

التسجيل الأول للفطر *Fusarium oxysporum f. sp. radicans lycopersici* في المنطقة الساحلية من سوريةعفراء حيدر<sup>1\*</sup>، لوسي ميشي<sup>2</sup>، نادين علي<sup>1</sup>، محمد عماد خريبة<sup>3</sup>، عصام علاف<sup>1</sup> ومحمد زكريا طويل<sup>1</sup>

(1) قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (2) المعهد المتوسطي البحري والبري للتنوع الحيوي والبيئي،

جامعة ايكس- مرسيليا، فرنسا؛ (3) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية.

\* البريد الإلكتروني للباحث المرسل: afraaafraa485@gmail.com

## المخلص

حيدر، عفراء، لوسي ميشي، نادين علي، محمد عماد خريبة، عصام علاف ومحمد زكريا طويل. 2023. التسجيل الأول للفطر *Fusarium oxysporum f. sp. radicans lycopersici* في المنطقة الساحلية من سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 41(4): 348-352.

<https://doi.org/10.22268/AJPP-41.4.348352>

تم الحصول على إحدى عشرة عذلة من الفطر *Fusarium oxysporum* Schlecht. من نباتات بندورة/طماطم وخيار أبدت أعراض الإصابة بمرض الذبول الوعائي، وغفن الجذور والتاج الفيوزاريومي، وذلك من مواقع مختلفة في المنطقة الساحلية من سورية. تم تأكيد التشخيص بواسطة اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) باستخدام أربعة أزواج بادئات متخصصة (uni، sp13، sp23، و sp1). بينت النتائج أن سبع عزلات منها تعود للشكل التخصصي *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *radicans lycopersici* Jarvis & Shomaker (FORL)، ويعد هذا البحث التسجيل الأول للفطر FORL في المنطقة الساحلية من سورية.

كلمات مفتاحية: مرض غفن الجذور والتاج الفيوزاريومي، بندورة/طماطم، FORL، المنطقة الساحلية، سورية.

## المقدمة

أكثر من 80% من الغلة في الإصابات الشديدة، ويمكن أن يترافق في الحقول نفسها على نباتات البندورة/الطماطم (Benaouali *et al.*, 2014). ونظراً لصعوبة التفريق بين هذين الشكلين اعتماداً على الصفات الشكلية والخصائص المزرعية بسبب تشابه صفاتهما، أجريت العديد من الأبحاث للتمييز بين هذين الشكلين بالاعتماد على التقانات الحيوية وتم التوصل إلى تحديد مورثات مميزة لكلٍ منهما (Çolak & Biçic, 2013)؛ (Ye *et al.*, 2020)، كما أمكن التمييز بين هذين الشكلين من خلال الأعراض والمدى العوائلي، حيث أن الفطر FOL يسبب أعراض الذبول على نباتات البندورة/الطماطم المصابة، وعند إجراء قطاع طولي في ساق النبات المصاب يلاحظ وجود تلون بني يمتد حتى قمة النبات المصاب في حالات الإصابة الشديدة (Ozbay, 2004)، وهو متخصص بإصابة نباتات البندورة/الطماطم (Forero *et al.*, 2018)، أما الفطر FORL فإنه يسبب عفناً بنياً في منطقة الجذور والتاج للنباتات المصابة، وعند إجراء قطاع طولي في ساق النبات المصاب يلاحظ تلون بني لا يمتد لأكثر من 25-30 سم فوق خط التربة (Jarvis & shoemaker, 1978). يعدّ الفطر FORL مدمراً لنباتات البندورة/الطماطم في جميع أنحاء العالم، حيث تكمن خطورته في إمكانية دخوله إلى النبات

يعدّ الفطر *Fusarium oxysporum* Schlecht. (FO) (التابع في طوره الجنسي لفصيلة Nectriaceae من رتبة Hypocreales وصف Sordariomycetes في شعبة الفطور الأسكية (Ascomycota) من الممرضات المهمة لكثير من المحاصيل المزروعة والأشجار المثمرة ونباتات الزينة التابعة للعديد من الفصائل النباتية (Agrios, 2005).

