دراسة أولية لمرض موت افرع أشجار الثويا

هدى حازم وافي الطائي **علي كريم محمد الطائي**

استاذ مساعد **استاذ**

قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

البريد الالكتروني: dr.hudataae@yahoo.com

المستخلص:

أظهرت نتائج العزل من افرع اشجار وشتلات الثويا المصابة والذي اجري في محطة بستنة نينوى وحدائق وطرق جامعة الموصل لسنة 2013 الى ظهور ثلاث فطريات وقد شخصت الفطريات المعزولة وهي (*Phoma herbarum* و *Pestalotiopsis funereal* و *Nigrospora oryzae*) وهذا يعد اول تسجيل للفطرين الاخرين على اشجار الثويا في العراق اذ لا توجد اشارة الى اصابة الثويا بهذين الفطرين في العراق ومن اختبار القدرة الإمراضية ظهرت اولى الاعراض في شهر نيسان وبعد شهر من اجراء العدوى وهي اصفرار في قمم الاوراق وتحولها الى اللون البني المحمر وتبدء من الافرع السفلية القريبة من منطقة التاج متجهة للقمة الى حين موت الشتلة ويتبين من تجربة ذبول الافرع ان راشح مزرعة الفطر *P.herbarum* أكثر سمية من الفطرين الاخرين ومن اختبار الفقد المائي تبين ان مقدار الفقد للفطريات الثلاثة زاد بزيادة تركيز راشح الفطر وفترة التعرض للراشح .

الكلمات المفتاحية: الثويا، موت الافرع، الفقد المائي

Preliminary study on die back of thuja trees

Huda Hazim Wafi AL-Taae **Ali Kareem Al-Taae**

Assist.Professor **Professor**

Plant Protection Department., College of Agriculture and Forestry, Mosul University. Iraq

Email: dr.hudataae@yahoo.com

Abstract:

Isolation results from infected Thuja trees showed the existence of *Pestalotiopsis funereal, Phoma herbarum* ,. and *Nigrospora oryzae* . ,this is the first record on the Cedar in Iraq The pathogenicity test result showed the ability of the fungi to cause yellowing and browning plant leaves starting from crown area to plant tip and causing plant death after 3 months from inoculation time . Cedar wilting branches test showed total wilting after treatment with *Phoma herbarum* culture filtrate as compared to *Pestalotiopsis* sp. and *Nigrospora oryzae* culture filtrate of three fungi had increased water loss in Cedar branches. The amount of water loss was significantly correlated with culture filtrate concentration and period of treatment.

Key words: Thuja, Die Back, Water loss

المقدمة :

تنتمي اشجار الثويا .*Thuja* sp الى العائلة السروية Curpreasaceae والتي تضم 27-30 جنس (3) ومنه الجنس .*Thuja* sp والذي يضم 5-6 انواع ثلاثة منها موطنهم شرق اسيا وهم *T. koraiensis* ، *T. standishii*و *T. sutchuenensis* ونوعين موطنهم الاصلي امريكا وهما *T. plicata* و *T. occidentalis* (7) والاخير اهم نوع بالعالم وفي العراق يعرف هذا النوع بالثويا الشرقية *Thuja orentalis* وتدعى اشجار الثويا Arborvitaes والتي تعني باللاتيني شجرة الحياة او تعرف thujas او Cedar ومحليا تعرف بالعفص (15) . تصاب الشجيرات بالكثير من الامراض حيث سجل مرض لفحة الاوراق Leaf Blight على النوع *T. plicata* الذي يسببه الفطر *Didyma scellathujina* (14). كما سجل مرض لفحة الساق Shoot Blight الذي يسببه الفطر *Pestalotiopsis funereal* على النوع *T. occidentalis* حيث يرتبط وجود هذا الفطر مع لفحة القمة tip blight والموت الرجعي للأغصان وتقرحات الساق (13) ، وسجل الفطر *Pestalotiopsis sp.* لأول مرة في تركيا على الثويا الشرقية (10) وسجل ايضا الفطر *Pestalotiopsis funereal* على الثويا الغربية *T. occidentalis* (Sinclair & Lyon، 2005) وسجل الفطر *Phytophthora lateralis* لأول مرة على الثويا الغربية (12) وفي الهند سجل لاول مرة مرض ذبول الافرع على الثويا الشرقية الذي يسببه الفطر *Fusarium oxysporum* (11). ونظراً لندرة الدراسات عن امراض اشجار الثويا بالعراق عامة ومحافظة نينوى خاصة ولزيادة زراعة اشجار الثويا وشتلاتها بكثرة في الاونة الاخيرة في الطرق والمنتزهات لذا ارتأينا القيام بدراسة مرض موت افرع الثويا وتناولت الدراسة عزل وتشخيص المسببات المرضية لمرض موت افرع الثويا واختبار القدرة الامراضية مع اجراء الاختبارات السمية المتضمنة اختبار ذبول الافرع وتقدير فقد الماء .

