios, N.G.,*Plant pathology* ,Fifth edition, university of Florida, 5th ed., 2005.922.
4. Booth, C. *Fusarium Laboratory Guide to the Identification of the Major Species*. Common wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1977, 58.
5. Burgess L.W., Summerell B.A., Bullock, S.,Gott K.P.& Backhouse, D. *Laboratory Manual for* Fusarium *Research.*3. Sydney: University of Sydney; 1994. 133.
6. Chattopadhyay, S.B.& Sengupta S.K., *Studies on wilt of Psidium guajava L. in West Bengal.* Indian J. Hort.1955, 12: 76–79.
7. Chavan,S.,*Studies on fungal diseases of patchouli with special reference to wilt caused by Fusariumsolani* (Mart.) Sacc.2007.http://etd.uasd.edu/abst/th9443.pdf
8. Chittem,K.S.& Kulkarn. *Effect of Media on the Growth of Fusarium oxysporumf. sp. Gerberae and Fusarium oxysporumf. spdianthi* J. Agric. Sci.,2007, 21 (2)
9. Dwivedi S.K. &Dwivedi P. *Wilt disease of guava: a national problem*. J. Appl. Hort.1999, 1 (2): 151–154.
10. Farooq, S., Iqbal,SH.M.& Abdulrauf,CH., *Physiological Studies Of Fusarium oxysporum* F. Sp. *CiceriInt*. J. Agri. Biol., 2005, Vol. 7, No. 2,

11. Gupta,V.K., Misra, A.K. & Gaur,R. K.,*Growth Characteristics of Fusarium SPP. Causing wilt diseasein Psidium Guajaval*. *in India*.J. Plant Protection Research, 2010,Vol. 50 (4):452-462
12. Gumpf ,D. J.,Menge,J. A.,Ohr,H. D.&Pehrson.J.E.*Integrated pest management forcitrus*. University of California. 1991.144.
13. Haware, M.P., Nene,Y.L.& Rajeshware,R. *Eradication of Fusarium oxysporumf. spciceri transmitted in chickpea seed.* Phytopathology,1978.68: 1364–7
14. Hine, R. *Diseases of urban plant* . University of Arizona,1999 http://ag.arizona.edu/pubs/diseases/az1124
15. Kishore, R., Pandey,M., Dubey,M. K.& Kumar,Y.*Effect of different culture media on growth and sporulation of Fusarium oxysporum f. sp. lini causing linseed wilt*. ProgressiveAgriculture,2010, Vol. 10 No. 1. 138-140
16. Klotz.L. j., Chapter 1: *Fungal ,Bacterial, and Nonparasitic Diseases and Injuries Originating in the Seedling ,Nursery ,and Orchard* Pages1-9 in citrus Industry Volume IV. University of California, iddited by Wlter Reuther,1978.362.
17. Landis,T.T., Disease and pest management, 1989, 1-99.
18. Menge J.A. &Nemec S. *Citrus In Soil-borne Diseases of Tropical Crops*, CAB INTERNATIONAL, 1997. 185-227.
19. Naqvi,S.A.,*Diseases of Fruits and Vegetables: Diagnosis and Management*, Springer-verlag, New York, 2004, 692.
20. Nelson P.E., Toussoun T.A. &Marasas W.F.O., *Fusarium*species: *An Illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania.1983. 193.
21. Nelson, P.E.; Dignani, M.C.&Anaissie, E.F., *Taxonomy, Biology and Clinical Aspects of Fusarium Species* .Clin.Microbiol. Rev., 1994, 7(4): 479-504.
22. Ohazuruike, N. C.& Obi, V.I.,*Basic Principles of Plant Pathology*. Totan publishers limited, Nigeria, (2000), 127.
23. Paulkar P.K.&Raut B.T. *Variability among the isolates of Fusarium oxysporum f. sp. ciceri.J.* Mycol. Plant Pathol,2004, 34 (1): 20–23.
24. Seifert, K.*Fusarium interactive key*.Agr. &Agri – Food Canada,1996.
25. Sharma R.L.& PandeyR.R., *Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes,* Journal of Yeast and Fungal Research.2010. Vol. 1(8) 157.