

## عزل وتشخيص الفطريات المسببة لمرض تبقع الأوراق البني على الرز في محافظة النجف و القادسية / العراق

سامي عبد الرضا الجميلي

قسم علوم الحياة - كلية العلوم - جامعة الكوفة

### الخلاصة :

شملت هذه الدراسة تشخيص مسببات مرض تبقع الاوراق على الرز في محافظتي النجف و القادسية . اوضحت نتائج المسح الحقلّي للموسم (2004) تفاوتاً في معدلات شدة الاصابة بالمرض وكانت حقول منطقة العباسية هي الاشد عرضة للاصابة (3.96% ) تلتها حقول منطقة الحرية (3.03% ) واخيراً حقول منطقة المهناوية(2.86% ) .

واثبتت نتائج العزل والتشخيص ان الفطريات المسببة لهذا المرض هي *Exserohilum rostratum* و *Bipolaris Spicifera* و *Curvularia Lunata* ، وبعد تشخيص الفطر ، *Exserohilum rostratum* على الرز وبحسب المصادر والبحوث المتوفرة التسجيل الاول من نوعه اذ لم يذكر أي مصدر علمي تسجيله كمسبب مرضي على هذا المحصول ، إما الفطر ان *Bipolaris Spicifera* و *Curvularia Lunata* ، فان التقارير والبحوث العلمية المتوفرة في القطر تشير الى عدم تسجيلها على الرز في العراق سابقاً وبعد هذا اول تسجيل لهما في العراق فالمراجع العلمية المتوفرة تؤكد ان المسبب المرضي لمرض تبقع الاوراق الفطر *Helminthosporum oryza* الذي لم يسجل في هذه الدراسة .

### المقدمة :

يتعرض الرز للاصابة بالكثير من الامراض الفطرية منها امراض تبقع الاوراق فقد ذكر العاني وآخرون (1989) ان هذا المرض ينتشر في جميع مناطق زراعة الرز في العالم ، ويعد من الامراض الخطيرة في جنوب شرق اسيا حيث يسبب خسائر في محصول الرز تصل الى (90%) . وتظهر الاعراض المرضية على جميع اطوار النبات بشكل بقع صغيرة دائرية الى متطاولة ذات لون بني او اسود ويهاجم الفطر ايضاً النورات الزهرية مسبباً موت المناطق المصابة وسقوط النوره الزهرية وضمور الحبوب. والمسببات الفطرية لهذا المرض عديدة ، فقد ذكر Sivanesan وآخرون (1991) وجود اربعة انواع من الفطريات تابعة لجنس *Exserohilum* تصيب الرز في جنوب شرق اسيا وتسبب له مرض تبقع الاوراق وهي ، *E.oryzae* ، *E.oryzicola* ، *E.longirostratum*، *E.gedarefanse* . كما ان بعض الانواع التابعة لجنس *Bipolaris* (*B.hawaiiensis* ، *B.australiensis* ، *B. sspicifera* ) تسبب هذا المرض خاصة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية ( Larone ، 1990 ؛ Collier و آخرون، 1990 ) . اما الفطر *Curvularia Lunata* فهو

يسبب العديد من الامراض للمحصول كتبقع الأوراق ( Leaf Spot )،تعفن الجذور ( Root rot ) ، التبقع البني ( Brown Spot ) و اسوداد السنبله ( Black Kernel ) ( Salleh ، ١٩٩٦ ) .  
وفي العراق سجل الفطر *Helminthosporum oryza* كمسبب وحيد لمرض تبقع الاوراق البني على الرز ( العاني و اخرون ، ١٩٨٩ ) .

### المواد و طرائق العمل :

#### المسح الحقلّي

تم اجراء مسح لحقول الرز خلال الموسم الزراعي 2004 لتحديد نسبة الإصابة بمرض تبقّع أوراق الرز في ثلاث مناطق من الفرات الأوسط وهي منطقة العباسية، والحرية في محافظة النجف فضلا عن منطقة المهناوية التابعة لمحافظة القادسية.

