# تأثير الإصابة بمرض عفن الجذور الجاف المتسبب عن فطر *Fusarium solani* على انخفاض محتوى الكربوهيدرات بجذور الحمضيات في شمال غرب ليبيا

**يونس حاتم مصطفى، علي أبوالقاسم العاقل، صالح الشريف، وعيسى صالح فرج**
**قسم وقاية النبات، كلية الزراعة–جامعة طرابلس، ليبيا**
ali.elagael@yahoo.co.uk

## المستخلص

**أشارت العديد من الدراسات المحلية لانخفاض انتاج الحمضيات في ليبيا بشكل ملحوظ، وإن من أهم الأسباب الإصابة بفطر *Fusarium solani* مسبباً لها تعفن الجذور الجاف. أظهرت نتائج العزل المختبري، أن الفطر *F. solani* هو المسبب لمرض تعفن الجذور الجاف لأشجار الحمضيات في ليبيا، وقد بين المسح الحقلي على مرض تعفن الجذور الجاف لأشجار الحمضيات في عدة مناطق لزراعة الحمضيات شمال غرب ليبيا بدايةً من مصراته شرقاً وحتى الزاوية غرباً، انتشار المرض في جميع مناطق الدراسة مع تلازم وجود فطر *F. solani* في عينات الجذور للنباتات المصابة، أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية في تقدير كمية السكريات في جذور الشتلات المعاملة بعزلات مختلفة من الفطر التي حسبت بقياس الامتصاصية باستخدام المطياف الضوئي، العزلتان F4 و F5 قد سببتا أعلى انخفاض في محتوى الجذور من السكريات، وصل الى نسبة حوالي 71%. ويعزى هذا الانخفاض لتغذية الفطر على سكر الجلوكوز الذي يعتبر مهماً جداً في تطور قشرة الجذور والتي تؤدى إلى زيادة أعداد الفطر بصورة كبيرة جداً في منطقة الجذور.**

# Low Carbohydrate Content in the Roots of Citrus as an Indicator of Being Infected with Dry Root Rot Disease Caused by *Fusarium solani* in Northwestern Libya

Hatem Younis, Ali Elagael, Saleh Elsherif and Issa Saleh Farag
Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tripoli, Libya.

## Abstract

The field survey on the dry root rot disease of citrus trees of citrus –growing areas in several regions of northwestern Libya from Misrata to Zawia, showed spread of the disease in all areas of this study associated with the presence of *Fusarium solani* in infected citrus plants. The study found significant differences in impact on the carbohydrate contents of roots of

Accepted for Publication 20/6/2021.

seedlings infected with different isolates of *F. solani*. isolates, F4 and F5 have the highest effect on the root contents of sugars. Also the fungus numbers were higher in the *rhizosphere*.

Keywords: wilt diseases; *Fusarium solani*; citrus trees; Libya.

## المقدمة

تعتبر أشجار الحمضيات إحدى أهم اشجار الفاكهة في ليبيا وتقدر المساحة الإجمالية المزروعة بأشجار الحمضيات بحوالي 7500 هكتار معظمها على الساحل الليبي، وكمية الإنتاج حوالي 65 ألف طناً سنويًا حسب إحصائيات 2001. لكن انخفض انتاج الحمضيات بدرجة كبيرة نتيجة ملوحة المياه والأمراض المتسببة عن الفيروسات، النيماتودا والفطريات (Younes, 2009).

إن فطر الفيوزاريوم (*Fusarium solani* (Mart.) Sacc, emend. Snyd. & Hans) واسع الانتشار ويعتبر المسبب الرئيسي لعدة أمراض للعديد من العوائل النباتية (Fahmy, 1923; Booth, 1971; Bereneuza et al., 2004; Mansoor and Kord 2006). والمغربي، 2005، ومن ضمنها أشجار الحمضيات (Nemec et al., 1980; Kore and Mane, 1992; El-Mohamedy; 1998; Catara and Polizzi, 1999;). والموت المفاجئ "Citrus Sudden Death" لبادرات أو شتلات الحمضيات (Martin, 1949). وتكمن خطورة فطر *F. solani* في كونه يصيب الجذور وخاصة الشعيرات الجذرية المغذية لأشجار الحمضيات (Baker et al., 1981; Graham et al., 1983; Lindbeck and Brlansky, 2000). مما يؤثر على أشجار الحمضيات السليمة فيحدث لها ذبول فجائي نتيجة تعفن الجذور ومن ثم موت النبات.

