تحديد السلالات الفيزيولوجية لعزلات من الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* المسبب لمرض ذبول البندورة/الطماطم في البيوت المحمية في الساحل السوري

علي صبيح[1]*، وفاء شومان[2]، محمد مطر[3] وقصي الرحية[1]

(1) مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، اللاذقية، سورية؛ (2) مركز التقانات الحيوية، جامعة اللاذقية، اللاذقية، سورية؛

(3) كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

*البريد الإلكتروني للباحث المراسل: ali_sbeeh@hotmail.com

الملخص

صبيح، علي، وفاء شومان، محمد مطر وقصي الرحية. 2025. تحديد السلالات الفيزيولوجية لعزلات من الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* المسبب لمرض ذبول البندورة/الطماطم في البيوت المحمية في الساحل السوري. مجلة وقاية النبات العربية، 43(1):54–61. https://doi.org/10.22268/AJPP-001283

هدف البحث إلى تحديد السلالات الفيزيولوجية للفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* المسبب لذبول البندورة/الطماطم في البيوت المحمية في الساحل السوري. أُجريت مسوحات حقلية في البيوت المحمية في محافظتي اللاذقية وطرطوس خلال موسمي 2019–2020، جمعت خلالها عينات بندورة/طماطم مصابة بالذبول في أطوار متقدمة من عمر النبات. تمّ عزل الفطر الممرض من سوق النباتات المريضة، وحُدّد نوع الفطر وفقاً للمواصفات المزرعية والمجهرية لمستعمراته. تمّ التأكد من القدرة الإمراضية للعزلات على هجينٍ قابل للإصابة، وتمّ تحديد السلالات الفيزيولوجية بواسطة اختبار التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR) لمجين (DNA) عزلات الفطر باستخدام بادئات متخصصة (SP13 و SP23). أظهرت النتائج أن جميع العزلات المدروسة تنتمي للسلالة 1 فقط، ووفقاً للمعلومات المتوفرة، يعدّ هذا التسجيل الأول لهذه السلالة في الساحل السوري.

كلمات مفتاحية: سلالات فيزيولوجية، ذبول فيوزاريومي، بندورة/طماطم، بيوت محمية، الساحل السوري.

المقدمة

تعدّ البندورة/الطماطم (*Solanum lycopersicum* L.) من أهم محاصيل الخضار عالمياً، فهي تحتل المرتبة الثانية بعد البطاطا/البطاطس، وتحتوي ثمارها على عديد من الفيتامينات والأملاح المعدنية، ولها استخدامات طبية وغذائية متعددة (Heuvelink, 2005). تُزرع البندورة/الطماطم في سورية في الحقول المكشوفة والبيوت المحمية، وقد بلغت مساحة الحقول المزروعة بها عام 2020 حوالي 14,458 هكتاراً، أنتجت 780,617 طناً من الثمار، وبلغ عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة/بالطماطم في العام ذاته 97,547 بيتاً، وأنتجت 487,735 طناً من الثمار، تركز معظمها في محافظات طرطوس (87,562 بيتاً) واللاذقية (8,031 بيتاً) وحمص (1,953 بيتاً) (المجموعة الإحصائية السورية، 2020).

تصاب البندورة/الطماطم بعديد من الأمراض المتسببة عن كائنات حيّة مختلفة، وتتباين أهميتها وحجم الخسائر التي تسببها من منطقة إلى أخرى بحسب الظروف البيئية السائدة والأصناف المزروعة. ويعدّ مرض ذبول الفيوزاريوم على البندورة/الطماطم المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen (FOL) من أهم هذه الأمراض وأكثرها خطورة، وبخاصة تحت ظروف البيوت المحمية، إذ يؤدي إلى ضعف النبات وموته، ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة في مناطق انتشاره بحدود 30–40% (Murthy *et al*., 2009؛ Balaž *et al*., 2009)، وقد تصل إلى 80% من المحصول عند الإصابة الشديدة (McGrath *et al*., 1987)، وبخاصة عند وجود الأصناف القابلة للإصابة والظروف الملائمة لانتشاره. كما أن الفطر الممرض يستوطن التربة لفترة زمنية طويلة، ويشكل خطراً على نجاح زراعة البندورة/الطماطم في العالم (Jones *et al*., 1991). كما أنّ هذا المرض عالمي الانتشار، حيث سجل على البندورة/الطماطم في 32 بلداً حول العالم، وتزداد خطورته في البلدان الدافئة والحارة (Mohammed, 1990).

https://doi.org/10.22268/AJPP-001283
© 2025 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

يعرف للفطر ثلاث سلالات فيزيولوجية مسجلة حتى الآن، فقد تم تسجيل السلالة 1 عام 1886 (Booth, 1971) والسلالة 2 في أوهايو عام 1945 (Alexander & Tucker, 1945) والسلالة 3 في استراليا عام 1978 (Grattidge & O'Brien, 1982). تنتشر السلالتان 1 و 2 بشكل واسع حول العالم، بينما تنتشر السلالة 3 في مناطق محددة كاستراليا والولايات المتحدة الأمريكية ونيوزيلاندا والمملكة المتحدة والمكسيك والبرازيل (Gale *et al*., 2003؛ Reis *et al*., 2005).