واختيرت ثلاثة حقول في كل من منطقتي العباسية و الحرية، وفي اماكن متفرقة اختياراً عشوائياً لتمثل عينة متجانسة للمنطقة وحقلين في منطقة المهناوية ، وجمعت عينات من النباتات المصابة في كل حقل بواقع ( 50 ) نباتاً لكل حقل حيث وضعت العينات في اكياس من النايلون وسجلت عليها اسم المنطقة ورقم الحقل وتاريخ جمع العينة علماً ان المسح في الحقل الواحد كان اقطاراً متقاطعة .وجلبت الى المختبر وحسبت شدة الاصابة وذلك بعمل مفتاح لشدة الاصابة مكون من خمس درجات بحسب طريقة Horsfall and Heuberger (1942) الموضوع في ادناه:

<u>الفئات</u>	<u>سلم الإصابة</u>	<u>دليل الإصابة</u>
1-	الاوراق السليمة	0=
2-	الاوراق التي اتلفت الاصابة من 1-25 % من انسجتها	1=
3-	الاوراق التي اتلفت الاصابة من 26-50 % من انسجتها	2=
4-	الاوراق التي اتلفت الاصابة من 51-75 % من انسجتها	3=
5-	الاوراق التي اتلفت الاصابة من ٧٦-100 % من انسجتها	4=

وتم حساب النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب معادلة Mckinney (1923) الواردة من قبل Horsfall and Heuberger (1942)

$$\% \text{ شدة الإصابة} = \frac{\text{عدد الاوراق من الفئة (1)} \times 0 + \dots + \text{عدد الاوراق من الفئة (5)} \times 4}{\text{عدد الاوراق الكلية} \times 4}$$

عزل الفطريات المسببة لمرض تبُّع الاوراق وتشخيصها

تم عزل المسببات المرضية من اوراق نباتات الرز وسيقانها وظهرت عليها أعراض الإصابة اذ قطعت أوراق النبات وسيقانها المصابة بطول (1-0.5) سم وغسلت القطع بالماء الجاري لازالة الاتربة وعُقمت بعد ذلك بمحلول هايبوكلووريدات الصوديوم بتركيز (1) % لمدة دقيقتين وغسلت بماء مقطر معقم وجففت بورق ترشيح نوع Whatman No 1 بعدها زرعت (5) قطع نباتية في كل طبق بتري يحتوي على وسط (P.D.A Potato ) (Dextrose Agar ) الموضوع فيه المضاد الحيوي Antibiotic كلورومفينيكول Chloramphenicol بتركيز (25) ملغم/لتر وذلك بعد تعقيمه في جهاز المؤسدة Autoclave في درجة حرارة (121)م° وضغط (1جو) (20)م° ،دقيقة بعدها حضنت الاطباق في درجة حرارة (28)م° يومين - الى ثلاثة ايام (البدر ،1998) وبعد ظهور مستعمرات الفطريات تم تنقيتها على الوسط نفسه وشخصت الفطريات النامية بالاعتماد على الصفات التي ذكرها Sivanesan (1992,1987,1984)، وتم ايضاً حساب معدل تردد الفطريات المعزولة من الاوراق والسيقان وحسب القانون التالي .

عدد عزلات النوع

$$\% \text{ التردد} = \frac{\text{عدد العزلات الكلية}}{100} \times 100$$

عدد العزلات الكلية

اختبار القدرة المرضية للفطريات *B.spicifera*, *E. rostratum* , *C.lunata*

حضر لقاح من الفطريات الثلاثة بزراعتها على وسط P.D.A لفترة أسبوعاً واحداً وكلاً على انفراد وذلك بوضع (25) مل ماء مقطر معقم لكل طبق ثم جمع الغسيل في قمع نظيف، ومعقم بمعدل (100) مل لكل فطر وبعدها حسبت تراكيز ابواغ كل فطر على انفراد ثم عوملت النباتات المعدة مسبقاً والمزروعة في أوص بلاستيكية قطر (25) سم بواقع ثلاثة مكررات للمعاملة وتركت ثلاث مكررات بدون معاملة للمقارنة. وبعد المعاملة مباشرة تم تغطيتها باكياس من النايلون للاحتفاظ بالرطوبة وتمت متابعة ظهور أعراض الإصابة ، يومياً الى حين ظهور الأعراض . أعقب ذلك اجراء عزل رجعي للتأكد من نوع الفطر المسبب للإصابة .

