

عزل وتشخيص انواع الفطر *Fusarium* في ثلاثة انواع من التربة واختبار قدرتها الامراضية على بذور الفجل مختبريا

مجيد متعب ديوان

حسين غثيث الكلابي

عقيل عماد محمد الزامل

كلية الزراعة-جامعة الكوفة

كلية الزراعة-جامعة الكوفة

كلية الزراعة-جامعة الكوفة

الخلاصة

هدفت الدراسة الى عزل انواع الفطر *Fusarium* وتشخيصها في ثلاثة انواع من التربة بطريقتين هما: العزل بطريقة التخافيف والعزل من الاجزاء النباتية في التربة، وحددت المواقع التي تؤخذ منها عينات التربة والتي تمثلت بثلاث مناطق الاولى: هي التربة الرملية في المزارع الصحراوية في طريق نجف - كربلاء والثانية مزارع التربة المزيجية على ضفاف نهر الفرات (شط الكوفة)، والثالثة هي التربة الطينية في حقول الرز في ناحية الحرية التابعة لمحافظة النجف. وقد اجري العزل خلال الفصول الاربعه اذ ابتدأت في منتصف تموز 2009 وتشرين الاول وكانون الثاني 2010 ونيسان من السنة نفسها، وقد عزل في هذه الدراسة 13 نوعا تابعاً للجنس *Fusarium* عشرة منها تعزل لأول مرة في العراق هي *F.konzum* و *F.circinatum* و *F.phyllophilum* و *F.pseudonygamai* و *F.beomiforme* و *F.hostae* و *F.dlamini* و *F.lateritium* و *F.nelsonii* و *F.denticulatum*.

لقد بينت النتائج ان اعلى نسبة مئوية لتردد الجنس *Fusarium* كان في التربة الصحراوية في فصل الصيف، اذ بلغت 6.6 %، اما بالنسبة لتردد الانواع فقد تغلب الفطر *F.konzum* المعزول في تموز 2009 من التربة الصحراوية على الانواع المعزولة جميعاً، حيث بلغت نسبة ترده 100 %، واتضح من النتائج بان اختبار القدرة الامراضية لمستعمرات انواع الفطر *Fusarium* على بذور نبات الفجل في اطباق بتري الحاوية على الوسط الغذائي P.D.A، ان الفطر *F.beomiforme* كان الاكثر امراضية بين الانواع جميعاً حيث، لم يحدث انبات لبذور الفجل المزروعة مع مستعمرات هذا النوع مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت نسبة الانبات فيها 100 %، و وجد ان الفطرين *F.hostae* و *F.semitectum* كانت قدرتهما الامراضية ضعيفة حيث بلغت نسبة انبات بذور الفجل 94.67 و 92 % على التوالي، و ان الفطر *F.lateritium* لم يسبب نقصاً يذكر في معدل اطوال الرويشة، حيث بلغ معدل اطوالها 12.20 ملم مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغ معدل اطوالها فيها 12.40 ملم، لكنه سبب فروقات معنوية واضحة في معدل طول الجذير، وقد سجلت العزلة B من الفطر *F.nelsonii* زيادة في معدل طول الرويشة لبادرات نبات الفجل اذ بلغ 12.63 ملم مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغ معدل اطوال الرويشة فيها 12.00 ملم. وقد تم اختبار قدرة الانواع المعزولة على افراز سموم الافلاتوكسينات، اذ وجد ان الانواع المعزولة جميعاً لم تفرز هذه السموم باستثناء الفطر *F.denticulatum* الذي تغير لون ظهر المستعمرة فيه الى اللون الاحمر، مما يدل على افرازه لسموم الافلاتوكسينات.

المقدمة

ان لفطريات التربة اثراً كبيراً في عملية التوازن الحيائي في التربة، وان جزءاً منها له اثر كبير في تفسخ المواد العضوية وتحليلها سواء كانت نباتية او حيوانية، اما الجزء المهم بالنسبة للمشتغلين بالامراض النباتية فهو الفطريات التي تسبب امراض نباتية مثل امراض موت البادرات damping-off diseases وSeedling، وامراض الذبول الوعائي التي من اهم مسبباتها الفطر *Fusarium spp* (ديوان، 1984). ان جنس الفيوزاريوم هو احد الاجناس المهمة اقتصادياً ويتضمن العديد من الانواع الممرضة التي تسبب العديد من امراض النبات (Nelson وآخرون، 1981). ان محاولات تصنيف الفطر فيوزاريوم قد بدأت منذ ان سجل هذا الفطر من قبل الباحث Fries سنة 1812 بحسب ما أورده Booth، (1971) إلا أن مشكلة تصنيف انواع هذا الجنس ما زالت قائمة بسبب الانواع الكثيرة لهذا الجنس، حيث تم تشخيص اكثر من 1000 نوع. اذ مر تصنيف الفطر فيوزاريوم في مراحل عدة بين اضافة او اختزال انواع معينة. والجزء الاكثر شيوعاً في تصنيف الفيوزاريوم هو تقسيم الجنس الى مجاميع اواقسام sections حيث قسم Wollenweber، (1913) هذا الجنس الى ستة اقسام ضمت 20 نوعاً وقسم Booth، (1971) الجنس الى 12 قسماً ضمت اكثر من 50 نوعاً وضرباً والاساس الرئيس الذي اعتمد في هذا التصنيف هو حجم الكونيديا وشكلها ونسبة الطول الى العرض وعدد الحواجز وتركيب الخلية الطرفية وشكلها والخلية القاعدية وغيرها من الصفات.

