

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

Saad Aldean, A.<sup>1</sup>; W. Nafaa<sup>2</sup> and T. Abu Alfadhel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>- Qunietra Countryside Center for (S.A.R)

<sup>2</sup>- Plant Protection Dept., Faculty of Agriculture, Damascus Univ.

<sup>3</sup>- 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<sup>1</sup> ، وليد نفاع<sup>2</sup> و تيسير أبو الفضل<sup>3</sup>

1- مركز بحوث القنيطرة

2- قسم وقاية النبات \_ جامعة دمشق

3- 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 إصابة 93.2% ، إضافة إلى الفطر *Stemphylium sp.* الذي وجد بنسبة إصابة 6.8% . و قد تباينت عزلات الفطر الممرض بقدرتها الممرضة ، فقد كان بعضها شرساً جداً بنسبة 18.75% من مجموع العزلات المدروسة فيما كان بعضها الآخر متوسط الشراسة 31.25% إلى منخفض الشراسة 6.25% كما وجدت بعض العزلات غير الممرضة 43.75% . الكلمات المفتاحية : طماطم ، لفحة و تبقع أوراق ، *Alternaria alternata* ، قدرة ممرضة.

### المقدمة

يعد محصول الطماطم واحداً من أهم محاصيل الخضار اقتصادياً ، و أوسعها انتشاراً في العالم . و حسب إحصائيات منظمة الأغذية والزراعة الدولية (FAO, 2010) ، فقد بلغت المساحة الإجمالية المزروعة في العالم حوالي 4.39 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 طنناً (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*) ، و الذبول الفيوزاريومي (*Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*) ، و البياض الدقيقي (*Leveillula taurica*) ، و التبقع الأثرناري (*Alternaria alternata*) ، و تعفن الساق و التمار (*Rhizoctonia solani*) . و من الأمراض الفيروسية: اصفرار و تجعد أوراق الطماطم (الزعررة) (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

## نقد البحث خلال عام 2009 و 2010

### 1- جمع العينات:

جمعت العينات من المحافظات الجنوبية {درعا ، ريف دمشق ، القنيطرة } و شملت معظم مناطق زراعة الطماطم فيها ، جمعت العينات من 37 حقلا للزراعة المكشوفة من درعا و ريف دمشق و القنيطرة ( 13-12) 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 .

### 2- عزل العامل الممرض :

أخذت عينات من الأوراق من بقعة الإصابة مع جزء من النسيج السليم المجاور للبقعة المتماوتة ، ثم طهرت سطحياً باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم 2% لمدة دقيقة واحدة ، و غسلت بالماء المقطر ، ثم جففت بين ورق نشاف معقم . زرعت القطع في أطباق بتري بلاستيكية قطر 9 سم تحتوي على بيئة مغذية {بطاطس دكستروز آجار PDA} ، و حضنت الأطباق عند درجة حرارة 23 ± 1 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 و الحوامل الجرثومية و الجراثيم الكونيدية ) و ذلك حسب المرجع (C.M.I.1970 Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria).

### 3- اختبار القدرة الممرضة:

تم الحصول على مزارع نقية من عزلات الفطر *Alternaria alternata* بتقنية البوغ الواحد single spore على بيئة PDA ، ثم حضن من كل منها معلق الجراثيم بتركيز 10<sup>5</sup> جرثومة/مل . و استخدم في هذه الدراسة هجين الطماطم BLOKAN من إنتاج شركة BIOTEK ، حيث زرعت البذور في صواني فليينية لإعداد الشتلات ( 8×4×4 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 24±1 م° ، و نظام إنارة 16 ساعة إضاءة فلوروسنت . نقلت الشتول بعد ثلاثة أسابيع إلى أصص بلاستيكية سوداء معقمة بقطر 10 سم تحتوي على خليط مكون من طين و رمل و بتموس معقم (1:1:1 ح .) . وضعت الأصص البلاستيكية في غرفة الإنبات ، و حضنت تحت الشروط السابقة . أجريت العدوى الإصطناعية على شتلات بعمر خمسة أسابيع باستخدام طريقة القطرة (20 µl) من المعلق الجرثومي بواسطة ميكروبييت معقمة (Petro et al;1999) و ذلك بمعدل ثلاثة مكررات (أصص) لكل عذلة إضافة إلى الشاهد (الكنترول) غير المعدى . وضعت قطرة على نصل الورقة و على العروق و على الغمد و غطيت النباتات باكياس من البلاستيك لمدة 4 أيام ، و ذلك للحفاظ على الرطوبة و ضمان نجاح العدوى ، و خلال هذه الفترة تم رفع الرطوبة النسبية في غرفة الإنبات إلى 85% و درجة الحرارة إلى 26 م° . اختبرت في هذه الدراسة القدرة الممرضة لـ 16 عذلة من الفطر ، حيث أخذت القراءات بعد 10 أيام من العدوى الإصطناعية باستخدام سلم خماسي (مجال القياس scale) (1-5) ، ثم يحول مقياس المرض إلى نسبة مئوية من (Early blight)EB 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 0.01 .

