المستخلص

تهدف هذه الدراسة إلي عزل وتوصيف ودراسة الاختلافات وطرق المكافحة لسلاتين من الفطر *A. solani* المسبب لمرض الندوة المبكرة في الطماطم. وتم عزل سلالات الفطر من حقول الطامطم الماصبة بمنطقة هدي الشام – محافظة الجموم – المملكة العربية السعودية. اجريت جميع التجارب بمعمل حماية النبات – قسم زراعة المناطق الجافة و الحقل المفنتوح بمحطة البحوث الزراعية بمنطقة هدي الشام – جامعة الملك عبد العزيز – المملكة العربية السعودية. أوراق الطماطم المصابة بالفطر والتي ظهرت عليها بوضوح مظاهر الاصابة بالفطر تم جمعها من حقلين مختلفين من الطماطم وتم حفظ الاوراق المصابة بمعمل حماية النبات لاجراء التجارب المعملية عليها. تم عزل المسبب المرضي معمليا باستخدام طريقة Hyphal Tip Isolation Method (HTIM) . وتم تحديد المسبب المرضي على أساس الخصائص المورفولوجية للكونيدية وقد تم تمميز سلاليتين للفطر هما AS1 و AS2 لمزيد من التجارب. وأظهرت الدراسة على الخصائص المورفولوجية لعزلات اختبار *A. solani* *معنوية في* التنوع على أساس عرض الميسليم ، حجم الكونيديا. أوضحت نتائج اختبار إمراضية لعزل *A. solani* أن عزلات المرض التى تم جمعها من منطقتين مختلفتين أظهرت اختلافات في إمكاناتها المسببة للأمراض. سجلت العزلة AS1 الحد الأقصى لمستوى الإصابة المرض وشدة المرض مقارنة AS2. أوضحت نتائج دراسات خصائص البيئة المغذية وجود اختلافات معنوية بين سلالات *A. solani* المعزولة (AS1 and AS2) فيما يتعلق بنمو الخطي الماسيلي، أنماط النمو المليسيلي، والتصبغ على مختلف وسائل البيئات المغذية المستخدمة. وقد سجل أقصي نمو للميسيليم لسلالة الفطر AS1 علي بيئة "Sabourauds's Agar" (٠,٩ سم) وسلالة الفطر AS2 علي بيئة "Richrad's Agar" ، فيما لوحظ اقل نمو للميسيليوم للسلالة AS2 علي بيئة "Host Extracts Agar" (٣,٣ سم). فيما يتعلق بتأثير الاس الهيدروجيني (pH) ، درجات الحرارة

ونظام الضوء علي النمو الميسيلي للفطر ، أظهرت النتائج أن رقم الأس الهيدروجيني الأمثل للنمو الميسيلي للسلالات AS1 و AS2 كان ٦,٥. وكانت انسب درجة حرارة للنمو الميسيلي للسلالتين هو ٣٠ درجة مئوية ، فيما كان نظام الضوء ١٢ ساعة ضوء و ١٢ ساعة إظلام هو الأمثل للنمو الميسيلي للسلالة AS2 و نظام الإضاءة المستمر هو الأمثل للنمو الميسيلي للسلالة AS2. استخدم تقنية الواسمات الوراثية العشوائية "RAPD" لعمل البصمة الوراثية لسلالات فطر *A. solani* وهي AS1 و AS2 . وأظهرت النتائج أن السلالة AS1 قد تم تمييزها علي مستوي المادة الوراثية عن طريق ٩ من الواسمات وراثية وكان الوزن الجزئيي من 170bp للواسم الوراسي OPD-09 إلي 700bp للواسم الوراثي OPD-13. بينما تم تمييز المادة الوراثية للسلالة AS2 عن طريق ٢ من الواسمات الوراثية فقط وكان الوزن الجزئي 170bp للواسم الوراثي OPC-01 إلي 700bp للواسم الوراثي OPC-01. واظهر تحليل درجة التشابه الوراثي أن درجة القرابه الوراثية بين السلالة AS1 و السلالة AS2 من فطر *A. solani* هي ٠,١٣٣. أظهرت نتائج دراسات التحكم في فطر *A. solani* داخل المعمل باستخدام المستخلصات النباتية أن استخدام مستخلص نبات النيم (*Azadirachta indica*) بتركيز ٣% أدي إلي منع النمو الميسيلي للفطر بمقدار ٥٨,٣% ، تلي ذلك مستخلص نبات اللانتانا (*Lantana camara*) بمقدار ٥٠% ، ثم مستخلص نبات الثوم (*Allium sativum*) بمقدار ٤١,٦%. اظهرت نتائج استخدام المواد الكيماوية (المبيدات الفطرية) للتحكم المعملي في المسبب المرضي أن المبيد الفطري الذي يحتوي علي المادة الفعالة "*Hexaconazole 5 EC* " قد احدث منع للنمو الميسيلي للمسبب المرض بمقدار ٩٠,٢% ، تلي ذلك "*Mancozeb 80 WP* " بمقدار ٧١,٧% ، "*Benomyl 50%WP* " بمقدار ٦٨,١% ثم " *Carbendazim 50%WP* " بمقدار ٥٥,٨%. اوضحت نتائج دراسة استخدام الاعداء الحيوية للتحكم في المسبب المرض داخل المعمل ان استخدام "*Trichoderma harzianum* " ادي إلي اعاقة النمو الميسيلي للمسبب المرضي بمقدار ٥٤,٦% ، تلي ذلك استخدام "*Trichoderma viride*