يوجد جنس الفيوزاريوم في معظم انحاء العالم لكن افراد النوع ربما تكون اكثر تحديداً في توزيعها وغالباً تكون محددة بشكل خاص في المناطق المناخية حيث وجد الباحث Saremi وآخرون، (1997) في المسح الذي

اجري في جنوب استراليا سيادة الانواع *F.solani* و *F.oxysporum* و *F.equiseti* في كل المناطق اما *F.crookwelense* و *F.tricinctum* و *F.sporotrichioides* فقد عزلت من المناطق الباردة فقط بينما الفطرين *F.chlamydosporum* و *F.graminearum* عزلا من المناطق المعتدلة الى الدافئة. وهذا التوزيع لايعني بان المناخ يسيطر بشكل مباشر على توزيع انواع الجنس، لان توزيع بعض الانواع مثل *F.graminearum* يحدد بشكل مبدئي بواسطة الغطاء النباتي (Snyder و Nash، 1968؛ Saremi وآخرون ، 1997).

المواد وطرائق العمل

أخذ العينات

تم جمع عينات التربة عشوائيا بطريقة الاقطار المتقاطعة وذلك بعمل مستطيل وهمي وجمعت العينات من الزوايا الاربع ومن منطقة تقاطع قطري المستطيل (تاج الدين وآخرون، 1988)، وقد اخذت العينات من سطح التربة ولغاية عمق 30 سم . خلطت العينات الخمسة لكل تربة على حده بعضها مع البعض الآخر . و اجريت الدراسة في منتصف تموز و تشرين الاول 2009 و كانون الثاني و نيسان 2010 لتمثل الفصول الاربعة من السنة حيث تم اخذ عينات التربة من ثلاث مناطق الاولى من المزارع الصحراوية في طريق نجف- كربلاء وتمثل الترب الرملية وكانت تزرع بالطماسة بين سنة واخرى والثانية من مزارع على ضفاف نهر الفرات (شط الكوفة) وتمثل الترب المزيجية، والتي تتعاقب فيها زراعة الخيار والجت والياميا والبقلاء والثالثة من احد حقول الرز في ناحية الحرية التابعة لمحافظة النجف وتمثل الترب الطينية والتي كانت تزرع بالرز والحنطة بالتعاقب سنويا . جلبت العينات الى مختبرات الدراسات العليا في كلية الزراعة/ جامعة الكوفة ليتم عزل الفطريات منها واجراء الفحوصات المختبرية اللازمة لتشخيص الفطريات التابعة للجنس *Fusarium* .

الايوساط المستعملة في هذه الدراسة

استعملت في هذه الدراسة اوساط زرعية مختلفة استخدم بعضها للعزل والتنمية والبعض الآخر استخدم لغرض انتاج تراكيب مهمة في عملية تشخيص وتصنيف الانواع.

- 1- وسط Potato Dextrose Agar (P.D.A.) الجاهز .
- 2- وسط الاكر المائي Water Agar .
- 3- وسط اوراق القرنفل Carnation Leaf Medium .
- 4- وسط مبروش جوز الهند .

عزل الفطر *Fusarium* بطريقة التخفيف Dilutions Plate method

اخذ 1 غرام من التربة على اساس الوزن الجاف من كل نوع من انواع الترب الثلاث ووضع في انابيب اختبار تحوي كل منها على 9 مل من الماء المقطر المعقم، ورجت جيدا ثم نقل 1 مل من احد هذه الانابيب على حده، وتم امراره عبر سلسلة من التخفيف في انابيب تحوي كل منها على 9 مل من الماء المقطر المعقم لحين الحصول على التخفيف 10^{-4} . نقل 1 مل من التخفيف الاخير لكل طبق من اطباق بتري البالغ عددها 30 طبق لكل نوع من انواع الترب الثلاثة واضيف اليها 20-25 مل من الوسط الغذائي P.D.A. الجاهز المضاف اليه الكلورامفينيكول . وحركت الاطباق حركة رحوية لكي يتم توزيع العالق البوغي بشكل متجانس . وتركت الاطباق لكي تتصلب ثم وضعت بالحاضنة بصورة مقلوبة وحضنت على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ \text{C}$ وبعد ثلاثة ايام تم عد مستعمرات الفطر *Fusarium* النامية في كل تخفيف في الاطباق ولانواع الترب الثلاثة بحسب المعادلة الاتية :

عدد الوحدات التكاثرية = عدد المستعمرات X مقلوب التخفيف .

ثم قدرت الكثافة العددية للفطريات في انواع الترب الثلاثة وعلى مدى اربعة فصول بهذه الطريقة، وكذلك تم حساب النسبة المئوية لتردد انواع الجنس *Fusarium* على وفق المعادلة التالية :-

عدد مستعمرات النوع

النسبة المئوية لتردد الانواع = $\frac{\text{عدد الكلي للمستعمرات الفطرية}}{100 \times \text{Booth وآخرون ، 1988}}$.

