مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (6) العدد (2) 2022

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (6) No. (2) 2022

دراسة تأثير درجات الحرارة وأوساط الاستنبات في نمو الفطر *Darluca filum* (Biv.)Cast. المعزول من الصدأ التاجي *Puccinia coronata* Corda. المتطفل على نبات شعير الحائط *Hordeum murinum* L.

نوال علي*

محمد أحمد**

رحاب النقار***

(تاريخ الإيداع 24/ 10/ 2021 – تاريخ النشر 27 / 2/ 2022)

□ ملخّص □

عُزل النوع الفطري *Darluca filum* (Biv.) Cast. عن فطر الصدأ *Puccinia coronata* Corda. المتطفل على نبات *Hordeum murinum* L..

دُرس تأثير درجات الحرارة ١٥، ٢٠، ٢٥، ٣٠، ٣٥° س في نمو فطر *D.filum* وقدرته على إنتاج الأبواغ الكونيدية وإنباتها. بلغت درجة الحرارة المثلى لنمو المشائج ٣٥°س، أما الدرجة المثلى للتبوغ والإنبات فكانت ٢٥°س، وتناقص الإنبات عند درجات الحرارة ٢٠ و ٣٥° س، وكان الفطر قادراً على إنتاج الأبواغ الكونيدية عند درجات الحرارة من ٢٠– ٣٥°س، وكان أعلى إنتاج عند درجة الحرارة ٣٠°س و ٢٥°س، وصل إلى 3.958× ١٠^٦ بوغ/مل و 3.39× ١٠^٦ بوغ/مل على التوالي.

ودُرس تأثير أوساط مختلفة PDA،SDA، MEA، PGA في نمو الفطر *D.filum* تحت تأثير درجة حرارة ثابتة ٢٥±١ س^{O}، بينت النتائج أن نمو المشائج كان الأسرع على مستنبت SDA، وأظهرت النتائج قدرة الفطر على إنتاج الأبواغ على كل المستنبتات المدروسة مع فروق معنوية بين بعض المستنبتات، وعدم وجود فروق معنوية بين مستنبتي MEA و PGA ، أعطى الفطر أفضل إنتاج على مستنبت الـ SDA مع 6.4× ١٠^٦ بوغ/مل، كان أعلى معدل إنبات على مستنبتي SDA و PDA، وتراوح بين ٧٤.٨% و ٦٥.٨% على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Darluca filum*، *Puccinia coronata*، *Hordeum murinum*، PDA،SDA، MEA، PGA

*استاذ،قسم النبات، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية rehabsaer@gmail.com

** استاذ،قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

*** طالبة دراسات عليا (دكتوراه)،قسم النبات، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (6) العدد (2) 2022

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (6) No. (2) 2022

Studying of the effect of temperature and culture media on growth of fungus *Darluca filum* (Biv.)Cast. Isolated from *Puccinia coronata* Corda. parasite on *Hordeum murinum* L.

Nawal ALI*
Mohammad AHMAD**
Rihab ALNAKKAR***

(Received 24/10/2021.Accepted 27/2/2022)

□ABSTRACT □

Darluca filum (Biv.)Cast. was isolated from rust fungus *Puccinia coronata* Corda. parasitoid on *Hordeum murinum* L.

The effect of temperatures 15, 20, 25, 30, 35º C was studied on the growth of *D.filum* and its ability to produce and germinate conidia. The optimum temperature for growth mycelium was 35º C, and the optimum degree for sporulation and germination was 25º C, and germination decreased at temperatures 20º C and 35º C. The fungus was able to produce conidia at temperatures from 20-35º C, and the highest production was at the temperature 30º C and 25º C, reached 3.958 x 10^6 spores/ml and 3.39 x 10^6 spores/ml, respectively.

The effect of different media (PDA, SDA, MEA, PDAP) on the growth of *D.filum* was studied under the influence of a constant temperature of 25±1º C. The results showed that the growth of mycelium was the fastest on SDA culture, and the results showed ability of *D.filum* to produce spores on all studied cultures with Significant differences between some cultures، and no significant differences between MEA and PDAP cultures، the fungus gave the best production on SDA culture with 6.4 x 10^6 spores/ml، the highest germination rate was on SDA and PDA cultures، and it ranged between 74.8% and 65.8% on straight.

Key words. : *Darluca filum*, *Puccinia coronate*, *Hordeum murinum* PDA, SDA, MEA, PDAP

*professor- Department of Botany، Faculty of Science، Tishreen University، Lattakia، Syria;
** professor- Department of Plant Protection، Faculty of Agriculture، Tishreen University، Lattakia، Syria;
***phd graduate student- Department of Botany، Faculty of Science، Tishreen University، Lattakia، Syria; e-mail: rehabsaer@gmail.com

مقدمة:

ينتمي الفطر *Darluca filum* (Biv.) Cast. [*Sphaerellopsis filum*] إلى فصيلة Leptosphaeriaceae، رتبة Pleosporales ، صف Dothideomycetes (Trakunyingcharoen *et al*., 2014). ، وهو متطفل Hyperparasite على فطور الصدأ (Basidiomycetes، Uredinals،Sclerobasidiomycetidae)، التي هي إجبارية التطفل على النباتات البرية والمزروعة، وتضم حوالي ٨٠٠٠ نوعاً، تتبع لـ ١٦٠ جنساً، موزعة في ١٤ فصيلة (Vanderweyen & Fraiture, 2007; Riquelme, 2005; Driessen, 2005; Agrios, 2005; Schubert *et al*., 1991; Blumer, 1963).

