Physiological Studies on Growth and Reproduction of *Sclerotinia sclerotiorum* Causing White Rot on Eggplants under Laboratories Conditions

Ameer Hatem Hadi Radhi [a] **Jawad Kadhum Al – Janabi [b]**
Ahmed Kadhum Abd – Al hadi[c]

[A,c] *Technical College, Musayyib – University of Al – Furat Al - Awsat*
[b]*Department of Life Sciences, Al - Mustaqbal University College*
amer.a372@yahoo.com jka uobsci.iq@gmail.com

ARTICLE INFO
Submission date:23/5/2019
Acceptance date: 17/6/2019
Publication date: 1/9/2019

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*, physiological characteristics, fungal reproductions.

Abstract

This study was aimed A series of laboratory experiments were carried out, including the study of the physiological characteristics of the *Sclerotinia sclerotiorum*, especially the effect of type of medium, temperature, acidity and saline concentrations on the growth of the pathogen and on its production capability on reproductive structures (sclerotia).

Results showed that the type of media had a significant effect (0.05) on growth average of *S. sclerotiorum* and on its ability to produce sclerotia. The growth of the fungus was significantly higher in *Moringa oleifera* leaves medium (Mo), but substantially decreased in *Petroselinum crispum* (Pc) compared to that in PDA. In contrast, the formation of sclerotia substantially decreased in Pc medium (4 sclerotia/ plate) followed by Mo (7 sclerotia/ plate) compared with PDA (25 plate / plate). The highest rate of growth of *S. sclerotoirum* was at 20 ^{o}C on the seventh day after inoculation, followed by growth at 25 ^{o}C and at 15 ^{o}C followed by 30 ^{o}C and the lowest growth was at 35 ^{o}C. It was found that the optimum pH for growth of *S. sclerotiorum* was at 5.5, but when pH increased to 4.5 the production of sclerotia was minimized to 44%. Also, the increasing of alkalinity to 8% resulted in a decrease of fungal growth to about 84% compared to the growth at pH = 5.5.

Salt concentrations (4%, 6% and 8%) were revealed inhibitory effect on sclerotia production by *S. sclerotiorum*, but this effect negatively correlated with increasing concentration of NaCl. The results also showed reduction in their production and deformity in their shaps at 4% concentration. After this concentration, fungus failed to produce the sclerotia. It can be concluded that this study highlighted the epidemiological components of the disease, which lie mainly in the application of the disease management strategy.

Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences (JUBAS) by University of Babylon is licened under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. 2018.

دراسات فسيولوجية على نمو وتكاثر الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* مسبب العفن الأبيض على الباذنجان في الظروف المختبرية

أمـير حــاتـم هـادي راضـي*   جواد كاظم الجنابي   أحمد كاظم عبد الهادي*****

، الكليه التقنية، المسيب– جامعة الفرات الأوسط*

*** قسم علوم الحياة، كلية المستقبل– الجامعة*

الخلاصة

هدف البحث دراسة أهمية بعض الظروف الفسيولوجية على نمو الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* (مسبب العفن الأبيض على نبات الباذنجان) وأنتاجهُ للتراكيب التكاثرية (الأجسام الحجرية). إذ نفذت سلسلة من التجارب المختبرية حول الخصائص الفسيولوجية لهذا الفطر بإستعمال أنواع مختلفة من الأوساط الغذائية ودرجات الحرارة والحموضة والتراكيز الملحية.

اظهرت النتائج أن لنوع الوسط الغذائي تاثيراً معنوياً (0.05) على معدلات نمو الفطر *S. sclerotiorum* وعلى قدرتهُ في تكوين الأجسام الحجرية، إذ أزداد نمو الفطر الممرض معنوياً في وسط أوراق المورنكا *Moringa oleifera* (Mo) لكنه انخفض معنويا في وسط المعدنوس *Petroselinum crispum*(Pc) بالمقارنة مع الوسط PDA. وفي المقابل فان تكوين الأجسام الحجرية تضاءلت معنويا في وسط Pc لتصل الى ٤ جسم حجري/ طبق تلاه الوسط Mo (٧ جسم حجري/ طبق) بالمقارنة مع الوسط PDA (٢٥ جسم حجري/طبق). وبلغ اعلى معدل لنمو الممرض على وسط PDA في اليوم السابع على درجة حرارة ٢٠ مْ ، تلاها النمو على درجة حرارة ٢٥ مْ ثم ١٥ مْ وياتي بعدها ٣٠ مْ واقلها نموا على درجة حرارة ٣٥ مْ . كما ان مستوى الحموضة المثالي لنمو هذا الفطر هو 5.5، في حين انخفض تكوين الأجسام الحجرية بنسبة ٤٤% عند مستوى الحموضة 4.5 ومع أرتفاع قاعدية الوسط الى ٨ أنخفض أعداد الأجسام الحجرية المنتجة بنسبة ٨٤% بالمقارنة مع النمو على pH = 5.5.

ان التراكيز الملحية (NaCl) ٤% و٦% و٨% كانت مثبطة لانتاج الأجسام الحجرية وتناقصت إعدادها وتشوهت اشكالها عند التركيز ٤% وبعد هذا التركيز فشل الفطر الممرض في انتاج الأجسام الحجرية. نستنتج ان هذه الدراسة قد سلطت الضوء على عناصر الوبائية لهذا المرض والتي تكمن اساسا في تطبيق استراتيجية ادارة المرض.

الكلمات الدالة: الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* ، الخصائص الفسيولوجية، التراكيب التكاثرية.

المقدمة

الباذنجان (eggplant) *Solanum melongena L.* ينتمي الى العائلة الباذنجانية (Solanaceae) ويعد أحد اهم محاصيل الخضر إذ يحضى بأهمية اقتصادية كبيرة في جميع أنحاء العالم ، ويزرع بشكل رئيسي في المناطق شبه الاستوائية الآسيوية (٩٤ ٪ من الإنتاج العالمي). سمي بلقب "ملك الخضروات" وفقا لمنظمة الأغذية والزراعة الدولية التابعة للأمم المتحدة [١] وهو نبات حولي يحتاج الى جو دافيء للنمو. وحسب تقرير F.A.O [٢] فان الصين تنتج 18 مليون طن من الباذنجان تاتي بعدها الهند 8.4 مليون طن ثم بقية الدول خاصة مصر 1.2 مليون طن وتركيا 813 طن وإندونوسيا 389 الف طن والعراق 380 الف طن واليابان 371 الف طن وايطاليا 321 الف طن والسودان 230 الف طن. يُزرع هذا المحصول في العراق في الحقول المكشوفة والمغطاة للإستفادة من ثمارهٌ التي تستعمل لأغراض الطبخ والتخليل والتعليب [٣].فضلاً عن فوائدها الطبية لمرض السكر والربو وألام الجهاز البولي وخفض نسبة الكولسترول في الدم [٣]. تشير الإحصائيات إلى إن الأراضي المزروعة بالباذنجان (الحقول المكشوفة) في العراق عام 2010 بلغت 67444 دونم وبإنتاجية 5.744 طن / دونم، في حين بلغت إنتاجية هذا المحصول في الزراعة المحمية في العراق 112640 طن وعلى مساحة تقدر 15147 دونماً [٤].على الرغم من النجاحات التي تحققت في زراعة هذا المحصول في العراق الا ان زراعته مازالت تكتنفها صعوبات عديدة أهمها ارتفاع نسب الإصابة التي تحدثها المسببات المرضية الفطرية والبكتيرية والديدان الثعبانية وغيرها من المسببات المرضية ولا سيما تلك التي تصيب المجموع الخضري كالعفن الابيض والرمادي والبياض الدقيقي والزغبي وغيرها [٥]. وتكون بعضاً من هذه الامراض مدمرة للمحصول وياتي مرض العفن الأبيض أحد اهم الأمراض التي يتعرض لها نبات الباذنجان في الحقول المحمية الذي يسببه الفطر*Sclerotina sclerotiorum*. تظهر الاصابة على اوراق وثمار وسيقان نباتات الباذنجان وتختلف شدة الاصابة حسب الظروف البيئية والتي تبدو على هيئة بقع مائية غائرة تميل من اللون الشفاف الى اللون البني الغامق يرافق ذلك ذبول جزئي وظهور غزل فطري قطني مع تواجد أجسام حجرية سوداء غير منتظمة الشكل في داخل الساق او على التقرحات التي تنتشر على الساق والتي تشير الى علامات الاصابة بالممرض [٦]. وهناك تغاير كبير في شكل الأجسام الحجرية المنتجة من قبل الفطر *S. sclerotiorum* على أوساط مختلفة [٧]. تتباين الأجسام الحجرية في الحجم والشكل من

جنس لأخر، ومن نوع لآخر ضمن الجنس نفسه وتلعب دوراً مهماً في مدة بقاء الفطر في التربة وكذلك في مستوى انتشاره [٨]. تمتلك الأجسام الحجرية القدرة على الانبات حتى بعد تعرضها لمدة طويلة للظروف غير الملائمة في التربة ويمكن ان تبقى في التربة لسنوات عديدة قد تصل الى أكثر من (10) سنوات [٩].

لذلك جرت عدة محاولات للسيطرة على الفطر*S. sclerotiorum* من خلال الوسائل البيولوجية اذ يمكن أن تكون المكافحة البيولوجية بديلاً ناجحًا للمواد الكيميائية. خاصة ان العديد من أنواع الفطريات تمتلك خصائص تضادية عالية ضد الفطريات الممرضة [١٠]، كبعض أنواع الفطر *Trichoderma spp*[١١]. ان للعوامل الفسيولوجية دورا هاما في النمو وانتاج الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* خاصة الحرارة ونوع الوسط الغذائي [١٢] ومع ذلك بقي التركيز على تقليل لقاح الممرض من خلال اعتماد الوسائل الفسيولوجية محدوداً ، لذلك هدف البحث الى تسليط الضوء الى تقييم أهمية بعض العوامل الفسيولوجية على قدرة الفطر *S. sclerotiorum* على النمو وانتاجهُ للقاح.