المواد وطرائق العمل:

العزل والتشخيص

جلبت افرع من اشجار و شتلات الثويا المصابة التي تظهر عليها اعراض مرضية من محطة بستنة نينوى ومن الاشجار المزروعة في طرق وحدائق جامعة الموصل ، غسلت العينات بالماء الجاري لمدة ساعة لإزالة الاتربة العالقة بها وقطعت الى قطع صغيرة وعقمت باستخدام محلول هايبوكلورايت الصوديوم 1% لمدة دقيقة ونقلت الى ماء مقطر ومعقم لمدة دقيقتين وجففت بوضعها بين ورقتي ترشيح لتجفيفها ثم نقلت الاجزاء الى طبق بتري قطر 9 سم يحوي على وسط اجارالبطاطا والديكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) المعقم بجهاز الاوتوكليف Autoclave والمدعم بالمضاد الحيوي كلورامفينوكول Chloromphenical بمعدل 150 ملغم/لتر قبل تصلبه، ثم وضعت القطع في الطبق بواقع 4 قطع/ طبق وحضنت بالحاضنة لمدة اسبوع على درجة حرارة 25±2 درجة مئوية، ونقي الفطر بنقل جزء صغير من طرف الخيط الفطري النامي بتقنية Hyphyal tip method من مستعمرة الفطر الى طبق يحوي وسط غذائي ،ثم فحصت وشخصت الفطريات حسب المفتاح

التصنيفي لكل فطر وتم تاكيد التشخيص من قبل أ.د. سمير /جامعة زاخو/كلية العلوم . حفظت عزلات الفطريات المنقاة في انابيب اختبار تحتوي على وسط PDA وبدرجة 4 سيليزية لغرض استخدامها في الاختبارات اللاحقة.

اختبار القدرة الأمراضية :

اختبرت القدرة الأمراضية للفطريات المعزولة (في الظلة التابعة لقسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل) بعد تهيئة الشتلات السليمة بعمر سنة ونصف الى سنتين في سنادين سعة 5 كغم والحاوية على تربة سبق تعقيمها بمادة الفورمالين بتركيز 1 % وتم تحديد 4 افرع من كل شتلة ، لقحت الشتلات بمعلق بوغي للفطريات الممرضة وثبت التركيز ($10x1^6$) باستخدام شريحة العد Haemo cytometer واجريت العدوى الصناعية بإزالة نهايات الاوراق و رش المعلق على الشتلات بواقع 10 مل / فرع، اما معاملة المقارنة فقد رشت بالماء المقطر المعقم فقط ، وتركت النباتات لحين ظهور اعراض الاصابة عليها ، تم إعادة العزل تحقيقا لفرضيات كوخ.

اختبار ذبول الافرع :

