

فعالية فطور الميكوريزا الشجيرية في مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة/ الطماطم المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* في الساحل السوري

محمد عماد خريبة¹، ابتسام غزال²، محمد فواز العظمة¹ ووفاء شومان³

(1) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: Imadkhrueba@gmail.com؛ (2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (3) مركز التقانات الحيوية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

المخلص

خريبة، محمد عماد، ابتسام غزال، محمد فواز العظمة ووفاء شومان. 2015. فعالية فطور الميكوريزا الشجيرية في مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة/ الطماطم المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* في الساحل السوري. مجلة وقاية النبات العربية، 33(2): 183-191.

لدراسة تأثير فطور الميكوريزا الشجيرية Arbuscular Mycorrhiza Fungi (AMF) في مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة/ الطماطم المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum*، تم إجراء تجربة أصص خلال عام 2013. تضمنت التجربة خمس معاملات تم فيها إلقاء التربة بعدة طرق: الأولى باستخدام فطر البيثيوم فقط (Py)، الثانية بفطور الميكوريزا فقط (My)، الثالثة بفطر البيثيوم والميكوريزا معاً عند زراعة البذور (My+Py)، الرابعة بفطر البيثيوم ثم الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور (Py-My)، الخامسة بفطور الميكوريزا ثم البيثيوم بعد أسبوعين من زراعة البذور (My-Py)، بالإضافة لاستخدام شاهد من دون معاملة (C). بلغت النسبة المئوية للإصابة بالمرض في المعاملات Py، Py-My، My+Py و My-Py 97.91%، 81.25%، 64.58% و 31.25%، على التوالي، مقارنة مع معاملة الشاهد (C)، وكانت الفروق معنوية بين المعاملات والشاهد. درس أثر المعاملات المختلفة في معايير النمو مقارنة بالشاهد (C)، وبينت النتائج زيادة معنوية في المعاملتين My و My-Py لصفات ارتفاع النبات (بنسب 28% و 35.35%)، ولعدد الأوراق (بنسبة 18% للمعاملتين)، وللوزن الخضري الرطب بنسب 31.44% و 26.44%، على التوالي. في حين انخفض الوزن الجاف للمجموع الخضري في المعاملتين Py-My و My+Py بنسب 89.05% و 35.09%، على التوالي، كما انخفض الوزن الرطب للجذر معنوياً في المعاملتين Py-My و Py بنسب 85.26% و 98.94% وانخفض الوزن الجاف للجذر بنسب 94.11% و 99.7%، على التوالي، مقارنة مع الشاهد. أدت المعاملتان My و My+Py إلى زيادة معنوية في حجم الجذر بنسب 18.6% و 45.56%، وتوقفت كافة المعاملات معنوياً على المعاملتين Py-My و Py بالنسبة لقطر الساق. استخدمت الدراسة المجهرية لتقدير نسبة استعمار الميكوريزا للجذور حيث وجدت أعلى نسبة للجذور المستعمرة بالميكوريزا في المعاملة My (79.9%)، تليها المعاملة My-Py (70%). أوضح التفاعل بين فطور الميكوريزا و *P. ultimum* فعالية عالية في حماية بادرات البندورة/ الطماطم من الإصابة بالمرض وكانت أكثر المعاملات تأثيراً في حماية البادرات من الإصابة بالمعاملة My-Py وكذلك بالنسبة لأغلب المعايير المدروسة.

كلمات مفتاحية: البندورة/ الطماطم، الساحل السوري، فطور الميكوريزا الشجيرية، AMF، *Pythium ultimum*.

المقدمة

الفطور أو أشباه الفطور تنصدها أنواع الجنس *Pythium* (11، 31). سجلت المكافحة الأحيائية ضد الأمراض الفطرية تقدماً ملموساً في العقدين الأخيرين كونها تعتمد على كفاءة استخدام المصادر الطبيعية لتفعيل نشاط الكائنات الحية المفيدة ضد الكائنات الحية الضارة في حيز المجموع الجذري والتربة (1). تؤثر فطور الميكوريزا الشجيرية Arbuscular mycorrhizal fungi في القدرة الغذائية والفيزيولوجية للنباتات التي تتعايش مع جذورها والتي تؤدي إلى زيادة معنوية في وزن المجموع الخضري والجذري، حيث ثبت ذلك عند نباتات فول الصويا، التبغ، القمح، الذرة البيضاء، والبندورة/ الطماطم والباذنجان (16). تقوم فطور الميكوريزا بالحصول على المواد العضوية عن طريق جذور النبات وتقوم بالمقابل بإمداد النبات العائل بالأملح المعدنية، بالإضافة لمساعدته على زيادة تحمل الإجهادات البيئية والحيوية، كما يمكن لفطور

تحتل البندورة/ الطماطم *Solanum lycopersicom* L. مركزاً هاماً بين محاصيل الخضار في جميع أنحاء العالم، وذلك لما تتسم به من قيمة غذائية عالية، حيث تحتل زراعتها في البيوت المحمية مركزاً هاماً في القطاع الزراعي للمنطقة الساحلية، وقد ازدادت المساحة المزروعة في سورية خلال السنوات الأخيرة، حيث بلغ عدد البيوت المحمية 67.977 بيتاً عام 2012 (3). تتعرض زراعة البندورة/ الطماطم في البيوت المحمية للإصابة بالعديد من الأمراض المنقولة مع التربة، ومن أكثرها أهمية وانتشاراً مرض سقوط البادرات الذي يؤدي إلى موتها، مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة. وذكر الشعبي وآخرون (2) أنه تم رصد في مناطق زراعة البندورة/ الطماطم في سورية عام 1974. يسبب المرض عدد من

الميكوريزا الشجيرية أن تشكل عاملاً مهماً في مكافحة الحيوية (24)، (29).

إن مكافحة مسببات المرضية التي تنتقل عن طريق التربة باستخدام يعطي الخيار الأفضل لوضع إستراتيجية فعالة لإدارة الأمراض النباتية باستخدام العوامل البيولوجية (29)، حيث أظهرت الدراسات أن فطور الميكوريزا تزيد من تحمل النباتات لبعض الممرضات ومنها المسببة لأمراض الذبول وتعفن الجذور *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. (9)، *Rhizoctonia solani* Kühn و *Pythium spp.* و *Phytophthora spp.* (34، 19). بناءً على ما سبق، فقد هدف هذا البحث إلى تقصي أثر فطور الميكوريزا الشجيرية في الحد من إصابة نبات البندورة/الطماطم بالفطر المسبب لمرض سقوط البادرات *Pythium ultimum* Trow. في الدفيئات والمشاتل.