العدد الكلي للمستعمرات الفطرية

عزل الفطر *Fusarium* من الاجزاء النباتية الموجودة في التربة

جمعت الاجزاء النباتية الموجودة في عينات التربة المأخوذة من المناطق الثلاث كلا على حده ثم قطعت الى قطع صغيرة طول كل واحد منها 0.5 سم بعدها غسلت بالماء عدة مرات لازالة دقائق التربة الملتصقة عليها ثم عقمت بهايبو كلورات الصوديوم بتركيز 10% من المحلول التجاري لمدة دقيقتين ، وغسلت بعد ذلك بالماء المقطر المعقم عدة مرات لازالة اثار المادة . ثم وضعت على ورق ترشيع معقم لامتصاص الماء الزائد . زرعت بعد ذلك في اطباق بتري تحوي على الوسط الغذائي P.D.A. الجاهز بواقع خمسة قطع من الاجزاء النباتية لكل طبق وخمسة اطباق لكل نوع من انواع التربة الثلاث ثم حضنت الاطباق بالحاضنة على درجة حرارة 25 °م ± 2 لمدة 72 ساعة. تم تنقية مستعمرات الفطر *Fusarium* التي ظهرت في الاطباق التي تحوي على الوسط الغذائي الجاهز P.D.A. بطريقة البوغ المنفرد .

شخصت جميع انواع الفطر *Fusarium* المعزولة في هذه الدراسة بمساعدة الاستاذ الدكتور مجيد متعب ديوان اعتمادا على الصفات التصنيفية التي اوردها Burgess واخرين ، (1988) وبلاستعانة بالمفاتيح التصنيفية seifert ، (1996) و Leslie و Summerell ، (2006).

حفظ عزلات الفطر *Fusarium*

حملت جميع انواع الفطر *Fusarium* المعزولة في جميع التجارب على بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum L.* حيث تم غسل البذور بشكل جيد لازالة الاتربة والشوائب عنها ثم نعتت لمدة ست ساعات بعدها، وضعت على ورق نشاف لامتصاص الماء الزائد ووضعت في انابيب زجاجية حجم 100 مل ذات غطاء معدني محكم الاغلاق ، ووضع في كل انبوبة خمسين غم من البذور وعقمت بجهاز التعقيم البخاري تحت ضغط 15 باوند بالانج المربع لمدة ساعة كاملة، وتركت لمدة يوم واحد وعقمت مرة اخرى بنفس درجة الحرارة والضغط . ثم لقت البذور بانواع الفطر لكل انبوبة على حده وذلك بوضع 1 قرص بقطر 1 سم بوساطة ثاقب فليني لكل انبوبة من الفطر النامي على الوسط الغذائي P.D.A. بعمر سبعة ايام وتم غلق هذه الانابيب باحكام ووضعت بالحاضنة لمدة عشرة ايام بدرجة حرارة 25 ± 2 °م اخذين بالحسبان رج الانابيب كل 2-3 ايام لضمان توزيع الفطر على جميع البذور (Dewan ، 1989) . ثم تركت بجو المختبر لاستعمالها وقت الحاجة .

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *Fusarium*

تم زراعة ثلاثة اطباق تحوي على الوسط الغذائي P.D.A. الجاهز لكل من انواع الفطر *Fusarium* بقرص قطره 0.5 سم مع طبق لمعاملة السيطرة وسط من دون فطر وبعد ان وصل قطر المستعمرات المزروعة من 4-5 سم تم زراعة 25 بذرة من بذور الفجل على حواف هذه المستعمرات، وهذه البذور عقمت سطحيا قبل الزراعة باستعمال هايبو كلورات الصوديوم 10 % من المحلول التجاري لمدة خمسة دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم عدة مرات لازالة اثار المادة ثم وضعت على ورق نشاف معقم لامتصاص الماء الزائد بعدها نقلت البذور الى الاطباق بواسطة ملقط معقم اذ زرعت بشكل دوائر حول المستعمرة . حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 °م لمدة 72 ساعة ، بعدها تم حساب البذور النابتة، وغير النابتة على مستعمرات كل نوع ومعاملة السيطرة، وكذلك تم قياس أطوال الرويشة والجذير في جميع اطباق التجربة بعد مرور ثلاثة ايام من الزراعة .

تجربة اختبار افراز الافلاتوكسينات

تم زراعة طبق بتري واحد يحوي على الوسط الغذائي P.D.A. الجاهز واخر يحوي على وسط مبروش جوز الهند المحضر مسبقا لكل نوع من انواع الفطر *Fusarium* التي عزلت في جميع التجارب، وبعد ان اصبحت المستعمرات الفطرية بعمر سبعة ايام تم قلب الاطباق ووضعت (0.2) مل من محلول الامونيا بتركيز 25% بوساطة محقنة طبية على غطاء الطبق بعد فتحه بهدوء وعناية، وتركت الاطباق مقلوبة ووضعت في الحاضنة لمدة سبعة ايام في درجة حرارة 25 °م . وبعد ذلك تم مراقبة الاطباق من اليوم الثاني الى اليوم السابع من الحضانة لملاحظة ما اذا كان هناك تغير في لون قواعد المستعمرات الى اللون الاحمر او الاصفر البرتقالي (Machida و Saito ، 1999) ان مثل ذلك التغير يدل على افرازها للافلاتوكسينات .

تحليل النتائج احصائيا

صممت التجربة على وفق التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) Completely Randomized Design واختبار اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% ، وحللت النتائج في جميع التجارب على وفق هذا التصميم. (الراوي وخلف الله ، 2000) .