عُرِف *D.filum* في عام ١٨١٣ باسم *Sphaeria filum* من قبل Bivona Bernardi على نوعين من فطور الصدأ، وفي عام ١٨٢٣ وصف العالم Fries الفطر نفسه باسم *Phoma filum*، أما العالم Castagne في عام ١٨٥١ أطلق عليه اسم *Darluca* وأثبت أن *S.filum* على أنه تحت نوع (Keener 1934; Black, 2012)، وفي عام ١٩٥١ أكّد Keener أنّ الأبواغ الزقية لفطر *Eudarluca* شكلت أجواف بكنيدية وأبواغ كونيدية لـ *D.filum*، وبذلك كان *Eudarluca* هو الطور الجنسي لفطر *D.filum*، وفي عام ١٩٦٦ أعاد أريكسون تسمية *E.filum* إلى النوع *S.filum* (نقلاً عن (Black،2012)).

يعطي *D.filum* خلال تطوره بنيات تسمى أجوافاً بكنيدية Pycnidia، قطر الجوف (٢٠٠-٩٠) µm، له فتحة لخروج الأبواغ الكونيدية Conidia، مغزلية الشكل، لزجة، شفافة، ذات حاجز واحد و لها قلنسوة جيلاتينية في إحدى نهايتيها أو كلتيهما، أبعاد البوغة الكونيدية (18-13)*(5-3)µm Plachecka, (2005).

يعد الفطر *Eudarluca caricis* الطور الجنسي (المرحلة الكاملة) teleomorph لـ *D.filum*، الذي وجد على فطر الصدأ *Phragmidium violaceum* في جنوب غرب انكلترا، الأبواغ الزقية لـ *E.caricis* تعطي الأجواف البكنيدية، والأبواغ الكونيدية لـ *D.filum* (Yuan *et al*., 1998).

تظهر البكنيديا Pycnidia لفطر *D.filum* منغرسة بشكل كلي أو جزئي ضمن بثرات فطور الصدأ (البكنيدية، الأسيدية، اليوريدية، والتيلية)، يوجد *D.filum* على ٣٦٩ نوعاً فطرياً تتبع لـ ٣٠ جنساً، في أكثر من ٥٠ منطقة جغرافية في العالم، في شمال وجنوب أمريكا، أوروبا، وآسيا، لكن المرحلة الجنسية *Eudarluca caricis* قليلة الانتشار

(Yuan *et al.,* 1998; Plachecka, 2005)، وأشارت علي وآخرون (٢٠١٧) إلى تطفل الفطر *D.filum* على ١٢ نوعاً من فطور الصدأ تتبع لـ ٣ أجناس مختلفة: *Uromyces*،*Puccinia* ، *Phragmidium* في المنطقة الساحلية من سوريا، وفي عام ٢٠٢٠ وجد الفطر متطفلاً *D.filum* على ١٨ نوعاً فطرياً جديداً تتبع لـ ٥ أجناس، هي: *Puccinia*،*Uromyces*، *Phragmidium*، *Tranzschelia* ، *Melampsora* (علي وآخرون، ٢٠٢١).

زُرع *D.filum* على أوساط استنبات مختلفة، (منها V8،PDA ، وخليط بينهما PDAV8)، فكان نمو مستعمرات *D.filum* أسرع على وسط V8، خلال الأسبوعين الأولين (Black, 2012).

بيّن Carling (١٩٧٦) أنّ الخيوط الفطرية لـ *D.filum* تخرب جدار البوغة اليوريدية بإفراز أنزيمات محللة (Carling, 1976)، بينما Plachecka (٢٠٠٥) بيّن أنّ الخيط الفطري لـ *D.filum* يلتف حول البوغة اليوريدية، ويقوم الخيط الفطري المتخصص الذي يشبه عضو الالتصاق نتيجة ذلك بتخريب وانتزاع أشواك وتزيينات البوغة اليوريدية.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من أهمية *D.filum* كمتطفل فطري على فطور الصدأ الممرضة للنباتات، والتي تسبب خسائر اقتصادية وموت للعديد من الأنواع النباتية الهامة، ومن ضرورة البحث عن عزلات محلية لفطر *D.filum* تتناسب مع ظروف البيئة المحلية لاستخدامها لاحقاً في المكافحة الحيوية لفطور الصدأ، فضلاً عن أنّ هذا الفطر يُدرس حديثاً في سوريا (علي، وآخرون، ٢٠١٧)، لذلك هدف هذا البحث إلى

١-دراسة تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو فطر *D.filum* وتبوغه وإنباته.

٢-دراسة تأثير أوساط الزرع المختلفة في نمو فطر *D.filum* وتبوغه وإنباته.

مواد البحث وطرائقه:

نفذ البحث في مختبر الدراسات العليا في كلية العلوم، قسم النبات في جامعة تشرين، في العام ٢٠١٨-٢٠١٩.

١-جمع عينات النبات

جمعت عينة نبات *Hordeum murinum* L. (Poaceae) المصاب بفطر الصدأ طبيعياً في شهر كانون أول من عام ٢٠١٨، من منطقة دمسرخو من محافظة اللاذقية في المنطقة الساحلية من سوريا، وضعت كل عينة في كيس من البولي اتيلين مرفقة ببطاقة معلومات عن مكان وتاريخ الجمع، وأحضرت إلى المختبر في كلية العلوم في جامعة تشرين

٢-دراسة عينات النبات في المختبر وتصنيف العزلات الفطرية

تم الكشف مخبرياً عن إصابة النبات، وفحصت الأوراق والسوق مجهرياً، عرّف فطر الصدأ المتطفل على أوراق وساق النبات على أنّه *Puccinia coronata* Corda.، بعد ذلك تم الكشف عن وجود الأجواف البكنيدية للنوع *D. filum* (Biv)Cast. ضمن البثرات اليوريدية لفطر الصدأ، صنف النوع الفطري المدروس بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية الموضوعة من قبل (Brandenburger, 1985)، وحدد النوع الفطري المتطفل على فطور الصدأ حسب (Barnett & Hunter ،1979) وصنف العائل النباتي استناداً إلى (Moutterde ،1966-1970-1983).