مواد البحث وطرائقه

موقع التجربة

نفذت التجربة في مشتل مخصص لإنتاج شتول البندورة/الطماطم في محطة أبحاث شركة سليمان الزراعية الخاصة في منطقة جبلة، بستان الباشا، التي ترتفع عن سطح البحر 50 م، وتبعد 2.5 كم عن شاطئ البحر و 8 كم إلى الشمال من مدينة جبلة.

تجهيز عزلات الفطور المستخدمة بالدراسة

تجهيز عذلة الفطر *Pythium ultimum* - جمعت بادرات البندورة/الطماطم التي تظهر عليها أعراض مرض سقوط البادرات من البيوت المحمية والمشاتل في المنطقة الساحلية. تم تقطيع سويقة البادرة المصابة إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5 سم تقريباً، ثم وضعت في محلول هيبوكلوريت الصوديوم التجاري بتركيز 10% لمدة 3-5 دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم ثلاث مرات، بعد ذلك وضعت على أوراق ترشيش لتجف، ثم زرعت بمعدل أربع قطع ساقية في كل طبق على آغار طحين الذرة CMA (Corn Meal Agar) المعقم والمضاف له المضاد الحيوي Ampicillin (250 مغ/لتر). تم تحضير الأطباق عند 2±25 °س في الظلام لمدة أسبوع.

تمت تنقية العزلات الفطرية بزرع رؤوس الهيفات على وسط CMA ثم أخذت القياسات البيومترية باستخدام المجهر الضوئي (تكبير 40×)، وتم تسجيل المواصفات لكل عذلة من حيث لون المستعمرة وشكلها وطريقة النمو (منتظمة أو غير منتظمة) وصفات المشيخة وقطر الهيفا وشكل الكيس البوغوي وقطره وشكل البوغ البيضي وقطره والعضو الجاميطي المؤنث والعضو الجاميطي المذكر ومعدل النمو اليومي

للمستعمرة. تم التوصيف المورفولوجي بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية التي ذكرها Teymoori وآخرون (33) وبالنتيجة تبين أن كل العزلات تابعة للنوع *P. ultimum* (5). تم التأكد من التصنيف المورفولوجي للنوع بالتوصيف الجزئي بواسطة التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR) وباستخدام بادئات من الفاصل الداخلي المستسخ (ITS) لل RNA الريبوزومي المميزة للنوع *P. ultimum*، ومعرفة التتابع النيكلوتيدي Sequencing للعزلات ومقارنتها بالعزلات المسجلة في البنك الجيني للمورثات NCBI (نتائج غير منشورة).

تم اختبار القدرة الإراضية للفطر *P. ultimum* باستخدام صواني الاستنبات المقسمة إلى عيون (عدد 200) بقياس 4×4 سم، حيث تم تعبئة العيون بالتورب المعقم وترطيبه بالماء. تم الإلقاح بإضافة معلق الفطر الممرض *P. ultimum* إلى التورب في صواني الاستنبات بنسبة 10 تورب: 1 لقاح. كررت كل معاملة 4 مرات، وتضمن كل مكرر 5 نباتات. بعد 3 أيام من الإلقاح، تمت زراعة بذور البندورة/الطماطم بمعدل بذرة في كل عين (استخدمت بذور الهجين هدى، وهو من أكثر هجن البندورة المزروعة في البيوت المحمية في الساحل السوري). غطيت الصواني ببلاستيك شفاف للحفاظ على رطوبة الوسط في ظروف المختبر. أظهرت النتائج بأن هذا الفطر كان قادراً على إحداث الإصابة الشديدة للبذور والبادرات، وتم إعادة عزل الفطر *P. ultimum* كمسبب لسقوط بادرات البندورة/الطماطم تطبيقاً لفرضية كوخ. تم اختيار العزلة الأكثر شراسة لاستخدامها في تحضير اللقاح الفطري للنوع *P. ultimum* (5).

تحضير لقاح الفطر *P. ultimum* - تم تحضير لقاح الفطر *P. ultimum* بتبنيته على بذور الدخن، حيث أخذ 100 غ من بذور الدخن، وأضيفت إلى 50 مل من الماء، وضعت في حاويات زجاجية حجمها 1 لتر، ثم عقرت في الأوتوكلاف لمدة 90 دقيقة ولمرتين متتاليتين، عند 121 °س وضغط واحد بار. لقت الحاويات بالفطر *P. ultimum* باستخدام قطع من الآغار بقطر 5 مم من مستعمراته على الوسط CMA بعمر 10 أيام، وحضنت الحاويات في الظلام، لمدة أسبوعين عند 25±2 °س (33). أضيف لقاح الفطر *P. ultimum* إلى الأبيص بمعدل 0.5% (0.5 غ من مستنبت اللقاح للفطر *P. ultimum* بعد تجفيفه هوائياً لكل 100 غ من وسط الزراعة) (13).

تحضير لقاح فطور الميكوريزا - استخدمت ست عزلات محلية من فطور الميكوريزا المتعايشة مع جذور نبات البندورة/الطماطم، عزلت من التربة المحيطة لنبات البندورة/الطماطم في المنطقة الساحلية، ووصفت مورفولوجياً وفقاً لمفاتيح التصنيف المعتمدة عالمياً (29)، وبمساعدة

- المعاملة الخامسة (Py-My): تربة معداة بفطر *P. ultimum* عند زراعة البذور ويفطور الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور.
 - الشاهد السليم (C): تربة معقمة خالية من الفطور.
- زرع مكرران لكل معاملة، وتضمن كل مكرر ستة أصص. زرعت الأصص بتاريخ 2013/10/5 وأخذت القراءة كل 7 أيام بعد إنبات البذور حتى أصبح عمر النبات 60 يوماً.