النتائج والمناقشة

العزل باستخدام طريقة التخافيف

بينت الدراسة ان 10 انواع من الفطر *Fusarium* عزلت بطريقة التخافيف سبعة منها تعزل لأول مرة في العراق بهذه الطريقة وهي : *F.konzum* و *F.circinatum* و *F.phyllophilum* و *F.beomiforme* و *F.hostae* و *F.nelsonii* و *F.denticulatum*. بالاضافة الى الانواع *F.nygamai* و *F.semitectum* و *F.solani* كما تم عزل ثلاثة انواع اخرى لأول مرة من الاجزاء النباتية في التربة وقد اشارت النتائج ظهور عدد من مستعمرات الفطر *Fusarium* والتي تعود لانواع مختلفة في جميع عينات تربة الشواطئ المأخوذة على طول مدة الدراسة. و ان الفطر *F.nelsonii* كان له اكبر عدد من المستعمرات يليه الفطر *F.konzum* .

اوضحت نتائج الدراسة المبينة في جدول رقم (1) ان اكبر عدد من مستعمرات الفيوزاريوم التي تم الحصول عليها باستخدام العزل بطريقة التخافيف ظهرت في عينة تربة حقول الرز المأخوذة في منتصف نيسان 2010 حيث بلغ عدد المستعمرات 19 مستعمرة جميعها تعود للنوع *F.nelsonii* تليها عينة تربة الشواطئ المأخوذة بالمدة نفسها حيث بلغ عدد مستعمرات الفطر *Fusarium* فيها 6 مستعمرات تعود للنوعين *F.denticulatum* و *F.nelsonii* وهذا مقارب لما ذكره البهادلي، (2009) حيث اشار الى ارتفاع عزلات الفطر *Fusarium sp* خلال شهري نيسان وحزيران ، كما بينت نتائج العزل ان عينات التربة الصحراوية المأخوذة في المدد (منتصف تشرين الاول 2009 و منتصف كانون الثاني 2010 و منتصف نيسان 2010) لم تظهر فيها اية مستعمرات للفطر فيوزاريوم وقد يعود السبب في ذلك ان مناخ المناطق الصحراوية مناخ متطرف جدا حيث الحرارة العالية خلال الصيف اضافة الى انخفاض كبير في درجات الحرارة خلال الشتاء يؤدي الى موت معظم الوحدات الحية لهذا الفطر و لم تظهر مستعمرات الفطر المذكور في عينة تربة حقول الرز المأخوذة في منتصف كانون الثاني 2010 وقد يعزى السبب الى ان حقول الرز في اثناء وقبل كانون الثاني يتم ارواء محصول الحنطة فيها الذي يزرع بعد الرز مما يؤدي الى هلاك جراثيم الفطر *Fusarium* بماء الري .

العزل من الاجزاء النباتية

تم عزل ثلاثة انواع من الفطر *Fusarium* لأول مرة في العراق من المخلفات النباتية للنباتات المزروعة في التربة والتي ذكرت سابقا فقد تم في هذه الدراسة عزل النوع *F.pseudonygamai* من عينة تربة حقول الرز في منتصف تشرين الاول اما النوعين *F.dlamini* و *F.lateritium* فقد تم عزلهما من عينة التربة الصحراوية المأخوذة في منتصف كانون الثاني وهذا قد يتفق مع ما ذكره ديوان والبهادلي ، (1984) الذي يمكن ان ينطبق على عدد من انواع الفيوزاريوم حيث بينا ان الفطر *F.oxysporum* يقضي المدة بين موسمين على شكل ابواغ كلاميدية وكونيدية على مخلفات العائل .

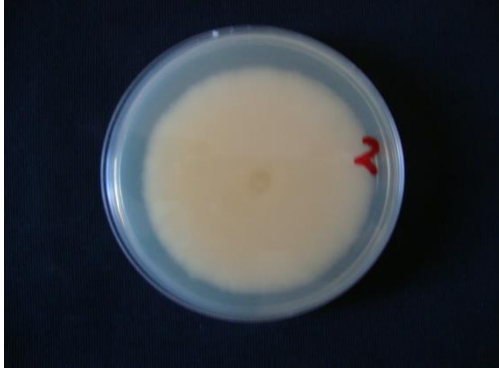
جدول (1) عدد مستعمرات الفطر *Fusarium* للأنواع المعزولة بطريقة التخافيف 10^{-4} في أنواع الترب الثلاث وعلى مدى أربعة فصول

عدد المستعمرات				نوع الفطر <i>Fusarium</i>
فصل الصيف	فصل الخريف	فصل الشتاء	فصل الربيع	
2009 7 15	2009 10 15	2010 1 15	2010 4 15	
1*	-	1	-	<i>F. beomiforme</i>
1	-	-	-	<i>F. circinatum</i>
-	-	-	4	<i>F. denticulatum</i>
-	-	2	-	<i>F. hostae</i>
6	-	-	-	<i>F. konzum</i>
1	-	-	-	<i>F. nygamai</i>
-	-	-	20	<i>F. nelsonii</i>
-	1	-	-	<i>F. phyllophilum</i>
-	1	-	-	<i>F. semitectum</i>
-	-	1	-	<i>F. solani</i>
8	2	4	24	المجموع