٣-عزل النوع *D.filum* من فطر الصدأ *Puccinia coronata* Corda.:

عند ملاحظة الأجواف البكنيدية للنوع *D.filum* (Biv)Cast. ضمن البثرات اليوريدية لفطر الصدأ، نُقل جوف واحد بواسطة إبرة معقمة إلى مستنبت الآجار مدة ٢٤ ساعة وحُضن بدرجة حرارة (1±25)° س، ثم ينقل إلى مستنبت PDA، وبعد ثلاثة أيام زُرع في أوساط الاستنبات المختلفة ضمن أطباق بتري قطر ٩ سم، لاستكمال التجربة،

حضنت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة (1±25)° س لمدة أسبوعين، وبعد ذلك تمت تنقية الفطر على أوساط الاستنبات، قيست أقطار المستعمرات الفطرية خلال فترات زمنية مختلفة (١-3-٥-٧-٩-١٤) يوماً، كما جُدد استنبات الفطر كل ٦-٨ أسابيع وحفظ في درجة حرارة البراد لاستخدامه في دراسات لاحقة.

أوساط الاستنبات المستخدمة:

Potato Dextrose Agar (PDA)

Malt Extract Agar (MEA)

Sabouraud agar (SDA)

Potato Pipton Glucose Agar (PGA)

أذيبت مكونات كل وسط في ١٠٠٠ مل من الماء المقطر ثم عقمت في الأوتوغلاف عند ١٢١ ° س لمدة ١٥ دقيقة (Kreisel & Schauer, 1987).

٤-دراسة بعض الشروط المناسبة لنمو الفطر *D.filum* مخبرياً

دُرس تأثير درجات الحرارة والمستنبتات الغذائية الصنعية في نمو الفطر *D.filum* في المختبر، واستُخدمت العزلة المأخوذة من فطر الصدأ *P.coronata*، من نبات .*H.murinum* L (Poaceae)

٤.١. تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطر *D.filum*

لُقحت أطباق بتري (٩ سم) تحوي ١٠مل من المستنبت الغـذائي PDA مركزياً بقطعة بقطر ٣مم مأخوذة من مستعمرة فطرية نشطة غير متبوغة (بعمر ثلاثة أيام)، حضنت الأطباق في الظلام في حاضنات مستقلة عند درجات حرارة مختلفة(15 20 25 30 35) ±1°س لمدة 14 يوماً. استخدم ٥ مكررات لكل معاملة (عزلة- درجة حرارة)، واعتمدت المعايير التالية لتقييم تأثير درجة الحرارة (معدل النمو، إنتاج الأبواغ، وإنبات الأبواغ).

أ-معدل النمو Growth Rate

سُجل النمو الشعاعي في أيام (٣-٥-٧-٩-١٤)، باستخدام قطرين متعامدين مرسومين مسبقاً في مركز كل طبق بتري لقياس معدّل النمو. حُسب قطر النمو في أيام (٣-٥-٧-٩-١٤)، عند درجات الحرارة المختلفة، وحسبت سرعة النمو (مم/يوم) من معامل الانحدار لقطر المستعمرة مقابل الزمن خلال طور النمو الخطي، حيث أنّ قياسات النمو من اليوم الثالث إلى اليوم الرابع عشر تتناسب مع النموذج الخطي من النمط (y=v*t+b)، حيث v: سرعة النمو الشعاعي (مم/يوم)، y: قطر المستعمرة، t: الزمن، b: ميل الخط المستقيم.

ب-إنتاج الأبواغ Conidia Production

جُمعت الأبواغ الكونيدية من كل طبق في اليوم الأخير (اليوم الرابع عشر من التحضين) باستخدام ١٠ مل ماء مقطر معقم مضافاً إليه ٠.٠٥ محلول توين ٨٠. كُشط سطح المستعمرة باستخدام إبرة معقمة للحصول على أكبر كمية ممكنة من الأبواغ، رُشّح المعلق الناتج باستخدام طبقتين من الشاش لإزالة قطع المشائج والبيئة العالقة، ثمّ وُضع المعلّق النهائي على رجّاج كهربائي لمدة ١٠ دقائق لضمان توزع متجانس للأبواغ، استُخدمت شريحة مالاسيز Malassez Counting Chamber لحساب عدد الأبواغ باستخدام المجهر الضوئي بتكبير

جـ- إنبات الأبواغ Conidia Germination

اختُبرت حيوية الأبواغ من خلال قدرتها على الإنبات، حيث أُضيف ١٠٠ ميكرولتر من المعلّق البوغي الذي حُصل عليه في الفقرة السابقة إلى مستنبت ماء الآجار وحُضّنت الأطباق على درجات الحرارة (١٥-٢٠-٢٥-٣٠-٣٥)±1°س لمدة ٢٤ ساعة.

حُسبت النسبة المئوية للإنبات بالعدّ العشوائي لما لا يقل عن ٣٠٠ بوغة لكل ساحة رؤية تحت المجهر الضوئي، بمعدل ٥ ساحة /معلّق. واعتُبرت البوغة منبتة في حال كان طول أنبوبة الإنبات أكثر من نصف طول البوغة.

٤.٢. تأثير مستنبتات غذائية مختلفة في نمو الفطر *D.filum*

دُرس تأثير عدة مستنبتات غذائية في نمو الفطر *D.filum* وهي PDA-SDA-MEA-PGA، تحت تأثير درجة حرارة ثابتة ٢٥±١° س، وحضرت وفق الكميات المنصوح بها على العبوات التجارية. تُذاب مكونات كل وسط في ١٠٠٠ مل من الماء المقطر ثم تعقم في الأوتوغلاف عند ١٢١° س لمدة ١٥ دقيقة، بُرّدت إلى ٤٥°س، أُضيف إلى كل منها مضاد حيوي واسع الطيف (Amoxicillin) بتركيز ١٠ ملغ لكل ٥٠٠ مل من المستنبت لتثبيط نمو البكتريا، صُبّت في أطباق بتري تحت شروط التعقيم وتُركت لتتصلّب، لُقّحت الأطباق باستخدام أقراص قطرها ٣ مم مأخوذة من حواف مستعمرة الفطر غير متبوغة بعمر ٣ أيام، وحُضّنت على الدرجة ٢٥±١ ْم في الظلام، بمعدّل ٥ مكررات لكل معاملة (عزلة- مستنبت)، أُخذت القراءات بشكل دوري لحساب كلّ من معدّل النمو، إنتاج الأبواغ، وإنبات الأبواغ.