حساب المدة اللازمة لانبات ابواغ الفطريات *B.spicifera* , *E. rostratum* ، *C.lunata* على الشريحة

الزجاجية

لتحديد المدة اللازمة لبداية انبات ابواغ الفطر *E. rostratum* تم اخذ قرص قطره (0.5)سم مأخوذ من مستعمرة الفطر *E. rostratum* بعمر (4)ايام ،وضع في انبوب اختبار معقمه يحتوي على (5) مل ماء مقطر معقم ،ورجت الاتبوبة جيداً أخذ بعد ذلك (0.1) مل من المعلق وفرش على شريحة زجاجية نظيفة معقمة موضوعة في داخل طبق بتري يحتوي على ورق ترشيح مبلل بالماء المقطر المعقم (للاحتفاظ بالرطوبة المناسبة )

بعدها وضعت في الحاضنة في درجة حرارة (25)م° وتم متابعة تطور إنبات البوغ كل ساعتين لمدة (24)ساعة وطبق الشيء نفسه على الفطرين *B.spicifera* ، *C.lunara*.

### التحليل الاحصائي

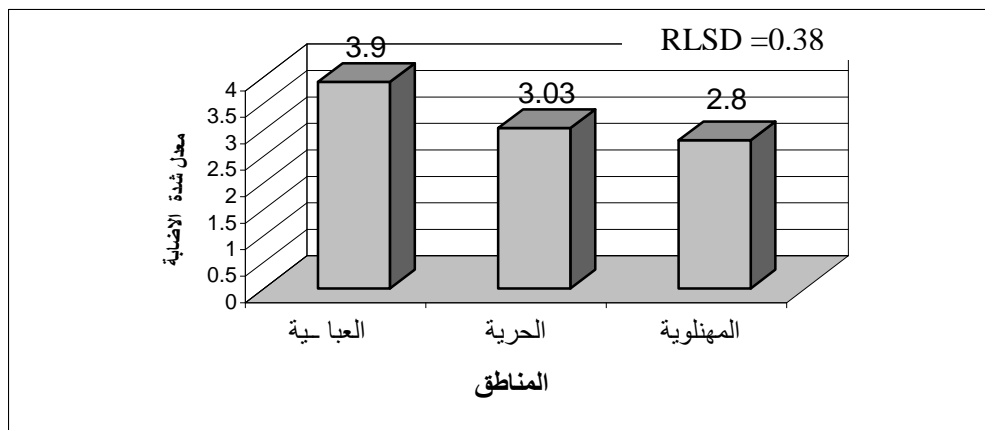
نفذت التجارب المختبرية بحسب التصميم العشوائي الكامل C.R.D بكونها تجارب وحيدة العامل وتم مقارنة المتوسطات بحسب طريقة اقل فرق معنوي وفي مستوي احتمال (0.01) اما التجربة الحقلية فقد صممت بحسب تصميم القطاعات العشوائية الكاملة R.C.B.D بكونها تجربة ثنائية العامل وتمت مقارنة المتوسطات بحسب طريقة اقل فرق معنوي R.L.S.D في مستوي احتمال (0.05) ( الراوي وخلف الله،1980).

### النتائج و المناقشة :

#### المسح الحقلي

ظهر من المسح الحقلي خلال الموسم 2004 تفاوت معدلات شدة الاصابة بمرض تبقق الاوراق لنبات الرز لحقول العباسية ،والحرية، والمهناوية شكل (1) .

فقد سجل اعلى معدل شدة الاصابة في حقول منطقة العباسية اذ بلغت (3.9 %) تلتها حقول الحرية بمعدل اصابة قدره(3.03 %). في حين سجلت حقول المهناوية معدل اصابة قدره (2.8 %) وكان المعدل الإجمالي لمتوسط الاصابة في هذه المناطق هو (3.1 %) وهذه الدرجة من الاصابة تشكل خطراً حقيقياً على محصول الرز، لما ينتج عنها من خسارة كبيرة في إنتاجية الرز وقد يعود سبب ذلك الى استعمال الزراعة الواسعة والمنكثرة لمحصول الرزفي المنطقة الوسطى من العراق (AL-Naggar ، 1989) ،فضلا عن عدم اهتمام المزارعين بمكافحة هذا المرض وعده مرضاً ثانوياً لا يؤثر في الانتاج (Houng و Liu , 1973) فضلا عن توفر الظروف البيئية الملائمة لنمو الفطريات المسببة للمرض فقد ذكر Sivanesan واخرون (1991) ان المدى الحراري للفطريات المسببة للمرض يكون (19-29) م° والمثلثى (25)م°. فضلا عن تكرار زراعة صنف العنبر 33 لسنوات طويلة ربما ادى الى ظهور سلالات ذات قدرة مرضية عالية في اصابة هذا الصنف , إذ ذكر عدد من الباحثين ان الزراعة المتجانسة للمحاصيل يعد سبباً رئيساً في انتشار الاوبئة المرضية ،جرجيس واخرون،(1993) .



