دراسة لمرض تبقع أوراق الفراولة بمنطقة الجبل الأخضر – ليبيا

زهرة الجالـــــــي*

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v18i1.755

الملخـــــص

استهدفت هذه الدراسة عزل وتعريف الفطر المسبب لمرض تبقع الأوراق على الفراولة أو التوت الأرضي ودراسة بعض الخواص البيولوجية للميكروب .

وقد تم عزل الفطر من أوراق نبات الفراولة على الوسط الغذائي أجار البطاطس والدكســـتروز (PDA) وباستخدام مفاتيح التصنيف واعتمادا على الصفات المورفولوجية و المزرعية . أشارت النتائج إلى أن الميكروب الذي تم الحصول عليه من الأنسجة النباتية المصابة هو الفطـــر *Colletotrichum fragariae* وذلك ما أكد عليه أيضا اختبار المقدرة المرضية، كما أشارت النتائج إلى أن الفطر يعطي أفضل نمو له على الوسط الغذائي (PDA) ، وأن درجة الحرارة 25°م كانت المثلى لنمو الفطـــر وإنبـــات الجـــراثيم ، وان الجرثومة تبدأ في الإنبات بعد مرور 8 ساعات من سقوطها على أنسجة الورقة .

كلمات مفتاحيه : الفراولة ، تبقع الأوراق ، *Colletotrichum fragariae* ، ليبيا .

* قسم وقاية النبات ، كلية الزراعة ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا ، ص.ب. 919 .

© للمؤلف (المؤلفون)، يخضع هذا المقال لسياسة الوصول المفتوح ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

المقدمـــــة

نبات الفراولـــة أو التـــوت الأرضـــي Strawberry من النباتات الغضة والمعمرة ويتبـــع العائلة الوردية وأسمـــه العلمـــي .sp *Fragaria* . تزرع الفراولة من أجل ثمارها الـــتي تؤكـــل إمـــا طازجة أو تدخل في صناعة الحلـــوى والمربيـــات والعصير وتعتبر الثمـــار غنيـــة في محتواهـــا مـــن السكريات والفيتامينات . كما أن ثمـــاره تحتـــوي على العديد من المعادن ذات الأهميـــة الاقتصـــادية (خليل، 1989) .

في منطقة الجبل الأخضر في ليبيا تـــزرع الفراولة على نطاق ضيق في البساتين المترلية (منطقة البيضاء) وبعض المزارع على الشـــريط الســـاحلي (منطقة الحنية) وفي منطقة سيدي الحمري حيـــث تسوق ثمارها طازجة بكميات بسيطة في الســـوق المحلية . ونظراً لأن زراعة مثل هـــذا المحصـــول لا تحتاج كميات كبيرة من الماء وهو مـــن المحاصـــيل المعمرة سريعة النمو والامتداد لذا يمكن اعتبارهـــا من الزراعات الواعدة .

تصاب الفراولة بالعديد من الأمـــراض الفطرية منها تبقع الأوراق الألترناري المتسبب عن الفطـــر *Alternaria tenuissima* (Wassenaar و Scheer ، 1989) والعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* (Baudry و Morzieres ، 1993) والعفن الرمادي الـــذي يســـــببه الفطـــــر *Botrytis cinerea* (Sutton و Peng ، 1993) وعفـــن الجـــذور الأســـود (*Rhizoctonia solani*) وذبـــول الفرتيســـليوم (*Verticillium albo-atrum*) والعفـــن الطـــري (*Rhizopus stolonifer*) والبيـــاض الـــدقيقي (*Sphaerotheca macularis*) وغيرها (Peres ، 2006) ويعتبر مرض التبقع أو الأنثراكنوز علـــى أوراق الفراولة والذي يتسبب عن جنسين مختلفين أولهما *Mycospherella fragaria* والثاني أنواع من الجنس .spp *Colletotrichum* مـــن أكثـــر الأمراض شيوعا على الفراولة (Peres ، 2006) .