*تعني لا توجد مستعمرات للفطر *Fusarium*

جدول (2) عدد مستعمرات الفطر *Fusarium* للأنواع المعزولة من الأجزاء النباتية في التربة لأنواع الترب
الثلاث خلال فصول السنة

عدد المستعمرات				نوع الفطر <i>Fusarium</i>
فصل الصيف	فصل الخريف	فصل الشتاء	فصل الربيع	
2009 7 15	2009 10 15	2010 1 15	2010 4 15	
-	- *	1	-	<i>F. dlamini</i>
-	-	3	-	<i>F. lateritium</i>
-	2	-	-	<i>F. pseudonygamai</i>
-	2	4	-	المجموع



ب- ظهر المستعمرة



أ- وجه المستعمرة



ج- الابواغ الكونيدية تحت المجهر

صورة (1) الفطر *F.circinatum* أ- وجه المستعمرة ب- ظهر المستعمرة ج- الابواغ الكونيدية الكبيرة والصغيرة تحت المجهر عند قوة تكبير $40\times$



ب- ظهر المستعمرة



أ- وجه المستعمرة



ج- الأبواغ الكونيدية تحت المجهر

صورة (2) الفطر *F. denticulatum* أ- وجه المستعمرة ب- ظهر المستعمرة ج- الأبواغ الكونيدية الكبيرة والصغيرة تحت المجهر عند قوة تكبير $40\times$

تجربة اختبار افراز الافلاتوكسينات

اوضحت نتائج الدراسة ان استعمال طريقة اضافة 0.2 مل من محلول الامونيا بتركيز 25 % الى غطاء طبق بتري الحاوية على انواع الفطر *Fusarium* لم تثبت افراز هذه الانواع لسموم الافلاتوكسينات فيما عدا الفطر *F. denticulatum* الذي اثبتت هذه الطريقة افرازه لهذه السموم . قد يعود السبب في هذه النتائج الى ان الانواع والعزلات التي تم الحصول عليها لم تفرز سموم الافلاتوكسينات وربما تفرز سموم من انواع اخرى لم يتم الكشف عنها بهذه الطريقة او ان بعضها لم يفرز سموم بالمرّة .

اختبار القدرة الامراضية لانواع الفطر *Fusarium* المعزولة على انبات بذور الفجل المنمأة في اطباق بتري

بينت النتائج في جدول(3) ان الفطر *F. konzum* كان اقل الانواع امراضية لبذور نبات الفجل المزروعة على حواف مستعمرات الفطر في اطباق بتري حيث كانت نسبة الانبات 88% وهذا يتطابق مع ماذكره Zeller وآخرون (2003) ، حيث بين ان هذا النوع يكون مسببا مرضيا ذات قدرة امراضية ضعيفة او غير مهم اقتصاديا. وقد اوضحت الدراسة ان الفطر *F. circinatum* كان اكثر الانواع امراضية لبذور نبات الفجل حيث سجل اوطىء نسبة للانبات بلغت 41.3% ، وهذه النتائج تؤكد دراسات سابقة بينت ان هذا النوع مهم في الحجر الزراعي في نيوزيلندا واستراليا (Dick، 1998 و Horgan و Dick، 2004) لوجود نبات الصنوبر *Pinus radiate* الذي يعد افضل عائل معروف لهذا المسبب المرضي (Owen و Adams، 2001 و Wikler وآخرون، 2003) ، ولكن هناك العديد من انواع الصنوبر التي تكون حساسة لهذا المسبب ايضا (Enebak و Stanosz، 2003 و Schmale وآخرون، 2004) . و ان الفطر *F. circinatum* قلل وبشكل كبير من اطوال كل من الرويشة والجذير كما في الجدول(4) في البادرات التي استطاعت الانبات حيث بلغت معدلات اطوالهما على التوالي 6.33 ، 1.03 ملم مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت معدلات اطوال الرويشة والجذير فيها 10.87

، 16.43 ملم على التوالي . وكانت هناك فروقات معنوية واضحة عند مقارنة نتائج هذا النوع بالنسبة الى معاملة السيطرة .

اشارت نتائج الدراسة المبينة في جدول(3) الى ان الفطر *F.pseudonygamai* كان من اكثر الانواع امراضية لبذور نبات الفجل اذ ان اكثر من ثلثي عدد البذور فشلت في الانبات وكانت نسبة انباتها على مستعمرات هذا النوع في اطلاق بترى 30.7 % وقد يعود السبب في فشل انبات البذور الى السموم التي يفرزها الفطر فقد ذكر Fotso وآخرون ،(2002) ان الفطر *F.pseudonygamai* ينتج السم moniliformin الذي يكون سام لبط التجارب الصغير . ووضحت الدراسة ايضا ان الفطر *F.phyllophilum* كان ممرضا ايضا وسبب فشل في انبات العديد من بذور نبات الفجل حيث بلغت نسبة الانبات فيها 33.3 % وهذه النتائج تتوافق مع ما وجدته Nirenberg ، (1976) في دراسة سابقة حيث ذكر ان الفطر له علاقة مع العوائل ذات الاوراق السمكية وكان قد ذكر على تلك العوائل في اوربا ، وبينت نتائج التجربة ان الفطر *F.semitectum* كان اقل الانواع امراضية حيث بلغت نسبة انبات البذور المزروعة مع مستعمرات هذا الفطر 92.0 % وهذا يتطابق مع ما ذكره Booth ، (1978) حيث ذكر ان هذا الفطر هو متطفل ثانوي secondary invader لانسجة النبات فهو ممرض للاوراق التي تأكلها الحشرات او المصابة بفطر آخر ويعد متطفلا "ضعيفا" على النباتات النامية . وانه لم يسبب أي نقصان في طول الرويشة حيث بلغ طولها 14.6 مقارنة بمعاملة السيطرة والتي بلغ طول الرويشة فيها 14.73 وقد يعود السبب الى ان الفطر ربما يسبب تحفيز في نمو الاجزاء الخضرية حيث بين Booth ، (1978) أن عزلات الفطر المأخوذة من محيط جذور نبات الذرة Rhizosphere حفزت نمو الانبات ونمو الجزء الخضرى بمعدل نمو 4 - 6.1 سم على وسط P.S.A بعد اربعة ايام.

