

عزل وتحديد الفطر *Colletotrichum coccodes* كمسبب لمرض النقطة السوداء على البطاطا/البطاطس في سورية

محمد مطر

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب، سورية، البريد الإلكتروني: dr.mmatar@hotmail.com

المخلص

مطر، محمد. 2012. عزل وتحديد الفطر *Colletotrichum coccodes* كمسبب لمرض النقطة السوداء على البطاطا/البطاطس في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 30: 171-179.

رصد مرض النقطة السوداء (الأنثراكنوز) وسجل لأول مرة في سورية في بعض حقول البطاطا/البطاطس في محافظتي حماه وإدلب على الصنفين بينيلا وسبونتا في عام 2006. عزل الفطر المسبب للمرض من جذور وسوق ودرنات النباتات المصابة، ودرست خصائصه المزرعية والتشريحية تحت ظروف المختبر، وعُرف على أنه *Colletotrichum coccodes* (Wallr) Hughes. درست القدرة الإمراضية للفطر تحت ظروف الدفيئة عن طريق الإعداء الاصطناعي للتربة، واستخدمت درنات بطاطا/بطاطس بقطر 45-55 مم من صنف بينيلا - مرتبة إلبت، ظهرت أعراض المرض على النباتات المعدة بعد 60-70 يوماً من الزراعة، وتمثلت بذبول وتهدل ثم اصفرار للأوراق العلوية، تبعه جفاف وموت النباتات المصابة بعد 15-20 يوماً من الإصابة. ظهرت إثمات الفطر (كوبمات/أسيرفيولات وأجسام حجرية) بشكل نقط سوداء على الجذور والأجزاء السفلى من الساق بكثافة تتناسب طرماً مع شدة الإصابة. كما سبب المرض تحلل نسج السوق والجذور المصابة دون إحداث تلون للأوعية الناقلة. ظهرت الأعراض على الدرنات المصابة بشكل بقع سطحية، رمادية-بنية اللون، ظهرت فيها إثمات الفطر بكثافة تتناسب طرماً مع شدة الإصابة، ثم ازداد حجم البقع تحت ظروف التخزين غير المناسبة، فأدت إلى تجعد قشرة الدرنة مما سبب خفضاً شديداً لقيمتها التسويقية. كلمات مفتاحية: بطاطا/بطاطس، النقطة السوداء، *Colletotrichum coccodes*، سورية.

المقدمة

المرض في السنوات الأخيرة بسبب ارتفاع مستوى الوعي لدى المستهلكين وزيادة الطلب على الدرنات النظيفة والخالية من العيوب (10، 14). يشتد المرض في المناطق الجافة والأراضي الرملية (14، 21)، ويسبب خسائر كبيرة في المحصول كماً ونوعاً قد تصل إلى 8-30% (17، 18)، كما يتطور في المخازن غير النظامية ويسبب انخفاضاً كبيراً في وزن الدرنات وبخاصة عند درجات الحرارة المرتفعة 15-20 °س ورطوبة نسبية 75-95% (12، 20).

يسبب المرض عن الفطر *Colletotrichum coccodes* (Hughes) Wallr. = *Colletotrichum atramentarium* (Berk. et Br) Taub. Dekson, 1926 من صف الفطور الناقصة Deuteromycetes رتبة Melanconiales وعائلة Melanconiaceae (2، 27).

للفطر مجال عوائل واسع فهو يصيب عديداً من نباتات الفصيلة الباذنجانية Solanaceae والصليبية Brassicaceae والقرعية Cucurbitaceae والبقولية Fabaceae وغيرها. إضافة إلى عديد من النباتات العشبية التي تتبع فصائل نباتية مختلفة (5، 11).

تظهر أعراض المرض على جميع الأجزاء الأرضية للنبات (مدادات، جذور، درنات). كما يسبب أعراضاً على الساق والمجموع

تعد البطاطا/البطاطس (*Solanum tuberosum* L.) من محاصيل الخضر المهمة اقتصادياً على مستوى العالم، وهي تحتل المركز الثاني بعد الذرة الصفراء من حيث الانتشار والقيمة الغذائية وإنتاج الطاقة (3، 4). تزرع البطاطا/البطاطس في سورية على نطاق واسع، وتمثل جزءاً مهماً من روافد الأمن الغذائي الوطني، وقد بلغت المساحة المزروعة بها في عام 2008 حوالي 36127 هكتاراً أنتجت 720492 طناً (1).

تصاب البطاطا/البطاطس بعديد من الأمراض الفطرية التي تؤثر سلباً في الإنتاج كماً ونوعاً، وتتباين الخسائر الناتجة عنها تبعاً للكائن المسبب، الأصناف المزروعة، الظروف البيئية والممارسات الزراعية (7، 14، 26).

يُعد مرض النقطة السوداء أو (الأنثراكنوز) من الأمراض واسعة الانتشار على البطاطا/البطاطس في عدد من دول العالم (8، 10، 27)، وقد ازداد انتشاره خلال السنوات الماضية ليشمل كافة المناطق الرئيسية لإنتاج البطاطا/البطاطس في العالم (16، 17). ومع ذلك فقد كانت كثير من الدول تعتبره من الأمراض الثانوية على هذا المحصول، كون إصابة الدرنات به تكون سطحية (13، 15). ازدادت أهمية

لوحظ انتشار المرض مؤخراً في بعض المناطق الرئيسية لزراعة البطاطا/البطاطس في وسط وشمال سورية. وبما أن المرض حديث العهد على البطاطا/البطاطس في سورية ولم يسجل سابقاً، فقد هدف البحث إلى: (1) عزل الفطر الممرض ودراسة خصائصه الشكلية/المورفولوجية والتشريحية وتحديد هويته، (2) دراسة قدرته الإراضية وتحديد نسبة الإصابة وشدها على المجموع الخضري والدرنات، (3) دراسة التغيرات المورفولوجية المميزة للمرض وتحديد الفترة المناسبة لظهور المرض وتطور الأعراض.