تم تسجيل أول ظهور لهذا المـــرض في ولاية فلوريدا الأمريكية بواسطة الباحث Brooks (1931) وبتوالي الدراســـات اتضـــح لاحقـــا أن الإصابة بهذا المرض لا تقتصر على الأوراق فقط بل وتسبب تعفن التاج (Crown rot)، الساق الجارية أو المدادة (Stolon)، السويقات (Petiole) وأيضا تحدث تقرحات على الثمار وتتســـبب في ذبـــول للنباتـــــات (Brooks ، 1932 ؛ 1935 ؛ Horn و Carver ، 1963 ؛ Howard ، 1972) .

يلائم ظهور هذا المرض المناخ الـــدافئ الرطب حيث يساعد ذلك في زيادة الفقد أو الموت خصوصاً في المشـــاتل (Howard و Albregls ، 1984) وبمجرد دخول الفطر أنســـجة التـــاج في النبات يتبعه ذبول وموت مفاجئ للنبـــات تحـــت الظروف الرطبـــة الدافئـــة (Horn و Carver ، 1963) .

ولقد برهنت دراسات كثيرة علـــى أن الفطـــر *Colletotrichum fragariae* Brooks والفطـــر *C. acutatum* Semmonds والفطـــر *C. dematium* (Pres) Grove والفطـــــر *C. gloeosporioides* Penz هي المسببات لمرض الأنثراكنوز على الفراولـــة (Beraha و Wright ، 1973 ؛ Brooks ، 1931 ؛ Mass ، 1984 ؛ Philly ، 1995 ؛ Peres ، 2006) .

في ليبيا ظهر هذا المرض على زراعـــات الفراولة في المنطقة الغربية وتم تعريف المسبب حيث اتضح أن الفطر *M. fragariae* هو المسؤول عـــن الإصابة بهذا المرض (أبو غنية ، 1986) .

كما ظهر هذا المرض علـــى الفراولـــة المزروعة في بعض الحدائق والبســـاتين المترليـــة في المنطقة الشرقية (الجبل الأخضر) في ليبيا، حيـــث استهدفت هذه الدراسة عزل وتعريـــف المســـبب المرضي ودراسة بعض الخواص البيولوجية له .

المواد وطرق البحث

جمع العينات

جمعت عينات من أوراق الفراولة المصابة بالتبقع، من مواقع مختلفة (البيضاء ، الحنية ، سيدي الحمري) حيث أخذت العينات مـــن النمـــوات الحديثة والمتوسطة والقديمة وجرى فحصها للتعرف على أعراض المرض ووصفها .

عزل المسبب المرضي

1- العزل في غرفة الرطوبة

تم وضع أجزاء من الأوراق المصـــابة في غرفة الرطوبة بعد غسلها بالماء وتعقيمها ســـطحيا وغسلها مرة أخرى بالماء المعقم وذلك بغرض توفير الجو الملائم لتشجيع تراكيب الفطر على الظهـــور وفحص النموات الظاهرة .

2- العزل على البيئات الغذائية

حُضنت أجزاء من الأوراق المصابة بعد غسلها وتعقيمها في أطباق بتري علـــى الوســـط المغذي أجار البطاطس والدكستروز (PDA) لمدة 3 أيام في درجـــة حـــرارة 25 ± 2 م^{o} . حيـــث أخذت نموات الفطر وتمت تنقيتها علـــى الوســـط الغذائي نفسه وحُضرت منها مســـتعمرة وحيـــدة الجرثومة بطريقة الأطباق المخففة استخدمت فيما بعد لتحضـــير اللقـــاح المســـتخدم في العـــدوى الصناعية .

تعريف المسبب المرضي

لإجراء عملية التعريف تم تحميل الفطـــر على شرائح زجاجية وفحصها تحت الميكروسكوب حيث شوهدت التراكيب المختلفة للفطر المســـبب ووصفت بدقة وقورنت بالمراجع المعتمدة (Smith و Black ، 1990 ؛ Sutton، 1980) .

اختبار القدرة المرضية

1- تجهيز اللقاح

تم تجهيز اللقاح اللازم لإجراء اختبـــار القدرة المرضية للفطر المعزول وذلك بتنمية الفطـــر على الوسط الغذائي PDA لمدة 7 – 14 يـــوم في درجة حرارة الغرفة وتم غسل الجراثيم بواسطة الماء المقطر والمعقم المضاف إليـــه محلـــول Tween 20 بمعدل 2 قطرة/ لتر ثم تم تركيز اللقاح إلى 1.5 x 10^{-6} جرثومة/1 مل من المعلق باستخدام شـــريحة العد (Hemacytometer) وفقـــاً للطريقـــة الـــتي ذكرها Smith و Black (1987) .