المواد وطرق العمل

العزلات الفطرية

تم الحصول على عزلة الفطر *Trichoderma harzianum* من مختبر الفطريات المتقدم/ قسم علوم الحياة– جامعة بابل ، وعزلة الفطر *Penicillium cyclopium* من مختبر أمراض النبات في الكلية التقنية/ المسيب

العزل و تشخيص الفطر الممرض *S. sclerotiorum*

جّمعت أجزاء من الجزء الأسفل لسيقان نباتات الباذنجان المزروعة في البيوت البلاسيكية والمصابة بمرض العفن الأبيض الذي يسببه الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary من مناطق مختلفة من ضواحي الحلة في أبي غرق والوردية خارج والكفل والمحاويل وسجلت الأعراض المرضية ونقلت باكياس نايلون معقمة الى مختبر الفطريات المتقدم في جامعة بابل / كلية العلوم حيث قطعت الى اجزاء صغيرة (4– 6 ملم) كما جمعت الأجسام الحجرية ، وعقمت سطحياً كل على حدة بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 1% لمدة دقيقتين وغسلت بالماء المقطر لعدة مرات وزرعت في اطباق بتري (قطر 9 سم) تحتوي على وسط غذائي PDA يحتوي على كلوروفينيكول (250 ملغم/ لتر) قبل تعقيمه بجهاز المؤصدة عند درجة حرارة 121مْ وضغط 15 باوند /انج^2 ولمدة ٢٠ دقيقه. حضنت الأطباق على درجة حرارة 22±2 مْ لحين نمو الفطر وتكوينه للأجسام الحجرية. وبعد ظهور المستعمرات أجريت عملية عزل جديدة لمستعمرات الفطر باستخدام وسط غذائي PDA جديد ومعقم للحصول على مستعمرات نقية. كررت عملية التنقية ولجميع العزلات التي ظهرت. ثم ادرجت العزلات حسب المواقع الجغرافية التي عزلت منها، (جدول ١)، وزرعت العزلات من جديد وبثلاث مكررات لكل منها وبنفس ظروف النمو والحضن السابقه [١٣] بزراعة اجسام الحجرية معقمة سطحياً وذلك بوضع جسم حجري واحد في مركز طبق بتري يحوي على وسط PDA المضاف اليه الكلورامفينيكول 250 ملغم / لتر وبعد الحضن لمدة سبعة ايام بدرجة حرارة 22±2 مْ سجلت صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري وانتاجها للأجسام الحجرية [١٤].

جدول (١): رموز عزلات الفطر *S. sclerotiorum* ومواقع جمعها

التسلسل	موقع جمع العينة	رمز العزلة
١	ابي غرق	SS1
٢	ابي غرق	SS2
٣	ابي غرق	SS3
٤	ابي غرق	SS4
٥	ابي غرق	SS5
٦	وردية خارج	SS6
٧	وردية خارج	SS7
٨	محاويل	SS8
٩	محاويل	SS9
١٠	محاويل	SS10

حفظ لقاح الفطر الممرض *S. sclerotiorum*

نميت العزلات الفطرية في أطباق بتري حاوية على وسط PDA المضاف له المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 250 ملغم/لتر وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 22 ± 2م˚ لمدة خمسة أيام. ولحفظ لقاح الفطر الممرض، صب 15 مل من الوسط PDA المعقم في أنابيب اختبار حجم 25 مل ، تركت الأنابيب بوضع مائل لحين تصلب الوسط الغذائي، لقح كل منها بقرص قطره 5 ملم أخذ من حافة مستعمرة الفطر *S. sclerotiorum* النامي على الوسط الغذائي PDA بعمر 4 أيام. كررت العملية لجميع العزلات. كما تم حفظ الأجسام الحجرية بالطريقة نفسها اعلاه وذلك بوضع جسم حجري واحد لكل انبوبة اختبار بعد نعقيمها سطحيا بدلا عن الكتلة الفطرية حضنت الأنابيب بدرجة ٢٢ ± 2م˚ لمدة 4 أيام وحفظت في الثلاجة بدرجة 4 م˚ لحين الاستعمال وعادة يتم تجديد هذه العزلات كل 30 يوم خلال مدة البحث [١٥].

أختبار القدرة الأمراضية للفطر الممرض *S. sclerotiorum* باستخدام بذور الفجل

أختبرت المقدرة الامراضية لجميع العزلات العشر للفطر الممرض *S. sclerotiorum* [١٦– [١٧] ، بتلقيح أطباق بتري بقطر 9 سم حاوية على (20-15) مل من الوسط الزرعي PDA والمضاف له المضاد الحيوي الكلورامفينكول وحسب الفقرة السابقة ، وذلك بأخذ قرص قطرهُ 5 ملم من حواف مستعمرة الفطر الممرض *S. sclerotiorum* بعمر 5 ايام وضع القرص في مركز الطبق كررت كل معاملة 3 مرات أما معاملة المقارنة كانت بدون أضافة الفطر الممرض وضعت الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 22 ±1 لمدة 2– 3 أيام (للسماح للفطر بالنمو قبل ان يصل نموه الى حافة الطبق) بعدها زرعت ببذور الفجل المحلي والمعقمة سطحياً بمحلول هايبو كلورات الصوديوم لمدة دقيقتين في محيط الطبق وأختبرت نسبة انباتها بواقع ١١ بذره / طبق بصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمسافات متساوية تقريباً. حضنت الأطباق تحت درجة حرارة 22± ٢ مْ لمدة 4 أيام بعدها حسبت النسبة المئوية للأنبات البذور وحسب المعادلة الآتية [١٨] على ضوء نتائج هذه التجربة أعتمدت فقط العزلة SS6 في جميع التجارب اللاحقة لإمراضيتها العالية.

$$\% \text{ للانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{مجموع البذور المزروعة}} \times 100 \quad \text{..... المعادلة (1) الراوجي (2005).}$$

أختبار المقدرة الإمراضية للفطر الممرض *S. sclerotiorum* باستخدام اوراق الباذنجان

جلبت دايات باذنجان صنف برشلونة بعمر شهر ونصف من مشاتل اهلية وقطفت منها اوراق متوسطة الحجم بعضها مكتمل النمو وبعضها حديثة النمو سليمة من الاصابة من منطقة الناصرية في قضاء المسيب. غسلت جيداً بالماء المقطر المعقم (5) مرات ومن ثم نشفت بورق نشاف معقم ،ونقلت الى اطباق بتري (9 سم) معقمة ونظيفة تحتوي على (10) مل من الماء المقطر المعقم. لقحت الأوراق باخذ قرص قطره (5 ملم) من مزرعة الفطر الممرض (*S. sclerotiorum*) –العزله SS6 بعمر (5) أيام باستعمال ثاقب فليني معقم ووضعه على العرق الوسطي للورقة وبمعدل (4) مكررات لكل معاملة ، أما معاملة المقارنة فكانت أوراق نبات الباذنجان بدون تلقيح بالفطر الممرض ، سجلت الأعراض المرضية بعد مرور (5) ايام من الحضن على درجة حرارة 22±2 مْ [19].

تاثير بعض العوامل الفسيولوجية على نمو الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* وعلى إنتاجه للأجسام الحجرية

تاثير نوع الوسط الغذائي

حّضرت ثلاثة أوساط غذائية اثنان منهما يمتلكان قيمه غذائية عالية [20] – [21] هما وسط المورنكا (Mo) ووسط المعدنوس (Ps) ووسط PDA وذلك باذابة ٥ غم لكل من اوراق المورنكا *Moringa oleifera* والمعدنوس *Petroselinum crispum* المجففة والمطحونه جيداً في الماء الحار المقطر كل على انفراد لحين التجانس ثم اضيف لكل منهما ٥ غم من سكر الديكستروز و3.75 غم من الأكار المذابين بالماء الساخن مع التحريك المستمر لحين تجانس الخليط وأكمل الحجم الى 1 لتر ولجميع الأوساط فضلا عن تحضير وسط PDA [22]. وزعت الأوساط في دوارق زجاجية سعة 250 مل كل على حدة ، غلقت الدوارق بسدادات من القطن المحاط برقائق الألمنيوم. عقمت الأوساط بالطريقة نفسها المشار اليها في الفقرة السابقة. صبت الاوساط الغذائية في اطباق بتري معقمة قطر 9 سم. لقحت مراكز الأطباق بقرص قطرهُ 0.8 سم أخذت من أطراف مستعمرات حديثة للفطر الممرض *S. sclerotiorum* العزله SS6 وبواقع ثلاثة مكررات لكل وسط غذائي، حضنت الأطباق على درجة حرارة 25± 2 مْ ولمدة خمسة أيام. قيست اقطار نمو المستعمرات بعد (3 و5 و7) يوم وذلك بإخذ قطرين متعامدين يمران بمركز المستعمرة الفطرية من الجهة الخلفية للطبق وتم ايقاف القياسات حال اكتمال النمو لآحد المعاملات وكذلك تم حساب العدد الكلي للأجسام الحجرية المنتجة لكل طبق بعد عشرة ايام من الحضن.

تأثير درجات الحرارة (15,20,25,30,35) مْ

لدراسة تأثير درجات الحرارة في نمو الفطر *S. sclerotiorum* ، صّب الوسط الغذائي PDA المحضر في اطباق بتري ولقح بالفطر *S. sclerotiorum* كما هو موضح في الفقرات السابقة. حضنت الأطباق على مديات حرارية هي: 15 و20 و25 و30 و35 مْ وبواقع 3 مكررات لكل مستوى حراري. قيست أقطار نمو مستعمرات العزلة SS6 بعد 3،5،7 أيام من الحضن كما هو موضح سابقا.

تاثير حموضة الوسط pH

اعتمدت في هذه التجربة ثمانية مستويات حامضية هي: 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8 لدراسة تاثير الوسط الحامضي على نمو الفطر الممرض *S. sclerotiorum* العزله SS6، وزع الوسط PDA بعد تحضيرهُ على 8 دوارق زجاجية بحجم 250 مل وبعد تعقيمها بجهاز المؤصدة عدلت الارقام الهيدروجينية للاوساط وتحت ظروف التعقيم بأضافة قطرات من حامض الهيدروكلوريك (HCL) او بأضافة قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) المركز، صبت الاوساط في أطباق بتري وبواقع ثلاثة مكررات لكل رقم هيدروجيني وبعد تصلب الوسط في الاطباق لقحت بالفطر *S. sclerotiorum* بنفس الطريقة التي ذكرت سابقا وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 22 ± 2 مْ. قيست اقطار نمو الممرض بعد مدة حضن (5 – 7) ايام ، كما تم حساب اعداد الأجسام الحجرية المنتجة في جميع المعاملات أعلاه / طبق ولكل معاملة بعد عشرة أيام من الحضن [٢٣]

تأثير تراكيز مختلفة من ملح الطعام (٢% و٤%و ٦% و٨%) على نمو الفطر *S. sclerotiorum* وعلى أعداد الأجسام الحجرية التي ينتجها

تاثير تراكيز ملح الطعام (NaCl) على النمو القطري للفطر *S. sclerotiorum*

حّضر الوسط الغذائي PDA داخل دوارق زجاجية سعة 250 مل بواقع 150 مل لكل دورق ، نفذت سلسلة من التراكيز للملح NaCl وبتراكيز من ٠ و ٢ و٤ و٦ و٨% ، بعد تعقيمها بالمؤصدة كما ذكر سابقا تركت الدوارق لتبرد وصبت في أطباق بتري قطر 9 سم ،وتم التلقيح بالفطر *S. sclerotiorum* والحضن بنفس الخطوات السابقة وبواقع 3 مكررات لكل تركيز. وقيست اقطار نمو مستعمرات الفطر الممرض بعد 4 –8 ايام من الحضن. كما تم حساب أعداد الأجسام الحجرية بعد عشرة ايام من الحضن.