يتم تحديد سلالات الفطر عن طريق الإعداء الاصطناعي لأصناف تفريقية تحمل مورثات مقاومة محددة لكل سلالة، أو باستخدام المؤشرات الجزيئية، حيث يتم مضاعفة قطعة محددة من DNA من خلال التفاعل التسلسلي للبوليميراز (PCR) باستخدام بادئات متخصصة بكل سلالة. وتعدّ هذه الطريقة أكثر دقةً وتحتاج إلى جهدٍ أقل، بالإضافة إلى سرعة الحصول على النتائج (Balogun, 2007؛ Do Amaral *et al*., 2013).

أوجد Arie & Hirano (2006) في اليابان بادئاتٍ متخصصة لتحديد سلالات الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* بالاعتماد على الاختلاف بينها في تتالي النكليوتيدات في المورثة المسؤولة عن الأنزيم Polygalacturonase، الذي يساعد الفطر على اختراق جدار الخلية النباتية، والتي صممت منها بادئات متخصصة، حيث ينتج زوج البادئات SP13 قطعة DNA بطول 445 زوجٍ قاعدي (bp) عند السلالتين 1 و 3، بينما يعطي زوج البادئات SP23 قطعةً بطول 518 زوجٍ قاعدي عند السلالتين 2 و 3، ويمكن أن تنتج بعض العزلات غير الممرضة قطعة DNA بطول 445 أو 518 زوجٍ قاعدي.

استُخدم زوجا البادئات المذكورين آنفاً لتحديد السلالات الفطرية المنتشرة في تركيا، حيث سُجّل وجود السلالتين 2 و 3 فقط في عينات البندورة/الطماطم المدروسة في ولايتي أنتاليا وألانيا في جنوب غرب تركيا (Baysal *et al*., 2009)، في حين أشارت النتائج إلى انتشارٍ كبير للسلالة 3 تلتها السلالة 2 بنسبةٍ أقل ثم السلالة 1 بنسبةٍ خفيفة (عزلة واحدة من أصل 87 عزلة مختبرة) في جنوب تركيا (أضنة ومرسين) بالإضافة إلى وجود إصابةٍ كبيرة بتعفن التاج والجذور المتسبب عن الفطر *Fusarium* (Colak & Bicici, 2013). كما استُخدم هذان الزوجان من البادئات أيضاً لتحديد سلالات الفطر في كل من تشيلي والبرازيل حيث سجل وجود السلالة 3 في تشيلي وإصابة بتعفن التاج والجذور المتسبب عن الفطر *Fusarium* في كلا البلدين (Cabral *et al*., 2020؛ Sepúlveda -Chavera *et al*., 2014).

وفي الجزائر، سُجّل وجود السلالتين 2 و 3، في حين لم يلحظ وجود السلالة 1 (Debbi *et al*., 2018). وفي العراق، سُجّلت السلالتان 1 و 3 باستخدام الأصناف التفريقية (مرجان والجنابي، 2015) كما سُجل وجود السلالتين 1 و 2 فقط في الأردن (الخطيب، 2004).

أما في سورية فلا توجد حتى الآن دراسات لتحديد السلالات الفيزيولوجية للفطر ومناطق انتشارها، لذلك فقد هدف هذا البحث إلى تحديد السلالات الفيزيولوجية للفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* المسبب لذبول البندورة/الطماطم في البيوت المحمية في الساحل السوري.

مواد البحث وطرائقه

المسح الحقلي

نُفّذت جولات حقلية خلال الفترة 2019–2020 لرصد انتشار مرض الذبول الفيوزاريومي في المواقع الرئيسة لزراعة البندورة/الطماطم المحمية في الساحل السوري (سهل عكار، يحمور، بانياس والقدموس في محافظة طرطوس ومنطقة جبلة في محافظة اللاذقية). جُمعت عينات من سوق النباتات التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بالذبول (اصفرار الأوراق السفلى في جهة واحدة من النبات المصاب وامتداد الاصفرار والذبول إلى الأعلى، وتلون الأوعية الناقلة بالبني وهو العرض المميز للإصابة) من مختلف الهجن المزروعة في مواقع المسح المستهدفة.

وضعت العينات في أكياس بلاستيكية أرفق كل منها باستمارة استبيان تضمنت اسم المنطقة، الموقع، اسم الهجين، عمر النبات، طريقة الري، مصدر البذار وتاريخ الجمع، ونُقلت إلى مختبر الأمراض الفطرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، وحفظت في البراد إلى حين عزل الممرض منها.