الشكل (1) معدل شدة الاصابة بمرض التبقق البني لنباتات الرز صنف عنبر ٣٣ في حقول العباسية ، الحرية ، المهناوية .

الدراسات المخبرية

عزل الفطريات المصاحبة لنبات الرز المصاب بمرض التبقع البني وتشخيصها

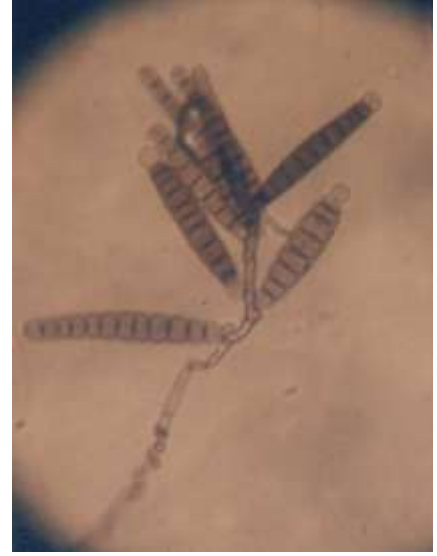
أظهرت نتائج عزل الفطريات المرضية من اوراق نباتات الرز وسيقانه وجود ثلاثة انواع فطرية مسببة لهذا المرض وهي الفطر *E.rostratum* الذي ظهرت مستعمراتهلى وسط P.D.A في درجة حرارية (1±28) م بلون بني شاحب الى أسود stroma غائبة، الهيافات بنية شاحبة متفرعة مقسمة ناعمة سمكها (4-5) مايكروميتر ، الحامل الكونيدي اسطواني بسيط بني زيتوني، ويظهر شاحبا كلما اتجهنا للقمة، حوالي (٢٠٠) مايكروميتر بالطول وسمك (٥-٨) مايكروميتر (صورة،A) ، الكونيديا اسطوانية الى اسطوانية مغزلية كثيراً ماتكون منحنية تحتوي على حواجز تقسمها الى خلايا عددها (7-12) وفي كثير من الاحيان تبلغ (7-9) ابعادها-29) (7×200-15) مايكروميتر مع وجود Hilum في قمة البوغ فضلا عن ان الخلية الطرفية مقطوعة بحاجز سميك وتعد هذه صفة مميزة لهذا النوع (صورة،A)،وانباتها يكون قطبياً (صورة،B)، وهذه النتائج تطابق ما ذكره Sivanesan واخرون،(1991).

اما الفطر الثاني فهو *B.spicefera* ظهرت مستعمراته على وسط P.D.A بلون بني الى بني ادكن الى سوداء ،الهيافات (Hyphae) مقسمة، بنية اللون، الحوامل الكونيدية مستقيمة ومتعددة الحواجز وناعمة والخلايا المولدة للكونيديا اسطوانية مندمجة الخلايا وطرفية او بينية والكونيديا ناعمة وبدون Hilum واضح (صورة،C) ،وكثيرا ما تكون مقسمة بثلاث حواجز لا تصل الى جدران خلية البوغ (distosepta) وتكون مستقيمة الشكل وابعادها (9-14 x 20-40) مايكروميتر وتثبت قطبيا (صورة،D)، (Nelson ، 1964).