مواد البحث وطرائقه

عزل الفطر الممرض وتحديد هويته

عزل الفطر من سوق وجذور ودرنات النباتات المصابة من صنفى بينيلا وسبونتا، جمعت من بعض حقول البطاطا/البطاطس في قريتي كفر نبودة وكرناز في محافظة حماة، وقرية الصويغية (بنش) في محافظة ادلب خلال الأعوام 2006-2008.

غسلت الأجزاء النباتية المصابة عدة مرات بماء الصنبور وقسمت إلى قطع صغيرة (0.5 سم) ثم طهرت سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 0.525% لمدة 3-4 دقائق. غسلت القطع بعد ذلك بالماء المقطر المعقم ثم جففت وزرعت في أطباق بتري تحتوي على مستنبت PDA (بطاطا - دكستروز - آجار) مضاف إليه ستربتومايسين بتركيز 250 مغ/لتر. حضنت الأطباق عند حرارة 25 ± 2 °س لمدة أسبوع. تمت تنقية الفطر بطريقة طرف الهيفا وكررت العملية عدة مرات حتى الحصول على مستعمرات نقية.

دراسة تأثير الحرارة في نمو الفطر الممرض وتطوره

أخذت أقراص بقطر 5 مم من أطراف مستعمرة فتية للفطر *C. coccodes* وزرعت في مركز أطباق بتري قطرها 9 سم تحتوي على المستنبت الغذائي PDA. حضنت الأطباق عند درجات حرارة متباينة تراوحت ما بين 5 و 40°س وبمعدل 3 أطباق لكل درجة. تم قياس أقطار مستعمرات الفطر يومياً اعتباراً من تاريخ الزراعة وحتى اكتمال نمو المستعمرة وتغطية الطبق في أي من المعاملات.

دراسة القدرة الإراضية للفطر

حضرت كمية 300 كغ من تربة معقمة، أعدي قسم منها بمعلق مائي لميسليوم وأبواغ الفطر *C. coccodes* بتركيز 5×10^5 بوغة/مل (5000 بوغة/غ تربة) وترك الباقي كشاهد بدون عدوى. خلطت التربة جيداً وعبئت في أكياس بلاستيكية بواقع 5 كغ/كيس، ثم زرعت فيها درنات

الخضري (6، 9، 14، 17، 19). وتؤدي الإصابة إلى ذبول الأوراق ومن ثم جفافها ابتداء من القمة باتجاه الأسفل (14، 27). وتظهر الأعراض على قاعدة الساق في النصف الثاني من عمر النبات بشكل يقع بنية فاتحة اللون تتحد أحياناً وتنتظم طولياً باتجاه واحد (2، 27). تصفر السوق المصابة تدريجياً ثم تجف وتتشقق وتظهر عليها إثمارة الفطر (*microsclerotia & acervuli*) بشكل نقط سوداء صغيرة ويكتأفة تتناسب طرماً مع شدة الإصابة (23، 24، 29). كما تتخرب نسج الجذر والسوق المدادة (*Stolons*) (22، 29) وتتلون أحياناً باللون البنفسجي أو الوردى (14، 27). تصبح النباتات المصابة سهلة القلع (28)، وقد تترافق الإصابة بعفن فيوزاريوم الجاف (14، 30)، وتبدو أحياناً كأنها مصابة بالرجل السوداء *Black leg* (8، 27). تظهر على سطح الدرنات المصابة بقع بنية-فضية اللون، غير منتظمة الشكل تكثر فيها إثمارة الفطر (17، 28). ويشير *Pidoplichko* (27) إلى أن أعراض المرض على الأجزاء الهوائية للنبات تتشابه مع تلك التي تحدثها أمراض الذبول الوعائي، إذ تصفر الأوراق العلوية وتتثني حوافها للداخل ثم تذبل وتجف قبل عدة أسابيع من نضج النبات، إلا أن الذبول الذي يحدثه الفطر *C. coccodes* يسبب تخريب أنظمة الجذور ولا يسد الأوعية الناقلة كما في حالة أمراض الذبول الوعائي المتسببة عن فطور *Fusarium oxysporum* و *Verticillium dahliae* (26). وتشير الدراسات إلى أن مرض النقطة السوداء يمكن أن ينكشف على الجذور بعد 10 أسابيع، وعلى الدرنات بعد 12 أسبوعاً من الزراعة. وتزداد الإصابة في الدرنات التي تبقى في التربة لفترة طويلة بعد نضج المحصول وجفاف المجموع الخضري (5، 13، 17).

ينقل الممرض عن طريق الدرنات المصابة والبقايا النباتية والتربة (7، 26)، ويحتفظ بحيويته في التربة لمدة تزيد عن 4-8 سنوات (13، 22). وقد أظهرت الأبحاث أن زراعة تقاوي نظيفة وخالية من المرض في أرض موبوءة أنتجت درنات جديدة مصابة بنسبة 15-88% (11، 23)، كما يمكن أن تصاب الجذور الفتية نتيجة لنمو الفطر من الدرنات الأم المصابة، وأن زراعة درنات مصابة تؤدي إلى إنتاج درنات جديدة مصابة بنسبة 100% (5، 16).

تتباين الأصناف المزروعة في درجة مقاومتها للمرض، غير أن جميعها قابلة للإصابة، ولا توجد حتى الآن أصناف منيعة أو عالية المقاومة (16، 25، 28)، وأن الأصناف ميكرة النضج أكثر عرضة للإصابة من الأصناف متأخرة النضج (29، 31). كما أن أعراض المرض تكون أكثر شيوعاً على الدرنات ذات الجلد الرقيق مقارنة بالدرنات ذات الجلد السميك (17، 25، 26). يتابع المرض تطوره على الدرنات في المخازن غير النظامية ويسبب نقصاً محدوداً في وزن الدرنات قدر بحوالي 10% بعد 18 أسبوعاً من التخزين (18، 22).