عزل الفطر

غسلت العينات جيداً بالماء الجاري وأجريت فيها مقاطع عرضية وطولية لرصد تلون الأوعية الناقلة في السوق المصابة، وأخذت منها قطع صغيرة قطرها 0.5 سم من المناطق التي ظهر فيها اللون البني على ارتفاع 20–40 سم، عُقّمت بهيبوكلوريت الصوديوم تركيز 1% لمدة 2–3 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجُففت بين ورقتي ترشيح معقم.

نُقلت العينات إلى أطباق بتري تحتوي على المستنبت الغذائي بطاطا/بطاطس دكستروز آغار (PDA) المعقم والمدعم بالمضاد الحيوي ريفامبيسين بتركيز 100 مغ/ليتر، ثم حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1°س لمدة 5 أيام حيث تمّ الحصول على مستعمرات الفطر.

تمّت تنقية الفطر عدة مرات بطريقة البوغ المفرد (Single spore) وطرف الهيفا (Hyphal tip) في أطباق جديدة تحتوي على المستنبت ذاته (مطر، 2012).

تحديد المسبب المرضي

تمّ تحديد نوع الفطر الممرض وفقاً للمواصفات المزرعية والمجهرية للمستعمرات الفطرية (لون المستعمرة وطبيعة نمو الغزل الفطري، شكل الأبواغ والحوامل البوغية وأبعادها، وجود الأبواغ الكونيدية الصغيرة (Microconidia) والكونيدية الكبيرة (Macroconidia) والكلاميدية (Chlamydospores) حسب المراجع المتخصصة (Booth, 1977؛ Nelson *et al*., 1983).

اختيار العزلات الفطرية واستخلاص الحمض النووي DNA الفطر

تمّ اختيار عشرين عزلة من الفطر FOL من نباتات مصابة من هجن البندورة/الطماطم الأكثر انتشاراً في البيوت المحمية في المناطق الرئيسة لزراعتها في الساحل السوري (سهل عكار، بانياس، القدموس وجبلة)، ضمّت الهجن المقاومة والمطعمة على أصول برية مقاومة للذبول، والهجن ذات الصفات التسويقية الجيدة المرغوبة لدى المزارعين، لإجراء الدراسة الجزيئية عليها بهدف تحديد السلالات المنتشرة فيها (جدول 1). تمّ استخلاص .DNA الفطر بطريقة الـ CTAB وفقاً لما نشر سابقاً (Doyle & Doyle, 1990)، حيث تمّ كشط حوالي 150 مغ من الغزل الفطري لعزلات الفطر FOL الفتية بواسطة شفرة معقمة ووضعت في الهاون، ثم أضيف إليها 1 مل من سائل الاستخلاص CTAB حرراته 60°س وطحنت جيداً، ثم نُقل المزيج إلى أنبوب ابندورف سعة 2 مل ووضع في حمام مائي حرارته 60°س لمدة ساعة مع التقليب كل 5 دقائق. أُخرجت العينات من الحمام المائي ووضعت عدّة ثوانٍ في الثلج لتخفيض درجة حرارتها، ثم أضيف إليها 1 مل من مزيج كلوروفورم (Chloroform) : كحول إيزواميل (Isoamyl alcohol) بنسبة 1:24 وتمّ مزجه مع العينة لمدة 10 دقائق. نُقلت العينات إلى المثقلة (جهاز الطرد المركزي) لفصل الوسط المائي (الحاوي على DNA) عن الوسط العضوي من خلال التثقيل بسرعة 4,000 دورة/د لمدة 10 دقائق. نُقل بعد ذلك الوسط المائي بواسطة ماصة دقيقة إلى أنابيب معقمة، وأضيف إليه 3/2 من حجمه إيزوبروبانول بارد وتمّ خلطه برفق حتى تشكلت خيوط .DNA. استبعد الإيزوبروبانول من خلال عملية التثقيل بسرعة 10,000 دورة/د، لمدة عشر دقائق، عند حرارة 4°س، ثم غُسل DNA المترسب بكحول إتيلي 70% لمرتين متتاليتين. بعد تمام جفاف DNA هوائياً، أذيب في حجم 100 ميكروليتر من الماء المقطر والمعقم، وتم اختبار نوعية DNA وتقدير تركيزه على هلامة آجاروز تركيز 1%. تم توحيد تركيز DNA لجميع العزلات بإضافة ماء مقطر معقم للوصول إلى تركيز 5 نانوغرام/ميكروليتر.

جدول 1. عزلات FOL المدروسة وأسماء هجن البندورة/الطماطم ومناطق جمع العينات

Table 1. FOL isolates studied, the name of tomato hybrids used and the collection site.