كما أن هناك أدلة كافية لدعم الرابطة بين التعرض للمرض والمستويات المنخفضة للكربوهيدرات فى عدد من المحاصيل. منها الإصابة بمرض تعفن الجذور الجاف (Labuschagne et al., 1992) المتسبب عن فطر *Fusarium solani*.

يوجد قدر محدود من البيانات المتاحة حول الأمراض الفطرية لأشجار الحمضيات في ليبيا كالدراسة التي قام بها Damiano وآخرون (1960)، التي اظهرت انتشارا واسعاً لمرض التعفن البني على الليمون وتعفن القدم على أصناف مختلفة من الحمضيات. علاوة على ذلك، Younes وآخرون (2009) سجل إصابة أشجار الحمضيات بمرض تعفن الجذور الجاف لأشجار الحمضيات المتسبب عن فطر *F. solani* في المنطقة الغربية من ليبيا سبب فى تلف كبير لأشجار الحمضيات.

لم تسجل أي دراسات سابقة في ليبيا حول تأثير الإصابة بمرض تعفن الجذور الجاف على المحتوى الكربوهيدراتي لجذور أشجار الحمضيات. لذا هدفت هذه الدراسة لمعرفة وتحديد دور هذا المرض وتأثيره على المحتوى الكربوهيدراتي لجذور شتلات الحمضيات المصابة في بعض مناطق شمال غرب ليبيا.

## المواد وطرق البحث

**المسح الحقلي**

تم إجراء المسح الحقلي لبساتين الحمضيات خلال الفترة من بداية شهر مايو 2005 حتى نهاية شهر ديسمبر 2007 في أغلب مناطق شمال غرب ليبيا (الدافنية، قصر الاخيار، العلوص، القره بوللي، وادي الربيع، عين زاره، الكريمية، العزيزية، قصر بن غشير، الزهراء، الطويبية، جودائم والزاوية) لغرض التعرف على مدى انتشار مرض التعفن الجاف للجذور وحجم المشكلة في بساتين الحمضيات في هذه المناطق.

**عزل المسبب المرضي**

جمعت عينات من الجذور المغذية لخمسة أشجار من الحمضيات التي ظهرت عليها علامات الاصابة بالتعفن الجاف للجذور من عدة مواقع التي شملتها الدراسة.

تم عزل المسبب المرضي من الجذور المغذية لأشجار الحمضيات المصابة، وقطعت بحجم 0.5 سم وغسلت بالماء الجاري وعقمت سطحيا بغمرها في محلول هيبوكلورايت الصوديوم (NaOCl) تركيزه 0.5 % لمدة 3 دقائق، وغسلت بالماء المقطر والمعقم للتخلص من محلول التطهير وجففت القطع بين ورقتي ترشيح معقمتين ونقلت بواسطة ملقط معقم وزرعت بواقع 4 قطع في كل طبق بتري قطره 8.5 سم يحتوي على حوالي من 15–20 سم 3 من الوسط المغذي أجار ديكستروز البطاطس (PDA) المضاف اليه المضاد الحيوي تتراسيكلين بتركيز 200 ملغم.

حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25° ± 2م لفترة من 5–7 أيام، وعمل لكل عينة جذور 3 مكررات من أطباق التنمية. وبعدها تم إجراء فحص النموات الفطرية النامية حول القطع المعزولة، وتنقيتها بطريقة عزل طرف الخيط الفطري (Hyphal tip method) ثم حفظت العزلات في انابيت اختبار تحوي الوسط المغذي (PDA) وعرف الفطر لمستوى الجنس والنوع اعتمادا على صفات المستعمرة الفطرية وطبيعة الغزل الفطري والأبواغ والتراكيب التي تكونها باستخدام المفاتيح التصنيفية وفق العالم Booth، (1971) و Nelson وآخرون (1983).

**اختبار الإمراضية**

اختبرت إمراضيه 6 عزلات مختلفة من الفطر *F. solani* تم الحصول عليها من مناطق مختلفة اعطي لها رموز (F1، F2، F3، F4، F5 و F6)، حيث عملت معلقات من أبواغ الفطر لكل عزلة على حده في ماء مقطر بتركيز 1 × 610 بوغ / 1 مل ماء مقطر. تمت العدوى الاصطناعية على 5 بادرات نارنج (الشفشي) بعمر شهر واحد منماة بتربة معقمة، بغمرها في معلق الفطر لمدة 24 ساعة، حسب طريقة Elaraby، (1985)، نقلت بعدها إلى أصص الغرس وتركت لفترة ثلاث أسابيع إلى حين ظهور أعراض الذبول على البادرات بينما غمرت 5 بادرات أخرى في ماء مقطر كشاهد.