عليها؛ 4= إصابة شديدة جداً: الإصابة تشمل أكثر من 51% من سطح الدرنة مع وجود كثيف لإثمار الفطر عليها. وتُدر مؤشر شدة الإصابة وفق المعادلة التالية:

$$\text{مؤشر شدة الإصابة \%} = \frac{\text{مجموع (عدد النباتات أو الدرنت المصابة في كل درجة إصابة} \times \text{الدرجة الموافقة في السلم)} \times 100}{\text{العدد الكلي للنباتات أو الدرنت} \times \text{أعلى درجة في السلم}}$$

قدرت نسبة الإصابة وشدتها على درنات بطاطا/بطاطس من حقول مصابة طبيعياً، حيث أخذت عينة عشوائية من درنات "صنف بينيلا" مقلوعة حديثاً من أحد الحقول المصابة في قرية كفر نبودة (محافظة حماة) من محصول العروة الربيعية لعام 2008، ثم فُرزت تبعاً لحجم الدرنة إلى ثلاث مجموعات:

المجموعة الأولى: درنات صغيرة الحجم قطرها 25-50 مم.

المجموعة الثانية: درنات متوسطة الحجم قطرها 51-75 مم.

المجموعة الثالثة: درنات كبيرة الحجم قطرها أكثر من 76 مم.

وبواقع ثلاثة مكررات و50 درنة/مكرر لكل مجموعة. قدرت نسبة الإصابة بمرض النقطة السوداء تبعاً للأعراض المميزة للمرض، واعتبرت الدرنة مصابة عند وجود بقعة واحدة عليها على الأقل، وقدرت شدة الإصابة وفق سلم التقييس الخماسي (0-4) سابق الذكر.

اختبار تطور المرض تحت ظروف التخزين غير النظامية

تم اختيار 60 درنة من صنف سيونتا بقطر 50-75 مم، مصابة طبيعياً بالمرض بشدة إصابة 1 و2 وفقاً للسلم السابق، غسلت جيداً بماء الصنبور ثم بالماء المقطر المعقم، رُقمت البقع على كل درنة وتم تحديد عددها ومساحة كل منها وكذلك عدد إثمار الفطر (النقط السوداء) في كل بقعة. عبئت الدرنت في أكياس من القنب سعة 2 كغ، بواقع 10 درنات/كيس، وحفظت 30 درنة عند حرارة 20±2 °س و 30 درنة عند 4 °س. نُفذت التجربة في عام 2009 وأخذت النتائج، المتمثلة بعدد البقع ومساحتها وعدد إثمار الفطر في كل بقعة، بعد 60 يوماً من التخزين. حُللت النتائج إحصائياً في برنامج Genstat 7 وجدول تحليل التباين ANOVA وأخذت قيم أقل فرق معنوي عند مستوى إحتمال 5%.

النتائج والمناقشة

عزل الممرض وخصائصه المزرعية

أظهرت نتائج العزل تردد فطر وحيد في جميع العزلات التي تم الحصول عليها من العينات المصابة (جذر، ساق، درنة) لكلا الصنفين ومن كلتا المنطقتين في محافظتي إدلب وحماة. نما الفطر جيداً على

البطاطا/البطاطس على عمق مناسب (5-7 سم). نفذت التجربة الأولى في العروة الخريفية لعام 2007 بواقع 3 مكررات لكل معاملة و 10 نباتات لكل مكرر، واستخدمت فيها درنات سليمة ودرنات معدة اصطناعياً عن طريق تغطيس الدرنت قبل الزراعة مباشرة بالمعلق المائي لميسيليوم الفطر لمدة 15 دقيقة.

أعيدت التجربة في العروة الربيعية لعام 2008، ونفذت تحت الظروف السابقة ذاتها وبواقع 3 مكررات في كل معاملة و 10 نباتات في كل مكرر، واستخدمت فيها درنات سليمة ودرنات مصابة طبيعياً. وضعت جميع المعاملات في البيت الزجاجي التابع لكلية الزراعة، جامعة حلب.

روقت النباتات دورياً وسجلت جميع القراءات والتغيرات الشكلية المميزة للمرض ابتداءً من طور البادرة وحتى النضج الكامل وجفاف المجموع الخضري، وحسبت نسبة الإصابة في المراحل المختلفة لتطور النبات وفق المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات}} \times 100$$

وقدرت شدة الإصابة تبعاً لتطور أعراض المرض على المجموع الخضري للنبات وفق سلم تقييس خماسي (0-4) تم تعديله (25) كما يلي: 0= لا توجد أعراض والنبات سليم؛ 1= إصابة ضعيفة: تتمثل بتهدل وذبول 1-10% من أوراق النبات بدون ظهور إثمار الفطر على الساق؛ 2= إصابة متوسطة: تتمثل بذبول وجفاف 11-25% من أوراق النبات مع، بقاء الساق خضراء وعدم وجود لإثمار الفطر عليها؛ 3= إصابة شديدة: تتمثل بذبول وجفاف 26-50% من أوراق النبات وتساقطها مع بقاء الساق خضراء وظهور ضعيف لإثمار الفطر على الجزء السفلي منها؛ 4= إصابة شديدة جداً، تترافق مع ذبول وجفاف أكثر من 51% من المجموع الخضري، أو موت النبات بالكامل وتحلل الجذر والمنطقة التاجية من الساق، وظهور كثيف لإثمار الفطر على الساق والجذور.

