مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
عدد خاص بالأوراق العلمية المقدمة للمؤتمر العلمي الأول للعلوم الزراعية – إنتاج نباتي (5-6 أكتوبر 2019)

عزل وتعريف مسبب ذبول محصول الطماطم النامي تحت ظروف الزراعات المحمية بضواحي مدينة طرابلس

* خيرية مصباح دياب نجاة خليفة الغرياني

وزارة الزراعة قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة طرابلس

Karya8522@gmail.com

https://doi.org/10.36602/jmuas.2019.v01.01.26

الملخص

يعتبر محصول الطماطم *Lycopersico esculentum L.* التابع للعائلة الباذنجانية *Solanaceae*، الأول عالمياً بين محاصيل الخضر من حيث المساحة المزروعة سنوياً، وهو الثالث كأهم المنتجات الزراعية بعد القمح والشعير، وثاني أهم محاصيل الخضروات بعد البطاطس في ليبيا، استهدفت الدراسة عزل وتعريف مسبب مرض الذبول لمحصول الطماطم النامي، تم الحصول على أربع عزلات من فطر *Fusarium oxysporum* من الجذور والمناطق المحيطة بها لنباتات الطماطم النامية تحت ظروف الزراعات المحمية بمنطقتي جنزور وعين زارة بمدينة طرابلس، وكان الفطر أكثر تواجداً في منطقة عين زارة بنسبة 37% مقارنة بجنزور بنسبة 22%.

الكلمات المفتاحية: الطماطم، الجذور، *Rhizosphere*، *Fusarium oxysporum*.

المقدمة

يعتبر محصول الطماطم *Lycopersico esculentum.*، التابع للعائلة الباذنجانية *Solanaceae* والتي تضم 90 جنساً وحوالي 2000 نوع من النباتات (فحيمة، 2004–2012)، يحتل الطماطم المرتبة الأولي عالمياً بين محاصيل الخضر من حيث المساحة المزروعة سنوياً، يستهلك طازجاً أو مصنعاً، وثمارهُ غنية بالعناصر المعدنية التي يحتاجها الإنسان كالحديد والفسفور والكالسيوم والفيتامينات اللازمة لإمداد الجسم بالنشاط الحيوي لتنظيم عمليات التمثيل الغذائي، وذلك لاحتوائها على نسبة من فيتامين (C)، كذلك تحتوي على بروتينات ودهون وكربوهيدرات في الثمار الطازجة (أبوغنية، 1998)، أما في ليبيا يأتي محصول الطماطم في المرتبة الثالثة كأهم المنتجات الزراعية بعد القمح والشعير، وثاني أهم محاصيل الخضروات بعد البطاطس.

يتعرض محصول الطماطم للإصابة بالعديد من الآفات والأمراض سواء في الحقل أو في الزراعات المحمية التي تؤثر سلباً على نمو المحصول وإنتاجيته مثل الأمراض الفطرية، البكتيرية، الفيروسية والنيماتودا، وأهم الأمراض الفطرية موت البادرات، اللفحة المتأخرة،

اللفحة المبكرة، والذبول الفيوزاري الذي يسببه فطر *Fusarium oxysporum* (Agrios، 2005)، ينتشر مرض الذبول الفيوزاري في مختلف أنحاء العالم عندما تتوفر الظروف المناسبة لنمو الفطر على محصول الطماطم، وسجل هذا المرض في معظم مناطق زراعة الطماطم في ليبيا (Elarabi و Abughania، 1998).

يهاجم الفطر المسبب لمرض الذبول الفيوزاري *F. oxysporum* المجموع الجذري لنبات العائل حيث تدخل هيفات الفطر إلى نسيج العائل من خلال الجروح أو الخدوش وينمو الغزل الفطري في نسيج القشرة بين الخلايا ومنها إلى الأوعية الخشبية، حيث يتمركز داخل الأوعية الخشبية وينمو فيها بصورة جهازيه، كما ينمو الفطر داخل الأوعية التي يفرز فيها الأنزيمات والسموم والأحماض العضوية، التي تقوم بتحويل المركبات الفينولية بواسطة أنزيم الفينول أوكسديز إلى ميلانينات بنية إلى أرجوانية اللون، وهو ما يفسر وجود اللون البني الغامق عند أخذ مقطع طولي في الجذور والساق، أيضاً تحفز خلايا العائل على تكوين ما يعرف بالتايلوزات (Tyloses) ومواد تشبه الصمغ (gum – like) وغيرها، بالتالي تؤدي إلى انسداد في الأوعية الموصلة للماء من الجذور مما قد يتسبب في خفض المحتوى المائي في النبات وتظهر أعراض الذبول في البداية على شكل اصفرار الأوراق السفلية للنبات المصاب، ويمتد الاصفرار فيما بعد إلى الأوراق العلوية، وعند تقدم الإصابة يموت النبات (Lucas،1998).