اوضحت الدراسة ان الفطر *F.beomiforme* كان ممرضا بصورة تامة، وسبب فشل انبات بذور الفجل كليا، وهذه النتيجة تتناقض مع ما ذكره Leslie و Summerell ، (2006) في دراسة سابقة حيث بين ان الفطر *F.beomiforme* لم يسبب أي مرض وربما يكون مترمما ، ومن المحتمل ان يكون سبب فشل بذور الفجل بالانبات يعود الى افراز مستعمرات هذا النوع للسموم الفطرية فقد اوضح Marasas وآخرون ،(2001) افراز هذا الفطر لسم moniliformin وذكر Logrieco وآخرون ،(1998) ان الفطر *F.beomiforme* ينتج السم beauvericin . وقد بينت نتائج الدراسة ان الفطر *F.lateritium* اقل الانواع المعزولة في فصل الشتاء امراضية اذ بلغت نسبة انبات بذور الفجل 88 % ، وقد يكون للتخصص الفسيولوجي لبعض عزلات انواع الفطر *Fusarium* اثرا في هذه النتيجة، اذ ان هناك عددا من انواع الفيوزاريوم تتخصص على عوئل معينة . كما ان هذا الفطر لم يسبب أي نقصان في طول الرويشة حيث بلغ معدل اطوالها 12.2 ملم مقارنة بمعاملة السيطرة حيث بلغ معدل اطوال الرويشة فيها 12.4 ملم ، و لكنه سبب فروقا معنوية واضحة في طول الجذير .

بينت نتائج التجارب في هذه الدراسة انخفاض امراضية انواع الفطر *Fusarium* المعزولة في فصل الربيع فقد تم عزل ثلاث عزلات تابعة للنوع *F.nelsonii* تقاربت اثنتان منهما في مستوى القدرة الامراضية، وهما العزلتان A و C اذ بلغت النسبة المئوية لانبات بذور نبات الفجل 86.67 ، 81.33 % على التوالي بينما اختلفت العزلة B بعض الشيء في امراضيتها حيث بلغت النسبة المئوية لانبات البذور فيها 77.33 % وهذه النتيجة تكاد تكون واقعية حيث ان الفطر *F.nelsonii* ينتمي الى قسم *Arthrosporiella* وهذا القسم يضم *F.semitectum* و *F.camptoceras* التي يوجد فيها بعض التشابه مع *F.nelsonii* وفطريات هذا القسم تكون ذات قدرة امراضية ضعيفة، وقد اكد Marasas وآخرون ، (1998) ان هذه المجموعة هي متطفلات ضعيفة او ثانوية توجد على الاجزاء النباتية المصابة بفطريات اخرى او اماكن تغذية الحشرات على العائل النباتي . اما بالنسبة للفطر *F.denticulatum* فقد كانت امراضيته ضعيفة هو الاخر حيث بلغت نسبة الانبات لبذور نبات الفجل المزروعة مع مستعمرات هذا الفطر 82.67 % ، وبينت هذه الدراسة الى ان العزلة B للفطر *F.nelsonii* قد سببت نوع من الزيادة في نمو الاجزاء الخضرية لبادرات الفجل حيث بلغ معدل اطوال الرويشة 12.63 ملم مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغ معدل اطوال الرويشة فيها 12 .



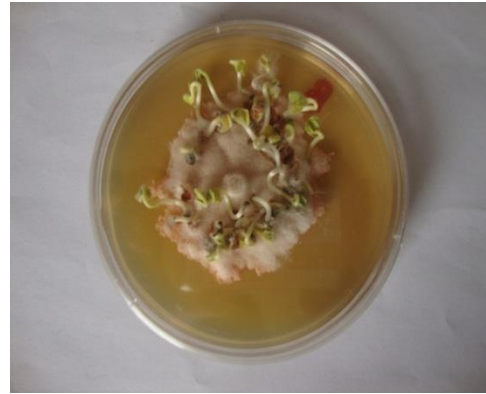
ب- بذور الفجل في معاملة السيطرة



أ - بذور الفجل مع مستعمرة الفطر *F.beomiforme*



د - بذور الفجل في معاملة السيطرة



ج - بذور الفجل مع مستعمرة الفطر *F.nelsonii* B

صورة (3) اختبار القدرة الامراضية لنوعي الفطر *Fusarium* على بذور الفجل في الوسط الغذائي P.D.A.