النتائج والمناقشة

النتائج

١-عزل وتصنيف الفطر *D.filum* (Biv.)Cast. من فطر الصدأ *P.coronata* Corda.

تمّ الحصول على عزلة من النوع *D.filum* (Biv.)Cast. من فطر الصدأ *P.coronata* Corda. المتطفل على نبات *H.murinum* L. (Poaceae)، والتي وُصفت في دراسة سابقة (علي وآخرون، ٢٠١٧).

٢-دراسة بعض الشروط المناسبة لنمو الفطر *D.filum* مخبرياً

١.٢ تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطر *D.filum*

أ-معدل النمو Growth Rate

بينت النتائج بأن الفطر *D.filum* كان قادراً على النمو عند درجات الحرارة بين ٢٠-٣٥°س، في اليوم الرابع عشر بلغت درجة الحرارة المثلى لنمو الميسيليوم ٣٥ °س، وتناقص النمو عند الدرجة ٢٠° س، لكن في اليوم ٥ و ٩ كانت الدرجة ٢٥° س هي الأفضل، مع بقاء نمو الميسيليوم أقل عند الدرجة ٢٠° س، لم يحصل نمو على درجة الحرارة ١٥ °س، كان هناك فروق معنوية في اليوم الرابع عشر بين درجات الحرارة المختبرة ولم يكن هناك فروق معنوية بين درجتي الحرارة ٢٠° س و ٢٥ °س جدول(١).

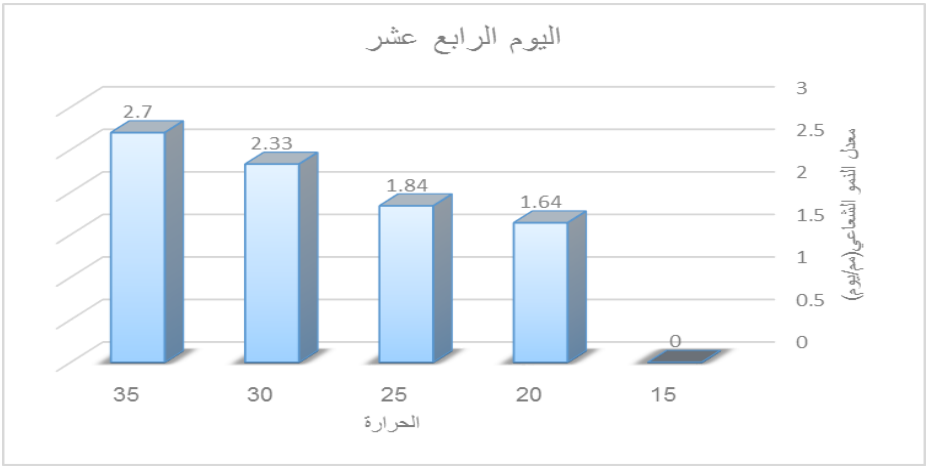
حُسب معدل النمو الشعاعي (مم/يوم) لعزلة *D.filum* عند درجات الحرارة المختبرة في اليوم الرابع عشر فكان ٠ مم/يوم عند درجة الحرارة ١٥ °س بينما وصل إلى ٢.٧ مم/يوم عند درجة الحرارة ٣٥ °س الشكل(١)، كما دُرست العلاقة بين معدل النمو والزمن خلال ١٤ يوم من التحضين وبينت النتائج بأن قطر نمو المستعمرة تناقص

خطياً بين اليوم الثالث الرابع عشر من التحضين، ويظهر ذلك واضحاً من خلال قيم معامل التحديد R^2 التي تبين علاقة ارتباط خطي قوي بين معدل النمو والزمن لدرجات الحرارة المدروسة الشكل(٢).

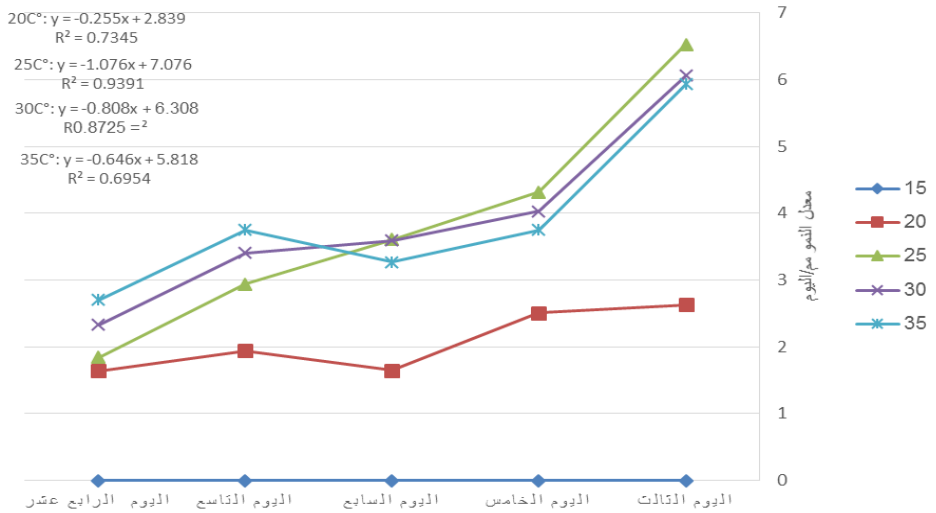
جدول(١) متوسط نصف قطر النمو لعزلة *D.filum* خلال أربع عشر يوم من التحضين عند درجات الحرارة المختبرة