رقم العزلة Isolate number	هجين البندورة/الطماطم Tomato hybrid		الموقع التي أخذت منه العينة Samples collection site		المحافظة The governorate
2	مندلون	Mandaloun	قيبارو	Kebaro	اللاذقية	Latakia
3	دومنا	Doumna	وادي السقي	Wady alsaki	طرطوس	Tartous
10	أستونا	Astouna	سيانو	Syano	اللاذقية	Latakia
12	بستونا	Bastouna	دوير الخطيب	Doyr alkhateeb	اللاذقية	Latakia
15	أستونا	Astouna	القلوع	Alklou	طرطوس	Tartous
19	يسرا	Yosra	سوكاس	Soukas	اللاذقية	Latakia
26	بستونا	Bastouna	الدروك	Aldrouk	طرطوس	Tartous
27	مطعَم	Grafted	الدروك	Aldrouk	طرطوس	Tartous
28	مندلون	Mandaloun	دير البشل	Der albeshel	طرطوس	Tartous
29	مندلون	Mandaloun	دير البشل	Der albeshel	طرطوس	Tartous
31	بستونا	Bastouna	يحمور	Yahmour	طرطوس	Tartous
32	سيدرا	Seidra	الزناتي	Alzanaty	طرطوس	Tartous
33	آغن	Agen	الزناتي	Alzanaty	طرطوس	Tartous
37	مندلون	Mandaloun	رأس العين	Ras alein	اللاذقية	Latakia
42	يسرا	Yosra	العيدية	Alaedie	اللاذقية	Latakia
44	باستيلا	Bastella	رأس العين	Ras alein	اللاذقية	Latakia
54	باستيلا	Bastella	العيدية	Alaedie	اللاذقية	Latakia
58	باستيلا	Bastella	العيدية	Alaedie	اللاذقية	Latakia
71	ناتاشا	Natasha	متن الساحل	Matn alsahel	طرطوس	Tartous
72	مندلون	Mandaloun	الزيادية العليا	Alziadei aloulia	طرطوس	Tartous

التحليل الجزيئي لـ DNA العزلات المختلفة

أجري التحليل باستخدام زوجي البادئات SP13 و SP23 (جدول 2) وتم التفاعل بحجم 20 ميكروليتر. خضعت العينات لبرنامج PCR وفق الآتي: دورة واحدة لفصل سلسلتي DNA عند حرارة 94°س لمدة 4 دقائق؛ ثم 45 دورة، شملت كل دورة مرحلة فصل سلاسل (DNA Denaturation) عند حرارة 94°س لمدة 45 ثانية، ثم التحام البادئة بالـ DNA القالب (Annealing) عند حرارة 54°س لمدة 45 ثانية ثم الاستطالة (Elongation) عند حرارة 72°س لمدة 60 ثانية؛ ودورة واحدة للمرحلة النهائية عند حرارة 72°س لمدة 5 دقائق (Hirano & Arie, 2006).

حُملت نواتج التفاعل على هلامة ذات تركيز 2% آجاروز، بوجود سلم جزيئي 100 زوج قاعدي، وأجري الرحلان الكهربائي بتيار 100 فولت لمدة ساعة، ثم صبغت الهلامة ببروميد الإيثيديوم لمدة نصف ساعة، وتمّ التصوير بجهاز الأشعة فوق البنفسجية.

جدول 2. البادئات المستخدمة في التحليل الجزيئي وتركيبها النكليوتيدي
Table 2. Primer sets used in the molecular analysis and their sequence.

البادئات Primers	التتالي النكليوتيدي للبادئات The primer sequences
SP13-f	5'- GTCAGTCCATTGGCTCTCTC- 3'
SP13-r	5'- TCCTTGACACCATCACAGAG-3'
SP23-f	5'- CCTCCTGTCTTTGTCTCACGA-3'
SP23-r	5'- GCAACAGGTCGTGGGGAAAA-3'

اختبار القدرة الإمراضية للعزلات المدروسة

تم اختبار القدرة الإمراضية لعزلات الفطر (جدول 1)، عن طريق الإعداء الاصطناعي لهجيني بندورة/طماطم أحدهما قابل للإصابة بالذبول الفيوزرايومي (هدى) وآخر مقاوم (مندلون). تمّت العدوى بنقع جذور الشتول المختبرة لكلا الهجينين في معلق بوغي لكل عزلة مختبرة بتركيز 1×10^6 بوغ/مل لمدة عشر دقائق، ثم زرعت في أصص تحتوي خلطة معقمة مكونة من تربة زراعية وتورب بنسبة 1:1 (حجم/حجم). وضعت الأصص في مكان تتوفر فيه الظروف المناسبة في مختبر أمراض النبات في مركز البحوث الزراعية، بوقا، اللاذقية، بواقع ثلاثة مكررات وأربعة نباتات في كل مكرر لكل عزلة (نبات في كل اصيص) من الهجينين المختبرين، مع وجود شاهد غير معدى بالفطر لكل منهما، وتمّ الري بشكل دوري حسب الحاجة. أخذت القراءات بعد شهر من العدوى (Chopada *et al*., 2014). وتمّ حساب نسبة الإصابة من المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الإصابة (\%)} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة بالذبول}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$$