حضر الوسط الغذائي السائل البطاطا والديكستروز Potato Dextrose Broth (PD) ، ووزع في دوارق مخروطية الشكل سعة 250 مل وبواقع 100مل / دورق، عقم الوسط الغذائي بجهاز الاوتوكليف في درجة حرارة 121 م^5 وضغط جوي 1.5 كغم / سم 2 ولمدة 20دقيقة، تركت الدوارق تبرد ودعم الوسط بالمضاد الحيوي كلورامفينوكول Chloromphenical بمعدل 150ملغم/ لتر لمنع نمو البكتريا ولقح كل دورق بقرص قطر 0,5 سم ماخوذ من مستعمرات الفطريات المعزولة والمنماة على الوسط الغذائي PDA بعمر 7 أيام، وحضنت الدوارق عند درجة حرارة 25±2 درجة مئوية لمدة 7 ايام ، ثم رشح الوسط باستخدام اوراق ترشيح معقمة نوع Whatman No. 10 ، وبعد ذلك اخضع الراشح لعملية تعقيم باستعمال Millipore filter ذو قطر 0,22 مايكروميتر، ووزع الراشح في انابيب الاختبار بواقع 10 مل / انبوبة، اما معاملة المقارنة فقد استخدم وسط زرعي سائل معقم واستخدمت معاملة المقارنة السلبية وتمثلت بماء مقطر معقم فقط ، ووضعت بكافة أنابيب التجربة افرع سليمة بطول 15 سم من اشجار الثويا واخذت النتائج بملاحظة اعراض الذبول على الافرع.

تقدير الفقد في الماء :

اخذت افرع سليمة طولها 15 سم من شجيرات الثويا ووضعت في انابيب تحتوي على 10 مل من راشح الفطريات وبتراكيز مختلفة (صفر، 25، 50، 75، 100%) وسدت فوهات الانابيب، ووضعت الانابيب في المختبر تحت ضوء الفلورسنت لإفساح المجال لحدوث عملية النتح وامتصاص الماء من قبل الافرع ثم اكمل النقص في الانابيب بالماء المقطر بعد (24 و48 و72 و96) ساعة وكان حجم الماء المضاف لكل انبوبة

بحجم الماء الممتص من قبل الافرع اما معاملة المقارنة فوضع في الانابيب ماء مقطر معقم، نفذت التجربة بواقع ثلاث أفرع تمثل ثلاث مكررات لكل تركيز من راشح مزرعة الفطر.

النتائج والمناقشة :

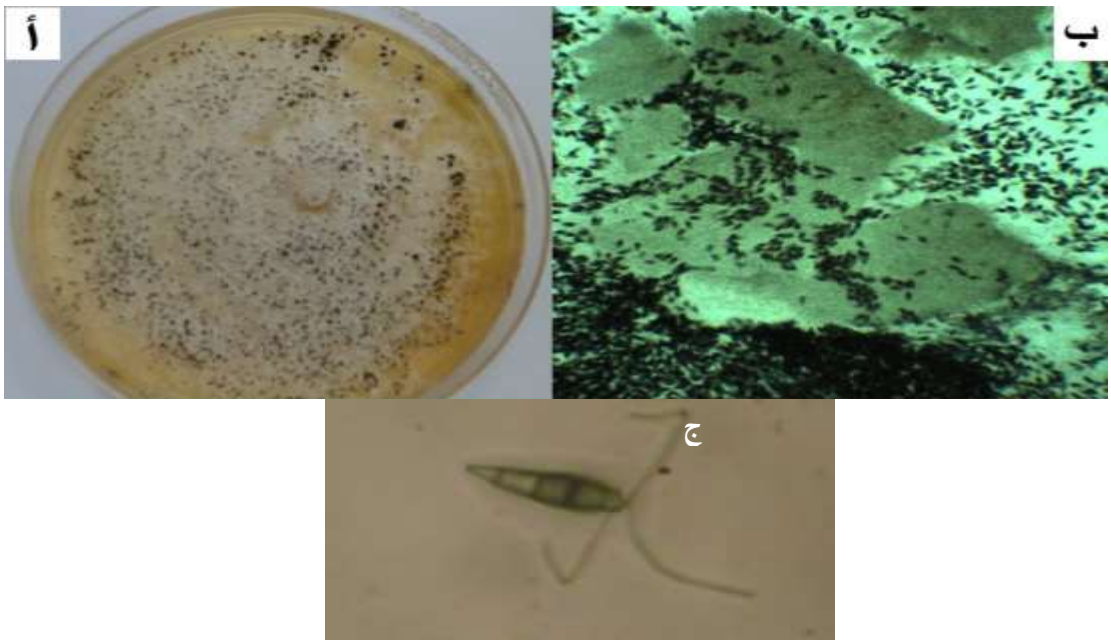
العزل والتشخيص :