نظراً لخطورة فطر *F. oxysporum*.، واستكمالاً للدراسات السابقة التي أجريت في ليبيا، تهدف هذه الدراسة إلى:- الحصول على عزلات نقية من فطر *F. oxysporum* المسبب لمرض الذبول من الجذور والتربة المحيطة بجذور (Rhizosphere) نباتات الطماطم بمنطقتي الدراسة (جنزور وعين زارة).

طرق ومواد البحث

أُجريت هذه الدراسة في مختبرات قسم وقاية النبات ومحطة أبحاث كلية الزراعة / جامعة طرابلس.

شملت هذه الدراسة زيارة حقلية لمنطقتي جنزور وعين زارة بمدينة طرابلس – ليبيا وذلك في موسم (2015- 2016)، حيث تركزت هذه الزيارة على البيوت المحمية المزروعة بنباتات الطماطم (شكل 1).

1. جمع العينات

أُخذت العينات عشوائياً من الجذور والتربة المحيطة بالجذور لنباتات الطماطم النامية تحت ظروف البيوت المحمية "صوبات" بمعدل ثلاث صوبات لكل منطقة، و10عينات من كل صوبة خلال موسم المحصول، جمعت العينات النباتية التي تظهر عليها أعراض

الذبول، كذلك أخذت عينات من التربة المحيطة بمنطقة جذور النباتات المصابة، ثم وضعت بأكياس بلاستيك نظيفة، دونت عليها المعلومات اللازمة مثل: تاريخ جمع العينة، عمر النبات، الصنف، التسميد، الري، نوع التربة والمنطقة، نقلت العينات للمختبر وحفظت في الثلاجة لحين البدء في عزل عينات نقية من *Fusarium* spp. باستخدام مفاتيح خاصة (Haggag وآخرون، 2012؛ Mishra وآخرون، 2013 و Sundaramoorthy وBaskar، 2013).

شكل (1). مواقع الدراسة.

2. عزل الفطر *Fusarium* spp في مزرعة نقية

1.2. العزل من الجذور

نقلت جذور نباتات الطماطم المصابة بالذبول من البيوت المحمية بمنطقة جنزور وعين زارة إلى المختبر وغسلت الجذور بالماء الجاري لإزالة التربة العالقة، ثم قطعت هذه الأجزاء بواسطة مشرط معقم إلى قطع صغيرة، وعقمت بمحلول التعقيم 80% ماء مقطر معقم، 10% كحول تركيزه 75%، هيبوكلوريت الصوديوم 10% لمدة 5 دقائق، نقلت بعدها إلى أطباق بتري تحتوي على الوسط المغذي آجار، البطاطس والديكستروز PDA بمعدل 4 قطع لكل طبق.

2.2. العزل من التربة

عزل فطر .*Fusarium* spp من التربة المحيطة بمنطقة جذور النباتات المصابة والسليمة باستخدام طريقة التخفيف المتتالية بالطريقة التالية :

وُضعت عينات التربة المجمعة داخل المعمل لعدة أيام لغرض تجفيفها بالهواء الجوي ثم غربلت التربة بالغربال حجمه 500µM للتخلص من الشوائب الموجودة في التربة، أخذ 1 جرام من التربة ونقل إلى أنبوب الاختبار الزجاجي الذي يحتوي على 9 مل ماء مقطر معقم و يمزج جيدا، ثم نُقل1 مل من المعلق إلى أنبوب اختبار يحتوي على 9 مل من ماء مقطر معقم واستمرت عملية التخفيفات المتتالية لمحلول التربة للحصول على التخفيف (10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4}، 10^{-5}) (Sundaramoorthy, 2013) تم اختيار التركيز 10^{-3} كأفضل تركيز لاستخدامه في هذه الدراسة.

نُقل 1 مل من كل تخفيف على طبق بتري يحتوي على الوسط المغذي PDA، وزع جيداً على البيئة وحضنت تحت درجة حرارة 2± 25 م°، نقل جزء من نمو الفطر النامي بواسطة إبرة العزل ووضعت على شريحة بها قطرة من صبغة اللاكتوفينول ثم وضع غطاء الشريحة وجهزت للفحص المجهري لتعريف فطر *Fusarium* والتي يعتمد على لون المستعمرة وشكل وحجم الأبواغ الهلالية الشكل وعدد الخلايا في كل بوغ هلالي (Elarabi وAbughania، 1998؛ Haggag و EL-Gamal، 2012؛ Joshi وآخرون، 2013 و Wong، 2003).