نظراً لأهمية نبات البندورة/الطماطم (*Solanum lycopersicum* L.) غذائياً واقتصادياً في سورية والعالم، كان لابدّ من الاهتمام بسلامة هذا النبات من الممرضات ولاسيما الفطر *F. oxysporum* الذي يهاجم البندورة ويسبب لها مرضين مهمين هما الذبول الوعائي الناتج عن الشكل التخصصي *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Sacc) (FOL) W.C Synder & H.N. Hans (FOL) المتخصص بإصابة البندورة/الطماطم فقط، ومرض غفن الجذور والتاج الناتج عن الشكل التخصصي *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *radicans lycopersici* Jarvis & Shomaker (FORL) الذي يصيب عوائل متعددة. أكدت الأبحاث السابقة أن هذين المرضين مسؤولان عن فقدان

تحضير مستعمرات نقية للفطر FO لاستخلاص الحمض النووي الفطري حُضِرَت معلقات بوعية لكل عزلة باستخدام قرص واحد (بقطر 1 سم) من كل عزلة في 10 مل ماء مقطر معقم، رَجَّت جيداً لمدة 10 دقائق ثم رَشَّحت باستخدام القطن الطبي. أخذت بعد ذلك نقطة من المعلق البوعي (الرشاحة) بواسطة الإبرة ذات الحلقة ووزعت ضمن طبق بتري يحتوي على مستنبت PDA بطريقة الخط المتعرج، ثم حضنت عند حرارة  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ، وبعد ثلاثة أيام تم تحضير 3 مكررات لكل عزلة من العزلات الإحدى عشر وذلك باستخدام إبرة نظيفة معقمة. قسمت إحدى المستعمرات الناتجة عن بوع فطري واحد على ثلاثة أقسام، زرع كل منها في طبق يحوي PDA (Kohpina et al., 1999). بعد أسبوع من التحضين عند حرارة  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ، تم حفظ المشيجة الفطرية للعزلات بما تحمله من أبواغ في الإيثانول النقي حيث كَشَطَت النوات الفطرية لكل عزلة من طبق واحد فقط (أي أحد المكررات فقط) باستخدام إبرة نظيفة معقمة، ووزعت على أنبوبي إندورف سعة 2 مل يحويان الإيثانول النقي كحافظ للمادة الوراثية للعزلات الفطرية. أرسلت الأنابيب إلى المعهد المتوسطي البحري والبري للتنوع الحيوي والبيئي في جامعة إيكس مرسيليا (Aix Marseille University) في فرنسا لإجراء التحليل الجزيئي.

#### استخلاص الحمض النووي

تم استخلاص الحمض النووي باستخدام طقم اختبار (Kit) خاص وهو NucleoSpin® Plant II kit (Macherey Nagel). تم التأكد من جودة الـ DNA المستخلص وكميته باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي الأفقي بترحيل عينات من الـ DNA المستخلص على هلام من الأجاروز 1%. اختبرت عينات DNA بواسطة اختبار التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR) باستخدام أربعة أزواج بادئات متخصصة هي Uni، sp13، sp23 و spr1 (Hirano & Arie, 2006)، باتباع بروتوكول PCR حسب Çolak & Biçic (2013).

#### النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج أن سبعة (من أصل 11 عزلة) من العزلات المختبرة تعود للشكل التخصصي FORL. وتجدر الإشارة إلى أننا حصلنا على الفطر FORL من نباتات بندورة/طماطم امتد فيها التلون البني لأكثر من 50 سم فوق خط التربة، وهذا يتناقض مع ما ذكرته عدة أبحاث بأن التلون البني في ساق البندورة/الطماطم المصابة بالفطر FORL لا يتجاوز 25-30 سم فوق خط التربة (Ozbay, 2004)، ويظهر الجدول 1 توصيف النباتات ومصدر العزلات المعتمدة في بحثنا وطول امتداد التلون البني في ساق النباتات المصابة.