أعتمد على سلم تقييس مرضي حسب Abbasi وآخرون (7)، وتم إجراء تعديل بسيط في سلم التقييس من ناحية قراءة ظهور الأعراض حيث شمل قراءة لظهور أعراض مرض سقوط البادرات خلال فترة الـ 30 يوم الأولى من عمر البادرة، وقراءة لظهور أعراض خلال فترة الـ 30 يوم الثانية (تجاوز مرحلة عمر البادرة) من حيث ظهور أعراض الاصفرار والذبول على النبات الناتجة عن تعفن الجذور التي يسببها أيضاً الفطر *P. ultimum*.

استخدم مؤشر المرض وفق سلم التقييس المرضي التالي: 1= لا توجد أعراض إصابة على نباتات البندورة/الطماطم (سليم)؛ 2= تظهر أعراض إصابة ولم يحدث سقوط للبادرات (تقرم واصفرار في النبات حيث يظهر تحلل مائي بسيط في السويقة مكان اتصال الساق بالجذر، ويتوقف هذا العرض وتتابع البادرة نموها خلال 30 يوم الأولى، أما خلال الـ 30 يوم الثانية لا يظهر التحلل المائي في السويقة، وتظهر أعراض الاصفرار التي تعود إلى تعفن في الجذور بعد عمر 30 يوم)؛ 3= سقوط البادرات بعد انبثاقها من سطح التربة خلال فترة 30 يوم الأولى أو ذبول النبات بشكل كامل بعد عمر 30 يوم (تحلل مائي في السويقة مكان اتصال الساق بالجذر وتضيق بهذه المنطقة خلال عمر 30 يوم، أو تعفن كامل الجذر بعد عمر 30 يوم)؛ 4= سقوط البادرات قبل انبثاقها فوق سطح التربة (تعفن البذور أو سقوط البادرات قبل بزوغها فوق سطح التربة) (7).

تم حساب النسبة المئوية لمؤشر المرض (دليل المرض) في التجربة باستخدام المعادلة التالية:

$$R\% = \frac{\sum(a \times b)}{N \times K} \times 100$$

حيث R% = النسبة المئوية لمؤشر المرض، a = درجة الإصابة وفقاً لسلم التقييم، b = عدد النباتات المصابة بهذه الدرجة في كل مكرر / معاملة، N = العدد الكلي للنباتات، K = القيمة العظمى لشدة الإصابة في سلم التقييم وتساوي 4 (21).

تضمنت معايير النمو المدروسة: عدد الأوراق، ارتفاع النبات بدءاً من سطح التربة حتى قمة النبات، قطر الساق، الوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الخضري، الوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الجذري وحجم المجموع الجذري من خلال الماء المزاح.

باحثين من مركز بحوث وقاية النبات في طهران (6)، كما تم توصيفها جزئياً باستخدام تقانة الفاصل الداخلي المستسخ (ITS) للـ RNA الريبوزومي باستخدام البادنتين المتخصصتين ITS1، ITS4 (نتائج غير منشورة). سمحت عملية عزل فطور الميكوريزا بتمييز ستة أنواع تابعة لخمسة أجناس من فطور الميكوريزا الشجيرية AMF:

- *Simiglomus hoi* (Berch and Trappe). Silva, Oehl and Sieverd.
- *Glomus fasciculatum* (Thaxt.) Gerd and Trappe emend. C. Walker and Koske.
- *Paraglomus lacatum* (C. Walker) Morton and Redecker.
- *Septoglomus constrictum* (Trappe) Sieverd. Silva and Oehl.
- *Claroideoglomus etunicatum* Becker and Gerdeman.
- *Glomus clarum* Nicolson and Schenck.

حضر اللقاح الميكوريزي باستخدام تقنية زراعة الأصص Pot Culture بالاعتماد على نباتات الذرة الشامية *Zea mays* حسب Brundrett و Juniper (12). تكون اللقاح من جذور نبات الذرة المتعايشة مع فطور الميكوريزا والتربة المحيطة بالجذر الحاوية على أبواغ الميكوريزا، وهو عبارة عن لقاح خليط بنسب مختلفة من أنواع فطور الميكوريزا الشجيرية الموصفة سابقاً (6) والذي يحتوي على 12.8 ± 129 بوغ/100 غ من اللقاح، ونسبة استعمار ميكوريزي لجذور نباتات الذرة الشامية قدرها 54.4%.

دراسة فعالية الميكوريزا الشجيرية في الحد من الإصابة بالفطر *P. ultimum*

زرعت بذور البندورة/الطماطم من الهجين "هدى" في أصص بلاستيكية بقطر 12 سم (2 لتر) تحتوي على وسط الزراعة المعقم (تورب : تربة) (1 : 1) (تربة معقمة حيث عوملت بالأتوكلاف عند 121 °س لمدة 30 دقيقة)، بمعدل بذرة في كل أصيص. وقد تم استخدام 100 غ من اللقاح الميكوريزي للأصيص الواحد.

صممت التجربة وفق القطاعات العشوائية الكاملة حيث وزعت التجربة في خمس معاملات هي:

- المعاملة الأولى (Py): شاهد تربة معداة بفطر *P. ultimum* فقط، عند زراعة البذور.
- المعاملة الثانية (My): شاهد تربة معداة بفطور الميكوريزا فقط، عند زراعة البذور.
- المعاملة الثالثة (My+Py): تربة معداة بفطور الميكوريزا و *P. ultimum* معاً عند زراعة البذور.
- المعاملة الرابعة (My-Py): تربة معداة بفطور الميكوريزا عند زراعة البذور ويفطر *P. ultimum* بعد أسبوعين من زراعة البذور.