وتمّ تقييم شدة الإصابة بالذبول حسب سلم تقييس 0–4، حيث 0= النبات سليم ولا توجد أعراض، 1= إصابة ضعيفة، أعراض الذبول تظهر على 1–10% من أوراق النبات، 2= إصابة متوسطة، أعراض الذبول تظهر على 11–25% من أوراق النبات، 3= إصابة شديدة، أعراض الذبول تظهر على 26–50% من أوراق النبات، 4= إصابة شديدة جداً، أعراض الذبول تظهر على أكثر من 50% من أوراق النبات، أو موت النبات، مع تلون واضح في الأوعية الناقلة في الجذر والساق (مطر، 2012). ووفقا لذلك، تمّ تقدير مؤشر شدة الإصابة (DI) % حسب المعادلة التالية (McKinney, 1923):

$$DI = \sum(axb)\times100/NxK$$

حيث a= عدد النباتات المصابة في كل درجة إصابة، b= درجة شدة الإصابة حسب سلم القياس، N= عدد النباتات الكلي في كل مكرر، K= أعلى درجة إصابة في السلم (4).

النتائج والمناقشة

تحديد الممرض

أظهرت نتائج دراسة الخصائص الشكلية لعزلات الفطر الممرض المعزولة من الأوعية الناقلة لساق نباتات البندورة/الطماطم، أن جميع عزلات الفطر نمت بشكل جيد على مستنبت PDA، عند حرارة 25°س. غطى الفطر كامل سطح الطبق خلال ثمانية أيام من تاريخ التحضين، وكان لون المستعمرة أبيض مشوباً باللون البنفسجي أو الوردي في جميع العزلات. شكّل الفطر أبواغاً كونيدية صغيرة وحيدة أو ثنائية الخلية، بيضوية عصوية– إهليلجية، مستقيمة أو منحنية الشكل وغير ملونة، أبعادها 5.6–9.8 × 2.9–3.4 ميكرومتر، تتوضع على حوامل بوغية أحادية قصيرة، وأبواغاً كونيدية كبيرة متطاولة مستقيمة غالباً وأحياناً منحنية، غير ملونة، نهايتها مقوسة والخلية القدمية مميزة في مكان اتصالها بالحامل الكونيدي، ومقسمة بـ 3–5 حواجز أبعادها 12.9–40.7 × 3.1–5.6 ميكرومتر (n=50). الأبواغ الكلاميدية كروية مفردة أو ثنائية، بينية أو طرفية قطرها 5.7–11.1 ميكرومتر، ويتفق ذلك مع مواصفات الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*، حسب المراجع المتخصصة (Booth, 1977؛ Nelson *et al*., 1983).

تحديد السلالات الفيزيولوجية للفطر

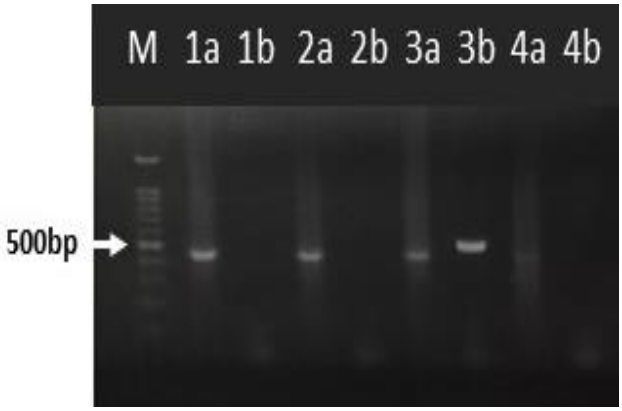
أظهرت نتائج التحاليل الجزيئية باستخدام زوجي البادئات النوعية التي تسمح بتمييز السلالات الفيزيولوجية الثلاثة للفطر وجود قطع من DNA في جميع العزلات المختبرة (شكل 1).

تميزت تسع عشرة عزلة فطرية بإعطاء قطعة واحدة من DNA بوزن جزيئي قدره 445 زوج قاعدي باستخدام زوج البادئات SP13 ولم ينتج أية قطعة باستخدام زوج البادئات SP23، مشيرة بذلك لانتماء هذه العزلات للسلالة الفيزيولوجية 1.

بينت النتائج أن العزلة 37 أعطت قطعة من DNA بطول 445 زوج قاعدي باستخدام زوج البادئات SP13، وقطعة بطول 518 زوج قاعدي باستخدام زوج البادئات SP23 (العينة 3a و 3b في الشكل 1)، مما يشير إلى انتماء هذه العزلة إما للسلالة الفيزيولوجية 3، أو أنها عزلة غير ممرضة حسب المرجع (Hirano & Arie, 2006).