**تحديد المحتوى الكربوهيدراتي في جذور الشتلات**

لتحديد دور مرض تعفن الجذور الجاف وتأثيره على المحتوى الكربوهيدراتي لجذور شتلات الحمضيات المصابة، استخدمت طريقة الأنثرون (Yemm و Willis، 1954). حيث جمعت جذور 10 شتلات النارنج (الشفشي) لكل معاملة على حده من عزلات الفطر *F. solani* الستة، وغسلت بالماء ثم جففت جيداً وطحنت باستعمال الخلاط الكهربائي، وضع 1 جرام من كل عينة (10 عينات/معاملة) في دورق قياسي حجمه 500 مل، أضيف إليه 250 مل ماء مقطر و15 مل لكل من محاليل الترويق (A و B) "محلول الترويق A : تم تحضيره بخلط 21.6 جم من بلورات خلات الزنك (Zinc Acetate) مع 3 مل حمض الخليك (Acetic acid) في 100 مل ماء مقطر و محلول الترويق B : تم تحضيره بخلط 10.6 جم من بلورات سيانيد حديد البوتاسيوم (Potassium Ferro cyanide) في 100 مل من الماء المقطر". أكمل الحجم بالماء المقطر إلى 500 مل مع الرج عدة مرات، ثم تركت لمدة 30 دقيقة، رشح المحلول بواسطة ورق ترشيح واتمان رقم 1، بحجم 11 ميكرون (Whatman no.1, 11 µm)، و تمَ تحليل العينات للكشف عن إجمالي السكريات غير التركيبية باستخدام طريقة الأنثرون (Anthrone) بإذابة 0.2 جم أنثرون في 100 مل من حمض الكبريتيك المركز 98% (Yemm و Willis، 1954).

أخذ 2 مل من مستخلص الجذور لكل معاملة بعد إجراء عملية الترويق وأضيف إليها 4 مل من الأنثرون، لملاحظة تغير لون المستخلص إلى اللون الأزرق. (إذا كان اللون غامق جداً يتم تخفيف العينة بالماء المقطر)، ترك المحلول ليبرد، أضيف 1 مل منه الى الأنبوبة المخصصة لجهاز المطياف، تقاس كثافة اللون المتكون بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند الطول الموجي 620 نانومتر، وسجلت القراءة لكل عينة. قبلها تم معايرة جهاز المطياف الضوئي باستخدام العينة القياسية Blank باستخدام الخطوات المشار إليها سابقا.

حُضرت محاليل قياسية من سكر الجلوكوز معلومة التركيز ورسم الخط المستقيم لمعرفة تركيز السكريات في العينات المراد اختبارها حيث أذيب 1 جم من الجلوكوز في 100 مل ماء مقطر وذلك للحصول على محلول تركيزه 0.01 %، أخذ منه 5 مل ووضع في دورق يحتوي على 50 مل ماء مقطر للحصول على التركيز 0.001 % من المحلول القياسي. ثم أخذ 6 مل من المحلول الذي تركيزه 0.01 ووضع في دورق يحتوي على 50 مل ماء مقطر للحصول على التركيز 0.0012 %. ثم أخذ 7 مل من المحلول الذي تركيزه 0.01 ووضع في دورق به 50 مل ماء مقطر للحصول على التركيز 0.0014 %. وهكذا تتبع نفس الطريقة للحصول على التركيز 0.0016 %. ثم وضعت العينات في أنابيب المطياف وسجلت القراءات.

## النتـائج والمناقشة

أظهرت أشجار البرتقال المصابة بالفطر *F. solani* ، أعراضًا للذبول، والتدهور، وجفاف الأوراق وتساقطها، ونخر الجذور، وتغير اللون الى الأرجواني للخشب، و موت قلف الاشجار، وهذا يتوافق مع وصفه Kunta و أخرون (2015) في وصفهم لأعراض الاصابة بهذا الفطر على أشجار البرتقال في ولاية تكساس بالولايات المتحدة.