عن طريق المجموع الخضري، وكذلك مداه العوائل الواسع (Rowe & Farley, 1981). وقد سجل هذا الفطر في العديد من المناطق الجغرافية حول العالم بما فيها عدد من البلدان المجاورة لسورية، حسبما ورد في قاعدة بيانات NCBI مما دفعنا إلى الشك بوجوده في سورية، ولاسيما بعد ملاحظة أعراض تعفن الجذور والتاج على نباتات البندورة/الطماطم والخيار والبطاطا/البطاطس، إلا أن الأعراض لوحدها لم تكن كافية لتعريف المسبب. لذلك هدف هذا البحث إلى فصل العزلات وتأكيد تحديد هوية العامل المسبب لهذه الأعراض باستخدام المؤشرات الجزيئية.

#### مواد البحث وطرائقه

##### جمع العينات النباتية المصابة، توصيف الأعراض وعزل الممرض

تم قلع نباتات بندورة/طماطم ضعيفة (بعمر 5-6 أشهر) ونباتات خيار من بيوت بلاستيكية في الساحل السوري على ارتفاعات لم تتجاوز 300 م فوق سطح البحر، ووضع كل نبات بشكل مستقل ضمن كيس شفاف لتنتقل العينات المجموعة إلى المختبر من أجل توصيف الأعراض وعزل العامل الممرض. تم قياس امتداد التلون البني في الساق المصابة مقارنة مع الطول الكامل للنبات فوق خط التربة، وذلك قبل إجراء العزل من منطقة التاج ومن الساق على ارتفاع لا يتجاوز 20 سم فوق خط التربة. سجلت البيانات في جداول دُونَ فيها اسم الصنف النباتي المزروع وعمر النبات، وقت ومكان الجمع وارتفاع النبات فوق خط التربة وطول التلون البني ضمن الساق بعد إجراء قطاع طولي. بعد ذلك، أجري العزل للعامل الممرض على مستنبت البطاطا/البطاطس الدكستروز آغار (PDA)، حيث أخذت أجزاء من منطقة التاج وقاعدة الساق بطول لا يتجاوز 5 سم للقطعة وغمرت بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيز 2% لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وتركت لتجف. وضعت بعد ذلك فوق ورقة الترشيح ضمن وحدة العزل، قطعت إلى أجزاء صغيرة ووزعت على مستنبت PDA، ثم حضنت عند حرارة  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  لمدة أسبوع حسب Lodhi et al. (2005)، مع بعض التعديل. جرى بعد ذلك عملية تنقية للفطر *Fusarium* sp. ضمن أطباق جديدة تحوي PDA، حيث تم الحصول على 25 عزلة للفطر *Fusarium* sp. من نباتات البندورة/الطماطم تعود للهجن (بستونا - انطاليا) وعزلة واحدة لهذا الفطر من نباتات خيار أبدت أعراض ذبول. تم انتخاب 11 عزلة من هذه العزلات لإخضاعها للمؤشرات الجزيئية في سبيل التأكد من الشكل التخصصي للفطر FO فيما إذا كان FORL، حيث تم الانتخاب بناءً على الأعراض لاسيما نسبة امتداد التلون البني في الساق إلى طول الساق.

**جدول 1.** مصادر عزلات الفطر *F. oxysporum* المعتمدة في هذا البحث وقياسات طول النبات الذي عزل منه الفطر وامتداد التلون البني ضمنه.  
**Table 1.** Sources of *F. oxysporum* isolates used in this study and the measurement of the plant height from which the fungus was isolated and the extent of brownish discoloration within it.