حيوية الاجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* الـــمحفوظة في التربة المزيجية

تم جمع 200 جسم حجري منتجة من قبل الفطر *S. sclerotiorum* داخل اطباق بتري الزجاجية وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 1% لمدة دقيقتين ثم غسلت بعدها بالماء المقطر المعقم لعدة مرات. حضرت تربة مزيجية وجففت على درجة حرارة 60 مْ لمدة يومين ووزعت على دورقين زجاجيين سعة 500 سم^3 وعقمت في جهاز المؤصدة في ظروف التعقيم السابقة نفسها وكررت العملية ثلاث مرات. تم وضع الأجسام الحجرية على عمق ٥سم تحت سطح التربة وبواقع 100 جسم حجري لكل دورق. تركت الدوارق في ظروف المختبر لمدة 6 اشهر اعتبارا من منتصف تشرين الأول 2017 لغاية ايار 2018 بعدها اخرجت من الدوارق وعقمت سطحيا كما مر سابقا ووزعت في أطباق بتري بقطر 9 سم مجهزة بماء مقطر معقم 20 مل / طبق بواقع 20 جسم حجري لكل طبق / طبق وحضنت بدرجة حرارة 7 مْ وفي ظروف ضوء مستمر او ظلام مستمر على حدة بواقع اربعة مكررات لكل معاملة ولمدة شهرين كاملين. تم مراقبة المعاملات وأخذ القراءات التي شملت نمو الغزل الفطري او السويقات ولغاية أنتهاء التجربة.

التحليل الأحصائي للتجارب:

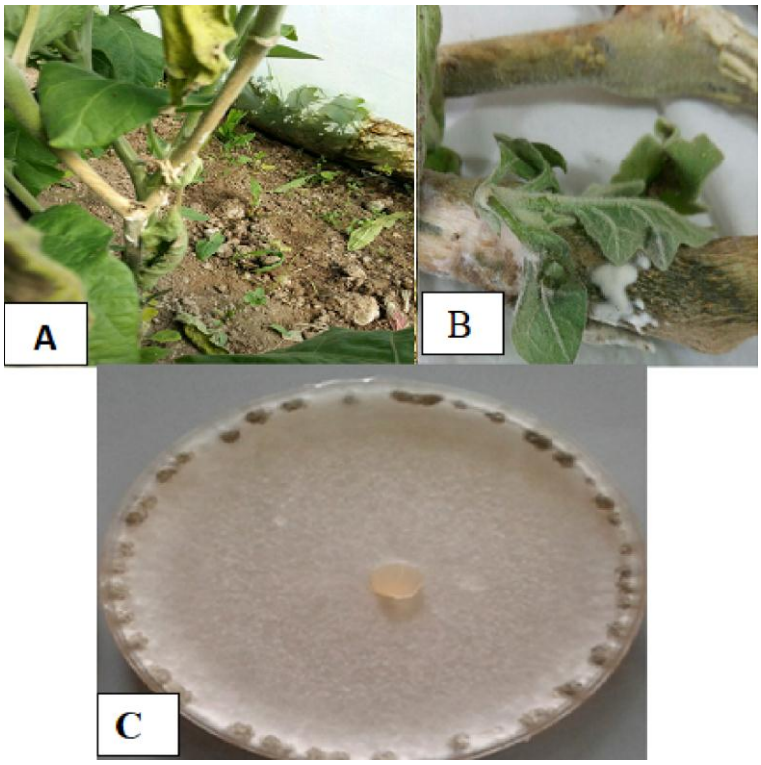
أستعمل البرنامج الأحصائي Spss21 IBM SPSS Statistics 21 ومايكروسوفت أكسل (2016) في تحليل البيانات لدراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة وفق تصميم عشوائي كاملCompletely Randomized Design (CRD) للتجارب التي تم تطبيقها في المختبر وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات بأختبار أقل فرق معنوي (Least Significant Difference(L.S.D مع اختبار دنكن.

النتائج

تشخيص الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*

تم تسجيل الاصابات بالفطر *Sclerotinia sclerotiorum* على نباتات الباذنجان في شهري كانون الأول وكانون الثاني للعام ٢٠١٧ في البيوت البلاستيكية خلال المدة السابقة للتزهير وخلال التزهير تمثلت بظهور الأعراض على الأوراق وأعناق الأوراق والسيقان لنبات الباذنجان (صورة ١:A وB). شُخص الفطر *S. sclerotiorum* اعتمادا على الأعراض المرضية على نباتات الباذنجان المصابة بالعفن الأبيض وعلى الخصائص المظهرية للفطر النامي على الوسط PDA اذ يميل لون الغزل الفطري الى الأبيض والرمادي أو البني الداكن. وينتج غزل فطري قطني ومقسم وجيد

التفرع ويغطي الغزل الفطري الطبق بالكامل بعد مدة ٥–٧ أيام من الحضن ، فضلا عن انتاجه للاجسام الحجرية على المزرعه الفطرية بعد ٧ ايام من النمو، كما اختلفت أعداد وأحجام الاجسام الحجرية وطريقة توزيعها في داخل اطباق بتري وكذلك نمط توزيعها (صورة ١).

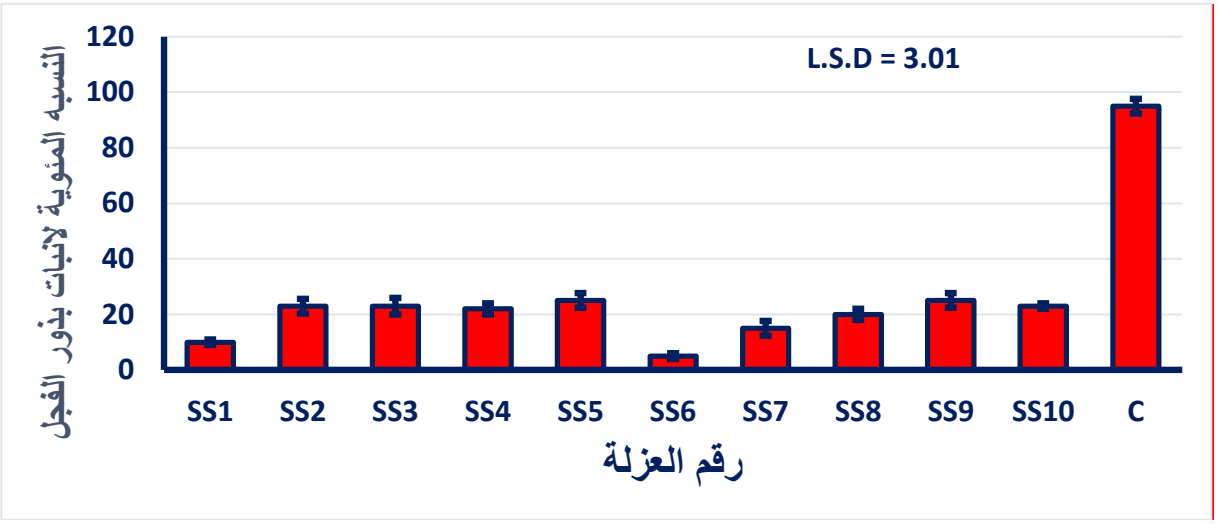


صورة (١): (A وB وC): الأعراض المرضية (A وB) لمسبب مرض العفن الأبيض على نبات الباذنجان (*S. sclerotiorum*) ومستعمرة الممرض (C) النامية على الوسط الغذائي PDA بعد ٧ أيام من الحضن على درجة حرارة ٢٢ ± ٢ مْ ويظهر الغزل الفطري بلون ابيض يميل للون الرمادي او البني مع انتاجه للأجسام الحجرية بعد اليوم السابع من الحضن.

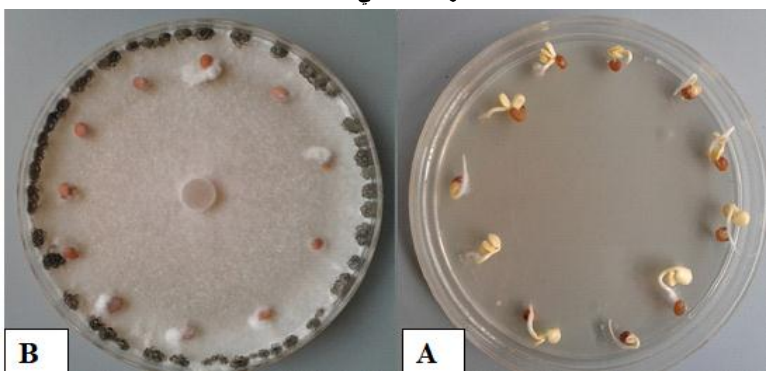
القابلية المرضية *Sclerotinia sclerotiorum*

باستخدام بذور الفجل

اظهرت النتائج وجود عشرة عزلات (شكل ١) للفطر الممرض والتي جمعت من نباتات الباذنجان من مناطق مختلفة من محافظة بابل كانت جميعها متماثلة في الخصائص المظهرية والمجهرية وبانتاجها للاجسام الحجرية على وسط ال PDA لكنها اختلفت في امراضيتها من خلال تباين قابليتها المرضية، اذ اختلفت نسبة انبات بذور الفجل التي نميت على وسط غذائي PDA بالفطر *S. sclerotiorum* معنويا (0.05) حيث تراوحت نسبة الانبات بين ٥ –٢٥ % بعد سبعة ايام من الحضن، وكانت اكثرها أمراضية هي العزلة SS6 التي خفضت نسبة انبات بذور الفجل الى ٥% في حين كانت العزلتان SS5 وSS9 أقل العزلات أمراضية حيث وصلت النسبه المئوية لانبات بذور الفجل فيها الى ٢٥%. اذ بينت النتائج ان العزلة SS6 التي تم الحصول عليها من نباتات الباذنجان في منطقة الوردية هي الأكثر امراضية (صورة ٢) ، وقد تم اختيار هذه العزلة في جميع التجارب اللاحقة.