وقد بينت نتائج العزل المختبري، أن الفطر *F. solani* هو المسبب لمرض تعفن الجذور الجاف لأشجار الحمضيات في ليبيا، إذ عُزل من جميع العينات المصابة به، من جميع المناطق التي شملتها الدراسة وقد أثبت اختبار الإمراضية أن هذا الفطر هو المسبب لهذا المرض وهذا يتوافق مع الدراسة التي قام بها (Kore and Mane, 1992; Catara and Polizzi, 1999; El-Mohamedy and Hasabo, 2005; Kunta *et al*., 2015). حيث تم الكشف في هذه الدراسات عن تعفن الجذور ومرض الذبول في العديد من مشاتل الجوافة، الزيتون والحمضيات (شكل 1)، ووصلت نسبة الإصابة بهذا المرض في البعض منها الى حوالي 42 %.

شكل 1. أعراض مرض الذبول على أشجار الحمضيات في أحد مناطق شمال غرب ليبيا.

وأظهرت بعضها أيضا أن ارتفاع نسبة وشدة جفاف وتعفن الجذور تزداد في الأشجار المجهدة بسبب العوامل البيئية، على سبيل المثال الأشجار التي تنمو تحت ظروف صرف سيئة، مقارنة بالأشجار النامية تحت ظروف مثالية وهذا يتوافق مع الدراسة التي قام بها Elagael وآخرون (2010).

لتحديد تأثير فطر *F. solani* على المحتوى الكربوهيدراتي في جذور شتلات الحمضيات المصابة، حُسبت التراكيز القياسية لسكر الجلوكوز وتم قياس الامتصاصية باستخدام المطياف الضوئي (جدول 1)، لرسم المنحنى القياسي (شكل 3).

جدول 1. امتصاصية المحلول القياسي لتراكيز معلومة من سكر الجلوكوز

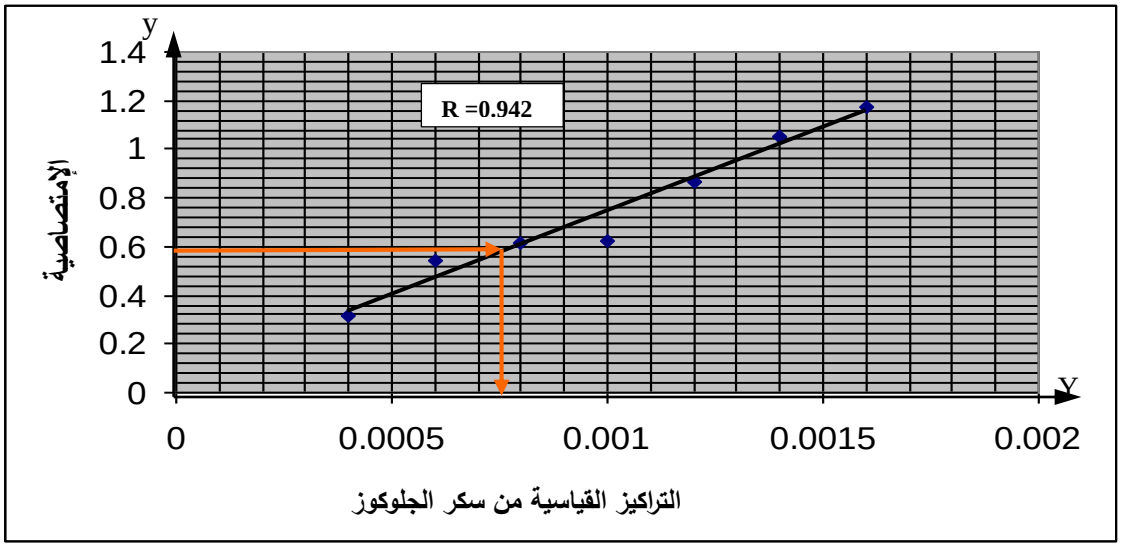
| العينات | التركيز القياسي | قراءة امتصاصية المحلول القياسي |
|---|---|---|
| Blank | 0.0004 | 0.316 |
| 1 | 0.0006 | 0.51 |
| 2 | 0.0008 | 0.611 |
| 3 | 0.001 | 0.623 |
| 4 | 0.0012 | 0.866 |
| 5 | 0.0014 | 1.051 |
| 6 | 0.0016 | 1.176 |

سجلت قراءة الامتصاصية لعينات الجذور المعاملة بعزلات الفطر *F. solani*، وكذلك الشاهد (جدول 2)، والذي تم من خلاله حساب تركيز السكريات غير التركيبية في المعاملات (جدول 2).