كما أظهرت نتائج العدوى الاصطناعية لهجيني البندورة/الطماطم (هدى ومندلون) أن جميع العزلات المنتمية إلى السلالة 1 لم تتمكن من إصابة الهجين المقاوم مندلون بينما أصابت الهجين هدى القابل للإصابة فقط وتراوح مؤشر شدة الإصابة بين 25 و 100%، ولم تظهر العزلة 37 أعراض إصابة على كلا الهجينين المختبرين (جدول 3)، ويعني ذلك أن هذه العزلة غير ممرضة للنبات، ويتوافق ذلك مع نتائج دراسة Cai *et al.* (2003) في كاليفورنيا التي أشارت إلى وجود عزلتين غير ممرضتين للنبات مترافقتين مع مجموعة العزلات الممرضة التي جُمعت من نباتات البندورة/الطماطم المصابة بالذبول، وتوافقهما مع بعض العزلات الممرضة في التركيب الوراثي ومجموعة التوافق الخضري (Vegetative compatibility group)، كما تتفق مع نتائج دراسة أجراها Joshi *et al.* (2013) والتي بيّنت إمكانية الحصول على عزلات غير ممرضة من الفطر *Fusarium oxysporum* من نباتات لا تظهر عليها أعراض مرضية، وتستطيع بعض تلك العزلات منافسة العزلات الممرضة على المكان، وتخفيض شدّة المرض وبالتالي يمكن استخدامها كعوامل مكافحة أحيائية.

إن تفاعل العزلة 37 غير الممرضة مع زوجي البادئات المخصصين لتحديد السلالة 3 يدل على تشابه تركيبها الوراثي مع عزلات تلك السلالة، وقد عزى بعض الباحثين التشابه الوراثي بين العزلات غير الممرضة والعزلات الممرضة عند FOL لانحدارها من سلف واحد (Elias, 1989). وقد تتحول السلالة غير الممرضة إلى سلالة ممرضة عن طريق انتقال المورثة المسؤولة عن الشراسة، والمحمولة على صبغي قصير، من السلالات الممرضة إليها، بشرط انتسابها إلى مجموعة التوافق الخضري نفسها والذي يتمّ عن طريق الاندماج السيتوبلاسمي، حيث أن الطور الجنسي للفطر *Fusarium oxysporum* لم يكتشف بعد (Joshi *et al.*, 2013؛ Elias, 1989).



شكل 1. تحليل DNA لأربع عزلات الفطر باستخدام زوجي البادئات SP13 و SP23، وعلى هلامة بتركيز 2% آجاروز. العينات 1a، 2a، 3a و 4a تم تحليلها بزوج البادئات Sp13، والعينات 1b، 2b، 3b و 4b تم تحليلها بزوج البادئات SP23. M= سلم الوزن الجزيئي 100 زوج قاعدي.

Figure 1. DNA analysis of four *Fusarium* isolates by two primer sets SP13 and SP23 on 2% agarose gel. Samples 1a, 2a, 3a and 4a were analysed by the primer pair SP13, and samples 1b, 2b, 3b and 4b analysed by the primer pair SP 23. M: Molecular weight ladder of 100 bp.

تبّين من هذه الدراسة أن جميع العزلات التي تمّ اختبارها من الساحل السوري تنتمي للسلالة 1 باستثناء عزلة واحدة كانت غير ممرضة، ولم يُسجل وجود السلالتين 2 و3 في مناطق الدراسة.

وتجدر الإشارة إلى أن السلالة 1 في هذه الدراسة قد لوحظت في مناطق جغرافية متباعدة على امتداد الساحل السوري (جبلة، بانياس، القدموس وسهل عكار في كل من محافظتي اللاذقية وطرطوس)، وعلى هُجن متنوعة شملت مندلون، دومنا، أستونا، بستونا، باستيلا، يسرا، سيدرا، آغن، ناتاشا ومطعم، ولم يلاحظ وجود السلالتين 2 و 3 في جميع هذه المناطق، على الرغم من وجود هذه السلالات في بعض دول الجوار، حيث سُجل وجود السلالات الثلاث في تركيا، وكانت السلالة 1 هي الأقل انتشاراً (Colak & Bicici, 2013؛ Baysal *et al.*, 2009)، بينما سجل وجود السلالتين 1 و 3 في العراق (مرجان والجنابي، 2015)، والسلالتين 1 و 2 في الأردن (الخطيب، 2004)، مما يشير إلى اختلاف توزع السلالات في البلدان المجاورة مقارنة بما هو موجود في الساحل السوري.

ووفقاً للمعلومات المتوفرة فإن هذه الدراسة تعدّ الأولى التي تتطرق إلى تحديد السلالات الفيزيولوجية للفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* المسبب للذبول الفيوزاريومي على البندورة/الطماطم في سورية، وهو التسجيل الأول للسلالة 1 في الساحل السوري.