جدول (3) عدد بذور الفجل النابتة وغير النابتة ونسبة الانبات للبذور المنمأة في اطباق بتري على الوسط الغذائي P.D.A. بوجود انواع الفطر *Fusarium* المعزولة في الصيف والخريف والشتاء والربيع على التوالي

نسبة الانبات %	البادرات الميتة	البذور النابتة	انواع الفطر <i>Fusarium</i>
88.0	3.00	22.00	<i>F. konzum</i>
41.3	14.67	10.33	<i>F. circinatum</i>
46.7	13.33	11.67	<i>F. nygamai</i>
100.0	0.00	25.00	Control
9.72	2.431	2.431	L.S.D. 0.05
92.0	2.00	23.00	<i>F. semitectum</i>
33.3	16.67	8.33	<i>F. phyllophilum</i>
30.7	17.33	7.67	<i>F. pseudonygamai</i>
100.0	0.00	25.00	Control
12.30	3.075	3.075	L.S.D. 0.05
80.00	5.00	20.00	<i>F. solani</i>
94.67	1.33	23.67	<i>F. hostae</i>
0.00	25.00	0.00	<i>F. beomiforme</i>
74.67	6.33	18.67	<i>F. dlamini</i>
88.00	3.00	22.00	<i>F. laleritium</i>
100.0	0.00	25.00	Control
5.563	1.391	1.391	L.S.D. 0.05
86.67	3.33	21.67	<i>F. nelsonii</i> (a)
77.33	5.67	19.33	<i>F. nelsonii</i> (b)
81.33	4.67	20.33	<i>F. nelsonii</i> (c)
82.67	4.33	20.67	<i>F. denticulatum</i>
100.0	0.00	25.00	Control
6.775	1.694	1.694	L.S.D. 0.05

• كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات

جدول (4) معدلات اطوال الرويشة والجذير (ملم) لبادرات الفجل النامية في اطباق بتري بوجود انواع الفطر *Fusarium* على الوسط الغذائي P.D.A. بعد ثلاثة ايام من الزراعة

انواع الفطر <i>Fusarium</i>	طول الرويشة (ملم)	طول الجذير (ملم)
<i>F. konzum</i>	9.53	1.63
<i>F. circinatum</i>	6.33	1.03
<i>F. nygamai</i>	12.4	1.63
Control	10.87	16.43
L.S.D. 0.05	1.44	0.71
<i>F. semitectum</i>	14.6	4.5
<i>F. phyllophilum</i>	8.3	2.87
<i>F. pseudonygamai</i>	8.1	2.53
Control	14.73	15.3
L.S.D. 0.05	2.47	0.99
<i>F. solani</i>	11.3	6.17
<i>F. hostae</i>	10.3	3.63
<i>F. beomiforme</i>	0.00	0.00
<i>F. dlamini</i>	10.2	1.87
<i>F. laleritium</i>	12.2	3.33
Control	12.4	14.4
L.S.D. 0.05	1.86	1.56
<i>F. nelsonii</i> (a)	10.33	1.83
<i>F. nelsonii</i> (b)	12.63	3.6
<i>F. nelsonii</i> (c)	12	3.2
<i>F. denticulatum</i>	11.4	4.53
Control	12	11.97
L.S.D. 0.05	1.40	0.67

• كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات

- البهادلي ، كاظم حسين كاظم . 2009 . عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لجذور اشجار الحمضيات وتأثيرها في مرض تعفن الجذور وتدهور شتلات النارج ومقاومة الممرض احيائيا . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الكوفة .
- تاج الدين، منذر ماجد و عماد بشير يعقوب. 1988 . مبادئ التربة العملي. مطبعة جامعة البصرة .
- ديوان ، مجيد متعب. وعلي حسين البهادلي. 1984 . امراض النبات . مؤسسة المعاهد الفنية- بغداد . 344 صفحة.
- الراوي ، احمد عبد الهادي . واحمد حيدر الزبيدي ونظيمة قدوري . 1986 . كيمياء التربة . كلية الزراعة . جامعة بغداد . الطبعة الاولى .
- Booth , C . 1978. *Fusarium semitectum* .In Description of pathogenic Fungi and bacteria CMI .No.574.Kew , Surry , England .
- Booth , T .Gorrie , S .and Mabsin , T.M. 1988 . Life Strategies among fungal, assemblages on *Salicornia europaea* agg . Mycologia : 80: 176-191 .
- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, United Kingdom .
- Burgess, L. W., P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and G. A. Forbes. 1988. Distribution of *Fusarium* species in sections *Roseum*, *Arthrosporiella*, *Gibbosum*, and *Discolor* recovered from grassland, pasture, and pine nursery soils of eastern Australia. Mycologia **80**: 815-824. Canada.
- Clark, C. A., M. W. Hoy, and P. E. Nelson. 1995. Variation among isolates of *Fusarium lateritium* from sweet potato for pathogenicity and vegetative compatibility. Phytopathology. **85**: 624-629.
- Dewan, M.M. 1989. Identity and frequency occurrence of fungi in roots of wheat and ryegrass and their effect on take-all and host growth. Ph.D. thesis. Univ. of Western Australia. 201pp.
- Dick, M. 1998. Pine pitch canker – The threat to New Zealand. New Zealand Forestry **42**: 30-34.
- Enebak, S. A., and G. R. Stanosz. 2003. Responses of conifer species of the Great Lakes region of North America to inoculation with the pitch canker pathogen *Fusarium circinatum*. Forest Pathology **33**: 333-338.
- Fotso, J., J. F. Leslie, and J. S. Smith. 2002. Production of beauvericin, moniliformin, fusaproliferin, and fumonisins B1, B2 and B3 by *ex-type* strains of fifteen *Fusarium* species. Applied and Environmental Microbiology **68**: 5195-5197.
- Gonzalez, M. S., F. Fuenmayor, F. Godoy, and R. Navas. 2003. First report of *Fusarium denticulatum* from sweet potato in Venezuela. Plant Disease **87**: 202. 0
- Horgan, G., and M. Dick. 2004. Pitch canker – Terminator of economic viability for New Zealand's commercial forest estate. New Zealand Journal of Forestry **49**: 28-30.