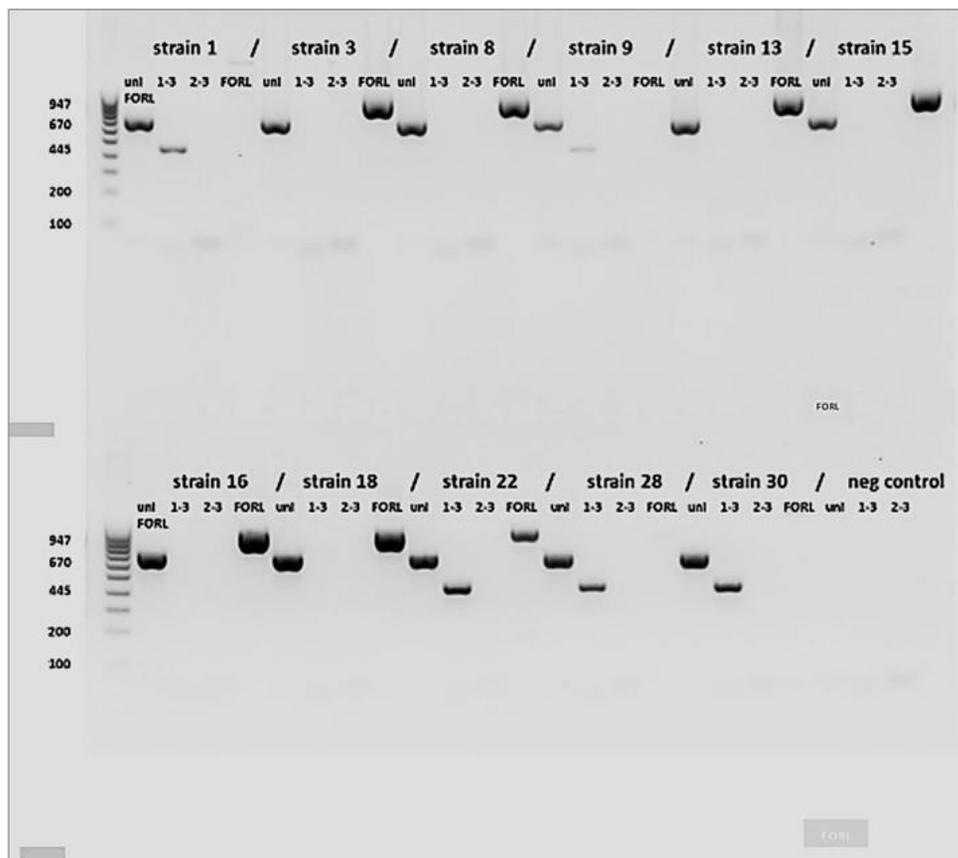
نسبة التلون البني في الساق % Brown stem discoloration %	ارتفاع التلون البني فوق سطح التربة ضمن الساق (سم) Brown discoloration above soil surface within the stem (cm)	ارتفاع النبات فوق سطح التربة (سم) The height of the plant above soil surface (cm)	عمر النبات وقت الجمع (شهر) Plant age at the time of collection (month)	موقع الجمع Collection site	مكان الجمع Plant variety	الصنف النباتي Plant variety	رقم العزلة Isolate number
34.2	65	190	5	Mehoarty	محورتي Domna	دومنا	F1
37.5	60	160	6	Dair Albeshl (Harf bnamra)	دير البشل (حرف بنمرة) Flesh (From Mandaloon fruit)	فlesh (سحب من ثمار مندلون)	F3
25	40	160	6	(Harf bnamra) Dair Albeshl	دير البشل (حرف بنمرة) Flesh (From Mandaloon fruit)	فlesh (سحب من ثمار مندلون)	F8
35.9	70	195	5	Mehoarty	محورتي Domna	دومنا	F9
9.1	20	220	8	Mehoarty	محورتي Bastoona	بستونا	F13
0	*	200	8	Mehoarty	محورتي Bastoona	بستونا	F15
33.3	50	150	7	Al-Zallo Junction	مفراق الزللو Majdolina + inlaid Mandaloon head	مجدولينا + رأس المندلون المطعم	F16
-	-	-	2	Sahl Miaar (Samkah)	سهل ميعار (سمكة) Cucumber	خيار	F18
43.3	26	60	1.5	Al-Blatah (Northern Tartous border)	البلاطة (حدود طرطوس الشمالية) Antalia	أنطاليا	F22
62.5 <	100 <	160	4	Next to the cement factory (Tartous)	جوار معمل الاسمنت (طرطوس) Bastoona	بستونا	F28
60	60	100	4	Next to Al-Hal bazaar (Tartous)	المنطقة المجاورة لسوق الهال (طرطوس) Bastella	باستيلا	F30

\* No discoloration above soil surface within the stem, but there is extern black crown rot.