المعاملة (درجات الحرارة)	متوسط نصف قطر النمو (مم) ± SD				
	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم السابع	اليوم التاسع	الرابع عشر
15°C	0±0c	0±0c	0±0c	0±0d	0±0d
20°C	1.19 ± *7.9b**	2.960±12.55b	2.96 ± 11.55b	5.88 ± 17.5c	1.83 ± 23c
25°C	1.08 ± 19.6a	1.084±21.6a	2.73 ± 25.25a	3.73 ± 26.5b	٥.٥٤ ± 25.7c
30°C	0.77 ± 18.2a	0.83 ±20.16a	0.45 ± 25.1a	1.06 ± 30.7ab	١.٢ ± 32.65b
35°C	٧.٤٦ ± 17.8a	7.573±18.75a	٩.٦٢ ± 22.95a	١.٤٠٣ ± 33.75a	١.٢١٩ ±37.85a
LSD 5%	٥.١٤٦	4.864	٧.٠٠٥	٤.٨٢	4.59

*بيانات قطر النمو هي عبارة عن متوسط خمسة مكررات، **الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات



الشكل(١): تأثير درجات الحرارة (١٥،٢٠،٢٥،٣٠،٣٥ ° س) في معدل نمو مشائج عزلة *D.filum* في اليوم الرابع عشر بعد التحضين



الشكل(٢). معدل النمو الشعاعي الخطي (مم/يوم) لعزلة *D.filum* خلال ١٤ يوم من التحضين على درجات الحرارة (١٥°،٢٠،٢٥،٣٠،٣٥ س)

ب-إنتاج الأبواغ Conidia production:

أظهرت النتائج قدرة الفطر *D.filum* على إنتاج الأبواغ على درجات الحرارة بين ٢٠-٣٥ ° س، أدت درجة الحرارة ٣٠° س و ٢٥° س إلى أعلى تبوغ، وصل إلى 3.958× ١٠^٦ بوغ/مل و 3.39× ١٠^٦ بوغ/مل على التوالي، وانخفض إنتاج الأبواغ إلى 2.454× ١٠^٦ بوغ/مل عند درجة الحرارة ٣٥ س°، بينما توقف إنتاج الأبواغ بشكل كلي عند درجة الحرارة ١٥°س، مع عدم فروق معنوية بين درجات الحرارة جدول(٢).

جدول(٢): متوسط إنتاج الأبواغ (بوغ/مل) لعزلة الفطر *Darluca filum* المزروعة على درجات الحرارة المختلفة

المعاملة (درجات الحرارة)°	متوسط إنتاج الأبواغ ± SD (× ١٠^٦)
15	٠±0b
20	0.237±3.101a
25	0.237±3.39a
30	1.167±3.958a
35	1.953±2.454a
LSD 5%	1.354

ج- إنبات الأبواغ Conidia Germination:

أظهرت النتائج قدرة عزلة *D.filum* على الإنبات ضمن المجال الحراري ٢٠-٣٥ ° س، مع إنبات أمثل ضمن المجال ٢٥-٣٠ °س ، وصلت نسب الإنبات إلى 48.2% عند درجة الحرارة ٢٥ ° س، و٤٨% عند درجة الحرارة ٣٠° س ، بينما كانت ١١.٢%-١١.٦% عند درجات الحرارة ٣٥-٢٠ ° س على التوالي، وكان هناك فروق معنوية بين درجات الحرارة المختبرة جدول(٣).

جدول(٣): متوسط النسبة المئوية لإنبات الأبواغ الكونيدية لعزلة *D.filum* بعد ٢٤ ساعة من التحضين على درجات الحرارة

المعاملة (°) م	متوسط النسبة المئوية لإنبات الأبواغ الكونيدية ±SD
15	٠±0c
20	3.781 ±11.6b
25	13.084 ±48.2a
30	10.368 ±48a
35	3.701 ±11.2b
LSD 5%	10.332

٢.٢نتائج دراسة تأثير الأوساط المستخدمة في نمو الفطر *D.filum*

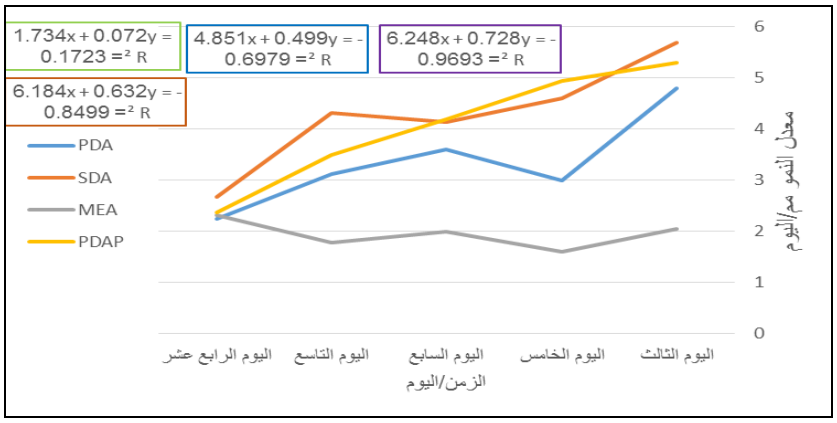
أ-معدل النمو

أبدت عزلة الفطر *D.filum* قدرة على النمو على المستنبتات المختلفة تحت تأثير درجة حرارة ثابتة، مع وجود فروق خلال أيام التحضين، تفوق مستنبت SDA، فكان معدل النمو عليه أسرع مقارنة بالمستنبتات الأخرى، وذلك في كل الأيام، ماعدا اليوم السابع تفوق مستنبت PDAP وكان 29.65a، بينما SDA كان ٢٩، وغالباً كان هذان المستنبتان متقاربان نوعاً ما ولا يوجد فروق معنوية بينهما، لم يختلف النمو معنوياً على مستنبتات PDA، MEA و PDAP تبين النتائج من خلال القيم التي سُجلت لمتوسط قطر النمو لعزلة *D.filum* أنّ نمو الفطر يكون سريعاً حيث وصل نموه في اليوم الرابع عشر إلى ٣٧.٥ مم/يوم جدول(٤). الشكل(٣-٤)