كما قدرت شدة الإصابة على الدرنت وفق سلم تقييس خماسي (0-4) تم تطويره وفقاً للمساحة المصابة على السطح الخارجي للدرنت والتي تظهر بشكل بقع فضية - بنية اللون كما يلي: 0= الدرنة سليمة ولا توجد أعراض؛ 1= إصابة ضعيفة: الإصابة (البقع) تشمل 1-10% من سطح الدرنة مع وجود أو عدم وجود إثمار الفطر عليها؛ 2= إصابة متوسطة: الإصابة تشمل 11-25% من سطح الدرنة مع وجود ضعيف لإثمار الفطر عليها؛ 3= إصابة شديدة: الإصابة تشمل 26-50% من سطح الدرنة مع وجود متوسط لإثمار الفطر

أنها لا تتناسب طردياً معها. نما الفطر في مجال حراري تراوح ما بين 15-35±1 °س وكان نموه مثالياً عند 25±1 °س وغطى سطح الطبق بعد 10 أيام من الزراعة. بدأ تشكل الكويما/الأسيرفيولات بعد 3 أيام من التحضين، وتناقص معدل نمو الفطر مع ارتفاع وانخفاض درجة الحرارة، وتوقف نموه تماماً عند 10 و 40 °س (جدول 1).

وبناءً على الخصائص المجهرية والمزرعية للفطر المعزول، وتبعاً لأبحاث سابقة (8، 27) فقد حُدد الفطر المسبب لمرض النقطة السوداء (الأنتراكوز) على البطاطا في سورية بأنه: *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes. ويعد هذا التسجيل الأول لهذا الفطر على نبات البطاطا/البطاطس في سورية.

القدرة الإراضية

ظهرت الأعراض على المجموع الخضري للنباتات المعدة بعد 60 يوماً من الزراعة، وبدأت بتهدل الأوراق العلوية وذبولها، تبعه اصفرار المجموع الخضري وذبوله تدريجياً، ومن ثم جفاف الأوراق بالكامل ابتداءً من الأسفل باتجاه الأعلى بعد 10-15 يوماً مع بقائها معلقة على النبات. بقيت الساق خضراء لعدة أيام بعد جفاف الأوراق، ثم جفت تدريجياً من الأعلى باتجاه الأسفل، وترافق ذلك مع ظهور إثمارة الفطر بشكل نقط سوداء صغيرة، توضع على الجزء السفلي من الساق الملاصق لسطح التربة، وازدادت كثافة هذه الإثمارة وانتشارها على الساق المصابة وفي داخل أنسجتها مع تقدم المرض وجفاف الساق. وأدى ذلك إلى تلون الأجزاء المصابة باللون الأسود الذي امتد أحياناً إلى مسافة 15-25 سم على طول الساق في الإصابات الشديدة، وبلغت كثافة الكويما 252-988 كويمة/سم² تبعاً لشدة الإصابة.

مستنبت PDA وغطى سطح طبق بتري بعد 10 أيام من التحضين عند 25 °س، لون الميسليوم أبيض- رمادي فاتح في البداية تحول لاحقاً إلى رمادي قاتم ثم الأسود عند تشكل الكويما/الأسيرفيولات والجسيمات الحجرية. كان لون المستعمرة عند اكتمال نموها في طبق رمادي قاتم - أسود على السطح العلوي للطبق بينما كان أسوداً في الوسط ورمادياً قاتمياً في الأطراف (تبعاً لكثافة إثمارة الفطر) على السطح السفلي للطبق. طبيعة نمو الميسليوم: لبدي، أفقي مفترش، تفرع ثنائياً وانتشر دائرياً بشكل متجانس. وتشكلت كويماته/أسيرفيولاته على الهيفات الحديثة بعد 48-72 ساعة من تكوينها، وهي كروية - إهليلجية الشكل، رمادية قاتمة اللون في بداية تكوينها، و تحولت إلى اللون الأسود عند اكتمال النضج. أبعادها (37.5-177.5 × 150-312.5 ميكرون) ولا توجد فروق واضحة في الأبعاد البيومترية للجسيمات الحجرية والكويما/الأسيرفيولات.

تشكلت الأشواك (setae) على الكويما/الأسيرفيولات بعد النضج وازداد حجمها مع تقدم العمر وهي عريضة في القاعدة ومستدقة في نهايتها. وكانت أبعادها عند اكتمال النضج كما يلي: عرضها عند القاعدة 5-7.5 ميكرون، وفي الوسط 2.5-5 ميكرون، وفي الأعلى 1.1-2.5 ميكرون. طولها 130-280 ميكرون، ومقسمة ب 4-9 حواجز عرضية. تشكلت الأبواغ الكونيدية بكثافة عالية على الكويما/الأسيرفيولات، وهي وحيدة الخلية، غير ملونة، عصوية متطاولة، مستقيمة غالباً ونادراً منحنية، ويلاحظ في وسطها كتلة دهنية واضحة، أبعادها (2.5-5 × 12.5-27.5 ميكرون). كانت كثافة الكويما/الأسيرفيولات في المستعمرات الفتية بعمر 10 أيام من 224-412 أسيرفيولة/سم²، عدد الأشواك على الكويما/الأسيرفيولات: (1-33) شوكة مختلفة الأبعاد تبعاً لحجم الكويما/الأسيرفيولات، غير

جدول 1. تأثير درجة الحرارة في معدل نمو الفطر *Colletotrichum coccodes* ونطوره على مستنبت PDA ودرجات حرارة 5-40 °س.

Table 1. Effect of temperature on *Colletotrichum coccodes* growth and development on PDA medium at 5-40° C.