حسبت النسبة المئوية للزيادة أو النقص في متوسط قراءات معايير النمو المدروسة حسب المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للزيادة} = \frac{\text{متوسط القراءة لمعيار النمو} - \text{متوسط قراءة الشاهد}}{\text{الشاهد لنفس}} \times 100$$

حساب نسبة المقاطع الجذرية المستعمرة بالميكوريزا (المكرزة)

اختيرت 3 نباتات بندورة بشكل عشوائي ومن كل نبات اختير ثلاثة جذور بطول 10 سم، تم تقسيم كل جذر إلى عشرة أجزاء، كل منها بطول 1 سم. صبغت المقاطع الجذرية بصبغة تريبان الأزرق TB حسب طريقة Phillips و Hayman (25)، ووضعت على شرائح زجاجية (10 مقاطع جذرية على الشريحة) في بضع نقاط من حمض اللاكتيك وغطيت بغطاء الشرائح. تم فحصها بالمجهر الضوئي المزود بكاميرا رقمية ماركة Olympus موصولة مع الحاسوب وبرنامج لعرض الصور الملتقطة لمشاهدة درجات الإصابة بالميكوريزا الشجرية، حيث أن مشاهدة خيوط الفطر أو الحويصلات الفطرية في حاله تكوينها من قبل الفطر أو التفرعات الشجرية داخل خلايا قشرة الشعيرات الجذرية يعني وجود إصابة بالميكوريزا (17).

حسبت النسبة المئوية لاستعمار الجذور بالميكوريزا بالمعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية بالميكوريزا} = \frac{\text{عدد المقاطع الجذرية المستعمرة بالميكوريزا}}{\text{العدد الكلي للمقاطع الجذرية}} \times 100$$

التحليل الإحصائي

نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة. تم تحليل التجربة إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي CO-STAT 6.4 وتمت مقارنة المتوسطات بحساب أقل فرق معنوي (LSD) عند المستوى 5%.

النتائج والمناقشة

تأثير فطور الميكوريزا في مؤشر المرض

تمت ملاحظة نباتات المعاملات المختلفة ومقارنتها مع نباتات الشاهد من حيث قيمة مؤشر المرض في كل معاملة من المعاملات. حيث كان 97.91% (المعاملة Py) و 81.25% (المعاملة Py-My) و 64.58% (المعاملة Py+My) و 31.25% (المعاملة My-Py) مقارنة مع الشاهد السليم C. كانت الفروق معنوية بين المعاملات Py و Py-My و Py+My و My-Py، ولم تظهر فروق معنوية بين المعاملتين My و My-Py.

والشاهد C (جدول 1). تبين من خلال الجدول بأن المعاملة التي أضيف فيها ميكوريزا وبعدها بأسبوعين أضيف فطر *P. ultimum* (My-Py) قد أظهرت أكبر أثر في تخفيض قيمة المؤشر المرضي ووصلت نسبته حتى (68.75%) مقارنة بالشاهد (C). كان الهدف من اختيار فترة 14 يوماً بين إضافة فطر الميكوريزا وفطر *P. ultimum* هو ترك الفرصة لفطر الميكوريزا لاستعمار جذور النباتات، ولتوليد المقاومة لديها ضد المسبب المرضي *P. ultimum*، والمعاملة التي أضيف فيها اللقاح الميكوريزي لوسط الزراعة وبعدها بأسبوعين أضيف *P. ultimum* (My-Py) قد أظهرت أكبر أثر في تثبيط الممرض من خلال خفض شدة الإصابة مقارنة بالشاهد (C) والشاهد المعدي (P) (20)، علماً بأن هناك بعض الدراسات التي تشير إلى أن الفترة من يومين إلى أسبوع كافية للميكوريزا لتحفيز هذه المقاومة لدى النباتات، وأن إضافة فطر البيثيوم قبل اللقاح الميكوريزي (Py-My) سبب ضعفاً للبادة فبقيت ضعيفة غير قادرة على القيام بوظائفها الحيوية، كما إن إضافة الميكوريزا بعد 14 يوماً من العدوى بالبيثيوم لم يكن له ذلك الأثر الإيجابي في نمو وتطور البادة (30).

تأثير فطور الميكوريزا في معايير النمو المختلفة

تبين من رصد معايير النمو المدروسة لنباتات التجربة في المعاملات المختلفة وجود تباينات واضحة في قيم هذه المعايير وفقاً لطبيعة المعاملة (جدول 2). يمكن التعرف على وجود الفطر الميكوريزي في جذور النباتات من خلال الفحص المجهرى والتأكد من وجود هيفاته وحويصلاته الشجرية داخل الأنسجة والتي يعبر عنها بالاستعمار الميكوريزي (المكرزة). إن استعمار الجذور بالميكوريزا الشجرية يؤدي إلى تغيرات كيميائية وفيزيولوجية وشكلية في النبات العائل تساعد جميعها في زيادة تحفيز مكونات النمو من بينها ارتفاع النبات وعدد الأوراق وبعض مكونات النمو الأخرى كما تزيد من مقاومة النبات للفطر الممرض (22).

أثر الميكوريزا في ارتفاع النبات - وصل متوسط ارتفاع النباتات إلى 24.58 و 23.25 سم في المعاملتين My و My-Py، مقارنة مع الشاهد C (18.16 سم)، كما لوحظ زيادة معنوية في ارتفاع النبات بالمعاملتين My و My-Py، بنسبة 35.35% و 28%، على التوالي، مقارنة مع الشاهد C، بينما انخفض ارتفاع النبات بالمعاملة Py-My (5.53 سم) بنسبة 69.54% مقارنة مع الشاهد C (جدول 2). وهذا ما أكدته دراسة سابقة بينت بأن إلقاء التربة بفطور الميكوريزا كان له دور أساسي في الحد من تعفن شتول شجرة العود الهندي *Aquilaria*، وحدت من تطور المرض في الأنسجة الجذرية، بالإضافة إلى أنها زادت من ارتفاع النبات العائل والوزن الرطب والجاف للمجموعين الجذري والخضري من خلال تحسين تغذية النبات وبالتالي نمو النبات (32).

جدول 1. تأثير إضافة فطور الميكوريزا الشجيرية

P. ultimum

Table 1. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi application on infection severity with *P. ultimum*.

شدة الإصابة (حسب سلم 4-1) Disease severity (1- 4 scale)	مؤشر المرض Disease index %	المعاملة* Treatment*
1.00 d	0.00	الشاهد Control
1.00 d	0.00	My
4.00 a	97.91	Py
1.25 d	31.25	My-Py
2.58 c	64.58	My+Py
3.25 b	81.25	Py-My

إن القيم المتبوعة 4 لا يوجد بينها فرق معنوي 5%.

Values followed by the same letter in the same column are not significantly different based on Duncan's multiple range test at P=0.05.