\* لم يمتد تلون بني ولكن هناك عفن تاج أسود خارجي

نستنتج مما تقدم أن الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* المسبب لمرض عفن الجذور والتاج الفيوزارمي منتشر في منطقة الدراسة في الساحل السوري، حيث يصيب نباتات البندورة/الطماطم والخيار في الزراعات المحمية في هذه المنطقة. وعليه نوصي بمتابعة الأبحاث على هذه العزلات من حيث خصائصها الشكلية والحيوية في ظروف مختلفة، تمهيداً لإيجاد طريقة فعالة للحد من أضرار هذا الفطر والتأثيرات السلبية للمرض الناتج عنه على زراعة البندورة/الطماطم في الساحل السوري.

توضح نتائج اختبار الـ PCR للعزلات الفطرية الموصوفة في جدول 2 أن العزلات 3، 8، 13، 15، 16 و 18 تعود للشكل التخصصي FORL، في حين أن العزلات 1، 9، 28 و 30 تعود للسلسلة 1 من الشكل التخصصي FOL، أما بالنسبة للعزلة 22 تبين انتماؤها إلى الشكلين التخصصيين كليهما مما يشير إلى وجود نظامين مرضيين لدى النبات الذي عزلت منه هذه العزلة، وهذا يتوافق مع ما ذكره الباحثون حول ترافق هذين الفطرين في حقول البندورة نفسها (Benaouali et al., 2014).



**شكل 1.** تمثيل لنتائج PCR على هلامة الأغاروز بالرحلان الكهربائي باستخدام أربعة أزواج بادئات متخصصة بالكشف عن العزلات الفطرية التابعة للنوع *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*، 3-2: السلالتان 2 و 3 للشكل التخصصي *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*، 1-3: السلالتان 1 و 3 للشكل التخصصي *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*، 3-1: السلالتان 1 و 3 للشكل التخصصي *F. oxysporum* f. sp. *oxysporum*. **Figure 1.** Agarose gel electrophoresis of PCR products using 4 specific primer sets to detect *F. oxysporum* isolates. Uni: specific primer sets to detect *F. oxysporum*; 1-3: Races 1 and 3 of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; 2-3: Races 2 and 3 of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; FORL: *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

**جدول 2.** نتائج اختبار PCR باستخدام أربعة أزواج بادئات متخصصة بالكشف عن العزلات الفطرية التابعة للنوع *Fusarium oxysporum*. **Table 2.** Results of PCR using four specific primer sets to detect *F. oxysporum* isolates.

Primers used		البادئات المستخدمة		الشكل التخصصي Formae speciales	رقم العزلة Isolate No.
uni	sp13	sp23	spr1		
+	+	-	-	FOL race1	F1
+	-	-	+	FORL	F3
+	-	-	+	FORL	F8
+	+	-	-	FOL race1	F9
+	-	-	+	FORL	F13
+	-	-	+	FORL	F15
+	-	-	+	FORL	F16
+	-	-	+	FORL	F18
+	+	-	+	FOL-1 + FORL	F22
+	+	-	-	FOL race1	F28
+	+	-	-	FOL race1	F30
-	-	-	-	-	شاهد Control

uni = زوج بادئات متخصصة بالكشف عن النوع *F. oxysporum*، sp13 = زوج البادئات المتخصصة بالكشف عن السلالتين 1 و 3 للشكل التخصصي *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*، sp23 = زوج البادئات المتخصصة بالكشف عن السلالتين 2 و 3 للشكل التخصصي *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*، spr1 = زوج البادئات المتخصصة بالكشف عن الشكل التخصصي *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

uni= the specific primer sets to determine *F. oxysporum*, sp13= the specific primer sets to determine the formae speciales of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* FOL (race 1, or 3), sp23= the specific primer sets to determine the formae speciales of FOL (race 2 or 3), spr1= the specific primer sets to determine the formae speciales of *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (FORL).