موعد تشكل إثمارة الفطر (أيام) Timing of Acervuli formation (days)	بداية نمو الميسليوم (ساعة) Initiation of mycelial growth (hours)	متوسط تنامي قطر المستعمرة (مم/يوم) Mean colony diameter increase/mm/day	متوسط قطر المستعمرة (سم) بعد عشرة أيام Mean colony diameter (cm) after 10 days	درجة الحرارة (°س) Temperature (C°)
-	*-	0.00	*0.00	5
-	-	0.00	0.00	10
5	72	5.06	50.66	15
3	24	7.83	78.33	20
3	24	8.50	85.00	25
3	24	8.36	83.66	30
5	72	3.66	36.66	35
-	-	0.00	0.00	40

* - : No fungal growth, no acervuli formation

* - : لا يوجد نمو، لا توجد إثمارة للفطر

نسبة الإصابة وشدتها على المجموع الخضري تبعاً لمصادر العدوى أظهرت النتائج (الجدولين 2 و 3) أن المرض ينتقل، بشكل رئيس، عن طريق التربة الملوثة والدرنات المصابة بالفطر إذ بلغت نسبة الإصابة 46.67 و 41.11%، على التوالي وبدون فروق معنوية في المعاملتين K3 (تربة معداة بالفطر + درنات سليمة) و K4 (درنات معداة بالفطر + تربة سليمة) في العروة الخريفية لعام 2007.

أدى المرض إلى موت النباتات المصابة مبكراً بعد 15-20 يوماً من بدء ظهور الأعراض عليها. وتسبب في تخريب السوق المدادة (ستولونات) وجذور النباتات المصابة وجفاف أنسجتها الداخلية، وظهرت عليها (خارجياً وداخلياً) إثمارة الفطر بكثافة تناسبت مع شدة الإصابة، وقد لوحظ أحياناً تلون بعض أجزائها بلون أحمر وردي - قرمزي، واتفق ذلك مع دراسات سابقة (14، 27).

جدول 2. نسبة الإصابة وشدتها على المجموع الخضري تبعاً لمصادر العدوى بالفطر *C. coccodes* في العروة الخريفية في حلب، سورية خلال 2007.
Table 2. Disease incidence and severity on foliage according to infection sources of *C. coccodes*, during 2007 autumn sowing, Aleppo, Syria.

موعد ظهور الأعراض (يوم)	مؤشر شدة الإصابة (%)	نسبة الإصابة (%)	نسبة الإنبات (%)	المعاملة * Treatment
Days to symptoms appearance	Disease severity index (%)	Disease incidence (%)	Germination rate (%)	
-	00.00	00.00	100.00	الشاهد Control
65	43.61	64.44	94.44	K1
60	47.22	72.22	100.00	K2
65	38.11	46.67	94.44	K3
65	23.61	41.11	94.44	K4
	***14.88	***10.63	ns 15.23	LSD at P= 0.05
	6.45	4.61	10.97	SE
	15.90	12.3	14.40	CV

* شاهد غير معاملة بالفطر (تربة سليمة + درنات سليمة)؛ K1 = تربة معداة بالمعلق البوعي للفطر وبقايا النبات المصاب + درنات سليمة؛ K2 = تربة معداة بالفطر + درنات معداة بالفطر؛ K3 = تربة معداة بالفطر + درنات سليمة؛ K4 = تربة سليمة + درنات معداة بالفطر.

* Control (non-inoculated soil + healthy tubers); K1 = Soil inoculated with spore suspension + healthy tubers; K2= Soil and tubers inoculated with spore suspension; K3 = Soil inoculated with spore suspension + healthy tubers; K4= Healthy soil + inoculated tubers

جدول 3. نسبة الإصابة وشدتها على المجموع الخضري للبطاطا/البطاطس تبعاً لمصادر العدوى بالفطر *C. Coccodes* في العروة الربيعية لعام 2008 في حلب، سورية.

Table 3. Disease incidence and severity on potato foliage based on infection sources of *C. coccodes* during 2008 spring sowing in Aleppo, Syria.

موعد ظهور الأعراض (يوم)	مؤشر شدة الإصابة (%)	نسبة الإصابة (%)	نسبة الإنبات (%)	المعاملة * Treatment
Days to symptoms appearance	Disease severity index (%)	Disease incidence (%)	Germination rate (%)	
-	00.00	00.00	100.00	الشاهد Control
65	28.33	43.33	100.00	F1
60	41.67	53.33	100.00	F2
70	21.67	33.33	100.00	F3
60	48.33	70.00	100.00	F4
60	66.67	86.67	93.33	F5
	***10.97	***14.73	*4.28	LSD at P= 0.05
	4.93	6.61	1.93	Se (±)
	18.20	17.1	2.40	CV%

* شاهد غير معاملة بالفطر (تربة سليمة + درنات سليمة)؛ F1 = تربة سليمة + درنات مصابة طبيعياً بالفطر بشدة إصابة 1 و 2؛ F2 = تربة سليمة + درنات مصابة طبيعياً بالفطر بشدة إصابة 3 و 4؛ F3 = تربة معدية بالفطر + درنات سليمة؛ F4 = تربة معداة بالفطر + درنات مصابة طبيعياً بالفطر بشدة إصابة 1 و 2؛ F5 = تربة معداة بالفطر + درنات مصابة طبيعياً بالفطر بشدة إصابة 3 و 4.

* Control (Sterilized soil + healthy tubers); F1= Sterilized soil +naturally infected tubers with disease severity 1 and 2; F2= Sterilized soil + naturally infected tubers with disease severity 3 and 4; F3= inoculated soil + healthy tubers; F4 = inoculated soil + naturally infected tubers with disease severity 1and 2; F5= inoculated soil + naturally infected tubers with disease severity 3 and 4.

مقارنة مع 43.33% في المعاملة F2 (تربة سليمة + درنات مصابة طبيعياً بالفطر). وانعكس ذلك على شدة الإصابة، حيث كانت الفروق معنوية أيضاً بين المعاملتين (30.67 و 22.33، على التوالي) (جدول 4). ويعني ذلك أن التربة الملوثة بالفطر تسهم بدور مهم في زيادة نسبة الإصابة وشدها و يتفق ذلك مع ما نشر سابقاً (14، 17).