اما الفطر *C.lunata* فتظهر مستعمراته على وسط P.D.A بشكل مستعمرات بنية الى بنية دكناء الى سوداء ، Stromata كبيرة ،سوداء اسطوانية ، بسيطة او متفرعة . الحوامل الكونيدية طرفية او جانبية على Hyphae او على Stromata بسيطة او متفرعة ، Hyphae مقسمة ، ذات لون بني شاحب الى بني ناعمة ، الكونيديا مستقيمة الى منحنية ، اهليجي ( اوبيضوي ) كثيراً ما يكون ثلاثة حواجز (3- distosepta)تقسمها الى اربعة خلايا بدون Hilum واضح ، الخلية الثالثة من التسلسل القاعدي اكبر واكثر دكنة من الخلايا الاخرى، الخلايا النهائية عادة بنية شاحبة ،الكونيديا ذات ابعاد (8-16x18-32) مايكروميتر وهذه الصفات تطابق وما ذكره Alcorn، 1983.



B



A



C



D

صورة (A): الحامل البوغي و الابواغ للفطر *E. rostratum* في نهايتها السرة (Hilum) المنمأة على وسط P.D.A بدرجة حرارة (25)م° لمدة اسبوع (X40)

صورة (B): انبات ابواغ الفطر *E. rostratum* على شريحة زجاجية (X40)

صورة (C): الحامل البوغي و الابواغ للفطر *B. spicefera* في نهايتها السرة (Hilum) المنمأة على وسط P.D.A بدرجة حرارة (25)م° لمدة اسبوع (X40)

صورة (D): انبات ابواغ الفطر *B. spicefera* على شريحة زجاجية (X40)

اختبار القابلية للأمراضية للفطريات المعزولة *C.lunata*, *B.spicefera*, *E. rostratum*

اظهرت الفطريات التي سبق عزلها من اوراق نباتات الرز وسيقانه المصابة قدرة عالية في احداث الاصابة على نباتات الرز وظهرت اعراض الاصابة على النباتات ولاسيما على الاوراق والسيقان بشكل بقع صغيرة دائرية بنية مشوبة بلون اصفر يتحول الى لون بني ادكن او تكون سوداء . وفي بعض الحالات تغطي البقع معظم سطح الورقة و احيانا تتصل البقع مع بعضها لتشكل شريطاً طويلاً على امتداد الورقة (صورة، E) . وتم اعادة عزل الفطريات الممرضة من اوراق النباتات وسيقانه التي ظهرت عليها اعراض هذا المرض وذلك للتأكد من المسبب المرضي. وهذه الاعراض توافق ما ذكره جرجيس وآخرون (1993) والعاني وآخرون (1989) . وكانت أعراض الاصابة بالفطر *E. rostratum* هي الاسرع في الظهور اذ ظهرت بعد (٢٤) ساعة من تلقيح النباتات في حين ظهرت اعراض الاصابة بالفطرين الآخرين بعد (٤٧) ساعة.

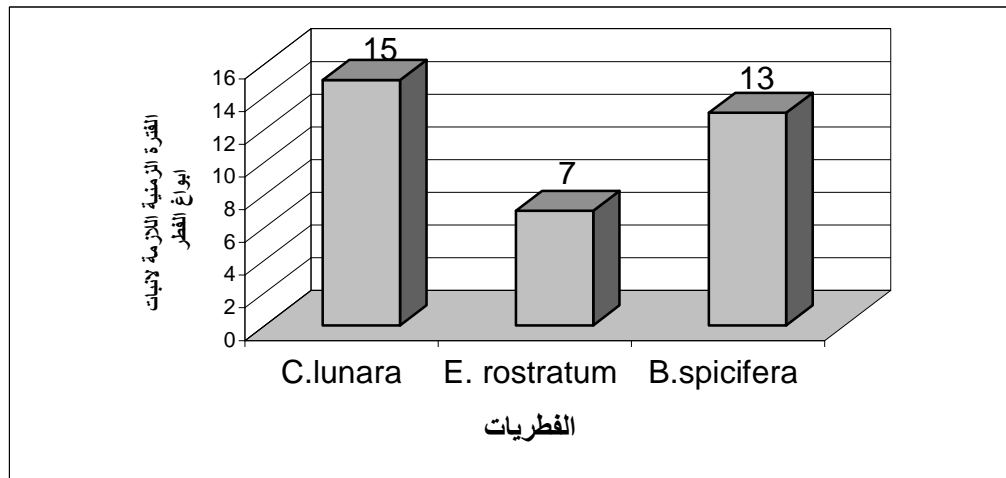


E

صورة (E): اعراض الاصابة بمرض تبقع الاوراق البني لنبات الرز

حساب المدة الملائمة لانبات ابواغ الفطريات *C.lunata*, *B.spicefera*, *E. rostratum*