جدول 1 : سلم مجال القياس شدة الإصابة بمرض تبقع الأوراق الألترناري المتسبب عن الفطر (*Thirthamallappa and Lohithaswa, 2000*) *A. alternata*

طبيعة الإصابة		درجة سلم التقييس
فطر البقعة (مم)	النسبة المئوية للمساحة المصابة من الورقة	
لا يوجد بقع	صفر	1
اقل من 2	اقل من 10 %	2
2-5	10-25%	3
5-7.5	26-49%	4
اكبر من 7.5	50-100%	5

## النتائج و المناقشة

### 1- جمع العينات :

تبين من خلال الجولات الحقلية انتشار مرض تبقع أوراق الطماطم في جميع الحقول التي تمت زيارتها في المحافظات محل الدراسة، وقد 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 عشوائى 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*, 2005; Srivastava *et al*, 2003). ، و قد يعود عدم ظهور مرض اللفحة المبكرة في أي من الحقول إلى عدم توفر الظروف الجوية الملائمة لانتشار المرض .

### 2- عزل العامل الممرض :

أظهرت نتائج الدراسة المرفولوجية أن 93.2% من العزلات الفطرية المتحصل عليها تتبع النوع *A. alternata* بينما 6.8 % تتبع الجنس *Stemphylium* . تباينت العزلات فيما بينها من حيث اللون (زيتوني أو أخضر و أحياناً 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 50  $\mu$  و قطرها حتى 6  $\mu$  . ويتكون على نهاية الحامل البوغي أبواغ كونيديية تشكل غالباً سلاسل طويلة متفرعة ، الأبواغ كثرية الشكل تستدق لتشكل منقار شاحب اللون و قد يصل طوله حتى ثلث طول البوغ ، البوغ مقسم بحواجز عرضية يصل عددها إلى 8 و حواجز طولية مائلة قليلة العدد ، لون الأبواغ بني شاحب ، و قد تكون ملساء أو ذات تآليل ، و يتراوح طولها بين 20-63  $\mu$  و سماكتها عند الطرف العريض 9-18  $\mu$  ، و كل هذه الخصائص متوافقة مع خصائص الفطر *A. alternata* *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 2007) .

### 3- القدرة الممرضة :

ظهرت أولى أعراض الإصابة على نباتات الطماطم (الهجين BLOKAN ) بعد 4 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 اتسعت المساحة المصابة ، و تداخلت البقع مما أدى إلى لفحة الأوراق ، و تساقط الأوراق السفلية ، و احتراق نهاية الوريفة الطرفية للورقة المركبة . و تتماثل هذه الأعراض مع أعراض الإصابة على أوراق الطماطم المسببة

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 7 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 (2) .

جدول 2: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 احتمال 0.01.

يعود وجود عزلات غير ممرضة من العامل الممرض إلى الطبيعة الرمية للفطر (Neergard, 1979) و لا يعتبر *A.alternata* فطراً رميةً نموذجياً مثل *Aspergillus* و *Penicillium* حيث أنه يمتلك القدرة على تشكيل أعضاء التصاق abresoria 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) كنتاج استقلاب (تغيير) ثانوي و يصبح عالي التخصص و شرس لطرز وراثي معين من النبات العائل (المضيف) ، و يبدو أن إنتاج هذه السموم ضروري لحدوث المرض (Nishimura., 1980; Nishimura and Kohmoto ., 1983). و لذا فهو يسبب العديد من أمراض التبقع مثل البقعة السوداء على الفروالة (الفريز) (Maekawa et al., 1996) و التبقع البني على التبغ (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 2008 . المكتب المركزي للإحصاء . الجمهورية العربية السورية عتيق، عمر. أحمد الأحمد، محمد أبو شعر، محمد موفق يبرق. 2007. 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 cauliflower 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 statistical 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 strawberry: 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 toxins from *Alternaria alternata*. 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 to early 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 alternata* 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 blight [*Alternaria solani* Sorauer] in tomato [*Lycopersicon 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.<sup>1</sup>; W. Nafaa<sup>2</sup> and T. Abu Alfadhel<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>- 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

أ.د / عبد الودود زكي عاشور

كلية الزراعة – جامعة المنصورة

مركز البحوث الزراعية