" حيث ادي إلي اعلقة المسبب المرضي بمقدار ٤٨,٤% ، "*Pseudomona flourocsens*" اعاق النمو الميسيلي للفطر بمقدار ٢٧,٨% ثم "*Bacillus subtilus*" منع النمو الميسيلي للمسبب المرضي بمقدار ٢١,٦%. أظهرت نتائج استخدام بعض الزيوت النباتية داخل المعمل للتحكم في المسبب المرضي ان اعلي نسبة لمنع النمو الميسيلي للمسبب المرضي كانت ٣١,٦% عن طريق زيت الليمون بتركيز ٣%. أوضحت نتائج تجارب الحقل المكشوف للتحكم في المسبب المرضي باستخدام بعض الزيوت النباتية أن استخدام زيت الثوم أدي إلي التحكم في شدة الإصابة بالمسبب المرضي بمقدار ٣٤,٢% ، تلي ذلك استخدام زيت الزيتون حيث قلل شدة الاصابة بالمسبب المرضي بمقدار ٣٤,١%.

Abstract

The aims of this study were to isolate, characterize, and differentiate between two *Alternaria solani* isolates causing early blight on tomato fields in Hada Al-Sham, Province of Al-Jamoum, Saudi Arabia and to evaluate fungicides, biocontrol agents and botanical products against *A. solani* . Experiments were carried out in the Lab of Plant protection, Department of Arid land Agriculture, and in the Hada Al Sham Agricultural Research Station, King Abdulaziz University, Saudi Arabia. Tomato leaves samples with typical early blight symptoms were collected from two different tomato fields and then brought to the lab of plant protection. The causal agent (*A. solani*) was isolated and pure culture of the pathogen was obtained by Hyphal Tip Isolation Method (HTIM). The pathogen was identified based on morphological characteristics of the conidia and characterized as two isolates AS1 and AS2 for further investigations. Study on morphological characteristics of the tested isolates of *A. solani* showed diversity based on their mycelial width, conidial size, beak length and septations. Result of the pathogenicity test for the isolates of *A. solani* revealed that the isolates exhibited differences in their pathogenic potential, where the isolate AS1 recorded maximum level of disease incidence and disease severity compared to AS2. The results of cultural characteristics revealed significant differences between *A. solani* isolates As1 and AS1 with regard linear mycelial growth, mycelial growth patterns, and pigmentation on various solid culture media. The highest radial growth was observed in Sabouraud's Agar Medium for isolate AS1 and AS2 on Richard's Agar (9.0 cm). The lowest mycelial growth (3.3 cm) was recorded for AS2 on Host Extract Agar. AS1 and AS2 isolates illustrated significant differences in pigment production, growth margins and growth surface. Regarding effects of pH, temperature and light on AS1 and AS2 growth the results showed that the optimum pH level for both isolates was 6.5, temperature of 30 °C and light regime of 12 h light and 12 h dark for AS1 and continues light for AS2.

Molecular characterization of AS1 and AS2 isolates of *A. solani* was conducted using RAPD markers. *A. solani* isolate AS1 was identified by 9 different RAPD loci with a molecular weight ranged from 170bp for OPD-09 and 700pb for OPD-13. Moreover, *A. solani* isolate AS2 was identified by 3 RAPD loci with a molecular weight ranged from 170bp for OPC-01 to 700bp for OPC-01. Materix similarity for estimating genetic relationships between the *A. solani* isolates AS1 and

AS2 was calculated. The sum of similar patterns between AS1 and AS2 was 0.133. The results of *in vitro* control of *A. solani* using botanical extracts revealed that the plant extracts from *Azadirachta indica* recorded the maximum radial growth inhibition (58.3%) of the pathogen, followed by *Lantana camara* (50%) and *Allium sativum* (41.6%). Chemical control treatments indicated that Hexaconazole 5 EC caused the highest radial growth inhibition (90.2 %) followed by Mancozeb 80 WP (71.7%), Benomyl 50%WP (68.1%) and Carbendazim 50%WP (55.8%). In dual culture assay, *Trichoderma harzianum* found to be the most effective biocontrol agent by recording highest percent inhibition of the pathogen growth (54.6%) followed by *Trichoderma viride* (48.4%), *Pseudomonas flourocsens* (27.8 %) and *Bacillus subtilus* (21.6%). I*n vitro* control of *A. solani* using botanical oils indicated that lemon oil at 3% significantly inhibited mycelial growth (31.6%), followed by ginger oil. Results of field control of *A. solani* using botanical oils revealed that garlic oil reduced disease severity by 34.2 %, followed by clove oil (34.1%).