كما أظهرت نتائج فحص الدرنات الناتجة من حقول مصابة طبيعياً (جدول 5) أن متوسط نسبة الإصابة بلغ 9.23% ومتوسط شدة الإصابة 33.16%. ولوحظ أيضاً أن نسبة الإصابة وشدها كانتا مرتفعتين في الدرنات ذات الأحجام الصغيرة (12.33% و 47.90%)، مقارنة مع الدرنات ذات الأحجام الكبيرة (7.33% و 25%)، على التوالي، وقد يعود ذلك إلى أن الدرنات صغيرة الحجم ناتجة عن نباتات مصابة بشدة أعلى من تلك التي أنتجت درنات كبيرة الحجم، أو أن إصابتها كانت مبكرة عنها. ويعزّز هذا الاعتقاد وجود درنات صغيرة مصابة بشدة مرتفعة (3 و 4) وعدم وجود هاتين الدرجتين في الدرنات الكبيرة، وذلك يعني أيضاً أن المرض يؤثر في حجم الدرنات المتكونة، الأمر الذي يتفق مع دراسات سابقة (19، 28، 29).

تطور الإصابة على الدرنات تحت ظروف التخزين

بينت النتائج (جدول 6) أن مرض النقطة السوداء يتطور بشكل بطيء نسبياً تحت ظروف التخزين غير النظامية، لمدة 60 يوماً عند 20°س، إذ ازدادت معنوياً مساحة البقع المتكونة على الدرنات بنسبة 40%، كما زاد معنوياً عدد إثمات الفطر في البقعة الواحدة بنسبة 43%، بينما لم تلاحظ هذه الزيادة في عدد البقع المتكونة على الدرنات خلال هذه الفترة. كما لم تلاحظ زيادة في عدد البقع ومساحتها لدى التخزين عند 4°س، وكذلك لم تلاحظ زيادة في عدد إثمات الفطر وهذا يعني أن الفطر لا يستطيع النمو عند هذه الدرجة، بينما كان نموه ملحوظاً عند حرارة 20°س.

وأسهمت البقايا النباتية المصابة في زيادة كمية اللقاح المعدي في التربة، وفي زيادة نسبة النباتات المصابة (جدول 2). كما أن نسبة الإصابة وشدها تناسبتا طردياً مع زيادة كمية اللقاح المعدي في التربة إذ بلغت 64.44 و 43.66%، و 72.22 و 47.2%، على التوالي في المعاملتين K1 (تربة معدة بالفطر وبقايا النبات المصاب+ درنات سليمة) و K2 (تربة معدة بالفطر + درنات معدة اصطناعياً بالفطر) في العروة الخريفية لعام 2007 وبدون فروق معنوية بينهما. ولوحظ المنحى ذاته في العروة الربيعية لعام 2008، إذ بلغت نسبة الإصابة وشدها 86.67 و 66.67%، على التوالي في المعاملة F5 (تربة معدة بالفطر + درنات مصابة طبيعياً بالفطر بشدة إصابة 3 و 4) (الجدولين 2 و 3).

وقد تبين أيضاً أن زراعة الدرنات المصابة تسهم معنوياً في زيادة نسبة الإصابة وشدها على النباتات الناتجة، إذ تناسبت هذه الزيادة طردياً مع شدة الإصابة على الدرنات الأم (جدول 3)، وتتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة (5، 11، 17). وتجدر الإشارة إلى أنه لم يلاحظ وجود تأثير سلبي للمرض في نسبة إنبات الدرنات في كلتا التجريبتين مهما بلغت كمية اللقاح المعدي للفطر الممرض، غير أن تأثيره كان واضحاً في موعد ظهور الأعراض على النباتات، حيث ظهرت أعراض المرض بشكل مبكر في المعاملات التي ازدادت فيها كمية اللقاح المعدي (K2، F5) وبفارق 5-10 أيام مقارنة بباقي المعاملات (الجدولين 3 و 4). وربما نتج ذلك عن زيادة كمية اللقاح المعدي في مهد الدرنات.

نسبة الإصابة وشدها على الدرنات تبعاً لمصادر العدوى

أظهرت نتائج تقدير نسبة الإصابة على الدرنات الناتجة أنها قد ازدادت، بفروق معنوية، عند زراعة درنات مصابة في تربة ملوثة بالفطر مقارنة مع تلك المزروعة في تربة سليمة، إذ بلغت 57.33% في المعاملة F5 (تربة معدة بالفطر + درنات مصابة طبيعياً بالفطر)

جدول 4. نسبة الإصابة وشدها بمرض النقطة السوداء على درنات البطاطا/البطاطس تحت ظروف الإعداء الاصطناعي في العروة الربيعية، سورية لعام 2008.

Table 4. Disease incidence and severity of black dot disease on potato tubers under artificial inoculation during 2008 spring sowing, Syria.

مؤشر شدة الإصابة Infestation severity index	%نسبة الإصابة تبعاً لدرجة الإصابة في السلم (0-4) Incidence (%) at different severities (0-4)					نسبة الإصابة % Disease incidence (%)	المعاملة* Treatment*
	4	3	2	1	0		
30.67	8.33	11.67	16.33	21.00	42.67	57.33	(f5)1
22.33	5.33	9.00	11.33	17.67	56.67	43.33	(f2)2
8.34	3.00	2.76	5.00	3.33	-	14.00	2-1
6.03	-	-	-	-	-	11.98	T المحسوبة

* 1= تربة معدة + درنات مصابة طبيعياً، 2= تربة سليمة + درنات مصابة طبيعياً.

* 2 = Sterilized soil + naturally infected tubers 1= inoculated soil + naturally infected tubers

جدول 5. نسبة الإصابة وشدتها بمرض النقطة السوداء على درنات البطاطا/البطاطس تحت ظروف العدوى الطبيعية خلال العروة الربيعية لعام 2008 في كفر نبودة، سورية.