- Leisle, J. F. and Summerell, B. A. 2006.** The *Fusarium* Laboratory Manual. Photographs by Suzanne Bullock.
- Logrieco, A., A. Moretti, G. Castellá, M. Kostecki, P. Golinski, A. Ritieni, and J. Chelkowski. 1998.** Beauvericin production by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology* **64**: 3084-3088.
- Marasas, W. F. O., J. D. Miller, R. T. Riley, and A. Visconti. 2001.** Fumonisin – Occurrence, toxicology, metabolism and risk assessment, p. 332-359. In B. A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (eds.), *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Marasas, W. F. O., J. P. Rheeder, A. Logrieco, P. S. van Wyk, and J. H. Juba. 1998.** *Fusarium nelsonii* and *F. musarum*: Two new species in Section *Arthrosporiella* related to *F. camptoceras*. *Mycologia* **90**: 505-513.
- Nelson, P. E. 1981.** Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*, p. 51-80. In M. E. Mace, A. A. Bell, and C. H. Beckman (eds.), *Fungal Wilt Diseases of Plants*. Academic Press, New York City, New York.
- Nirenberg, H. I. 1976.** Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium* Sektion *Liseola*. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (Berlin – Dahlem) **169**: 1-117.
- Owen, D., and D. Adams. 2001.** Impact of pitch canker on ornamental Monterey pines in Santa Cruz County, California, U.S., 1987-2000. *Journal of Arboriculture* **27**: 298-305. Press, University Park, Pennsylvania.
- Saito, M. and Machida, S. 1999.** A rapid identification method for aflatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. *Mycoscience* **40**: 205-208.
- Saremi, H.; Backhouse, D. and Burgess, L. 1997.** Mycogeographic survey of *Fusarium* spp. in south eastern New South Wales, Australia. *Res. Cereal Comm.*
- Schmale, D. G., III, and G. C. Bergstrom. 2004.** Spore deposition of the ear rot pathogen, *Gibberella zeae*, inside corn canopies. *Canadian Journal of Plant Pathology* **26**: 591-595.
- Seifert, K. 1996.** Fus Key – *Fusarium* interactive Key Agriculture and Agri-Food
- Snyder, W. C., and Nash, S. M. 1968.** *Fusarium* pathogens. *Trans. British. Mycol. Soc.* **77**: 567-577.
- Wikler, K., A. J. Storer, W. Newman, T. R. Gordon, and D. L. Wood. 2003.** The dynamics of an introduced pathogen in a native Monterey pine (*Pinus radiata*) forest. *Forest Ecology and Management* **179**: 209-221.
- Wollenweber, H. W. 1913.** Studies on the *Fusarium* problem. *Phytopathology* **3**: 24-50.

Zeller, K. A., B. A. Summerell, S. Bullock, and J. F. Leslie. 2003. *Gibberella konza* (*Fusarium konzum*) sp. nov., a new biological species within the *Gibberella fujikuroi* species complex from prammirie grasses. *Mycologia* **95**: 943-954.

Isolation and Identification of the *Fusarium* species in three soils types and their pathogenicity on radish seeds germination in laboratory

Majeed, M. Dewan

Hussien , G.Al-kellabi

Akeel , E. M.Al-zamily

Abstract

The study included isolation and identification of *Fusarium* Species from three soil types by dilutions plate method and plant debris in soil , the soil location were desert soil beside Najaf - Karbala road , Alkufa riverside soil and Hurriya rice field .The soil samples and plant debries were taken from half of July ,October 2009 and January and April 2010 . In this study 13 species of *Fusarium* were isolated , the study showed that the following species : *F.konzum* , *F.circinatum* , *F.phyllophilum* , *F.pseudonygamai* , *F.beomiforme* , *F.hostae* , *F.dlamini* , *F.lateritium* *F.nelsonii* and *F.denticulatum* . were recorded as first time in Iraq . The results revealed that the high frequency 6.6 % of the *Fusarium* species was in desert soil during the summer season . *F.konzum* was isolated 100 % frequency from the desert soil in July 2009 compared with other species . The pathogenecity tests to radish seeds on P.D.A. showed that the *F.beomiforme* killed all the tested seeds while seed germination in *F.hostae* and *F.semitectum* treatments were 94.67 and 92 % respectively . *F.lateritium* non significantly decreased the Shoot length (12.2 mm) of radish compared with control treatment (12.4 mm) while the *F.nelsonii* (isolate B) incrazed the shoot length (12.63mm) compared with control that rate (12.00 mm) . *F.denticulatum* produced Aflatoxins while the other species gave negative result .