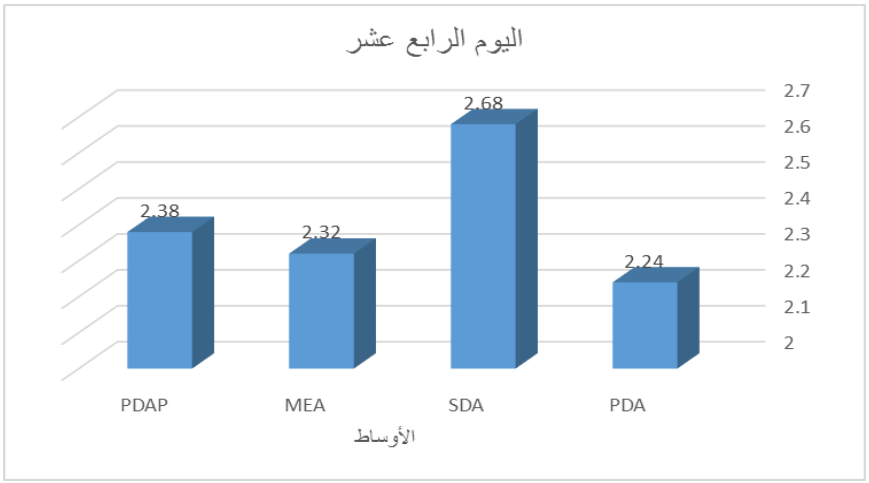
الجدول(٤) متوسط نصف قطر النمو لعزلة *D.filum* خلال أربع عشر يوم من التحضين على المستنبتات المختبرة

المعاملة	متوسط نصف قطر النمو (مم) ± SD				
	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم السابع	التاسع	الرابع عشر
PDA	2.34 ± 14.25b*	4.709 ± 17.1b	4.34 ± 24.9b	3.65 ± 28.15c	3.007 ± 31.45b
SDA	2.56 ± 17a	1.12 ± 22.9a	2.43 ± 29ab	3.02 ± 38.85a	2.97 ± 37.5a
MEA	1.19 ± 6.15c	0.37 ± 7.95c	3.66 ± 14c	3.054 ± 20.9c	3.47 ± 34.45ab
PDAP	0.51 ± 15.9ab	0.908 ± 24.7a	1.92 ± 29.65a	3.89 ± 31.55b	4.67 ± 33.35ab
LSD 5%	2.48	3.311	4.338	4.59	4.82

*: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات



الشكل(٣). معدل النمو الشعاعي الخطي (مم/يوم) لعزلة *D.filum* خلال ١٤ يوم من التحضين على أوساط زرع مختلفة



الشكل(٤): تأثير أوساط الزرع المستخدمة في معدل نمو مشيجة عزلة *D.filum* في اليوم الرابع عشر بعد التحضين

أ-إنتاج الأبواغ:

أظهرت النتائج قدرة الفطر *D.filum* على إنتاج الأبواغ على كل المستنبتات المدروسة مع فروق معنوية بين بعض المستنبتات، وعدم فروق معنوية بين مستنبتي MEA و PDAP، أعطى الفطر أفضل إنتاج على مستنبت SDA مع 6.4× ١٠٦ بوغ/مل، وانخفض إنتاج أبواغ الفطر عند مستنبت PDAP إلى ٠.٦٤× ١٠٦ بوغ/مل جدول(٥).

جدول(٥): متوسط إنتاج الأبواغ (بوغ/مل) لعزلة الفطر *Darluca filum* المزروعة على المستنبتات المختلفة

المعاملة (المستنبتات)	متوسط إنتاج الأبواغ ± SD (× ١٠٦)
PDA	1.168 ± 3.39b
SDA	3.67 ± 6.4a
MEA	1.04 ± 1.18bc
PDAP	0.32 ± 0.64c
LSD 5%	2.683

ج- إنبات الأبواغ:

كان أعلى معدل إنبات على مستنبتي SDA و PDA، وتراوح بين ٧٤.٨% و ٦٥.٨% على التوالي، ولا يوجد فروق معنوية بينهما، وكان هناك فروق معنوية بين الإنبات على مستنبت MEA و PDAP وكان معدل الإنبات الأقل على MEA بمعدل ١٣.٢% جدول(٦).

جدول(٦): متوسط إنبات الأبواغ الكونيدية لعزلة الفطر *Darluca filum* المزروعة على المستنبتات المختلفة بعد ٢٤ ساعة من التحضين

المعاملة (المستنبتات)	متوسط إنبات الأبواغ ±SD
PDA	23.09±65.8ab
SDA	10.28±74.8a
MEA	5.81±13.2c
PDAP	13.51±47b
LSD 5%	19.603

المناقشة:

بينت النتائج أن شكل المستعمرة على مستنبت الـ PDA دائري، ذات حواف محددة وغير منتظمة، قطنية، ذات لون أبيض للوجه العلوي، وبني فاتح للوجه السفلي، ومع تقدم عمر المستعمرة تصبح في اليوم الرابع عشر بني غامق في المركز، ويعود ذلك لتشكل الأجواف البكنيدية، وتكون الحواف بيضاء، بسبب نمو مشيجة جديدة، وعلى مستنبت MEA تكون المستعمرة دائرية تقريباً الوجه العلوي للمستعمرة أبيض، الوجه السفلي بني مسود، تُشكل كتل متوزعة على سطح المستنبت هي تجمع الأجواف البكنيدية، أما على مستنبت SDA تكون بنيتها قطنية بيضاء وعند اكتمال نموها تصبح ذات لونين متناوبين اللون الغامق يحوي الأجواف البكنيدية والرمادي للمشيجة الفطرية، وهذا يتوافق مع Trakunyingcharoen *et al.*, (٢٠١٤) حيث بيّن أنّ مستعمرات *D.filum* على مستنبت MEA مفردة أو متجمعة، والميسيليوم متناثر مع حواف ناعمة، لون المستعمرات في مركز الطبق زيتوني غامق، وفي المحيط أبيض باهت. وصف Ashmitha *et al.*, (٢٠١٩) المستعمرة على مستنبت A8 حيث تكون في البداية قطنية رقيقة بيضاء اللون، ثم تصبح في المركز رمادية وذلك بسبب التشكل البوغي، ذات حواف محددة.