Table 5. Disease incidence and severity of black dot disease on potato tubers under natural infection. Syria, Kfmrabudea. 2008.

مؤشر شدة الإصابة Infestation severity index	%نسبة الإصابة تبعاً لدرجة الإصابة في السلم (0-4) Incidence (%) at different severities (0-4)					نسبة الإصابة % Disease incidence (%)	المعاملة Treatment
	4	3	2	1	0		
47.90	1.00	3.00	3.00	5.33	87.67	12.33	درنات صغيرة الحجم Small tubers
27.08	0.00	2.00	2.33	3.33	90.34	9.66	درنات متوسطة الحجم Medium tubers
25.00	0.00	0.00	3.33	6.00	92.67	7.33	درنات كبيرة الحجم Large tubers
33.16	0.33	1.67	2.89	4.89	90.23	9.33	المتوسط Mean rat
6.83	-	-	-	-	-	3.13	T المحسوبة

جدول 6. تطور الإصابة على الدرنات تحت ظروف التخزين لمدة 60 يوماً خلال 2009 في سورية.

Table 6. Infection development on tubers under storage conditions for 60 days during 2009 in Syria.

عدد إثمات الفطر في البقعة Number of Acervuli/spot	متوسط مساحة البقعة (سم ²) Mean size of spots (cm ²)	متوسط عدد البقع على الدرة Mean number of spots per tuber	درجة حرارة المخزن (س°) Storing temperature (C°)	المعاملة Treatment
4.48	1.02	4.76	20	قبل التخزين
4.05	1.13	4.22	4	
6.44	1.43	4.76	20	بعد التخزين
4.05	1.13	4.22	4	
0.60	0.39	1.29		LSD at P= 0.05

النباتية المصابة في زيادة نسبة الإصابة وشدتها. لم يلاحظ تأثير سلبي للممرض في إنبات الدرنات المزروعة، غير أن زيادة كمية اللقاح المعدي في التربة تزيد من سرعة ظهور الأعراض على النبات. يتطور المرض تحت ظروف التخزين غير النظامية ويسبب تدنٍ معنوي في نوعية الدرنات المصابة. وبناء عليه يتوجب التنبيه إلى خطورة هذا المرض ومراقبة انتشاره وتطوره في المناطق الرئيسية لزراعة البطاطا/البطاطس في سورية وتقدير نسبة الإصابة وشدتها في كل منطقة، إضافة إلى تقدير قابلية الأصناف المزروعة للإصابة به تحت الظروف المحلية. ويستدعي لفت انتباه الباحثين والمزارعين لاتخاذ التدابير المناسبة لمنع انتشاره ودرء الخسائر الناتجة عنه.

ويتفق ذلك أيضاً مع نتائج دراسات سابقة أكدت إمكانية تطور المرض تحت ظروف التخزين غير النظامية (17، 27). وبناء لمعطيات هذه الدراسة يمكن الاستنتاج بأن مرض النقطة السوداء المتسبب عن الفطر *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes وافداً جديداً على البطاطا/البطاطس في سورية يضاف إلى قائمة الأمراض المستوطنة وهو يسجل لأول مرة في سورية. ينمو الفطر المسبب في مجال حراري يتراوح ما بين 15 و 35 °س والمثلى 25 °س، ويتوقف نموه تماماً عند 10 و 40 °س. تظهر أعراض المرض على المجموع الخضري للنبات بعد 60 يوماً من الزراعة ويسبب ذبول النباتات المصابة وجفافها وتدني نوعية الدرنات الناتجة عنها. ينتقل الممرض بواسطة الدرنات المصابة والتربة الملوثة بالفطر وتسهم البقايا

Abstract

Matar, M. 2012. Isolation and Identification of *Colletotrichum coccodes*, the Causal Pathogen of Black Dot Disease on Potato in Syria. Arab Journal of Plant Protection, 30: 171-179.

Black dot (Anthracnose) is an important disease affecting potato in many regions worldwide, causing significant losses in yield. The disease was recorded recently (2006) for the first time on potato in Syria, in some potato fields at Hama and Idlib, on Panella and Sponta varieties. The fungal pathogen was isolated from roots, stems and tubers of infected plants, and identified as *Colletotrichum coccodes* (Wallr) Hughes. The pathogenicity test of the fungus was studied in glasshouse under artificial inoculation of the soil, using 45-55 mm potato tubers Panella variety, Elite seeds. Symptoms were observed after 65-70 days when leaf wilting and chlorosis, followed by necrosis and death of infected plants was observed. Black dots were observed on the lower stem of infected plants, where the intensity of acervuli and microsclerotia was proportional with the severity of infection. The disease was destructive to both stems and roots, but without vascular discoloration symptoms. However, a gray-brown patches were observed on the surface of affected tubers, representing acervuli and sclerotia. The size of patches on tubers expanded and fused with each other under unfavorable storage conditions, which lead finally to tuber skin wrinkling which reduced the market value of the tubers.

Keywords: Potato, black dot, *Colletotrichum coccodes*, Syria.

Corresponding author: M. Matar, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Aleppo University, Syria, Email: dr.matar@hotmail.com