اظهرت نتائج العزل من افرع اشجار وشتلات الثويا المصابة والتي ظهرت عليها اعراض الموت التراجعي للافرع الى ظهور العديد من الفطريات ومنها:

Pestalotiopsis funereal , Phoma herbarum , Nigrospora oryzae

الفطر *Pestalotiopsis funereal* :

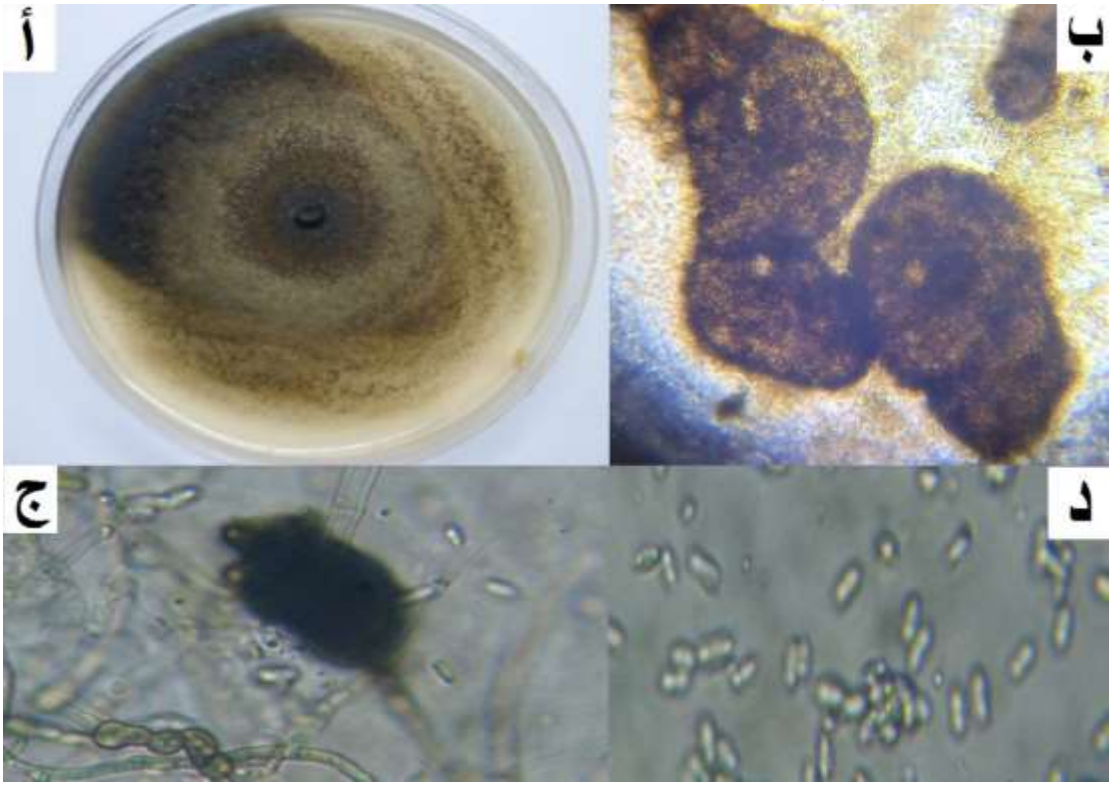
ظهرت مستعمراته على الوسط الغذائي PDA بشكل نمو ابيض قطني بعد خمسة ايام من التحضين على درجة حرارة 25±2 م° ،والغزل الفطري مقسم ،وكانت الابواغ بعد 10 ايام موزعة بشكل نقاط متناثرة سوداء اللون ، والابواغ مغزلية الشكل مكونة من 5 خلايا تفصلها حواجز مستعرضة مع تخصر بسيط عند الحاجز المستعرض، وتبرز من الخلية القمية ثلاث شعيرات او زوائد، وزائدة مفردة من الخلية القاعدية، وتكون الخلية الوسطية غامقة اللون والخلية القمية والقاعدية عديمة اللون واصغر من الخلايا الوسطية وكما مبين بالشكل (1) ، ويبلغ طول الابواغ الكونيدية (25,6 x 5,6) مايكروميتر وهذه الصفات تطابقت مع المواصفات التي ذكرها (10) ويعد التسجيل الاولي للفطر على الثويا في العراق حيث لا توجد إشارة إلى إصابتها بهذا الفطر في العراق (8 و 9).والفطر يتبع قسم الفطريات الكيسية صف Sordariomycetes رتبة Xylariales وعائلة Sporocadaceae