* معاملة My = شاهد تربة معدة بفطور الميكوريزا فقط، عند زراعة البذور؛

معاملة Py = شاهد تربة معدة بفطر *P. ultimum*

معاملة My+Py = تربة معدة بفطور الميكوريزا و *P. ultimum*

معاملة My-Py = تربة معدة بفطور الميكوريزا عند زراعة البذور
P. ultimum بعد أسبوعين من زراعة البذور؛ معاملة Py-My:

P. ultimum عند زراعة البذور وبفطور الميكوريزا بعد أسبوعين
معاملة الشاهد السليم (Control) = تربة معقمة خالية من

* My= Soil was inoculated only with mycorrhiza; Py= soil was inoculated only with *Pythium*; My+Py= *Pythium* and mycorrhiza at sowing; My-Py= mycorrhiza at sowing and two weeks later with *Pythium*; Py-My= with *Pythium* at sowing and two weeks later by mycorrhiza; Control= Clean Soil.

أثر الميكوريزا في قطر ساق النبات - وصل متوسط قطر الساق إلى 0.33 و 0.35 سم في المعاملتين My و My-Py، على التوالي، مقارنة مع الشاهد C (0.31 سم)، حيث ازداد قطر الساق في المعاملتين My و My-Py بنسبة 6.45 و 12 %، على التوالي، مقارنة بالشاهد C، بينما انخفض في المعاملة Py-My بنسبة 58.06 % والمعاملة Py بنسبة 67.74 % مقارنة مع الشاهد C (جدول 2)، وهذا ما أكدته دراسات سابقة أجريت على شتول أشجار البابايا، حيث أن إضافة الميكوريزا مع البيثيوم بنفس الوقت كان له أثراً إيجابياً بسيطاً من جهة منافسة الميكوريزا للبيثيوم في موقع الإصابة ودعم شتول الأشجار من خلال تشجيع امتصاص المواد الغذائية وتحفيز الدفاعات التركيبية والكيميائية للنبات (23).

أثر الميكوريزا في حجم المجموع الجذري - وصل حجم المجموع الجذري إلى 4.6 و 3.75 مل في المعاملتين My و My-Py، على التوالي، مقارنة مع الشاهد C (3.16 مل)، حيث زادت المعاملة My من حجم المجموع الجذري بنسبة 45.56 % والمعاملة My-Py بنسبة 18.67 % مقارنة مع الشاهد C، بينما أدت المعاملة Py-My إلى إنقاص حجمه بنسبة 77.84 %، والمعاملة My+Py بنسبة 12.97 % مقارنة مع الشاهد C، وكانت الفروق بين جميع المعاملات معنوية (جدول 2). وهذا ما تطابق مع نتائج دراسات أجريت على نبات الفول السوداني المعاملة بفطور الميكوريزا التي كان نموها أفضل بمقارنتها مع النباتات الشاهد من حيث ارتفاع النبات وحجم المجموع الجذري، حيث تزيد الميكوريزا من مساحة امتصاص الجذور عن طريق امتداد الهيفات وانتشارها في التربة وبالتالي كثافة الشعيرات الجذرية، وزيادة مقاومة النبات للمرض (8)، (18).

أثر الميكوريزا في الوزنين الرطب والجاف للمجموع الخضري - أثرت الميكوريزا في الوزن الرطب للمجموع الخضري حيث بلغ 11.14 و 11.58 غ في المعاملتين My و My-Py، على التوالي، مقارنة مع الشاهد C (8.81 غ)، حيث أظهرت مقارنة نتائج المعاملات مع الشاهد C زيادة في الوزن الرطب للمجموع الخضري في معاملة My بنسبة 26.44 % وفي معاملة My-Py بنسبة 31.44 %، بينما انخفض هذا الوزن في Py-My و Py بنسب 80.36 % و 96 %، على التوالي، وكانت جميع هذه الفروقات معنوية (جدول 2). أما الوزن الجاف للمجموع الخضري فقد بلغ 3.15 و 3.03 غ في المعاملتين My و My-Py، على التوالي، مقارنة مع الشاهد C (2.65 غ)، وأظهرت مقارنة النتائج انخفاض الوزن الجاف للمجموع الخضري بشكل معنوي في المعاملة Py-My بنسبة 89.05 % والمعاملة My+Py بنسبة 35.09 % مقارنة مع الشاهد C (جدول 2). أظهرت النتائج أن إضافة فطر *P. ultimum* قبل

أثر الميكوريزا في عدد أوراق النبات - وصل متوسط عدد الأوراق إلى 7.25 و 7.25 ورقة في المعاملتين My و My-Py، على التوالي، وكانت زيادة عدد الأوراق في هاتين المعاملتين بنسبة 18 % مقارنة مع الشاهد C (6.1 ورقة)، بينما انخفض عدد الأوراق في معاملة Py-My بنسبة 57.70 %، وبنسبة 24.91 % في معاملة My+Py مقارنة مع الشاهد C، وكانت جميع هذه الفروقات معنوية مقارنة بالشاهد C (جدول 2). يعود هذا التأثير إلى أن الميكوريزا تزيد من سطح الامتصاص عند الجذور عن طرق امتداد الهيفات وانتشارها في التربة، كما أنها تحافظ على وظائف الخلايا الجذرية مما ينعكس على النبات بالزيادة في نموه وعدد أوراقه بالإضافة لكونها تساعد على زيادة مقاومته للمرض (14، 26)، وهذا ما أكدته دراسات أخرى استخدمت فطور الميكوريزا في مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة/الطمطم (27)، وكذلك في مقاومة مرض ذبول البندورة الذي يسببه الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (20).