جدول 3. نسبة ومؤشر شدة الإصابة بالذبول (%) لهجيني البندورة/الطماطم المختبرين هدى ومندلون نتيجة العدوى بالعزلات الفطرية المدروسة.
Table 3. The wilt disease incidence and index (%) of the two tested tomato hybrids Houda and Mandaloun by infection with different FOL isolates.

مؤشر شدة الإصابة بالذبول للهجين (%) Wilt disease severity index of hybrid (%)		نسبة الإصابة بالذبول للهجين (%) Wilt disease incidence of hybrid (%)		رقم العزلة
Mandaloun مندلون	Houda هدى	Mandaloun مندلون	Houda هدى	Isolate number
0	50.00	0	100	2
0	50.00	0	75	3
0	58.33	0	75	10
0	25.00	0	33	12
0	83.33	0	100	15
0	83.33	0	100	19
0	83.33	0	100	26
0	91.66	0	100	27
0	58.33	0	66	28
0	75.00	0	100	29
0	83.33	0	100	31
0	91.66	0	100	32
0	25.00	0	33	33
0	0.00	0	0	37
0	50.00	0	75	42
0	75.00	0	100	44
0	58.33	0	75	54
0	75.00	0	100	58
0	25.00	0	50	71
0	100.00	0	100	72

Abstract

Sbieh, A., W. Choumane, M. Matar and Q. Al-Rhayeh. 2025. Identification of Physiological Races for *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Causing Tomato *Fusarium* Wilt in Greenhouses Along the Syrian Coast. Arab Journal of Plant Protection, 43(1):54-61. https://doi.org/10.22268/AJPP-001283

This study aimed to identify the physiological races of the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), the causal agent of tomato *Fusarium* wilt, in greenhouses along the Syrian coast. The greenhouses in Latakia and Tartous governorates were surveyed during the period 2019-2020. The wilted tomato plant samples were collected during the late stage of plant growth. The pathogenic fungus was isolated from infected plant stems, and the causal agent species was identified according to colony and microscopic characteristics. The pathogenicity of the isolates was confirmed on a susceptible tomato hybrid. The physiological races were identified by the polymerase chain reaction (PCR) analysis of fungus DNA using specific primer sets (SP13 and SP23). The results obtained showed that all isolates belonged to race 1, and based on our knowledge, this is the first report of FOL race 1 along the Syrian coast.

Keywords: Physiological races, Fusarium wilt, tomato, greenhouses, Syrian coast.

Affiliation of authors: *A. Sbieh[1], W. Choumane[2], M. Matar[3] and Q. Al-Rhayeh[1]. (1) Agricultural Scientific Research Center, Latakia, Syria; (2) Biotechnology Center, University of Latakia, Latakia, Syria; (3) Faculty of Agricultural Engineering, University of Tishreen, Latakia, Syria. [*]Email address of the corresponding author: ali_sbeeh@hotmail.com*

References

المراجع

[Syrian statistical collection. *2020. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Statistics Department, Damascus, Syria. (In Arabic)].*

مرجان، علي وجواد الجنابي. 2015. تشخيص عزلات الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* وتقييم إمراضيتها تجاه الأصناف التفريقية لنبات الطماطم. مجلة جامعة بابل، 23(3):1236-1250.

[Morjan, A. and J. El-Genabi. *2015. Identification of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici isolates and determination of their pathogenicity on differential*

الخطيب، محمد طالب. 2004. تحديد ودراسة سلالات فطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* على البندورة في الأردن. رسالة دكتوراه، الجامعة الأردنية، عمان، الأردن. 118 صفحة.

[Al-Khatib, M.T. *2004. Determination and Characterization of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici Races in Jordan. PhD Thesis. University of Jordan, Amman, Jordan. 118 pp. (In Arabic)].*

المجموعة الإحصائية السورية. 2020. وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دائرة الإحصاء، دمشق، سورية.

and a biocontrol strategy with indigenous *Trichoderma* spp. Frontiers in Microbiology, 9:1-11. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00282

do Amaral, D.O., C. De Almeida and C. Malafia. 2013. Identification of race 1,2 and 3 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by molecular markers. African Journal of Microbiology Research, 7(20):2324-2331. https://doi.org/10.5897/AJMR12.2234

Doyle, J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12(1):13-15.

Elias, K. 1989. Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and non-pathogenic strain of *F. oxysporum* and an isozyme analysis of pathogenic populations. Ph.D. thesis, Louisiana State University, 89 pp.

Gale, L.R., T. Katan and H.C. Kistler. 2003. The probable center of origin of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* VCG 0033. Plant Disease. 87(12):1433-1440. https://doi.org/10.1094/pdis.2003.87.12.1433

Grattidge, R. and R.G. O'Brien. 1982. Occurrence of a third race of *Fusarium* wilt of tomatoes in Queensland. Plant Disease, 79:990-993. https://doi.org/10.1094/PD-66-165

Heuvelink, E. 2005. Tomatoes. Crop production science in Horticulture 13. Wageningen University, Wageningen. 339 pp.