الشكل 1 : الفطر *P. funereal*. أ. المستعمرة الفطرية على الوسط الغذائي PDA ب- الحافظة الكونيدية ج،الابواغ المغزلية

الفطر (Westend) *Phoma herbarum*:

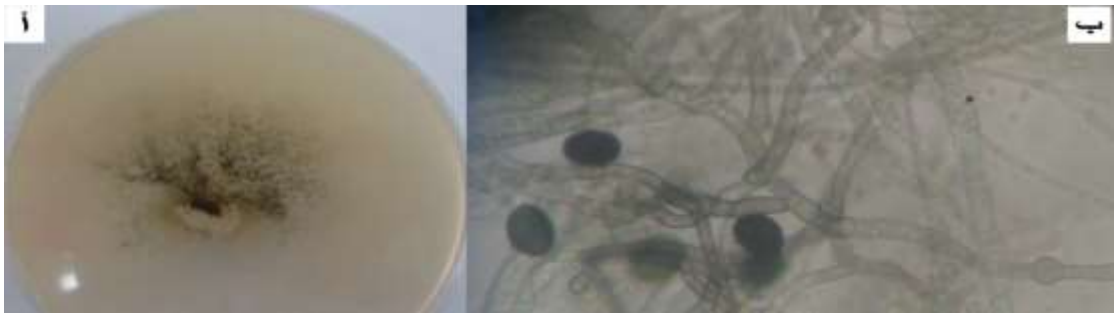
تميزت مستعمراته على الوسط الغذائي PDA بلون اخضر زيتوني الى بني غامق او اسود ، والغزل الفطري مقسم بحواجز مستعرضة وتميز الفطر بتكوينه ابواغ بكنيدية بكثرة وتظهر بلون اسود على الوسط الغذائي وكانت ابعاد الكونيدة 4 × 3 وهي تتراوح بين (3.5- 8 × 1.5- 3 ماكروميتر) وهي كروية او قارورية او محدبة من الجهتين بشكل يشبه حبة العدس، والكونيدة ملساء الجدران او قد تحوي على شعيرات بسيطة وتحوي البكنيدة على فتحة Ostiole تخرج منها الابواغ البكنيدية وتظهر بشكل متطاول وهي عديمة اللون مكونة من خلية واحدة، ويكون الفطر كلاميدوسبور Clamodospore متثخن الجدار وداكن اللون (الشكل 2) وهذه الصفات المذكورة تتطابق مع الصفات التي ذكرها (4).



الشكل2: الفطر *P. herbarum* أ- المستعمرة الفطرية على الوسط الغذائي PDA ب- الفتحات البكنيدية ج- كلاميدوسبور د- ابواغ بكنيدية

الفطر Petch (Berk. Br.) *Nigrospora oryzae*:

ظهرت مستعمراته على الوسط الغذائي PDA باللون ابيض ويتحول الى اللون البني وتظهر الابواغ الكونيدية في نهاية الحامل الكونيدي بشكل كروي او شبه كروي، وهي احادية الخلية وذات لون اسود غامق (الشكل 3) وكانت ابعادها 11,3× 15,3 مايكروميتر ، وتتفق هذه النتيجة مع ماذكره (16) ويعد التشخيص الاولي للفطر على الثويا في العراق حيث لا توجد إشارة إلى إصابتها بهذا الفطر في العراق (8 و 9).



الشكل 3: الفطر *N. oryzae* أ- مستعمرة الفطر على PDA ب- الغزل الفطري مع الحافظة الكونيدية.