على التوالي، مقارنة مع الشاهد C (3.8 غ)، حيث ازدادت قيمة الوزن الرطب للمجموع الجذري في معاملة My بنسبة 7.36%، وخفضت المعاملتين Py-My و Py الوزن الرطب للمجموع الجذري معنوياً بنسب 85.26% و 98.94%، على التوالي، وكذلك خفضت المعاملتان Py-My و Py معنوياً الوزن الجاف للمجموع الجذري بنسب 94.11% و 99.7%، على التوالي، مقارنة مع الشاهد (جدول 2). وبالتالي نلاحظ أن لفطور الميكوريزا تأثيراً في الوزن الرطب والجاف للمجموعين الخضري والجذري، حيث ازداد الوزن الرطب والجاف للمجموعين الخضري والجذري للنباتات المعاملة بالفطر *P. ultimum*، وهذا يعود إلى أن فطور الميكوريزا تحسن من امتصاص الماء والعناصر الغذائية، كما أنها تحسن من عملية البناء الضوئي. وتتفق هذه النتائج مع نتائج عدد من الباحثين (10، 20) الذين أشاروا أيضاً إلى زيادة الوزن الرطب والجاف للمجموعين الخضري والجذري للنباتات البندورة/الطماطم المعاملة بفطور الميكوريزا. كذلك أشارت دراسات سابقة أجريت على نباتات الغريب *Chrysanthemum cinerariifolium*، إلى زيادة في الوزن الرطب للمجموع الجذري بنسبة 50% بعد إلحاقها بسلاوات من الفطر *Glomus Rhizoctonia solani* كما أنها زادت من مقاومة النبات للفطر الممرض (18).

فطور الميكوريزا سبب ضعفاً للبادرة بقيت ضعيفة غير قادرة على القيام بوظائفها الحيوية، كما إن إضافة الميكوريزا بعد 14 يوماً من الإعداء بالفطر *P. ultimum* لم يكن له ذلك الأثر الإيجابي في نمو وتطور البادرة، أما إضافة الميكوريزا مع *P. ultimum* معاً فقد كان له أثراً إيجابياً بسيطاً من جهة منافسة الميكوريزا للبيثيوم في موقع الإصابة ودعم البادرة من خلال تشجيع امتصاص المواد الغذائية وتحفيز الدفاعات التركيبية والكيميائية للنبات. وهذا ما أكدته دراسات سابقة أجريت لمكافحة مرض سقوط البادرات على نباتات أخرى المتسبب عن الفطور *Fusarium moniliforme, Pythium vexans* و *Rhizoctonia sp.* باستخدام فطور الميكوريزا (18، 23). أوضحت دراسة أجراها حيدر وآخرون (4) أن تعايش جذور النبات مع فطور الميكوريزا يحسن من امتصاص عنصر الفوسفور من التربة بنسبة 30.5% مقارنة مع الشاهد، وهذا ما يسهم في تحقيق زيادة في الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري وكمية الإنتاج.

أثر الميكوريزا في الوزنين الرطب والجاف للمجموع الجذري - أظهرت النتائج تبايناً في قيم الوزن الرطب للمجموع الجذري بين المعاملات المختلفة حيث بلغت 4.08 و 3.13 غ في المعاملتين My و My-Py،

جدول 2. تأثير فطور الميكوريزا الشجيرية AMF في بعض معايير النمو

Table 2. The effect of arbuscular mycorrhizal fungi on some plant growth parameters of tomato plant.

الوزن الجاف للجذر (غ) dry weight of roots/plant (g)	الوزن الرطب للجذر (غ) Wet weight roots/plant (g)	الوزن الجاف الخضري للنبات (غ) dry weight/ plant (g)	الوزن الرطب الخضري للنبات (غ) Wet vegetative weight/ plant (g)	حجم الجذر (مل) Root volume per plant (ml)	قطر الساق (سم) Stem diameter per plant (cm)	عدد الأوراق Leaves number	ارتفاع النبات (سم) Plant height (cm)	المعاملة* Treatment*
0.34 ab	3.80 ab	2.65 a	8.81 b	3.16 bc	0.31 a	6.10 b	18.16 b	الشاهد Control
0.47 a	4.08 a	3.15 a	11.14 a	4.60 a	0.33 a	7.25 ab	24.58 a	My
0.001 c	0.04 c	0.10 c	0.35 c	0.70 d	0.10 b	0.16 e	0.25 d	Py
0.25 b	3.13 b	3.03 a	11.58 a	3.75 b	0.35 a	7.25 a	23.25 a	My-Py
0.37 ab	3.08 b	1.72 b	7.25 b	2.75 c	0.33 a	4.58 c	18.16 b	My+Py
0.02 c	0.56 c	0.29 c	1.73 c	0.70 d	0.13 b	2.58 d	5.53 c	Py-My
0.19	0.88	0.45	2.036	0.64	0.075	1.016	2.95	LSD 5%

إن القيم المتبوعة بنفس الحرف في نفس العمود لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد المدى 5%.

Values followed by the same letter in the same column are not significantly different based on Duncan's multiple range test at P=0.05.

* معاملة My = شاهد تربة معدة بفطور الميكوريزا فقط، عند زراعة البذور؛ معاملة Py = شاهد تربة معدة بفطر *P. ultimum* معاملة My-Py = تربة معدة بفطور الميكوريزا عند زراعة البذور ويفطر معاملة My+Py = تربة معدة بفطور الميكوريزا و *P. ultimum* معاملة Py-My = تربة معدة بفطور الميكوريزا من زراعة البذور؛ معاملة Py-My = تربة معدة بفطور الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور؛ معاملة الشاهد السليم (Control) = تربة معقمة خالية من الفطور.

* My= Soil was inoculated only with Mycorrhiza; Py= soil was inoculated only with *Pythium*; My+Py= *Pythium* and mycorrhiza at sowing; My-Py= mycorrhiza at sowing and two weeks later with *Pythium*; Py-My= with *Pythium* at sowing and two weeks later by mycorrhiza; Control= Clean Soil

الفعال، وبكميات كبيرة وقد تم في العديد من بلدان العالم اعتماد استراتيجيات مناسبة للتطبيق الناجح باستخدام اللقاح الميكوريزي في ظروف الحقل والمشتل (27).

جدول 3. تأثير المعاملات المختلفة الاستعمار الميكوريزي المقاطع الجذرية لنبات البندورة/الطماطم.

Table 3. Rate of tomato root mycorrhization by arbuscular mycorrhizal fungi in response to the different treatments.