بينت النتائج قدرة الفطر *D.filum* على النمو والتبوغ والإنبات عند درجات الحرارة بين ٢٠-٣٥ °س، وبلغت الدرجة المثلى لنمو الميسيليوم ٣٥ °س، وتناقص النمو على الدرجة ٢٠ °س ، وتوقف النمو عند درجة الحرارة ٣٥ °س، يُعتقد بأن سلوك النمو هذا يتعلق بمناخ منطقتنا المعتدل التي عُزل منها الفطر، علماً بأنّ Pei *et al.*, (٢٠١٠) استطاعوا تنمية المشائج على وسط PDA في درجة ١٥° س مدة (٢-٣) أسابيع، حيث كانت عزلة *D.filum* مأخوذة من فطر الصدأ *Melampsora* من نبات الصفصاف *Salix* sp. في منطقة ذات شتاء بارد. وبين Kuhlman و Mathews (١٩٧٦) أن *Sphaerellopsis filum* يكون فعّالاً كعامل مكافحة حيوية خلال فترة الشتاء، حيث المناخ الدافئ والرطب. ووجد Ranbo و Bean (١٩٧٠) أن

الأبواغ الكونيدية لا تنتش في حرارة ١٥° س وهذا يتوافق مع نتائجنا، بينما Gordon (٢٠١١) استطاع تنمية الأبواغ عند درجات الحرارة (35 30 25 20 15 8)° س.

يتعلق إنتاج الأبواغ والإنبات بدرجات الحرارة أيضاً، فبينت النتائج أن درجات الحرارة المثلى للتبوغ والإنبات هي ٢٥° س، وتناقصت النسبة المئوية للإنبات عندما حُضن الفطر على درجات الحرارة ٢٠ و٣٥° س.

أظهرت النتائج قدرة الفطر *D.filum* على الإنبات ضمن المجال الحراري ٢٠-٣٥° س، مع إنبات أمثل ضمن المجال ٢٥-٣٠ ° س، وهذا يتوافق مع Gordon (٢٠١١) الذي بيّن أن الدرجة المثلى لنمو الأبواغ الكونيدية لـ *D.filum* بين ٢٠-٣٠ °س. وصلت نسب الإنبات إلى 48.2% عند درجة الحرارة ٢٥ °س، و٤٨% عند درجة الحرارة ٣٠ °س ، بينما كانت ١١.٢%-١١.٦% عند درجات الحرارة ٣٥ و ٢٠°س على التوالي، أظهر Ranbo و Bean (١٩٧٠) أن نسب الإنتاش عند درجة الحرارة ٣٠ °س (٩٥%)، وعند الدرجة ٢٥ °س (٩٣%)، أما في الحرارة ٣٥° س فكان الإنتاش ٨٨% ولا يوجد إنتاش عند الحرارة ٥° س.

أظهرت نتائج الدراسة أن النوع *D.filum* ينمو على أوساط الزرع المختلفة مشكلاً الأجواف البكنيدية خلال ٨-١٤ يوماً، بدأت الأجواف بالتشكل على مستنبت PDA و SDA وPDAP في اليوم الخامس، بينما بدأت بالتشكل على مستنبت MEA في اليوم الثامن من التحضين وبذلك كان الأبطأ، بينما بيّن Black (2012) أن نمو الأجواف البكنيدية على مستنبت V8 juice agar كان أسرع منه على مستنبت PDV8A، وذلك في الأسبوع الثاني، وتشكلت الأجواف على مستنبت PDV8A في الأسبوع الرابع، بينما تشكلت على مستنبت PDA في آخر الأسبوع الرابع. بينما عند Ashmitha *et al.*, (٢٠١٩) تشكلت الأبواغ على مستنبت V8 في الأسبوع الثالث من الحضن. قام Kuhlman و Mathews (١٩٧٦) بتنمية الفطر على مستنبت PDA، Lima bean agar، و Mye، ورشه على فطر الصدأ *Cronartium strobilinum*،*C.fusiforme* الذي يصيب نبات السنديان Oak، وقد أعطى أجواف بكنيدية بعد فترة من العدوى.

وصل معدل النمو في اليوم الأخير من التجربة إلى 37.5 ± 2.97 و 33.35 ± 4.67 (مم±SD) على مستنبتي SDA و PDAP على التوالي، وبينت نتائج الدراسة أن مستنبت الـ SDA كان الأفضل لإنتاج الأبواغ والإنبات مع 6.4× ١٠^٦ بوغ/مل، وانخفض إنتاج الأبواغ إلى ٠.٦٤× ١٠^٦ بوغ/مل عند مستنبت PDAP، وكان أعلى معدل إنبات على مستنبتي SDA و PDA، وتراوح بين ٧٤.٨% و ٦٥.٨% على التوالي، بينما كان مستنبت PDAP المضاف له ببتون أقل ٤٧%. بيّن Swendsrud و Calpouzos (1970) أنّ الأبواغ الكونيدية تنتش على مستنبتي الآغار و PDA بنسبة ٤٢% و ٤٦% على التوالي.

الاستنتاجات والتوصيات:

١. أظهرت نتائج الدراسة قدرة الفطر *D.filum* على النمو والتبوغ والإنتاج على البيئات المستخدمة ودرجات الحراة المختلفة.