## Abstract

Haydar, A., L. Michy, N. Ali, M. E. Khreibeh, I. Allaf and M.Z. Taweel. 2023. First Record of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* That Infects Tomato along the Coastal Region of Syria. Arab Journal of Plant Protection, 41(4): 348-352. <https://doi.org/10.22268/AJPP-41.4.348352>

Eleven isolates of the fungus *Fusarium oxysporum* Schlecht. were obtained from tomato plants showing symptoms of Fusarium wilt, and crown and root rot from several regions in the coastal region of Syria. The molecular diagnosis was based on PCR genotyping using 4 primers (uni, sp13, sp23 and spr1). Results obtained indicated that seven of the collected isolates belong to the specialized form *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. This is the first record of this fungus in the coastal region of Syria.

**Keywords:** Fusarium root and crown rot, tomato, FORL, coastal region, Syria.

**Affiliation of authors:** A. Haydar<sup>1\*</sup>, L. Michy, N. Ali, M. E. Khreibeh, I. Allaf and M.Z. Taweel. (1) Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria; (2) Mediterranean Marine and Land Institute for Biological and environmental diversity, Aix University, Marseille, France; (3) General Commission for Biotechnology, Damascus, Syria. \*Email of corresponding author: [afraaafraa485@gmail.com](mailto:afraaafraa485@gmail.com)

## References

## المراجع

- Agrios, G.N. 2005. Plant pathology. 5<sup>th</sup> edition. Academic Press, San Diego. 803 pp.
- Benaouali, H., N. Hamini-Kadar, A. Bouras, S.L. Benichou, M. Kihal and J.-E. Henni. 2014. Isolation, pathogenicity test and physicochemical studies of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. Advances in Environmental Biology, 8(10):36-49.
- Çolak, A. and M. Biçic. 2013. PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* of tomato in protected tomato-growing areas of the eastern Mediterranean region of Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37:457-467. <https://doi.org/10.3906/tar-1203-71>
- Forero-Reyes, C.M., M. Alvarado-Fernández, A. Ceballos-Rojas, L.C. González-Carmona, M.Y. Linares-Linares, R. Castañeda-Salazar, A. Pulido-Villamarín, M.E. Góngora-Medina, J.A. Cortés-Vecino and M.X. Rodríguez-Bocarowinegra. 2018. Evaluación de la capacidad patogénica de *Fusarium* spp.: En modelos vegetal y murino. Argentinian Revista Argentina de Microbiología, 50:90-96. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.11.009>
- Hirano, Y. and T. Arie. 2006. PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of General Plant Pathology 72:273-283. <http://dx.doi.org/10.1007/s10327-006-0287-7>
- Jarvis, W.R. and R.A. Shoemaker. 1978. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. Phytopathology, 68:1679-1680. <https://doi.org/10.1094/Phyto-68-1679>
- Kohpina, S., R. Knight and F.L. Stoddard. 1999. Variability of *Ascochyta faba* in South Australia. Australian Journal of Agricultural Research, 50:1475-1481. <https://doi.org/10.1071/AR98204>
- Lodhi, A.M., A. Qayoom, S. Shahzad and A. Ghaffar. 2005. *Pythium ultimum* var. *ultimum*: A new record from Pakistan. Pakistan Journal of Botany, 37:779-782.
- Ozbay, N. and E.N. Steven. 2004. Fusarium crown and root rot of tomato and control methods. Plant Pathology Journal, 3:9-18. <http://dx.doi.org/10.3923/ppj.2004.9.18>
- Rowe, R.C. and J.D. Farley. 1981. Strategies for controlling Fusarium crown and root rot in greenhouse tomatoes. Plant Disease, 65:107-112. <https://doi.org/10.1094/PD-65-107>
- Ye, Q., R. Wang, M. Ruan, Z. Yao, Y. Cheng, H. Wan, Z. Li, Y. Yang and G. Zhou. 2020. Genetic Diversity and Identification of wilt and root rot pathogens of Tomato in China. Plant Disease, 104:1715-1724. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-19-1873-re>

Received: October 9, 2022; Accepted: February 20, 2023

تاريخ الاستلام: 2022/10/9؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2023/2/20