إختبار القدرة الامراضية :

ظهرت اولى الاعراض على شتلات الثويا المعداة في البيت البلاستيكي بعد شهر واحد من إجراء العدوى الصناعية وهي اصفرار في قمم الاوراق ثم تتحول للون البني المحمر وتبدأ اولاً من الافرع السفلية القريبة من منطقة التاج . متجهة للقمة الى حين موت الشتلة ، وقد اعيد العزل للفطريات الثلاثة من النباتات المصابة صناعيا تحقيقا لفرضيات كوخ.

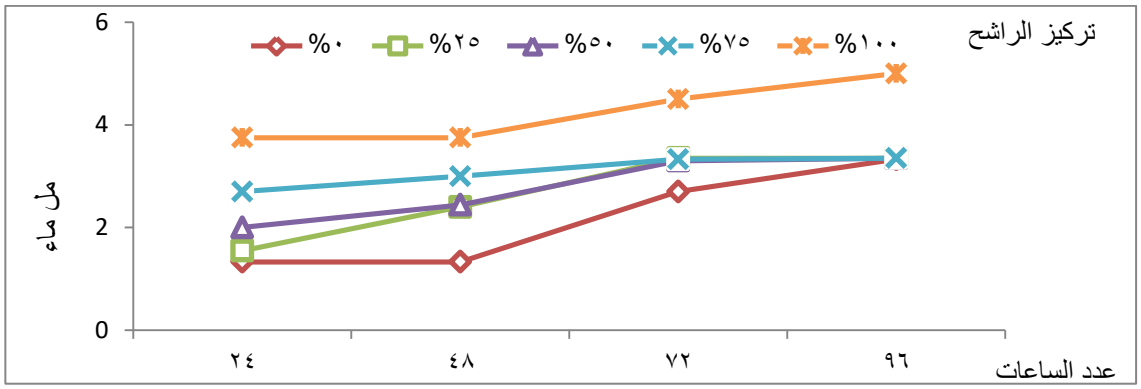
إختبار ذبول الافرع :

يتبين من تجربة ذبول الافرع ظهور الاعراض على الافرع الموضوعة في راشح مزرعة الفطر *P. herbarum* ، وبعد ثلاث ايام حيث بدأت باحمرار في قمم الاوراق وزادت الاعراض بزيادة فترة التعرض لراشح الفطر، وفي اليوم السادس بدأت الافرع بالالتواء مع ظهور اعراض الذبول وانتهت الى جفاف الافرع في اليوم السابع من المعاملة، اما معاملة المقارنة فان الافرع الموضوعة في الماء المقطر المعقم فقط فلم تظهر عليها أي اعراض ذبول او موت افرع، وكانت الاعراض مماثلة للفطر *P.funereal , N.oryzae* لكن بدات اعراض الذبول والتواء الافرع بعد اليوم الرابع للفطر *P. funereal* وفي اليوم الثامن للفطر *N.oryzae* وكما يظهر بدايات الاحمرار للافرع.