وبمعرفة التركيز أمكن حساب كمية السكريات غير التركيبية بالملجم / 1 جم من الوزن الجاف للجذور (شكل 4).

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي حسب اختبار دانكن وجود فروق معنوية في محتوى جذور شتلات النارنج (الشفشي) من السكريات غير التركيبية بعد معاملتها بعزلات مختلفة من *F. solani* (6 عزلات) مقارنة مع جذور الشتلات غير المعاملة (شكل 3).

بينت هذه النتائج أن العزلتين F4 وF5 قد سببتا أعلى انخفاض في محتوى الجذور من السكريات، بنسبة 71% مقارنة مع الشاهد. بينما سجلت العزلة F2 أقل انخفاض في محتوى الجذور من السكريات، بنسبة 32%، هذا يتوافق مع الدراسة التي قام بها Graham، وآخرون (1985)، حيث استنتجوا أن *F. solani* يبدو أنه المستعمر الأساسي لجذور اشجار الحمضيات كما يسبب في استنفاد المحتوى الكربوهيدراتي لها.

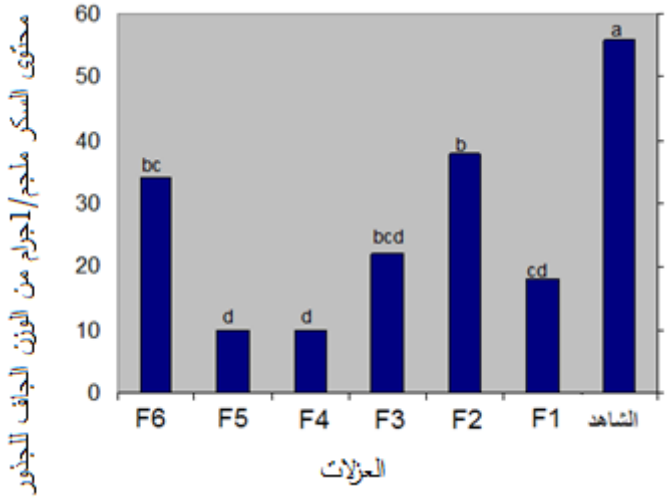



شكل 3. المنحنى القياسي المستخدم لحساب كمية السكريات غير التركيبية.

جدول 2. قياس الامتصاصية والتركيزات القياسية لمستخلص جذور الحمضيات المعاملة بعزلات مختلفة من فطر *F. solani* مقارنة بالشاهد.

| العينات المعاملة ببعض العزلات | الامتصاصية للعينات | تركيز السكريات |
|---|---|---|
| الشاهد بدون معاملة | 0.965 | 0.00145 |
| F1 | 0.318 | 0.00045 |
| F2 | 0.719 | 0.00095 |
| F3 | 0.408 | 0.00055 |
| F4 | 0.247 | 0.00025 |
| F5 | 0.248 | 0.00025 |
| F6 | 0.707 | 0.00085 |

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لتجربة تقدير كمية السكريات في جذور الشتلات المعاملة بعزلات مختلفة من الفطر وجود فروقات معنوية بين العزلات في تأثيرها على محتوى الجذور من السكريات غير التركيبية عند المستوى a = 0.05 (شكل 3) وذلك حسب اختبار دانكن لفصل المتوسطات.




شكل 4. تأثير 6 عزلات لفطر *F. solani* على محتوى جذور شتلات الحمضيات المصابة من السكريات مقارنة بالشاهد. (المعاملات التي تحتوي على حروف متشابهة لا يوجد بينها فروقات معنوية).

وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها (Nemec et al., 1989; Labuschagne et al., 1992; El-Mohamedy and Hasabo, 2005) الذين ذكروا بأن هذا الانخفاض يكون بسبب تغذية الفطر على سكر الجلوكوز الذي يعتبر مهماً جداً في تطور قشرة الجذور. كما أن التغذية على الجلوكوز تؤدى إلى زيادة أعداد الفطر بصورة كبيرة جداً في منطقة الجذور.

## المراجع

المغربي، ص. (2005). دراسة ظاهرة ذبول وجفاف غراس الصنوبر الثمري *Pinus pinea* وتحديد المسببات الممرضة. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، **27**، 73–83.

Baker, R. A., Tatum, J. H. and Nemec, S. (1981). Toxin production by *Fusarium solani* from fibrous roots of blight-diseased trees. Phytopathology, **71**, 951-954.