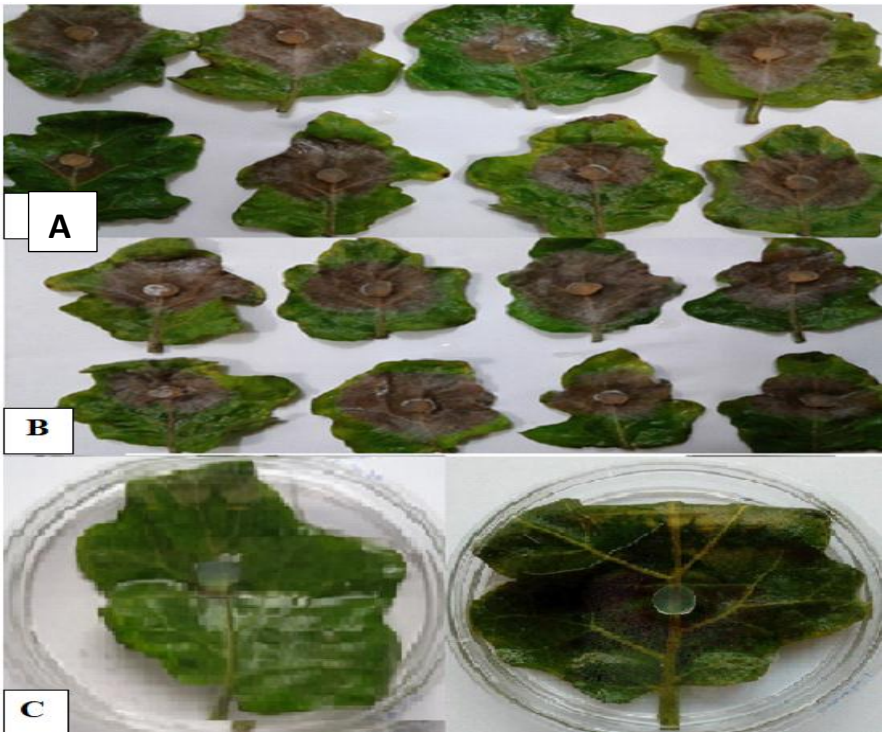
شكل ١: القابلية المرضية لعزلات الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* (من SS1 الى SS10) على بذور الفجل بعد سبعة ايام من النمو على الوسط الغذائي PDA



صورة (٢): تاثير الفطر *S. sclerotiorum* في انبات بذورالفجل (A- السيطرة و B- معامله بالفطر الممرض) والنامية على الوسط PDA بعد مدة حضن عشرة ايام على درجة حرارة ٢٥ ±٢ مْ.

باستخدام اوراق نبات الباذنجان

في ضوء نتائج الامراضية التي توضحت في الجدول ١ تم اعتماد العزلة رقم ٦ الأكثر امراضية في جميع التجارب اللاحقة. إذ بينت النتائج ان الفطر الممرض *S. sclerotiorum* الذي لقحت به اوراق الباذنجان (صورة ٣: A و B و C) قد تسبب في احداث تعفن دائري يميل للون البني المحمر في مكان ومحيط وضع اللقاح الفطري حيث تراوحت أبعاد منطقة التعفن مابين ٣-٥ سم قطراً حسب عمر الورقة. مقارنة بمعاملة السيطرة (وسط غذائي بدون الفطر الممرض) التي لم تظهر عليها اية اعراض مرضية.

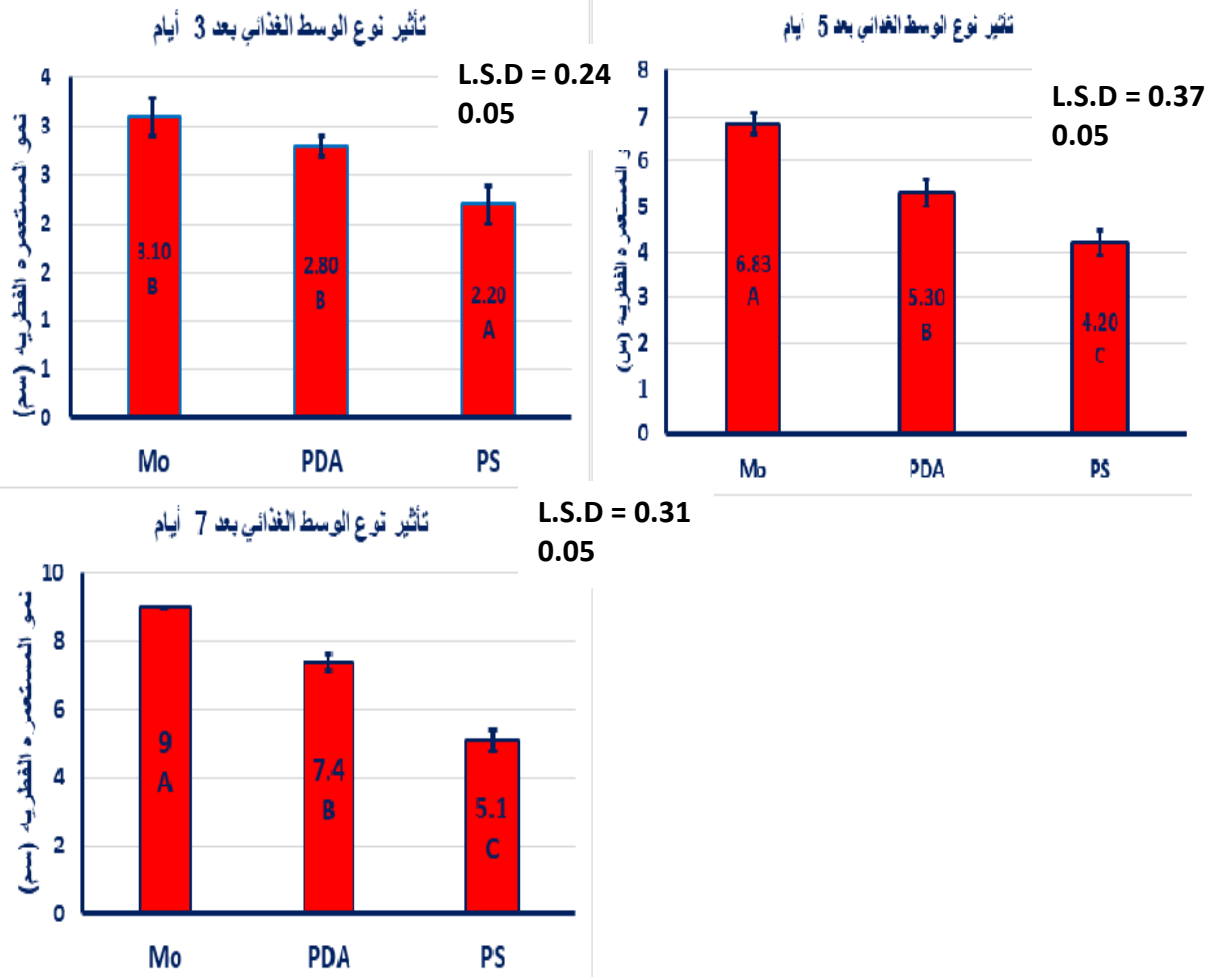


صورة (٣): (A, B & C): أوراق نبات الباذنجان ملقحة بالفطر الممرض *S . sclerotiorum* .(A: اوراق مكتملة النمو و B: أوراق غير مكتملة النمو) ، C: معاملة السيطرة وسط غذائي فقط. نميت على الماء المقطر المعقم داخل اطباق بتري في غرفة النمو على درجة حرارة ٢٢± ٢مْ لمدة سبعة ايام

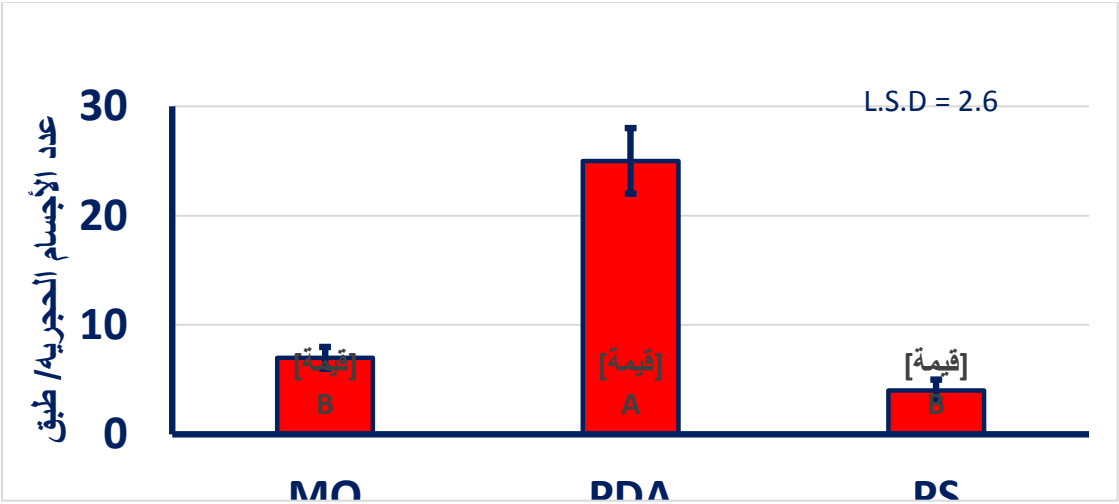
الدراسات الفسيولوجية على الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*

تاثير نوع الوسط الغذائي في نمو الفطر *S. sclerotiorum*

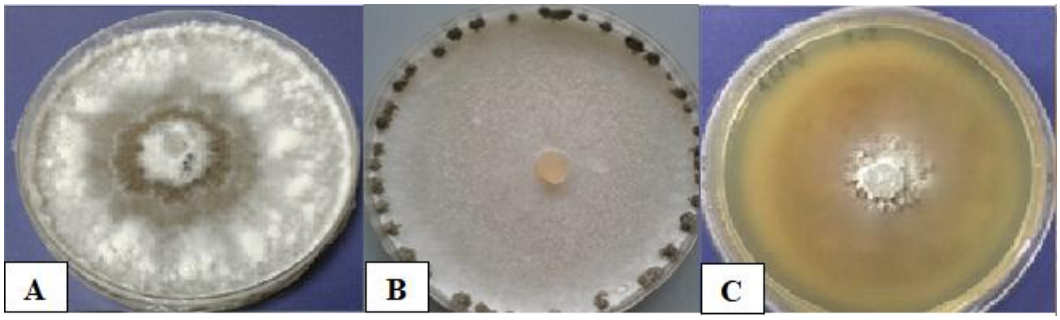
بينت النتائج (شكل ٥)، ان نمو الفطر *S. sclerotiorum* على وسط مسحوق اوراق المورنكا (Mo) واوراق المعدنوس (Ps) والـــــ PDA قد تباين معنوياً (0.05) ، اذ تفوق وسط Mo بعد 5 ايام (6.8 سم) و 7 ايام (٩ سم) من الحضن بالمقارنه مع نموه على وسط PDA (5.3 سم و 7.4 سم) ووسط Ps (4.2 سم و5.1 سم) على التوالي مما يعكس التاثير التثبيطي لوسط المعدنوس على نمو الفطر الممرض، وعند متابعة تكوين الأجسام الحجرية بعد عشرة أيام من النمو (شكل ٦) تبين ان انتاج الأجسام الحجرية قد انخفض معنوياً في وسط Ps ليصل الى ٤ جسم حجري/ طبق تلاه الوسط Mo (٧ جسم حجري/ طبق) بالمقارنة مع الوسط PDA (٢٥ جسم حجري/طبق). والجدير بالملاحظة ان النمو الخضري للفطر الممرض كان غزيراً على الوسط Mo لكن انتاجه للأجسام الحجرية قد تضاءل الى ما يقارب ٧٢% نسبة الى السيطرة (PDA) في حين ان انتاج الاجسام الحجرية في معاملة الـــ Ps قد تضاءلت بنسبة ٨٤% (شكل٦ وصورة٤).