المعاملة* Treatment*	عدد الجذور المستعمرة بالميكوريزا Mycorrhized root number	النسبة استعمار الجذور بالميكوريزا % Mycorrhization	العدد الكلي للمقاطع الجذرية المختبرة Total number of examined root segments
C	0	0.0	30
My	23	76.6	30
My+Py	16	53.3	30
My-Py	21	70.0	30
Py-My	7	23.3	30
Py	0	0.0	30

* معاملة My = شاهد تربة معدة بفطور الميكوريزا فقط، عند زراعة البذور؛ معاملة Py = شاهد تربة معدة بفطر *P. ultimum* معاملة My+Py = تربة معدة بفطور الميكوريزا و *P. ultimum* معاملة My-Py = تربة معدة بفطور الميكوريزا عند زراعة البذور بعد أسبوعين من زراعة البذور؛ معاملة Py-My: *P. ultimum* عند زراعة البذور وبفطور الميكوريزا بعد أسبوعين معاملة الشاهد السليم (Control) = تربة معمة خالية من

* My= Soil was inoculated only with Mycorrhiza; Py= soil was inoculated only with *Pythium*; My+Py= *Pythium* and mycorrhiza at sowing; My-Py= mycorrhiza at sowing and two weeks later with *Pythium*; Py-My= with *Pythium* at sowing and two weeks later by mycorrhiza; Control= Clean Soil

من المفيد تطوير هذه الدراسة للتعرف على حقيقة التفاعل بين فطور الميكوريزا الشجرية والمرضى *P. ultimum*، والآليات التي تحكمه والتوصل إلى أنواع مناسبة من فطور المايكوريزا التي يمكنها أن تحمي النبات وتحد من الإصابة بالمرض، ومتابعة الدراسة حول مدى تأثير إضافة اللقاح الميكوريزي إلى تربة البيت المحمي قبل زراعة الشتول واستمرار البحث حقلياً ومخبرياً حول مدى تأثير فطور الميكوريزا على الممرضات الأخرى المنقولة بالتربة.

قد يعود تفوق فطور الميكوريزا في بعض المعاملات المدروسة لدور الميكوريزا في تنشيط إفراز مواد ومنظمات النمو ضمن النبات، التي تعمل على تحفيز مقاومته الجهازية من خلال إنتاجه مواد مثل حمض الجاسمونيك والـ Chitinases والـ phenylalanine ammonia-lyase (PAL)، كما تعمل الميكوريزا على جعل بعض العناصر الغذائية كالفسفور متاحة للنبات بشكل أفضل مما يؤدي للحصول على نمو خضري جيد للنبات يجعله أكثر تحملاً للإصابة بالمسبب المرضي (26)، بالرغم من الأبحاث العديدة، لا يزال دور فطور الميكوريزا الشجرية في تحفيز المقاومة الجهازية المستحثة غير مفهوم بشكل واضح (28)، فالنتائج الإيجابية للتعايش بين الميكوريزا وجذور النبات هي حصيلة تفاعلات جزيئية معقدة بين الشريكين المتكافلين (15).

نسبة الاستعمار الميكوريزي (المكرزة) في المقاطع الجذرية لنبات البندورة/الطماطم في المعاملات المختلفة.

كانت أعلى نسبة للاستعمار الميكوريزي في جذور نباتات البندورة/الطماطم المدروسة في معاملة My، إذ بلغت 76.6%، تلاها معاملة My-Py بنسبة 70% ثم معاملة My+Py بنسبة 53.33% وأدنى نسبة استعمار للميكوريزا كانت في معاملة Py-My بنسبة 23.33% (جدول 3). وهذا يشير إلى أن وجود فطر *Pythium* sp. ينقص من نسبة المكرزة ويؤثر في درجة تعايش الميكوريزا مع الجذر، وتكون قيمة هذا النقص أكبر عندما يسبق وجود الفطر الممرض وجود الميكوريزا. وتتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج Manila و Nelson على نبات البندورة حيث تراوحت نسبة الجذور المستعمرة بفطور الميكوريزا بين 36.52% إلى 73.5%.

يستنتج من هذه النتائج أنه بالإمكان استعمال فطور الميكوريزا الشجرية في مكافحة الفطر *P. ultimum* المسبب لمرض سقوط البادرات، حيث أظهرت فطور الميكوريزا كفاءة عالية في الحد من الإصابة بالمرض *P. ultimum* ومن تطوره في بادرات البندورة/الطماطم، حيث خفضت من مؤشر المرض بنسبة 68.75%، كما أدت عملية إضافة اللقاح الميكوريزي عند زراعة البذور إلى حماية البادرات من الإصابة وإلى تحسين معايير النمو المدروسة المختلفة. بناء على ما سبق، نقترح إضافة اللقاح الميكوريزي إلى ترب الزراعة في صواني الشتيل عند زراعة البذور مباشرة، وإجراء دراسات حول تطوير طرق إنتاج اللقاح الميكوريزي

Abstract

Khrifa, M.I., I. Ghazal, M.F. El-Azmeh and W. Chouman. 2015. Efficiency of arbuscular mycorrhiza in the control of tomato damping-off caused by *Pythium ultimum* along the Syrian coast. Arab Journal of Plant Protection, 33(2): 183-191.

The effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the infection with *Pythium ultimum*, causing tomato damping-off, was studied in a pot experiment during 2013. Five treatments of soil infestation with the fungus were evaluated. In the first treatment, soil was inoculated only with *Pythium* (Py); in the second, with Mycorrhiza only (My); in the third with *Pythium* and mycorrhiza at sowing (My+Py); in the fourth, with *Pythium* at sowing and two weeks later by mycorrhiza (Py-My); and in the fifth, with mycorrhiza at sowing and two weeks later with *Pythium* (My-Py). The disease index varied significantly between treatments and the control (C). It reached 97.91%, 81.25%, 64.58% and 31.25% for Py, Py-My, Py+My, My-Py treatments, respectively. The impact of treatments on growth parameters showed a significant increase in My and My-Py treatments on plant height (35.35% and 28%, respectively), leave's number (18%), and the wet vegetative weight (31.44% and 26.44%, respectively). Py-My and My+Py treatments reduced dry weight of the canopy by 89.05% and 35.09%, respectively. PY-MY and PY treatments reduced the wet weight of roots by 85.26 and 98.94%, and the dry weight by 94.11 and 99.7%, respectively. My+Py and My treatments increased significantly the root volume by 18.6% and 45.56%, respectively. Stem diameter was larger in most treatments compared to the two treatments Py and Py-My. Root mycorrhization was highest in My (76.6%), followed by My-Py (70%). The interaction between My and Py treatments was effective in protecting tomato seedlings from infection. My-Py treatment showed the highest level of protection based on most parameters evaluated.