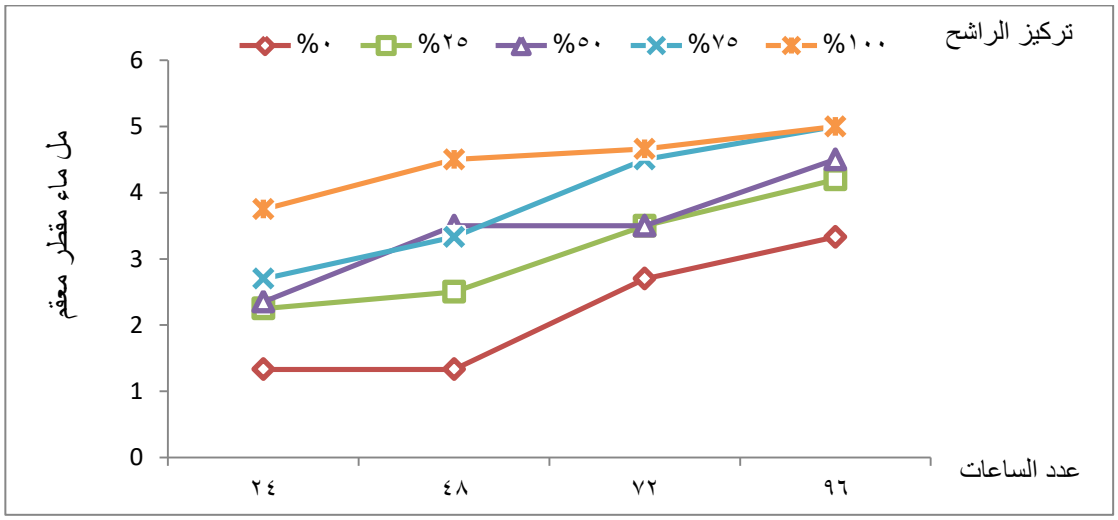
تقدير الفقد في الماء

اظهرت نتائج تجربة الفقد في الماء ان مقدار الفقد في الماء للفطريات الثلاثة زاد بزيادة فترة التعريض وتركيز راشح الفطر، اذ بلغ مقدار الفقد عند المعاملة براشح مزرعة الفطر *P.funereal* 3.75مل عند تركيز 100% وذلك بعد 24 ساعة من التعرض للراشح، في حين بلغ مقدار الفقد في معاملة المقارنة 1.33 مل ، وبعد 96 ساعة كان معدل الفقد في الماء 5 مل في حين بلغت معاملة المقارنة 3.33 مل (الشكل 4)،بينما وصل معدل الفقد 3.76 مل عند تركيز100% مع راشح الفطر *P. herbarum* وذلك بعد 24 ساعة من التعرض للراشح اما معاملة المقارنة فكانت 1.33 مل، وزاد بزيادة فترة التعريض حيث بلغ بعد 96 ساعة 5 مل والمقارنة 3.33 مل (الشكل 5)، بينما بلغ مقدار الفقد مع راشح مزرعة الفطر *N. oryzae* عند التركيز نفسه بعد 24 ساعة الى 2.33 مل ومعاملة المقارنة كانت 1.33 مل وبعد 96 ساعة وصل معدل الفقد الى

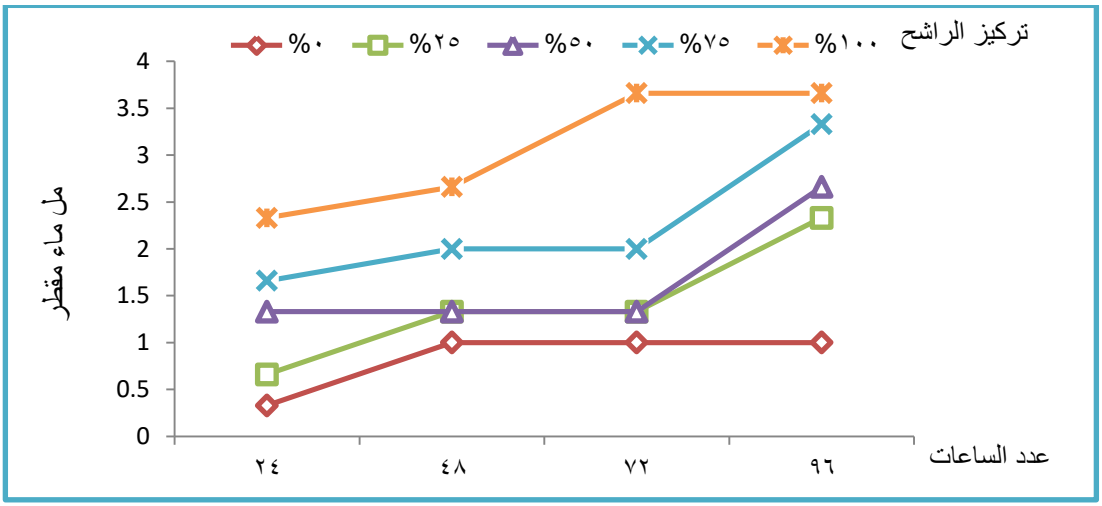
4.0 مل عند تركيز 100% وفي معاملة المقارنة 1.33 مل (الشكل 6). واتفقت النتائج مع (1و2) وقد يرجع السبب في ذلك نتيجة للسموم التي تكونها الفطريات والتي تؤثر على عملية النتح بصورة مباشرة او غير مباشرة وعلى الخلايا الحارسة للثغور مما تؤدي الى موت الخلايا الحارسة وتبقى الثغور مفتوحة فتؤدي الى زيادة الفقد في الماء وذلك ما اشار اليه (6) ، والتي تؤثر على هرمون Abscisic acid (ABA) التي يفرزه النبات عند التعرض الى اجهاد نتيجة السموم الفطرية . حيث ذكر (5) ان السموم الفطرية توثر على (ABA) في انسجة النبات.