٢. كانت مستنبت SDA الأفضل لكافة المعاملات، وكان أفضل إنبات وإنتاج ضمن المجال الحراري ٢٥-٣٠° س، ولم يتم إنبات عند الدرجة ١٥° س.

٣. نوصي باستمرار دراسة فطر *D.filum* على أنواع فطور صدأ أخرى لأهميته في المكافحة الحيوية لهذه الفطور.

المراجع العربية:

١-علي، نوال، أحمد، محمد، والنقار، رحاب، ٢٠٢١، حصر الفطر *Darluca filum* (Biv.) Cast. المتطفل على فطور الصدأ (Uredinales) في الساحل السوري. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية، المجلد (٤٣)، العدد (٢).

٢-علي، نوال، أحمد، محمد، والنقار، رحاب، ٢٠١٧، حصر ودراسة مرجعية على الفطر *Darluca filum* (Biv.) Cast. المتطفل على فطور الأصداء (Uredinales) التي تصيب نباتات مختلفة في المنطقة الساحلية من سوريا. المجلة الأردنية في العلوم الزراعية، المجلد (١٣)، العدد (٢)، ص٤٩٣-٥٠٢

المراجع الأجنبية:

1.Agrios، G. N. Plant Pathology. 5th. Ed. *Elsevier Academic Press*. 2005. 922 pp.

2. Ashmitha، S،P، Raguchander، T، & Johnson، I. 2019. Occurrence of mycoparasitic fungi *Sphaerellopsis paraphysata* on pearl millet rust pathogen، *Puccinia substriata* in India. Madras Agric، doi: 10.29321/Maj. 0002555. 249-254Pp.

3. Barnett، H.L. and B.B. Hunter. 1979. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3th. Ed*. Burgess Publishing Company.215pp

4. Black، J،A. 2012. The epidemiology of *Puccinia emaculata* (rust) in switchgrass and evaluation of the mycoparasite *Sphaerellopsis filum* as a potential biological control organism for switchgrass rust. Master Thesis، University of Tennessee، Knoxville، 62Pp.

5. Blumer، S. Rost- Und Brand Pilze Auf Kulturpflanzen. *Veb Gustav Fischer Verlag Jen*a. 1963. 364pp.

6. Brandenburger، W. 1985. *Parasitische Pilzean Gefässpflanzen in Europ. Gustav Fischer verlag*، Stuttgart، New York.1248pp.

7. Carling، D.E.، M.F. Brown.، and Df. Millikan. 1975. Ultrastructural Examination of

The *Puccinia graminis- Darluca filum* Host- Parasite Relationship. Phytopathology،

66: 419-422.

8. Driessen، S.2005. Lifecycle، Biology and Diversity of Puccinia boroniae Western Australia: Sphaerellopsis filum: *Mycoparasite of Puccinia boroniae*. School

of Biological Sciences and Biotechnol- ogy Murdoch University، Perth، Western Australia، 92-101.

9. Gordon، T،C. 2011. Overwintering Survival of Stem Rust on Perenial Ryegras: *Construction Simulation Model، and Effects of The Mycoparasite Sphaerellopsis filum*. Master Thesis، Oregon State University، 111Pp.

10. Keener، P.D.، *Biological specialization in Darluca filum*. Torrey Botanical Society، Vol.61، No.9، 1934، pp: 475-490.

11. Kreisel، V.H، and Schauer، F. 1987. *Methoden des Mykologischen laboratoriums، Fisher Verlag Jena*، Germany، Pp181.

12. Kuhlman، E، Mathews، F. 1976. Occurrence of *Darluca filum* on *Cronartium Strobilinum* and *C.fusiformes* infecting Oak.

13. Moutterde،P.1966-1970-1983.*Nouvelle Flore Du LibanEt De La Syrie. Darel-Machreque*، Beirut، Tome I، II، III.

14. Plachecka، A.2005. *Microscopical observations of Sphaerellopsis filum*، a parasite of *Puccinia recondita*. Acta Agrobotanic، 58، 67-71.

15. Pei، M،H، Ruiz، c، Hunter، T، and Bayon، C. 2010. *Interaction between Melampsora larici-epita Pathotypes and the mycoparasite Sphaerellopsis filum from Willow Rust*.

16. Ranbo، G،W، and Bean، G،A. 1970. *Survival and Growth of Mycoparasite Darluca filum.*

17. Riquelme، M. 2005. Fungal Cell Biology. *Centerpiece for a New Department of Microbiology in Mexico*. Supplement to Mycologia، V:56(4)، 78pp.

18. Swendsrud، D،P، Calpouzos، L. 1970. *Rust Uredospores Increase the Germination of Pycnidiospores of Darluca filum.* Scientific Journal Series paper، No. 7167:1445-1447.

19. SCHUBERT، R.، E.H. Benedix.، S.J. Casper.، *S. Danert.، K.E. Linder.، P. Hübsch.، and M. Schmiedeknecht. Urania Pflan Zen –Reich. Urania –Verlag Leipzig. Jena. Berl*in، 1991، 664pp.

20. Trakunyingcharoen، T، Lombard، L، Groenewald، J.Z، Cheewangkoon،R، Toanun،C، Alfenas،A.C، and Crous،P.W. 2014. *Mycoparasitic species of Sphaerellopsis، and allied lichenicolous and other gener*a. IMA FUNgUs · 5(2): 391–414

21. Vanderweyen، A. and A. Fraiture.2007. *Catalogue des Uredinales de Belgique: Chaconiaceae، Coleosporiaceae، Cronartiaceae، Melampsoraceae، Phragmidiaceae، Pucciniastraceae، Raveneliaceaeet، Uropyxidaceae. Revue De Botanique*، N: 183، 36pp.

22. Yuan ZW، Pei MH، Hunter T، Royle DJ. 1998. *Eudarluca caricis*، the teleomorph of the mycoparasite *Sphaerellopsis filum*، on blackberry rust *Phragmidium violaceum*. Mycological Research. ١٠٢: ٨٦٦–٨٦٨.