Hirano, Y. and T. Arie. 2006. PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of General Plant Pathology, 72:273-283. https://doi.org/10.1007/s10327-006-0287-7

Jones, J.B., J.P. Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter. 1991. Compendium of tomato disease, 1st edition. The American Phytopathological Society, 100 pp.

Joshi, M., S. Rashmi, A. Sharma and P. Anil. 2013. Isolation and characterization of *Fusarium oxysporum*, a wilt fungus for its pathogenic and non-pathogenic nature in tomato (*Solanum lycopersicum*). Journal of Applied and Natural Science, 5(1):108-117. https://doi.org/10.31018/jans.v5i1.290

McGrath, D.J., D. Gillespie and L. Vawdrey. 1987. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 and race 3 in *Lycopersicon pennellii*. Australian Journal of Agricultural Research, 38(4):729-733. https://doi.org/10.1071/AR9870729

McKinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agricultural Research, 26:195-217.

Mohammed, B. 1990. *Fusarium* wilt or "Yellows" of tomato. University of Illinois at Urbania, RPD No. 929.

Murthy, D.S., M. Sudha, M.R. Hegde and V. Dakshinamoorthy. 2009. Technical efficiency and its determinants in tomato production in Karnataka, India: data envelopment analysis (DEA) Approach. Agricultural Economics Research Review, 22(2):215-224. https://doi.org/10.22004/ag.econ.57399

tomato hosts. Journal of Babel University, 23(3):1236-1250. (In Arabic)].

مطر، محمد. 2012. فاعلية بعض مبيدات الفطور الكيميائية والحيوية في مكافحة الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* المسبب لمرض ذبول البندورة. مجلة جامعة تشرين، سلسلة العلوم البيولوجية، 34(4):57-76.

***[Matar, M.** 2012. Effe*ctiveness of some chemical and biological fungicides in the control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici, the causal agent of tomato wilt. Tishreen University Journal, Biological Sciences Series, 34(4):57-76. (In Arabic)].*

Alexander, L.G. and C.M. Tucker. 1945. Physiologic specialization in tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of Agricultural Research, 70:301-303.

Balaž, F., V. Stojšin, S. Jasnic, D. Indic, F. Bagi and D. Budakov. 2009. The most important fungal diseases in greenhouse production. Plant Doctor, 37(5):468-492.

Balogun, O.S. 2007. Comparison of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* races 1,2 and 3 and f.sp. *radicis lycopersici* based on the sequence of fragments of the ribosomal DNA intergenic spacer region. Biokemistri, 19(1):1-8.

Baysal, O., M. Siragosa, H. Ikten, I. Polat, E. Gumrukcu, F. Yigit, F. Carimi and J.A. Teixeira da Silva. 2009. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races and their genetic discrimination by molecular markers in West Mediterranean region of Turkey. Physiological and Molecular Plant Pathology, 74(1):68-75. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2009.09.008

Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 237 pp.

Booth, C. 1977. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 58 pp.

Cabral, C.S., A.M. Gonçalves., M.E.N. Fonseca., A.F. Urben, H. Costa, V. Lourenço Jr., L.S. Boiteux and A. Reis. 2020. First detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis–lycopersici* across major tomato–producing regions in Brazil. Phytoparasitica, 48:545-553. https://doi.org/10.1007/s12600-020-00824-5

Cai, G., L.R. Gale, R.W. Schneider, H.C. Kristler, R.M. Davis and K.S. Elias. 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* at a site in California. Phytopathology, 93:1014-1022. https://doi.org/10.1094/phyto.2003.93.8.1014

Chopada, G.B., P. Singh and C. Korat. 2014. Pathogenic variation among *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolates and varietal screening of tomato against wilt under south Gujarat, India. The Bioscan, 9(1):351-354.

Colak, A. and M. Bicici. 2013. PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and races of *Fusarium 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(4):457-467. https://doi.org/10.3906/tar-1203-71

Debbi, A., H. Boureghda, E. Monte and R. Hermosa. 2018. Distribution and genetic variability of *Fusarium oxysporum* associated with tomato diseases in Algeria

Sepúlveda-Chavera, G., W. Huanca, R. Salvatierra-Martínez and B.A. Latorre. 2014. First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 and *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomatoes in the Azapa Valley of Chile. Plant Disease, 98(10):1432. https://doi.org/10.1094/pdis-03-14-0303-pdn

Nelson, P., T. Toussoun, and W. Marasas. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA. 193 pp.

Reis, A., H. Costa., L.S. boiteux and C.A. Lopre. 2005. First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Brazil. Fitopatolgia Brasikeira, 30(4):426-428.

Received: February 3, 2023; Accepted: November 29, 2023

تاريخ الاستلام: 2023/2/3؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2023/11/29