اوضحت نتائج الفحص المختبري وجود تفاوت بالمدة الملائمة التي تحتاجها الابواغ للانبات ،اذ كانت ابواغ الفطر *E. rostratum* تحتاج (7)ساعات في حين، تطلب انبات ابواغ الفطر *B.spicefera* (14)ساعة ،اما ابواغ الفطر *C.lunata* فقد بلغت (15)ساعة . من خلال هذه النتائج يتضح ان ابواغ الفطر *E. rostratum* هي الاكثر نشاطاً والاسرع أنباتاً مقارنة بنوعين الآخرين ،شكل (٢)وهذا ينعكس على الفترة الزمنية التي يحتاجها الفطر لاحداث الاصابة وظهور الاعراض المرضية وهذا ما أكدته اختبار القدرة المرضية فقد ظهرت الاصابة بعد مرور ٢٤ ساعة من تلقيح النباتات بهذا الفطر قبل ظهورها في بقية الفطريات الاخرى ويفارق زمني اقتراب من الضعف بعد مرور ٤٧ ساعة من تلقيح النباتات .

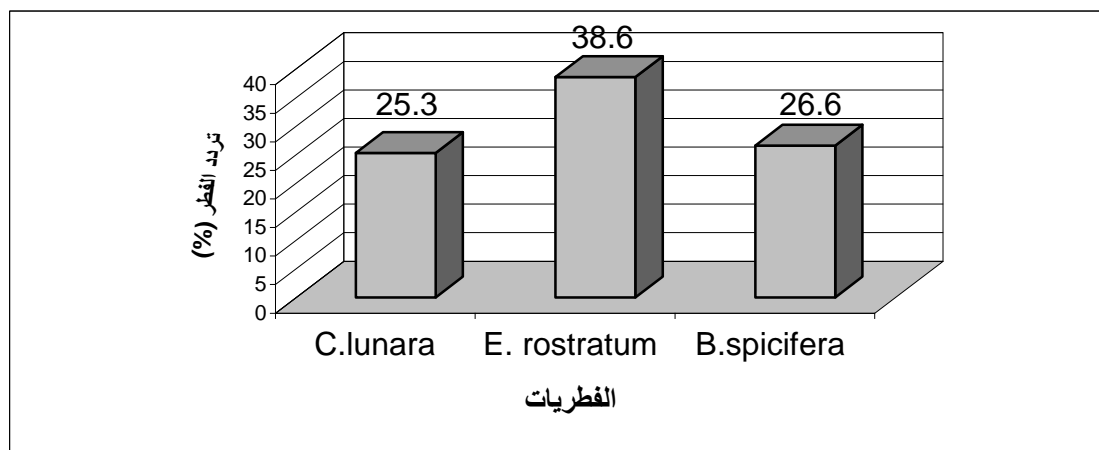


شكل (٢) معدل الفترة اللازمة لانبات ابواغ الفطريات *C.lunata* ، *E. rostratum* ، *B.spicefera* على الشريحة الزجاجية في درجة حرارة  $1 \pm 25$  م°.

#### حساب تردد الفطريات المعزولة من نباتات الرز

بينت نتائج الفحص المختبري ان الفطر *E. rostratum* هو اكثر الفطريات تردداً إذ بلغت نسبة تردده 38.6% وجاء ثانياً الفطر *B.spicefera* بنسبة 26.6% واخيراً الفطر *C.lunata* بنسبة 25.3% شكل (٣). وربما تفسر هذه النتائج بقدرة الفطر *E. rostratum* على الانتشار بصورة اسرع من الفطرين الاخرين، وهذا قد يرتبط بالجانب الفسلجي المتعلق بالمدة الزمنية التي تحتاجها ابواغ هذا الفطر (٧ ساعات) للانبات مقارنة بالمدة الزمنية اللازمة لانبات ابواغ الفطرين الاخرين (١٤ ساعة *B.spicefera* و ١٥ ساعة للفطر *C.lunata*).