شكل ٥: تأثير نوع الوسط الغذائي (المورنكا: Mo، المعدنوس: Ps ، PDA) على النمو القطري للفطر *Sclerotinia sclerotiorum* بعد ٣ و ٥ و٧ أيام من الحضن على درجة حرارة٢٢ ± ٢ مْ.



شكل ٦: تأثير نوع الوسط الغذائي (المورنكا: Mo، المعدنوس: Ps ، PDA) على انتاج الأجسام الحجرية من قبل الفطر *S. sclerotiorum* بعد ١٠ أيام من الحضن على درجة حرارة ٢٢ ± ٢ مْ.



صورة (٤) : مستعمرات الفطر *S. sclerotiorum* وانتاجه للأجسام الحجرية على أوساط غذائية مختلفة (Mo (A)،Ps (B)، و PDA (C) بعد ١٠ أيام من الحضن على درجة حرارة ٢٢ ± ٢ مْ.

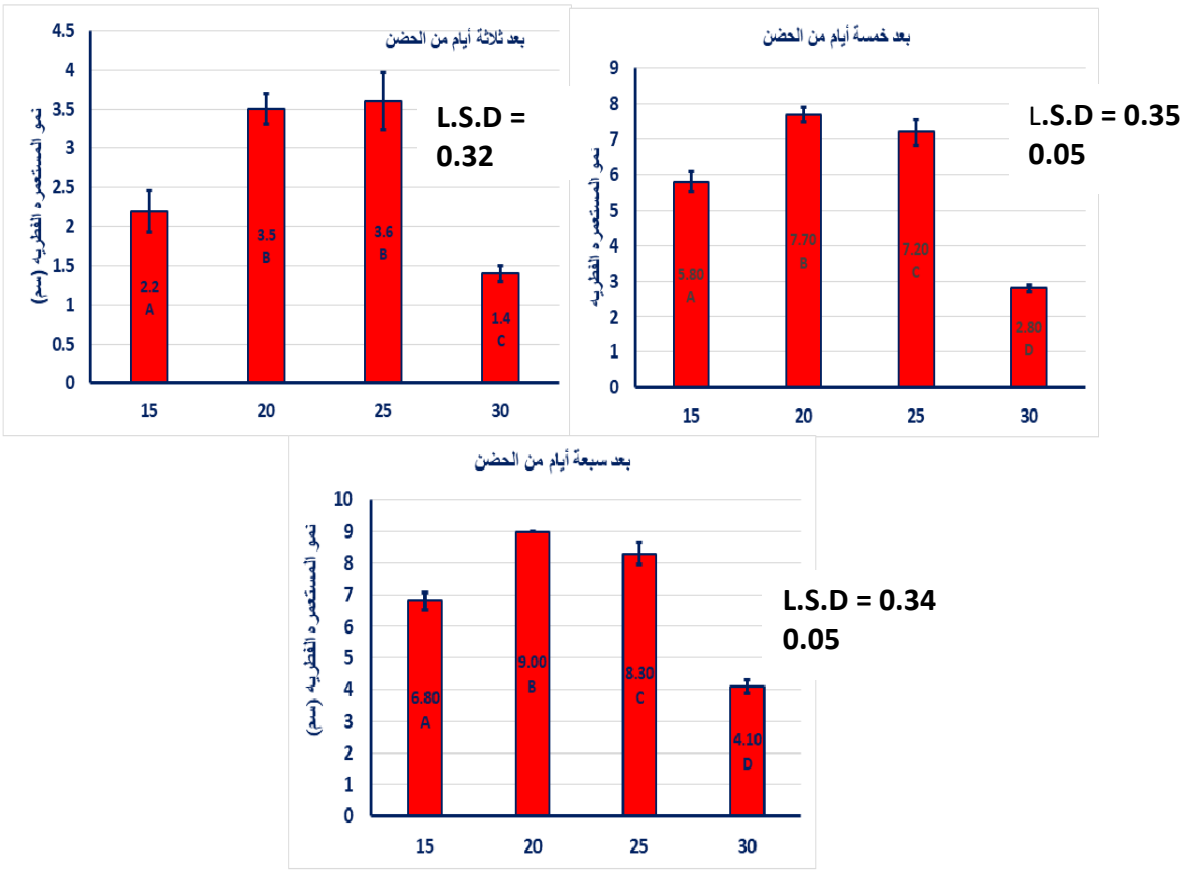
تاثير درجة الحرارة في نمو الفطر *S. sclerotiorum*

اظهرت النتائج (شكل ٧) ان لمستويات درجات الحرارة التي تراوحت بين ١٥ الى ٣٥ مْ تاثيراً عالي المعنوية في معدلات نمو الفطر *S. sclerotiorum* في وسط PDA وهذه الزيادة ارتفعت مع زيادة مدة الحضن من ٣ الى ٧ أيام، اذ غطت مستعمرات الفطر كامل مساحة الطبق في اليوم السابع على درجة حرارة ٢٠ مْ (٩ سم) ، تلاها النمو على درجة حرارة ٢٥ مْ ثم ١٥ مْ وياتي بعدها ٣٠ مْ واقلها نمواً على درجة حرارة ٣٥ مْ . كذلك فان الفروقات كانت معنوية في معدلات النمو بين مديات درجات الحرارة جميعا وايضا بين مدد النمو لكل درجات الحرارة باستثناء النمو على درجة الحرارة ٣٥ مْ (0.9 ، 1.3، 1.5 سم) التي لم تكن الفروقات مابينها معنوية (شكل ٧).

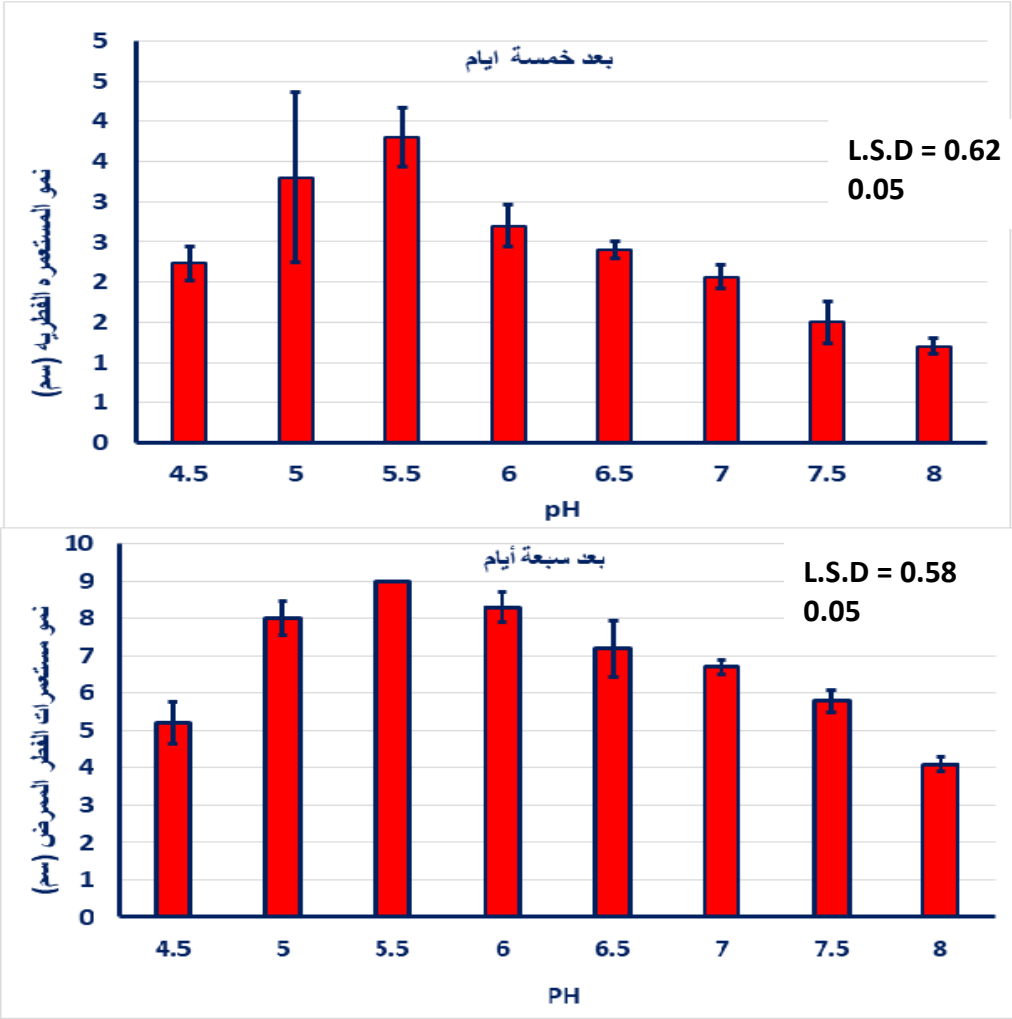
تاثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *S. Sclerotiorum* وانتاجه للأجسام الحجرية

تاثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *S. Sclerotiorum*

وعند دراسة تاثير مستويات مختلفة من حموضة الوسط (PDA) التي تراوحت الـــ pH فيها بين 4.5 الى ٨، على معدلات نمو الفطر *S. sclerotiorum* كان هناك خط تصاعدي بمستوى معنوي (0.05) في معدلات نمو الفطر الممرض وبالتحديد في مستويات الحموضة ٤.٥ و٥ و 5.5 بعد خمسة ايام من الحضن (2.2 ، 3.3، 3.8 سم) وبعد سبعة ايام من الحضن (٥.٢، 8 ، ٩ سم) على التوالي. وبالمقابل فان اتجاه النمو كان تنازلياً بعد الـــ pH = 5.5 اذ انخفضت مستويات النمو معنوياً (0.05) ابتداءاً من ٦ و 6.5 و ٧ و 7.5 و٨ بعد خمسة ايام من الحضن (2.7 ، ٢.٤ ، 2 ، ١.٥ ، 1.2 سم) وبعد سبعة ايام من الحضن (8.3 ، ٧.٢ ، ٦.٧ ، 5.8، 4.1 سم) على التوالي. وكان مستوى الحموضة المثالي لنمو هذا الفطر هو 5.5 في كلا المدتين (شكل ٨).