Key words: Arbuscular mycorrhiza fungi, *Pythium ultimum*, Tomato, Syrian coast.

Corresponding author: M.I Khrifa, National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria, email: Imadkhrifa@gmail.com

References

1. اسطيفان، زهير عزيز، محمد صادق حسن، حافظ إبراهيم عباس وباسمة جورج انطون. 1999. تأثير فطريات المايكوريكس الداخلية ونيماتودا الجذرية العراقية 4: 54-60.
2. الشعبي، صلاح، جورج ملوحي ولينا مطرود. 2007. *Rhizoctonia Solani* وتولكلوفوس مينيل. وقاية العربية، 1: 15-27.
3. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية لعام 2012. مديرية سورية.
4. حيدر، أسما، خالد العس وكمال الأشقر. 2011. تأثير بين نيماتودا الميكوريزي *Glomus mosseae* تحفيز الزراعة الأردنية 7: 589-601.
5. خريبه، محمد عماد، ابتسام غزال، فواز العظمة ووفاء شومان. 2013. والتشخيص الإمرضية *Pythium* sp. البيوت المحمية. نشرين البيولوجية، 35(6): قيد.
6. خريبه، محمد عماد، ابتسام غزال، فواز العظمة ووفاء شومان. 2013. وتحدد جذرية (ميكوريزا) متعايشة نشرين البيولوجية، 35(7): قيد.
7. Abbasi, P.A., K.L. Conn and G. Lazarovits. 2004. Suppression of *Rhizoctonia* and *Pythium* damping-off of radish and cucumber seedlings by addition of fish emulsion to peat mix or soil. Canadian Journal of Plant Pathology, 26: 177-187.
8. Abdalla, M.E. and G.M. Abdel-Fattah. 2000. Influence of the endoMycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the development of peanut pod rot disease in Egypt. Mycorrhiza, 10: 29-35.
9. Abdel-Fattaha, G.M., S.A. EL-haddadb, E.E. hafezc and Y.M. Rashadd. 2011. Induction of

المراجع

- Mycorrhizal fungi. Pages 103-112. In: Mycorrhizal Technology and Agriculture. S. Gianinazzi, H. Schuepp, J.M. Barea, K. Haselwandter (eds.). Birkhäuser Verlag Basel Journal.
27. **Reddy, B.N., C.R. Raghavender and A. Sreevani.** 2006. Approach for enhancing Mycorrhiza – mediated disease resistance of tomato damping-off. *Indian Phytopathology*, 59: 299-304.
 28. **Sharma, D., R. Kapoor and A.R. Bhaynagar.** 2009. Differential growth response of *Curculigo orchoides* to native AMF communities varying in number and fungal components. *European Journal of Soil Biology*, 45: 328- 333.
 29. **Smith, S.E. and D.J. Read.** 2008. Mycorrhizal Symbioses. Academic Press, London, UK, 589 pp.
 30. **St-Arnaud, M., C. Hamel and J.A. Fortin.** 1994. Inhibition of *Pythium ultimum* in roots and growth substrate of Mycorrhizal *Tagetes patula* colonized with *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16: 187-194.
 31. **Steven, J., D. M.S. Scheuerell and F.M. Walter.** 2005. Suppression of seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*, *P. irregulare*, and *Rhizoctonia solani* in container media amended with a diverse range of pacific northwest compost sources. *Phytopathology*, 5: 306-315.
 32. **Tabin, T., A. Arunachalam, K. Shrivastava and K. Arunachalam.** 2009. Effect of arbuscular Mycorrhizal fungi on damping-off disease in *Aquilaria agallocha* Roxb. Seedlings. *Tropical Ecology*, 50: 243-248.
 33. **Teymoori, S., M.H. Shahri, K. Rahnama and H. Afzali.** 2012. Identification and Pathogenicity of *Pythium* Species on Cantaloupe in Khorasan Razavi Province of IRAN. *Journal of Crop Protection*, 1: 239-247.
 34. **Wehner, J., P.M. Antunes, J.R. Powell, J. Mazukatow and M. Rillig.** 2010. Plant pathogen protection by arbuscular Mycorrhiza: a role for fungal diversity. *Pedobiologia*, 53: 197–201.
 18. **Lewandowski, T.J.** 2012. The Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Diversity on Plant Pathogen Defense. A Thesis presented to The University of Guelph. In partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Environmental Biology, 48 pp.
 19. **Li, B., G. Xie, S. Ravnskov and J. Larsen.** 2007. Bio control of *Pythium* damping-off in cucumber by arbuscular Mycorrhiza associated bacteria from the genus *Paenibacillus*. *Bio Control.*, 52: 863–875.
 20. **Manila, R. and R. Nelson.** 2013. Nutrient uptake and promotion of growth by Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Tomato and their role in Bio-protection against the tomato wilt pathogen. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 3: 42-46.
 21. **Mckinney, H.H.** 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*, 26: 195-217.
 22. **Mosse, B.** 1973. Plant growth responses of vesicular arbuscular Mycorrhiza. *New Phytologist*, 72: 127- 136.
 23. **Olawuyi, O.J., A.C. Odebode, I.O. Oyewole, A.O. Akanmu and O. Afolabi.** 2013. Effect of arbuscular Mycorrhizal fungi on *Pythium aphanidermatum* causing foot rot disease on pawpaw (*Carica papaya* L.) seedlings. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47: 185-193.
 24. **Pawaar, J.S. and U.B. Kakde.** 2012. Study of Arbuscular Mycorrhiza associated With Some Important Medicinal Plants In Suburban Area of Mumbai. *Online International Interdisciplinary Research Journal*, 2: 116-127.
 25. **Phillips, J.M. and D.S. Hayman.** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and VAM fungi for rapid assessment of infection, *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
 26. **Pozo, M.J., S. Slezack-Deschaumes, E. Dumas-Gaudot, S. Gianinazzi and C. Azcon-Aguilar.** 2002. Plant defense responses induced by arbuscular

Received: July 23, 2014; Accepted: December 1, 2015

تاريخ الاستلام: 2014/7/23؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2015/12/1