الشكل 4: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من راشح مزرع الفطر *P.funereal* في مقدار الفقد الماء في الأفرع المقطوعة.



الشكل 5: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من راشح مزرع الفطر *P. herbarum* في مقدار الفقد الماء في الأفرع



الشكل 6: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من راشح مزرع الفطر *N. oryzae* في مقدار الفقد الماء في الأفرع

References:

1. **Al-Dabbagh, N.A.(2012)** Study on *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crouss & Slippers on Cypress in Mosul. Msc.Thesis, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Forestry, University of Mosul.
2. **Al- Murad, N.Y.and Ibrahimm,B.Y. (2006)** The biological effect of the filtration of some fungi on seeds. *Journal of Education and Science*, 18,3: 44-56.
3. **Amit, J.;Abhinav,K.; Deepali,M. and Mastanaiah,K. (2011)** Review / Pharmacological Activity of PlatycladusOrieantalis, *International Research Journal of Pharmacy* 2(11), 58-61.
4. **Boerema,G.H.;deGrnyter,J.;Noordeloos, M.E .and Hamers.M.E.C. (2004)** Phoma identifiction manual:Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture, CABI publishing.
5. **Gény,L.; Deytieux,C.and Donéche,B.(2004)** Important of Hormonal Profile on the Onset of Ripening in Grape Berries of *Vits Vinifera* L. ISHS Acta Horticulturae ,International Postharvest Symposium.
6. **Kramer, P. J. (1984)** Problems in water relations of plants and cell. In: International Review of cytology., (Ed.): P.J. Kramer. P. 254-286.
7. **LePage, B. A. (2003)** A new species of thuja (Cupressaceae) from the late Cretaceous Alaska: implications of being evergreen in polar environment. *American Journal of Botany*, Vol. 90 no. 2:167-174.
8. **Mathur, R.S (1968)** The Fungi And Plant Diseases Of Iraq . Baghdad , Ministry of Agriculture , 90 pp.
9. **Mustafa, F. H (1974)** Alist Of The Common Plant Diseases In Iraq. (Bull. 74). Min Agric. And Agrar. Reform, Republic of Iraq.

10. **Ozan, S.; Kurbetli,I.; Değirmenci,K and Tülek,S.(2012)** First report of leaf blight of arborvitae (Thuja orientalis) caused by Pestalotiopsis sp. In Turkey,*New Disease Reports* 25,14.
11. **Raghavendra ,V.B. ;Sunayana,N.; Govindappa,M.; Mahadesh Prasad,A.J. ;Girisha,S.T.and Lokesh,S. (2007)** First report of Fusarium oxysporum causing Fusarium wilt on Thuja orientalis in india .*Australasian Plant Disease Notes*, 2,87-88.
12. **Schlenzig ,A.,Campbell,R. and Mulholland,V.(2011)** Thuja occidentalis : anew host for Phytophthora lateralis . *New Disease Reports* , 24:8.
13. **Sinclair, W.A.and Lyon,H.H.(2005)** Diseases of Trees and Shrubs.Ithaca,Ny. 2nd edition. Cornell University press.
14. **Sinclair , W. A.; Lyon,H.H. and Johnson,W.T. (1987)** Diseases of Treesand Shrubs . Ithaca , NY: Cornell University Press.
15. **Srivastava ,P. ;Kumar,P ; Singh,D.K. and Singh,V.K. (2012)** Biological Properties of Thuja Orientalis Linn. *Advances in Life Sciences*, 2(2):17-20.
16. **Zhang, L.X.;Li,S.S. ; Tan,G.J. ; Shen,J.T. and He,T. (2012)** First report of Nigrospora oryzae causing Leaf Spot of Cotton in China. *The American Phytopathological Society Journal* 96 (9):1379.