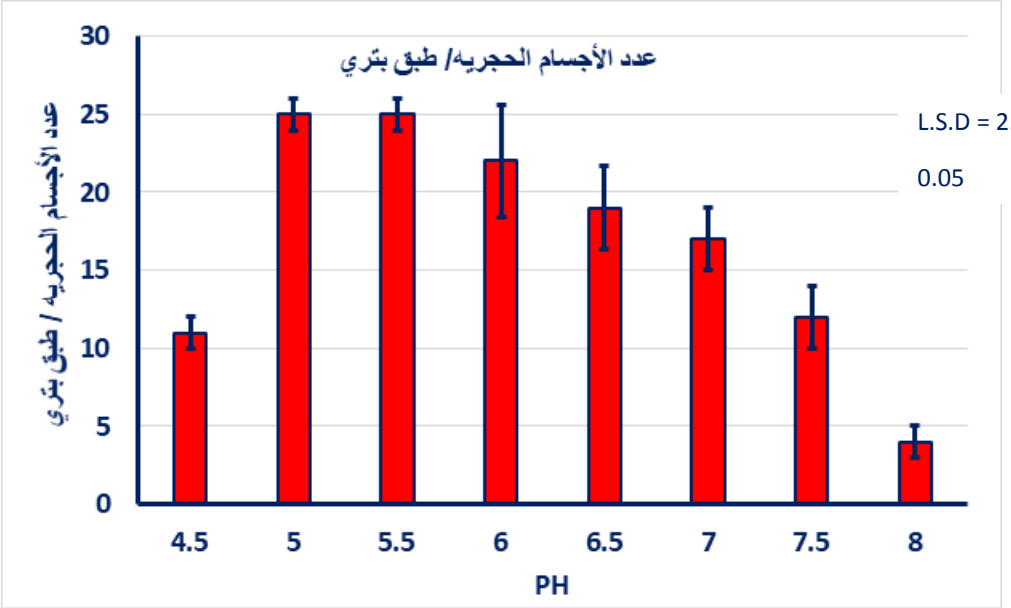
شكل (٧): معدلات نمو الفطر *S. sclerotiorum* على درجات حرارة (١٥، ٢٠، ٢٥، ٣٠ و ٣٥ مْ) بعد ثلاثة وخمسة وسبعة أيام من الحضن على الوسط الغذائي PDA



شكل (٨): تاثير حموضة الوسط (4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8) على معدل نمو الفطر *S. sclerotiorum* النامي على الوسط الغذائي PDA وعلى درجة حرارة ٢٥ ± ٢ مْ بعد مدة حضن خمسة وسبعة أيام.

تاثير الرقم الهيدروجيني على تكوين الأجسام الحجرية من قبل الفطر *S. Sclerotiorum*

لدراسة تاثير الرقم الهيدروجيني على قدرة الفطر *S. sclerotiorum* اعتمدت في هذه التجربة ثمانية مستويات حامضية هي : 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8 وقد تباينت معنوياً (0.05) أعداد الأجسام الحجرية المنتجة مع الأختلاف في قيم الـ pH اذ ازدادت قابلية الفطر الممرض في تكوينها عند الـــ pH= 5.5 والتي وصلت عندها الى المستوى المثالي (٢٥ جسم حجري/ طبق) تلا ذلك عند الـ pH = ٥ ثم ٦ و٧ و 4.5 واقلها عند الـــ ٤ (٢٤، ٢٢ ، ١٩ ، ١٧، ١٢، ١١، ٤ جسم حجري / طبق) على التوالي، رغم عدم وجود فروقات ظاهرية بين أعداد الأجسام الحجرية عند المستويين الحامضيين ٥ و 5.5 الإ أنها ليست معنوية وهناك علاقة طردية بين معدلات نمو الممرض وانتاجه للاجسام الحجرية. اذ تسبب أرتفاع الحموضة الى 4.5 في أنخفاض تكوين الأجسام الحجرية بنسبة ٤٤% كما أن ارتفاع قاعدية الوسط الى ٨ ادى الى انخفاض أعداد الأجسام الحجرية المنتجة بنسبة ٨٤% بالمقارنة مع النمو على pH = 5.5 (شكل ٩).

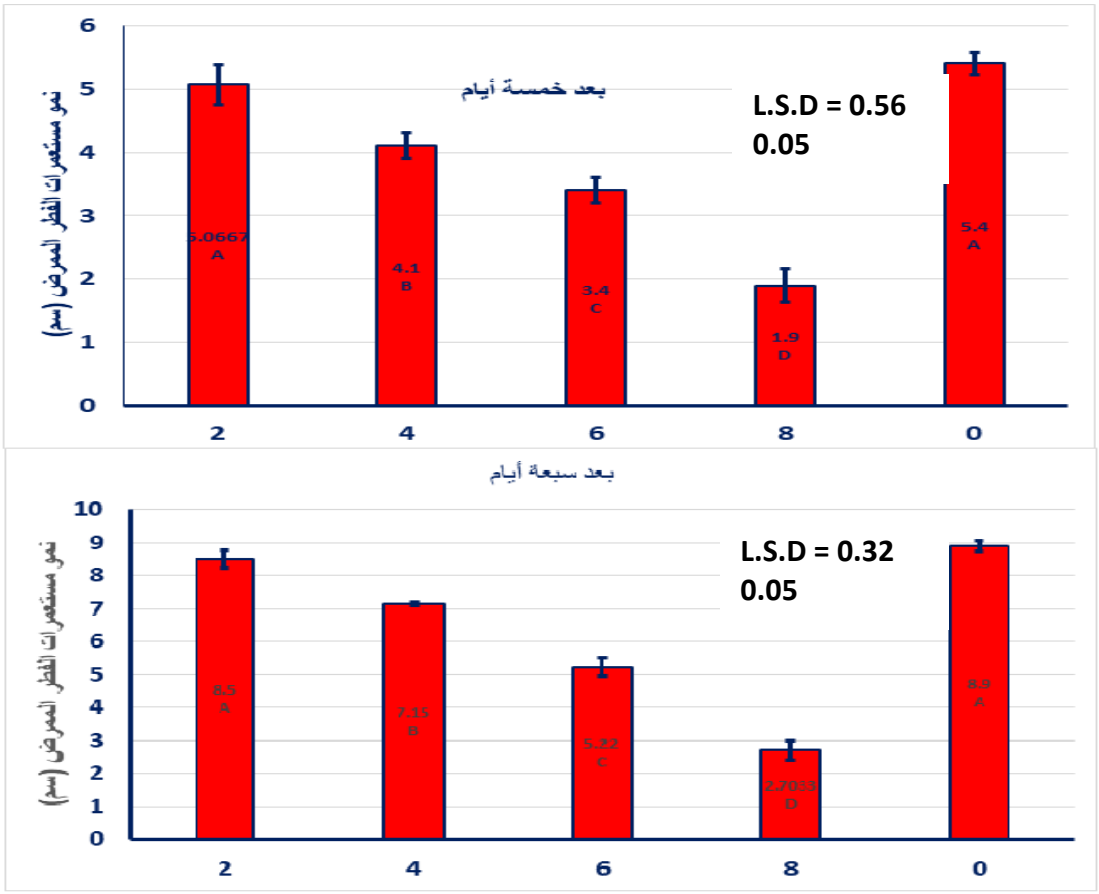


شكل (٩) : تاثير حموضة الوسط (4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8) على أعداد الأجسام الحجرية للفطر *S.sclerotiorum* النامي على الوسط الغذائي PDA وعلى درجة حرارة ٢٥ ± ٢ مْ بعد عشرة أيام من الحضن.

تاثير تراكيز مختلفة من ملح الطعام NaCl على نمو الفطر *S. sclerotiorum* وعلى قدرتهُ في تكوين الأجسام الحجرية

تاثير تراكيز مختلفة من ملح الطعام NaCl على نمو الفطر *S. sclerotiorum*

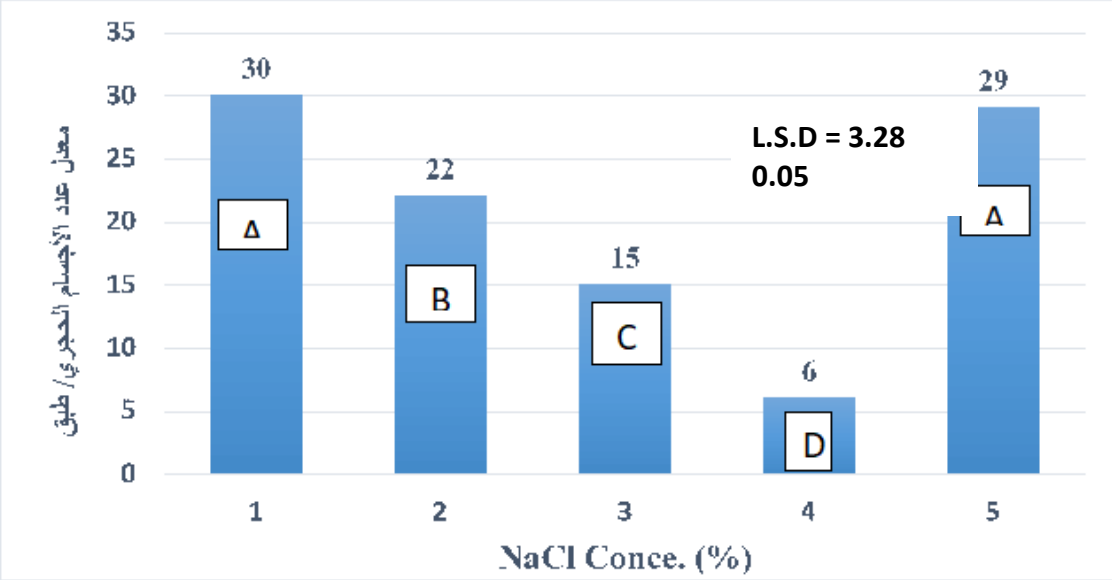
نفذت هذه التجربة لدراسة تاثير اربعة مستويات للملوحة (NaCl) هي: ٢% و ٤% و٦% و٨% بالإضافة الى معاملة السيطرة ٠% ضمن الوسط الغذائي (PDA) على نمو الفطر *S. sclerotiorum* بعد خمسة وسبعة أيام من الحضن. اظهرت نتائج هذه التجربة أن التركيز الملحي ٢% لم يؤثر معنوياً في نمو الفطر الممرض بعد خمسة وسبعة أيام (5.1، 8.5 سم) بالمقارنة بمعاملة السيطرة (5.4 8.9 سم) لكن مع زيادة التراكيز الملحية الى ٤% و٦ % و ٨ % أنخفضت معنوياً وبشكل حاد معدلات نمو الممرض بعد خمسة ايام الى: : 4.1 ،3.4 ، 1.9 سم وبعد سبعة ايام من الحضن الى : 7.15 ، 5.22 ، 2.7 سم على التوالي مقارنة مع مثيلاتها في السيطرة (شكل ٩).