2- تجهيز النباتات وإجراء العدوى الصناعية

جرى زراعة نباتات فراولة في أصـــص بقطر 15 سم تحتوي على تربة و رمل بنســـبة 1:1 بعد تعقيمها وتركت النباتات المزروعـــة لمـــدة 6 أسابيع قبل تلقيحها وأثناء هذه الفترة تمت ملاحظة النباتات للتأكد من خلوها من أعراض الأنثراكنوز وعفن التاج .

تم رش النباتات المزروعة بـــــ 50 مل من المعلق السابق بواسطة جهاز رش متوازن وذلك لتغطية النباتات بكمية متساوية وضمان توزيع جيد للمعلق، كما تم رش نباتات فراولة أخرى بالمـــاء المعقم فقط لاستخدامها للمقارنة (الشاهد) .

وضعت النباتات بعد المعاملة تحت أغطية بلاستيكية في ظروف رطبة ودرجة حرارة 25 ± 2 لمدة 48 ساعة ، ثم أزيلت الأغطيـــة البلاســـتيكية وتركت النباتات تحت الظروف المحمية (Smith و Black ، 1990) مع الملاحظة اليومية وتســـجيل الأعراض التي بدأت تتكشف بعد مرور 5 أيام من عملية العدوى .

الدراسات البيولوجية

1- تأثير عامل الحرارة على النمو القطري وإنبات الجراثيم

1.1 النمو القطري

لدراسة تأثير درجة الحرارة على النمـــو القطري للفطر تم تلقيح أطباق محتوية على الوسط الغذائي PDA بوضع قرص من النمو الفطري بقطر 4 مم في مركز كل طبق وتركها في درجة حرارة الغرفة لمدة يوم واحد قبل تحضـــينها في درجـــات حـــرارة 10 ، 15 ، 20 ،25 ، 30 ، 35 ، 40 م° بواقع 4 مكررات لكل درجة حرارة . تمت متابعة النمو وقياسه يوميا في اتجاهين متعامـــدين واخـــذ متوسط القراءة وحسابه كنسبة مئوية مـــن قطـــر الطبق تبعا للطريقـــة الـــتي ذكرهـــا (Bracanto و Golding ، 1953) .

1.2 إنبات الجراثيم

أجري هذا الاختبار على كونيـــدات الفطر باستخدام مرق البطـــاطس والدكســـتروز (PD) وذلك بوضع 0.5 مل من المرق على سطح شرائح زجاجية نظيفة ومعقمة موضوعة داخـــل أطباق بتري معقمة تحوي ورق نشـــاف مبلـــل . لقحت كل شريحة بوضع 0.1 مـــل مـــن المعلـــق

السابق وبواقع 3 مكررات/ درجة حرارة . نقلت الاطباق بما تحمله من شرائح في درجات حرارة 10 ، 15 ، 20 ، 25 ، 30 ، 35 ، 40°م لمدة 24 ساعة وبعد انتهاء فترة التحضين فحصت الشرائح تحت المجهر وتم حساب عدد الجراثيم النابتة كنسبة مئوية من مجموع 100 جرثومة جري فحصها (Srivastava و Kediya ،1984) .

2- دراسة الصفات المزرعية

لدراسة وتحديد مواصفات المزرعة الفطرية تم تلقيح أطباق بتري محتوية على الأوساط الغذائية: أجار البطاطس والدكستروز (PDA) ، أجار دقيق الذرة (CMA) ، أجار الفاصوليا الخضراء (GBA) بوضع قرص قطره 4 مم من مزرعة حديثة للفطر في مركز كل طبق وتركها في درجة حرارة الغرفة وتم تحديد وفحص لون المستعمرة النامية بعد 8 أيام من النمو .