Bereneuza, T. R. V., Coimbra, M. R. M., Morais, M. A. and Oliveira, N. T. (2004). Genetic variability within *Fusarium solani* species as revealed by PCR-fingerprinting based on PCR markers. Braz. J. Microbiol., **35**, 205-210.

Booth, C. (1971). The genus *Fusarium*. Commonwealth mycological Institute, Kew, surrey, England. 237 pp.

Catara, A. and Polizzi, G. (1999). Dry root rot of citrus: Symptoms, causing and susceptibility of rootstocks. Rivisto di Fruticolture, **6**, 38-41.

Damiano, A., Pucci, E. and Sadd, A. (1960). Parassiti E Malattie Degli Agrumi in Tripolitania; Nazirato Dell' Agricoltura Sezione Protezion Piante, Tripoli. In Italian and Arabic. 19pp.

Elagael, A., Younes, H. and Adam, F. (2010). Diseases of citrus in Libya. Journal of Education, **5**, 4-13.

Elaraby, K. F. (1985). Distribution and Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolates on tomato crop in some coastal regions of the Libyan Jamahiriya. M.Sc. Thesis (Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tripoli, Tripoli-Libya). 36 pp.

El-mohamedy, R. S. R and Hasabo, S. A. (2005). Response of some citrus rootstocks to infection with *Fusarium solani* and citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* under greenhouse condition. Egypt. J. Phytopathol., **33**, 11-25.

El-Mohamedy, R. S. R. (1998). Studies on wilt and root rot diseases of some citrus plants in Egypt. Ph.D. Thesis, Fac. of Agric., Ain Shams. Univ., Egypt. 227pp.

Fahmy, T. (1923). The production by *Fusarium solani* of a toxic excretory substance capable of causing wilting in plants. Phytopathology, **13**, 543-550.

Graham, J. H., Brlansky, R. H., Timmer, L. W., Lee, R. F., Marais, L. J. and Bender, G. S. (1985). Comparison of Citrus tree declines with necrosis of major roots and their association with *Fusarium solani*. Plant Disease, **69**, 1055- 1058.

Graham, J. H., Timmer, L. W. and Young, R. H. (1983). Necrosis of major roots in relation to citrus blight. Plant Disease, **67**, 1273-1276.

Kore, S.S. and Mane, A.V. (1992). Dry root rot of Kagzi lime seedlings caused by *Fusarium solani*. J. Maharashtra Agric. Univ. (India), **17**, 228-278.

Kunta, M., Salas, B., Gonzales, M. and da Graca, J. V. (2015). First report of citrus dry root rot caused by *Fusarium solani* on sour orange rootstock in Texas. Journal of Citrus Pathology, **2**, 1-5.

Labuschagne, N., Kotze, J., Rossum, M. and Robe, E. (1992). *Fusarium solani* , root rot of citrus related to carbohydrate and free amino acid content of citrus. Proc. Int. Soc. Citriculture, **2**, 844-847.

Lindbeck, A. G. C. and Brlansky, R. H. (2000). Cytology of fibrous roots from citrus blight-affected trees. Plant Disease, **84**, 164-167.

Mansoor, B. and Kord, M. H. (2006). Yellow Death: A disease of Date Palm in Iran Caused by *Fusarium solani*. Journal of Phytopathology, **154**, 125–127.

Martin, J. P. (1949). Effect of soil fungi on germination of sweet orange seeds and development of the young seedlings. Soil Sci. Soc. Am. Proc., **14**, 184-188.

Morsy, A. A. and El-Mohamedy, R. S. R. (2003). The role of soil salinity on *Fusarium* root rot development on some citrus rootstocks. Egypt J. Appl. Sci., **18**, 57- 74.

Nelson, P. E., Toussoun T. A. and Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania state university press, USA. 193 pp.

Nemec, S., Phelps, D. and Baker, R. (1989). Effects of dihydrfusarubin and isomarticin from *Fusarium solani* on carbohydrate status and metabolism of rough lemon seedlings. Phytopathology, **79**, 700-705.

Nemec. S., Baker R. and Burnett, H. (1980). Pathogenicity of *Fusarium solani* to citrus roots and its possible role in blight etiology. Proc. Fla. State Hort. Soc., **93**, 36-41.

Yemm, E. W. and Willis, A. J. (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. Biochemist. J., **57**, 508–514.

Younes, H. M. (2009). Isolation and identification the fungus which causes death and wilt disease of citrus in the western regions of Libya. M.Sc. (Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tripoli, Tripoli-Libya). 91 pp.