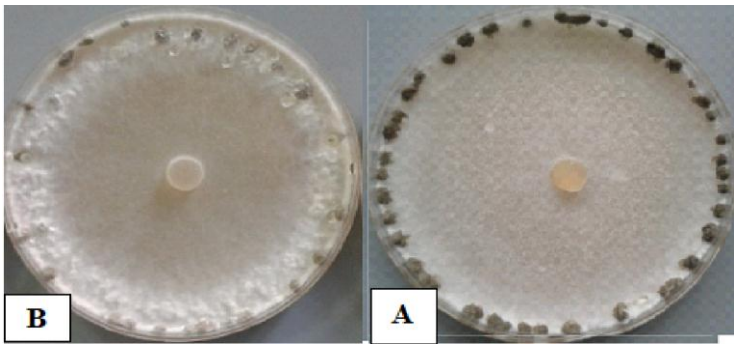
شكل (٩): تاثير تراكيز ملح الطعام NaCl (٢%، ٤%، ٦% و ٨% و٠ % (السيطرة) على الوسط الغذائي PDA بعد خمسة أيام من الحضن على درجة حرارة ٢٢ ± ٢مْ

تاثير تراكيز مختلفة من ملح الطعام NaCl على قدرة الفطر *S. sclerotiorum* في تكوين الأجسام الحجرية

تم تنفيذ هذه الدراسة لاختبار تاثير اربعة تراكيز لملح NaCl (٢% و٤% و٦% و٨%) على انتاج الأجسام الحجرية للفطر*S.sclerotiorum* ضمن الظروف المختبرية داخل الوسط الغذائي PDA، حيث اتضح ان التراكيز الملحية: ٤% و٦% و٨% تسلك سلوك تثبيطي أتجاه انتاج الممرض للأجسام الحجرية باستثناء التركيز ٢% الذي لم يختلف معنوياً مع معاملة السيطرة إذ بلغت إعداد الأجسام الحجرية ٣٠ جسم حجري/ طبق للتركيز ٢% و٢٩ جسم حجري/ طبق للسيطرة. في حين انخفضت اعداد الأجسام الحجرية مع زيادة التراكيز الملحية: ٤% و ٦% و٨% الى ٢٢ و١٥ و٦ جسم حجري/ طبق على التوالي اي بانخفاض مايقارب ٨٠% عند التركيز ٨% والى ٤٩% عند التركيز ٦% والى ٢٥% عند التركيز ٤% . اذ ظهر ضمور للأجسام الحجرية في الوسط الغذائي وأختزال في اعدادها وتشوهُ في اشكالها عند التركيز ٤% وبعد هذا التركيز فشل الفطر الممرض في انتاج الأجسام الحجرية (شكل ١٠ وصورة ٥).



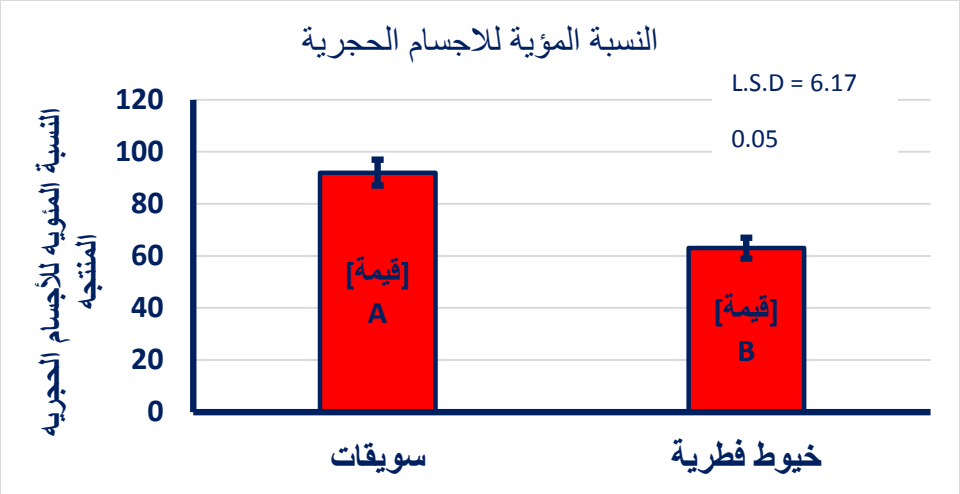
شكل (١٠): تاثير تراكيز ملح الطعام NaCl (١= ٢%، ٢= ٤%، ٣= ٦%، ٤ = ٨% ، ٥ = تمثل السيطرة ٠%) على انتاج الأجسام من قبل الفطر *S. sclerotiorum* النامي على الوسط الغذائي PDA بعد عشرة ايام من الحضن على درجة حرارة٢٢ ± 2 مْ



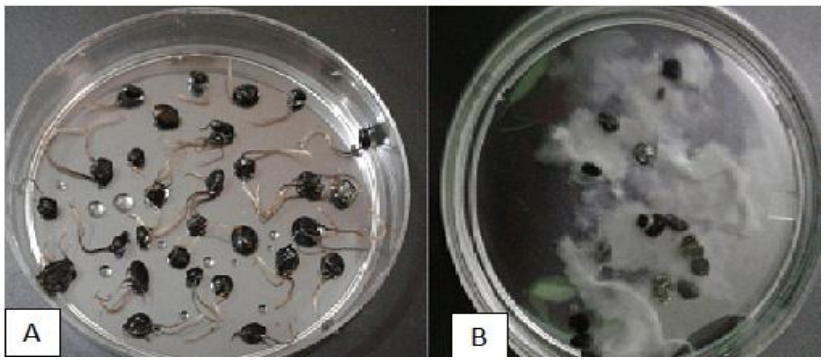
صورة (٥) : A: أعداد الأجسام الحجرية في معاملة السيطرة (بدون اضافة ملح الصوديوم) وأعداد الأجسام الحجرية عند التركيز ٤% (B) بعد مدة حضن ١٠ ايام على الوسط الغذائي PDA اذ يظهر فيه أختلاف في نمو المستعمرة الفطرية وفي عدد الاجسام الحجرية وأختلاف أقطارها ونمط توزيعها.

حيوية الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum*

بينت نتائج هذه التجربة ان مدة حفظ الأجسام الحجرية لستة اشهر في التربة الرملية داخل اطباق بتري ضمن ظروف المختبر لم يؤثر في حيويتها ، اذ ظهر بعد اختبار قدرتها على انتاج السويقات او المايسليوم سواء كان عملية الاستنبات في ظروف الضوء او الظلام على درجة حراره ٧± 1مْ ، ان نسبة الأجسام الحجرية التي كونت السويقات ٩٢% تحت الاضاءة المستمرة بينما فشل الفطر في تكوين السويقات في الظلام المستمر وتكون بدلاً عنها غزل فطري كثيف ، إذ بلغ نسبة الأجسام الحجرية التي كونت خيوط فطرية ٦٣% (شكل ١١).



شكل (١١): النسبة المئوية لحيوية الاجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* بعد حفظها في التربة الرملية لمدة ستة اشهر ثم تنميتها على الماء المقطر المعقم على درجة حرارة 7 ±١ مْ وتحت ظروف الضوء المستمر (السويقات) أو الظلام المستمر (المايسليوم) لمدة ٣٠ يوماً.



صورة (٦): حيوية الاجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* بعد حفظها في التربة الرملية لمدة ستة أشهر ثم تنميتها على الماء المقطر المعقم على درجة حرارة 7 ±١مْ وتحت ظروف الضوء المستمر او الظلام المستمر لمدة ٣٠ يوماً منتجة السويقات Stips (A) أو الخيوط الفطرية (B).

المناقشة

ان قدرة الفطر *S. sclerotiorum* على أصابة مختلف العوائل النباتية ضمن مديات بيئية واسعة وإنتاجهُ للاجسام الحجرية تتميز بقابليتها على البقاء في التربة لسنوات عديدة يزيد من خطورة هذا الممرض خاصةٍ ان الأجسام الحجرية تلعب دوراً كبيراً في دورة المرض من خلال أنباتها خضرياً أو من خلال تكويها للأجسام الثمرية مروراً بالطور الجنسي وإنتاجها للسبورات الكيسية [٢٤] . منتجه غزلاً فطرياً يتباين في اللون من الأبيض والرمادي أو البني وينتج أجسام حجرية سوداء على الوسط الغذائي وغالبا ما تتشكل على حواف الطبق وهي ذات أشكال غير منتظمة فبعضها كروي وبعضها متطاول قليلا وأحياناً ملتصقة مع بعضها [٢٥]. بينت هذه الدراسة وجود عشرة عزلات للمرض تتباين في قدرتها الامراضية وكان أشدها ضراوةٍ هي العزلة SS6. اذ أظهرت أعراضاً مرضية بارزة على أوراق نباتات الباذنجان نتيجة للامراضية العالية للفطر *S. sclerotiorum* وقد تُعزى امراضية هذا الفطر الى وجود حامض الأوكزاليك [٢٦]. إذ يمتلك الممرض إليات متعددة لإختراق أنسجة أوراق الباذنجان منها للوسائل الأنزيمية من خلال تكوين أعضاء التصاق وافراز العديد من الأنزيمات التي تعمل على تحلل الجدران الخلوية وربما أنتاج تركيز عالي من حامض الأوكزاليك والذي يؤدي الى سحب أيونات الكالسيوم Ca^{+2} من جدران الخلايا مما يجعل اللكنين و المواد البكتينية أكثر قابلية للتحلل [٢٧] . ولحامض االوكزاليك دور اساسي في امراضية *S. sclerotiorum* ، وفي مستوى ضراوة الممرض ولذلك نلاحظ ظهور الأعراض المرضية المماثلة للأعراض التي يسببها الممرض عند اضافة الأوكزلات لوحدها للأنسجة النباتية [٢٦]. ان نمو الفطر يكون بأعلى معدلاته على درجة حرارة (20– 25) مْ على وسط PDA ، أما انتاجهُ للاجسام الحجرية فيكون في المدى 15 – 20 مْ [٢٨] وهذا قد يُرجع الى ظروف تجريبية ووراثية، أن الأرتفاع في درجات الحرارة يمكن ان يؤدي الى تحطيم عدد من الانزيمات مثل أنزيم Pectinase وأنزيم polygalacturonase [٢٩]