3- تحديد الزمن اللازم لإنبات جراثيم الفطر

لتحديد الوقت المناسب لنمو وانبات الجراثيم أو الكونيدات حصرت بيئة الآجار المائي Water agar (WA) بتركيز 2% ووزعت في أطباق بتري . لُقحت الأطباق بوضع 1 مل من المعلق السابق تجهيزه في اختبار العدوى الصناعية في كل طبق ثم حُضنت الأطباق في درجة حرارة 25 م° لمدة 12 – 24 ساعة ثم وضعت تحت الملاحظة لتحديد الزمن اللازم لبدء الإنبات (El-Gali ، 1996) .

النتائج والمناقشة

جمع العينات ووصف الأعراض

ظهرت أعراض المرض في صورة بقع محدودة وغائرة منتشرة بين العروق الرئيسية الجانبية على السطح العلوي للورقة ، حيث كانت البقع دائرية الشكل ذات لون بنى محمر في بداية الإصابة ومع تقدمها أصبحت البقع ذات لون بني محمر ومحاطة بهالة صفراء (شكل 1) . في أواخر مراحل الإصابة تحول لون البقع الى اللون الداكن ، ومع اشتداد الإصابة اندمجت البقع مع بعضها البعض وغطت مساحات واسعة من سطح الورقة مظهرة عرض اللفحة وفي النهاية جفت الأوراق وسقطت .

عزل وتعريف المسبب المرضي

تحضين أجزاء النبات تحت ظروف رطبة شجع على ظهور نقط بيضاء كريمية اللون في مناطق البقع على الأوراق المصابة وبالفحص تحت الميكروسكوب تبين أن هذه النقط عبارة عن وسائد هيفية أو كويمات كونيدية (Acervuli) شائكة (Setose) تحمل حوامل كونيدية قصيرة متراصة تتخللها أشواك (Setae) صلبة سوداء اللون يمكن رؤيتها بسهولة . أما الجراثيم الكونيدية فقد ظهرت وحيدة الخلية شفافة اللون مائلة للاستطالة

شكل 1 أعراض الإصابة بمرض تبقع الأوراق على الفراولة أو التوت الأرضي ، من اليمين : ورقة مصابة ، ورقة سليمة

ذات نهاية مدببة أو منحنية قليلاً . هذه المميزات أو الصفات تتطابق مع ما ذكره (Smith و Black ، 1990) . وبمقارنة النتائج مع ما ذكـــره (Smith و Black ، 1990 ؛ Sutton ، 1980) أمكـــــن تعريف المســـبب لهـــذا المـــرض وهـــو الفطـــر *Colletotrichum fragariae* .

اختبار القدرة المرضية

بينت نتـــائج العـــدوى الصـــناعية أن النباتات التي تم رشها بمعلق جراثيم الفطر ظهـــرت على أوراقها بقع دائرية الشكل ذات لون بني محمر بعد مرور 5 أيام من تاريخ العدوى و تبدأ الهالـــة الصفراء التي تحيط بالبقع في التكشف بعد مرور 7 أيام على العدوى وهي مشابهه تمامـــا لأعـــراض البقع أو الأنثراكنوز التي شوهدت على النباتـــات في الحقل ، ويوضح الجدول (1) أعـــراض تطـــور المرض خلال فترة العدوى من 5– 14 يوم .

دراسة تأثير الحرارة على النمو القطري وإنبـــات الجراثيم

تشير نتائج دراسة تأثير عامل الحـــرارة على النمو القطري وإنبـــات الجـــراثيم للفطـــر *C. fragariae* (شكل 2) إلى أن درجات الحرارة المنخفضة تحفز الإنبات ولكن بدرجة ضعيفة ، في حين تزداد نسبة الإنبات مع ارتفاع درجة الحرارة

جدول 1 تطور أعراض مرض الأنثراكنوز على نباتات الفراولة تحت ظروف العدوى الصناعية بلقاح الفطر *C. fragariae* خلال الفترة من 5-14 يوم

المعاملات	عدد النباتات المعاملة	متوسط عدد البقع / نبات		
		فترة العدوى (أيام)		
		5	10	14
نباتات ملقحة*	5	7	13	22