References

المراجع

1. **Denner, F., D.N. Millard and F.C. Wehner.** 1998. The effect of seed and soil borne inoculums of *Colletotrichum coccodes* on the incidence of black dot on potatoes. Potato Research, 41: 51-56.
2. **Dillard, H.R.** 1992. The pathogen and its hosts. Pages 225-236. In: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. J.A. Bailey and M.J. Jeger (eds.). Walling Ford, UK: CAB International.
3. **Dillard, H.R.** 1989. Effect of temperature, wetness duration, and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. *Phytopathology*, 69:1063-1066.
4. **Dorjkin, H.A. and C.I. Belskaia.** 1977. Potato diseases. Minsk. Nayka Teknika. 272 pp.
5. **Eleonora, U. and L. Rosemary.** 1994. Response of *Colletotrichum coccodes* to fungicides in - vitro. *American Journal of Potato Research*. S. Newyork, 71: 455-465.
6. **Glais, I. and D. Andrivon.** 2004. Deep sunkien lesions- an atypical symptom on potato tubers caused by *colletotrichum coccodes* during storage. *Plant Pathology*, 53: 254.
7. **Harding, R., T. Wicks and B. Hall.** 2005. Black Dot: The cause of tuber infection near harvest, South Australian Research and Development Institute (S.A.R.D.I). GPO Box 397, Adelaide, South Australia 5001.
8. **Johnson, D.A., R.C. Rowe and T.F. Cummings.** 1997. Incidence of *Colletotrichum coccodes* in certified potato seed tubers planted in Washington state. *Plant Disease*, 81: 1199-1202.
9. **Johnson, D.A.** 1994. Effect of foliar infections caused by *Colletotrichum coccodes* on yield of Russet Burbank potato. *Plant Disease*, 78: 1075-78.
10. **Johnson, D.A. and E.R. Miliczky.** 1993. Effect of wounding and wetting duration on infection of potato foliage by *Colletotrichum coccodes*. *Plant Disease*, 77: 13-17.
1. **المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية.** 2008. مديرية الإحصاء الزراعي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.
2. **دكسون، غ.ر.** 1993. أمراض محاصيل الخضار. ترجمة عبد النبي أبو غنية وصالح النويصري، الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة، مصر. 647 صفحة.
3. **حسن، أحمد عبد المنعم.** 1989. البطاطس، الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة، مصر. 186 صفحة.
4. **فان، درزاخ.** 1991. محصول البطاطس في المملكة العربية السعودية. ترجمة عبد الله بن عبد الرحمن السعدون 1994. الرياض. 330 صفحة.
5. **Andrивon, D., J-M. Lucas, C. Guérin and B. Jouan.** 1998. Colonization of roots, stolons, tubers and stems of various potato (*Solanum tuberosum*) cultivars by the black-dot fungus *Colletotrichum coccodes*. *Plant Pathology*, 47: 440-445.
6. **Andrивon, D., K. Ramage, C. Guérin, J.M. Lucas and B. Jouan.** 1997. Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum coccodes* in French potato-producing areas. *Plant Pathology*, 46: 722-728.
7. **Asscheman, E., J.A. Bokx, H. Brinkman, C.B. Bus, P.H. Hotsma, C.P. Meijers, A. Mulder, K. Scholte, L.J. Turkensteen, R. Wustman and D.E. van der Zaag.** 1996. Potato diseases. NIVAA, Holland. Pages 13-35.
8. **Bilai, V.I., P.I. Gvojdjak, I.C. Skripal, V.G. Kraev, T.L. Zipka and V.A. Myrac.** 1988. Microorganisms parasites of cultural plants. Kiev. 552 pp.
9. **Cullen, D.W., A.K. Lees, I.K. Toth and J.M. Duncan.** 2002. Detection of *Colletotrichum coccodes* from soil and potato tubers by conventional and quantitative real-time PCR. *Plant Pathology*, 3: 281-292.
10. **Davis, J.R. and D.A. Johnson.** 2002. Diseases caused by fungi-black dot. Pages 8-16. In: *Compendium of Potato Diseases*. W.R. Stevenson, R. Loria, G.D. Franc and D.P. Weingartner (eds.). St Paul, MN, USA: APS Press.

26. **Papkova, K.V., U.I. Chnider, C. Volobiko and V. A. Chmegla.** 1980. Potato Diseases. Moscow. Koloc. 303 pp.
27. **Pidoplichko, H.M.** 1977. Fungi Parasites of Cultural Plants. T.2 Kiev. 300 pp.
28. **Read, P.J., R.M. Storey and D.R. Hudson.** 1995. A survey of black dot and other fungal tuber blemishing diseases in British potato crops at harvest. *Annals of Applied Biology*, 126: 249-258.
29. **Read, P.J. and G.A. Hide.** 1995. Development of black dot disease (*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes) and its effects on the growth and yield of potato plants. *Annals of Applied Biology*, 127: 57-72.
30. **Read, P.J.** 1991. The susceptibility of tubers of cultivars to black dot (*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes). *Annals of Applied Biology*, 119: 475-482.
31. **Tsrer, L.** 2004. Effect of light duration on severity of black dot caused by *Colletotrichum coccodes* on potato. *Plant Pathology*, 53: 288-293.
21. **Lees, A.K. and A.J. Hilton.** 2003. Black dot (*Colletotrichum coccodes*) an increasingly important disease of potato. *Plant Pathology*, 52: 3-12
22. **Mohan, S.K., J.R. Davis, L.H. Sorensen and A.T. Schneider.** 1992. Infection of aerial part of potato plants by *Colletotrichum coccodes* and its effects on premature vine death and yield. *American Potato Journal*, 69: 547-59
23. **Nitzan, N., M.A. Evans, T.F. Cummings, D.A. Johnson, D.L. Batchelor, C. Olsen and K.G. Haynes.** 2009. Field Resistance to Potato Stem Colonization by the Black Dot Pathogen *Colletotrichum coccodes*. *Plant Pathology*, 93: 1116-1122.
24. **Nitzan, N., T.F. Cummings and D.A. Johnson.** 2008. Disease Potential of Soil- and Tuber-borne Inocula of *Colletotrichum coccodes* and Black Dot Severity on Potato. *Plant Pathology*, 92: 1497-1502.
25. **Nitzan, N., M. Evans and D.A. Johnson.** 2006. Colonization of potato plants after aerial infection by *Colletotrichum coccodes*, causal agent of potato black dot. *Plant Disease*, 90: 999-1003.

Received: January 14, 2011; Accepted: October 9, 2011

تاريخ الاستلام: 2011/1/14؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2011/10/9