تبين من هذه الدراسة ان لنوع الوسط الغذائي أهمية كبيرة على نمو الممرض وقدرتهُ على أنتاج الأجسام الحجرية ، فعند نمو الممرض على الوسط Ps لوحظ أنخفاض كبير لنمو الممرض وتدهور قدرتهُ على أنتاج الأجسام الحجرية بنسبة ٨٤%. وفي المقابل فإن نمو الفطر *S. sclerotiorum* في وسط المورنكا وأن كان غزيراً للغزل الفطري لكنه فقد قدرته على تكوين الأجسام الحجرية بنسبة ٧٢% في حين كان الوسط الغذائي PDA هو الأكثر ملائمة لنمو الفطر الممرض وانتاجهُ للأجسام الحجرية [١٢] . كذلك فان لعامل الحرارة تاثيراً حيوياً في نمو الفطر الممرض وفي قابليته في أنتاج الأجسام الحجرية فقد أرتفعت معدلات النمو عند ٢٠مْ لتشكل درجة الحرارة المثالية لهذا الممرض في حين ظهر أنخفاض مع أرتفاع درجة الحرارة فوق ٢٠ مْ لتصل الى اقل معدلاتها على ٣٥ مْ. وكذلك هبوط معدلات النمو على درجة حرارة ١٥ مْ [٣٠] حيث أوضحوا أن درجة الحرارة ٢٠ مْ هي الأكثر ملائمة لنمو الفطر *S. sclerotiorum* في حين بين أن نمو هذا الفطر كان في أعلى مستواهٌ على درجة الحرارة ٢٢ مً وعدم حصول النمو على درجة ٣٢ مْ وظهر نمو للفطر الممرض ضمن مدد تتراوح بين ٧ الى ٢٧ مْ

أما حموضة الوسط فكان لها تاثير مهماً في نمو الممرض وفي تكوينه للأجسام الحجرية ، أن الحموضة المثلى للنمو هي 5.5 وانخفض مستوى النمو قبل وبعد هذا المستوى ليصل الى أدنى مستوى للنمو على pH 4.5 وكذلك على pH ٨ وللفترتين (بعد خمسة وسبعة ايام من الحضن). وفي المقابل فإن أعلى انتاج للأجسام الحجرية كان على pH ٥ وحصل هبوط حاد لانتاج الأجسام الحجرية على الوسط القاعدي pH ٨ وأيضاً حصل أنخفاض كبير في معدل أنتاج الأجسام الحجرية على pH 4.5 ولكن بمستوى أقل مما هو على المستوى

وفي المقابل فان لتركيز الملح NaCl تاثيراً معنوياً في أنتاج الأجسام الحجرية للفطر*S. sclerotiorum* النامي على الوسط الغذائي PDA، اذ تسببت التراكيز الملحية من ٤% الى ٨% في تثبيط قدرة الفطر الممرض على أنتاج الأجسام الحجرية وصلت الى ٨٠% عند التركيز ٨% والى ٤٩% عند التركيز ٦% والى ٢٥% عند التركيز ٤% مقارنة بالتركيز ٢% الذي لم يختلف معنوياً عن معاملة السيطرة حيث وصلت اعداد الأجسام الحجرية الى ٣٠ جسم حجري/ طبق للتركيز ٢% والذي يماثل معاملة السيطرة (٢٩ جسم حجري/ طبق). أن أختزال أنتاج الأجسام الحجرية في الوسط الغذائي وتشوهُ أشكالها ينعكس أيجابياً في إدارة الممرض لما يسببهُ في أنخفاض حاد للطاقة اللقاحية وفي تقليل خطر وبائية الممرض خاصةٍ ، أن الأجسام الحجرية تمثل الطور الساكن للفطر ومصدر الاصابة الأولية ، أن هذه النتائج توافقت مع نتائج [٣٠] –[٣١] الذين أكدوا تضاءل قدرة الفطر *S. sclerotiorum* في النمو وفي أنتاج الأجسام الحجرية مع زيادة التراكيز الملحية. نستنتج من هذه الدراسة أن للعوامل الفسيولوجية تاثيراً حاسماً في أنتاج اللقاح الفطري الذي يشكل عنصراً مهما من عناصر الوبائية لهذا المرض والتي تكمن أساساً في تطبيق أستراتيجية أدارة المرض.

CONFLICT OF INTERESTS

There are no conflicts of interest.

المصادر

[١] F.A.O. “Food and Agricultural Organization of United Nation”, 2015.

[٢]F.A.O. “Food and Agricultural Organization of United Nation” 2008.

[٣]M. C. Daunay, R. Lester, J. W. Hernart and C. Durant “Eggplant: Present and future”. Capsicum and eggplant Newsletter No. 19, pp. 11– 18, 2000.

[4]مديرية الاحصاء الزراعي، أنتاج المحاصيل الزراعية، وزارة التخطيط والتعاون الانمائي، الجهاز المركزي للاحصاء تكنولوجيا المعلومات، جمهورية العراق2010 .

[٥]المحمدي، فاضل مصلح حمادي. الزراعة المحمية. مطابع التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد – العراق .ع ص 1990.400 .

[٦] W. G. Dilantha Fernando, S. Nakkeeran, and Y. Zhang “Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary”. Recent Res. Devel. Environ. Biol., No.1, pp. 329-347, 2004.

[٧]K. Krishnamoorthy and S. Ambalavanan “Morphological Variations of Sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* Produced on Different Substrates”. Trends in Biosciences, Vol.. 9, No.5, pp. 364-366, 2016.

[٨]J. A. Rollins and M. Dickman, “PH signaling in *Sclerotinia sclerotiorum*: identification of apac C/RIMI homolog”. Appl. Environ. Microbiol.No. 67, pp. 75-81, 2001.

[٩] B. M. Wu, K. V. Subbarao, and Y. B. Liu “Comparative survival of sclerotia of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum*”. Phytopathology Vol. 98, pp..659-665, 2008.

[١٠]M. A. Bari “Effect of fungal antagonistic to suppress foot and root rot of barley”. Bangladesh Journal of Plant Pathology, No.16, pp. 17-21, 2000.

[١١]S. Saralamrna, and R. T. Vithal “Integrated management of Sclerotium root rot in groundnut. National seminar on stress management in oil seeds for attaining self-reliance in vegetable oil Indian society of oil seeds research. Directorate of oil seeds research”. Hyderabad, January. Vo. 28, No. 30, pp. 20 – 21, 2003.

[١٢]M. A. Husain and C. S. Choudhary “Morphological, Cultural and physiological studies on Sclerotinia sclerotiorum causing stem rot of oilseed brassica”. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. No.7, pp. 1044-1052, 2018.

[١٣]L. M. Kohn “Delimitation of the economically important pathogenic Sclerotinia Species”. Phytopathology No. 69, pp. 881-886, 1979.

[١٤]A. R. Divya Bharathi and V. I. Benagi "Cultural and Morphological Variability among the Isolates of *Sclerotium rolfsii* Sacc. Causing Wilt Complex Disease of Betelvine (Piper betle L.). Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., Vol. 7, No. 6, pp. 1014-1019, 2018.
[١٥]M. M. Dewan "Identify and frequency of occurrence of fungi in roots of wheat and rye grass and their effect on take – all and host growth" .P.H.D. Thesis Univ .Wes.Australia , 1989.
[١٦]H. A. Bolkan and D. F. Bulter"Studies on heterokaryosis and virulence of Rhizoctonia solani". Phytopathology. Vo. 64, pp. 513-522, 1974.
[١٧]A. Prova, A. Shaikhul Islam and M. D. Motaher Hossain "Characterization of Sclerotinia sclerotiorum, an Emerging Fungal Pathogen Causing Blight in Hyacinth Bean (Lablab purpureus)". Plant Pathol J. Vol. 34, No. 5, pp. 367–380, 2018.
[١٨] الراوجي، عصام داود سليمان . انتاج و فعالية السكر المتعدد السم لفطر *Alternaria alternate* المعزول محليا. اطروحة دكتوراة. كلية الزراعة – جامعة بغداد.2005.
[١٩]H. Kim, C. Chen, M. Kabbage and M. B. Dickman "Identification and Characterization of Sclerotinia sclerotiorum NADPH Oxidases'.Applied and Environmental Microbiology, Vol. 77, No. 21, pp. 7721-9, 2011.
[٢٠]. R. Pineda, S.V. Carlos, M. García, H. G. Gil and D. Durango "Antifungal activity of extracts, essential oil and constituents from *Petroselinum crispum* against *Colletotrichum acutatum*". Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín. Vol. 71, No. 3, pp. 8563-8572, 2018.
[٢١]N. Patel and J. S. S. Mohan "Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of *Moringa oleifera* Lam. Crude Extracts Against Selected Bacterial and Fungal Strains. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research", Vol. 10, No. 2, pp. 68-79, 2018.
[٢٢] L. Y. Mohsen, J. K. Al-Janabi and Z. A. Al-Yassiry "Alternative culture media for growth and sporulation of *Trichoderma harzianum*". Pak. J. Biotechnol., Vol. 14, No. 4, pp. 587-593, 2017.
[٢٣]R. A. Rai. and J. P. Agnihotri "Influence of nutrition and pH on growth and sclerotiaformation of Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) De Bary from Gaillardia pulchella Foug". Mycopathologia, Vol. 43, No. 1, pp. 89-95, 1971.
[٢٤] M. D.Bolton MD, Thomma BP, Nelson BD. Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Mol Plant Pathol., 7:1–16. 2005.
[٢٥]J. B. Michael, R. B. Gardiner and A. W. Day" Melanin Synthesis by *Sclerotinia sclerotiorum*", Mycologia, Vol. 101, No. 3 pp. 296-304, 2009.
[٢٦]S. G**.** Cessna, V. E. Sears, M. B. Dickman and P. S. Low "Oxalic acid, a pathogenicity factor for Sclerotinia sclerotiorum, suppresses the oxidative burst of the host plant". Plant Cell. Vol. 12, No. 11, pp. 2191-2200, 2006.
[٢٧]C. Kora, M. R. McDonald, and G. J. Boland "Sclerotinia rot of carrot: An example of phenological adaptation and bicyclic development of Sclerotinia sclerotiorum". Plant Dis. Vol. 87, pp. 456–470, 2003
[٢٨]N. D. Cuong, and N. P. Dohroo "Morphological, cultural and physiological studies on Sclerotinia sclerotiorum, causing stalk rot of cauliflower". Omonrice, Vol. 14, pp. 71–77, 2006..
[٢٩] M. Motallebi, H. Afshari Azad, and M. R. Zamani "Polygalacturonase Production by Sclerotinia Sclerotiorum, Causal Agent of Canola Stem Rot: Parameter Optimization Using Taguchi Approach", World Applied Sciences Journal, Vol. 3, No. 1, pp. 96-101, 2008.
[٣٠] K.K.Krishnamoorthy, A. Sankaralingam, and S. Nakkeeran "Effect of Temperature and Salinity on the Growth of Sclerotinia sclerotiorum Causing Head Rot of Cabbage". Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., Vol. 6, No. 2, pp. 950-954, 2017.
[٣١] A. Taylor, E. Coventry, C. Handy, C. West, S. Young, and J. B. Clarkson "Inoculum potential of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia depends on isolate and host plant" Plant Pathology, Vol.67, No. 6, pp. 1286-1295, 2018.