* نباتات تم رشها بمعلق جراثيم الفطر *C. fragariae*

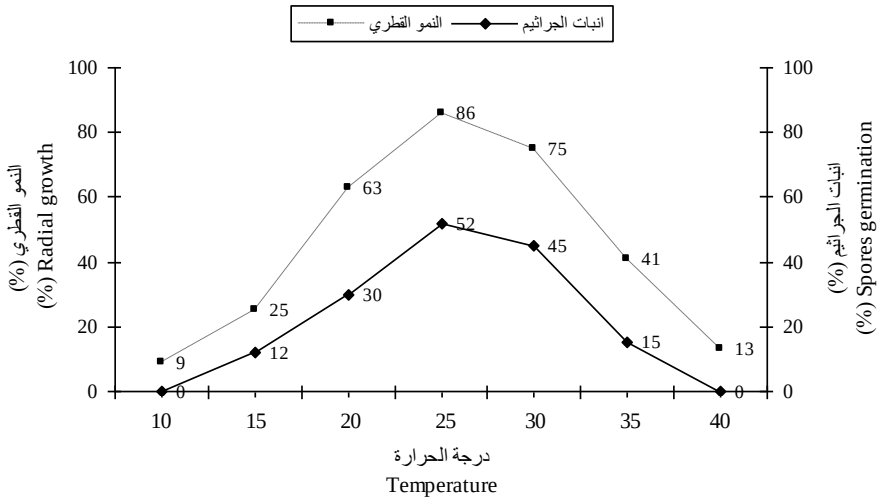
حتى تصل أعلى مستوىً لها عند 25 م° ثم تبدأ في الانخفاض مرة أخرى وهذا تؤيده دراسات كثيرة والتي برهنت على أن الكائنات الدقيقة تتأثر كثيراً بالحرارة وتنبت ببطء على درجات الحرارة المنخفضة ولكن يزداد معدل إنباتها مع زيادة درجة الحرارة ليصل إلى أعلى مستوىً له عند درجات الحرارة المثلى ثم ينخفض مرة أخرى عند درجات الحرارة العليا (Abdel-Rahim و Arbab ، 1985 ؛ El-Gali ، 1996 ؛ Zaracovitis ، 1966) .

دراسة الصفات المزرعية

بعد تنمية الفطر على الأوساط الغذائية PDA ، CMA وGBA والتحضين لمدة 8 أيام اتضح أن الفطر يكون مستعمرة ذات لون كريمي من السطح العلوي (شكل 2) واخضر زيتوني من السطح السفلي على الوسط الغذائي PDA ، وهذه الصفات تتفق مع ما ذكره (Smith و Black ، 1990) . أما على الوسط الغذائي CMA ظهرت النموات على صورة نقط صغيرة بنية اللون متناثرة على سطح البيئة وبالفحص تحت الميكروسكوب اتضح أنها عبارة عن كتل من الجراثيم الكونيدية في حين ظهرت نموات زغبية بيضاء اللون تحيط بها دائرة داخلية من اللون البني الداكن هي عبارة عن كم هائل من الجراثيم ثم دائرة خارجية من ميسليوم ابيض اللون شفاف ولامع على الوسط المغذي GBA .

تحديد الزمن اللازم لإنبات جراثيم الفطر

توضح نتائج تحديد زمن نمو الكونيدات أو الجراثيم إلى أن بدء الإنبات كان بعد مرور 8 ساعات من التحضين أي أن الإنبات يبدأ بعد مرور 8 ساعات من وصول الجرثومة الى سطح الورقة . دراسات أخرى مماثلة تم إجراؤها على فطريات أخرى لتحديد زمن بدء الإنبات والتي أكدت على اختلاف زمن إنبات الجراثيم باختلاف جنس ونوع الفطر (Abdel-Rahim و Arbab ، 1985 ، El-Gali ، 1996 ؛ Fahdiel ، 2000) .



شكل (2): تأثير درجات الحرارة المختلفة على النمو القطري وانبات الجراثيم
Fig (2): Effect of different temperature on radial growth and spores germination

شكل 3 مزرعة نامية للفطر *Colltotrichum fragariae* على الوسط المغذي

A Study of Strawberry Leaf Sopts in Al-Jabal El-Akhdar Area, Libya

El-Gali Z.I.[1]

Abstract

This study was carried out isolate and determinate the fungus that caused leaf spots on strawberry during 2005- 2006 season.