شكل (٣) نسبة تردد الفطريات المعزولة من اوراق نباتات الرز وسيقانه المنماة على وسط P.D.A في درجة حرارة  $25 \pm 1$  م<sup>°</sup> اسبوعاً كاملاً .

## Isolation and Identification of Fungi causing of Brown Leaf spot Disease on Rice in two Governorates Al-najaf and Al-qadisiah / Iraq .

Sami Abd Al-rutha Al-jumaeely

Biology Department / College of Science / Kufa University

### Abstract :

This study includes the identification of the causative agents of leaf spot disease on rice , in two Governorates Al-najaf and Al-qadisiah .

The results of the feild survey for the season (2004)showed that there were a difference of the rates of the disease infection Al-Abasia region feilds was the most affected with a ratio (3.96%) then Al-Hureia region filds (3.03%) and lastly Al-Mhanaweia (2.86%).

The laboratory test results proved that the fungi causing this disease were *Exerohilum. rostratum* ,*Bipolaris spicefera* and *Curvularia lunata* ,this is afirst report for *Exerohilum. rostratum* as causal agent of leaf spot on rise,and about the *Bipolaris spicefera* and *Curvularia lunata* ,the available reportes and scientific researchs in Iraq refers that both of them are not remarked on the rice in Iraq previously,and this is the first remark of them in Iraq since the available scientific references certified that the causative agent of the leaf spotting is the fungus *Helminthosporium* which was not remarked in this study.

المصادر :

- البدري ، علياء عبد الستار ، 1998 . تأثير الفطريات المتواجدة على المخلفات العضوية للفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. (SaCC) synder and Hansen المسبب للذبول في الطماطة . رسالة ماجستير . كلية التربية - جامعة البصرة . (97) صفحة .
- الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله . 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للطباعة والنشر - جامعة الموصل (488) صفحة .
- العاني ، رقيب عاكف و ميسر مجيد جرجيس وكامل سلمان جبر ، ١٩٨٩ ، امراض المحاصيل الحقلية وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد ص ٥٩٢ .
- جرجيس ، ميسر مجيد ورقيب عاكف العاني وايد عبد الواحد الهيتي . 1993 . امراض النبات ، جامعة بغداد . 569 صفحة .
- Alcorn,J.L.**1983.Generic concepts in Drechslera,Bipolaris,and Exserohilum.Mycontaxon.17:1-86.
- AL-Naggar ,E.H.**1989 .Advanced procedure for production of rice in Iraq .The third specific rice carnival .Ministry of Agriculture ,Iraq .
- Collier ,L., Balows A. , and sussman M.**1998.Topley and Wilson's Microbiology and Microbial and infection ,9<sup>th</sup> ed , Vol .4 –Arnold ,London ,Sydney , Auckland ,New York .
- Horsfall .J.G. and Heuberger ,J.W.**1942 .Measuring magnitude of a defoliation disease of tomatoes .Phytopathology ,32:226-232 .
- Houng ,K.H.and Liu ,T.P.**1973 .The effect of crop residues on the growth of the Following cropI.Effect of root residues of the first rice crop on the second rice crop .J.Chin .Agric. chem. .soc ., 14:145-150 .
- Larone ,D.H.**1995 .Medically Important Fungi –Aguide to identification ,3 th ed .ASM press ,Washington ,D.C.
- Nelson,R.R.**(1964).the perfect stage of *Helminthosporium cynodoutis* .Mycologia 56:64-69.
- Salleh ,B.** 1996 .Brown spot caused by *Curvularia spp* ; a new disease of asparagens .The southeast Asian Journal of Tropical Biology .9:26-37 .
- Sivanesan ,A.**(1984).New species of *Exserohilum* Transactions of the British Mycological Society 83,319-329.
- Sivanesan ,A.**(1987).Graminicolous species of *Bipolaris.Curvularia,Drchslera,Exserohilum* and Their teleomorphs.Mycological papers 158,1-261.
- Sivanesan ,A ;Del serrone ,P. and Porta-Puglia** (1991).  
Anew species of *Exserohilum* on Barnyardgrass – Phytopathologia Mediterranea 30,151-152.
- Sivanesan ,A.**(1992). New *Bipolaris , Curvularia* and *Exserohilum* species.Mycological Research 96,485-489.