The pathogen was isolated on PDA medium and identified on the basis of classification keys, morphological and cultural characteristies, the results proved that the recoverd isolate from the infected plant tissues belong to *Colletotrichum fragariae*. Furthermore, the infectivity test of the pathogen supported its determination. The PDA medium was found as the best substrate for fungal growth, and the optimum temperature was 25c° for radial growth and spores germination. The spore germination was started after 8 hr on water Agar surface.

Key words: Strawberry, Leaf spots, *Colletotrichum fragariae*, Libya.

[1] Plant Protection Dept., Faculty of Science, Omar El-Mukhtar University.

المراجـــــع

أبو غنية ، عبد النبي . 1986 . أمراض المحاصـــيل البستانية . جامعة الفاتح . 272 صفحة .

خليل ، محمود عبد العزيـــز . 1989 . محاصـــيل الخضر . منشأة المعارف بالإســـكندرية . 336 صفحة .

Abdel-Rahim, A. M. and Arbab, H. A. (1985). Factors affecting cnoidiospore germination in *Aspergillus niger*. Mycopathologia, 89: 75-79.

Baudry, A.; Morziers, J.P. (1993). First report of charcoal rot of strawberry in France. Acta. Hortic. 348: 485-488.

Beraha, L. and Wright, W. R. (1973). A new anthracnose of strawberry caused by *Colletotichum dematium*. Plant Dis. Rep., 57: 445-448.

Bracanto, F. P. and Golding, N. S. (1953). The diameter of the mold colony as a reliable measure of growth. Mycologia, 45:848.

Brooks, A. N. (1931). Anthracnose of strawberry caused by *Colletotrichum fragariae*, n. sp. Phytopathol., 21: 739-744.

Brooks, A. N. (1932). A study of strawberry wilt or crown rot. Pages 144-145 in: Fla. Agric. Exp. Stn. Annu. Rep.

Brooks, A. N. (1935). Anthracnose and wilt of strawberry caused by *Colletotrichum fragariae*. (Abstr.) Phytopathol., 25: 973-974.

El-Gali, Z. I. (1996). Aflatoxin contamination of some crop seeds in Libya. M. Sc. Thesis Submitted to Univ of Omer Al-Mukhtar. Pp 168.

Fahdiel, G. I. (2000). Survey of powdery mildew on cucurbitacae in Libya. M. Sc. Thesis Submitted to Univ of Omer Al-Mukhtar. Pp 120.

Horn, N. L. and Carver, R. G. (1963). A new crown rot of strawberry plant caused by *Colltotrichum fragariae*. Phytopathol., 53: 768-770.

Howard, C. M. (1972). A strawberry fruit rot caused by *Colltotrichum fragariae*. Phytopathol., 62:600-602.

Howard, C. M. and Albregls, F. E. (1984). Anthracnose. Pages 85-87 in: Compendium of strawberry Disease. J. L. Mass, ed American Phytopathological Society, Paul, MN.

Mass, J. L. (1984). Compendium of strawberry Disease. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN. Pp. 57-60 and 85-87.

Peres, N.A. (2006). Florida plant disease-Management Guide: Strawberry. Internet Explorer.

Philley, G. (1995).Strawberry Handel book index. Internet Explorer.

Smith, B. J. and Black, L. L. (1987). Resistance of strawberry plant to *Colltotrichum fragariae* affected by environmental conditions. Plant Dis. 71: 834-837.

Smith, B. J. and Black, L. L. (1990). Morphological, cultural and pathological variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. Plant Dis., 74: 69-76.

strawberry leaves. Phytopathol., 83(6): 615-621.

Zaracovitis, C. (1966). The germinatino of conidial powdery mildew fungi. In: The fungi spore (Ed. By M. F. Madlin) Butterworths, London.

Wassenaar, L.M. and Scheer, H.A.T. (1989). Alternaria leaf spot in strawberry. Acta. Hortic. 575-578.

Srivastava, S.I. and Kediya, U.I. (1984). Effect of fern extracts on conidial germination and germ tube growth of two pathogenic fungi. Ind. Phytopath., 137: 561-563.

Sutton, B. C. (1980). The Coleomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 696 pp.

Sutton, J.C. and Peng, G. (1993). Biological of *Botrytis cinerea* in