فحصت النموات الفطرية تحت المجهر الضوئي حيث عرف الجنس وذلك باستخدام كتب التعريف الخاصة بهذا الفطر وبمساعدة أساتذة الفطريات بقسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة طرابلس.

استخدم الوسط المغذي Komada لتأكيد تعريف فطر .*Fusarium* spp إلى النوع *F.oxysporum* وحضر الوسط على جزئيين (جدول 1)، تم خلط مكونات الجزء الأول مع التحريك المستمر حتى تصل لدرجة الغليان وتم تعقيمه في جهاز التعقيم الأتوكليف، أما الجزء الثاني تم تحضيره بإذابة كل المكونات ما عدا Chloramphenicol فيضاف بعد عملية التعقيم، يخلط الجزء الأول مع الجزء الثاني حين تصل درجة حرارة الجزء الأول إلى 45 م° وتوزع على أطباق بتري قطرها 9 سم (مولاي الحسن، 2006).

حضنت الأطباق عند درجة حرارة 2± 25 م° لمدة 5 أيام وبعد ظهور نمو الغزل الفطري نقلت أجزاء منه إلى أطباق أخرى تحتوي على الوسط المغذي PDA (potato Dextrose Agar) لغرض التنمية وحضنت الأطباق بصورة نقية عن طريق البوغ

المفرد Single spore على الوسط المغذي PDAوبيئة آجار الماء WA للحصول على عزلة نقية من الفطر، عرفت العزلات باستخدام المفتاح التقسيمي الخاص بتعريف فطر *Fusarium* spp. (Haggag وآخرون، 2012؛ Ignjatov وآخرون، 2012؛ Joshi وآخرون،2013 و Sundaramoorthy وBaskar، 2013).

قُطع قرص قطره 5mm من مزرعة الفطر *Fusarium* spp. نقية، ووضعت في طبق بتري يحتوي على PDA وKomada في مركز الطبق قطره 9سم، حضنت الأطباق في درجة حرارة 2± 25 م°، استخدم 5 مكررات لكل معاملة ثم أخذ متوسط النمو الشعاعي لمستعمرة الفطر في اتجاهين مختلفين يومياً ومتابعة نموه وتطوره على الوسط المغذي، حتى يصل متوسط النمو الشعاعي للشاهد 9سم مع ملاحظة شكل نمو المستعمرة على الوسط المغذي Komada مقارنة بالوسط المغذي PDA كشاهد من حيث تأثيرها على نمو وتطور عزلات الفطر *Fusarium* spp. (مولاي الحسن، 2006؛ Rowe، 1980؛ Wong، 2003 و Nel وآخرون، 2006).

جدول (1). مكونات الوسط المغذي Komada.

الجزء الأول	الجزء الثاني
950 مل ماء مقطر	50 مل ماء مقطر ومعقم
1g K_2HPO_4	1g PCNB (75%)
0.5g KCL	0.5 g Oxgall
0.5g $MgSO_4$	1g $Na_2B_4O_7$
7 HO_2	10 HO_2
2g L. Asparagine	0.25g Chloramphenicol
20g Galactose	
0.01g Fe EDTA	
15g Agar	

النتائج والمناقشة

1. جمع العينـات

أوضحت نتائج العزل من نباتات الطماطم التي تظهر عليها أعراض الذبول من منطقتي جنزور، عين زارة والتي تكرر وجود المسبب *Fusarium* spp. وذلك من خلال الفحص المجهري (شكل 2).

عزل الفطر من التربة المحيطة بجذور نباتات الطماطم، أوضحت كتب التعريف أن جنس الفطر هو *Fusarium*، وعند عزله على الوسط الانتقائي Komada الذي يعتبر وسطا مناسبا لنمو الفطر المسبب لمرض الذبول، أكدت وسائل التعريف المختلفة التي استخدمت في الدراسة أن النوع هو *F. oxysporum*.

تتفق هذه النتائج مع دراسات Ignjatov وآخرون (2012) ومولاي الحسن (2006) حيث عُزل *F.oxysporum* وتم تأكيد تعريفه بواسطة الفحص المجهري، كما اتفقت أيضاً مع Ommati و Zaker (2012) اللذين عزلا الفطر الممرض *F. oxysporum* من نباتات الطماطم التي تظهر عليها أعراض نموذجية للذبول وتم تأكيد تعريفه بهذه الطرق.

شكل 2. أعراض مرض الذبول المتسبب عن فطر *Fusarium* spp. على نباتات الطماطم في منطقتي الدراسة، (أ)عين زارة، (ب) جنزور.

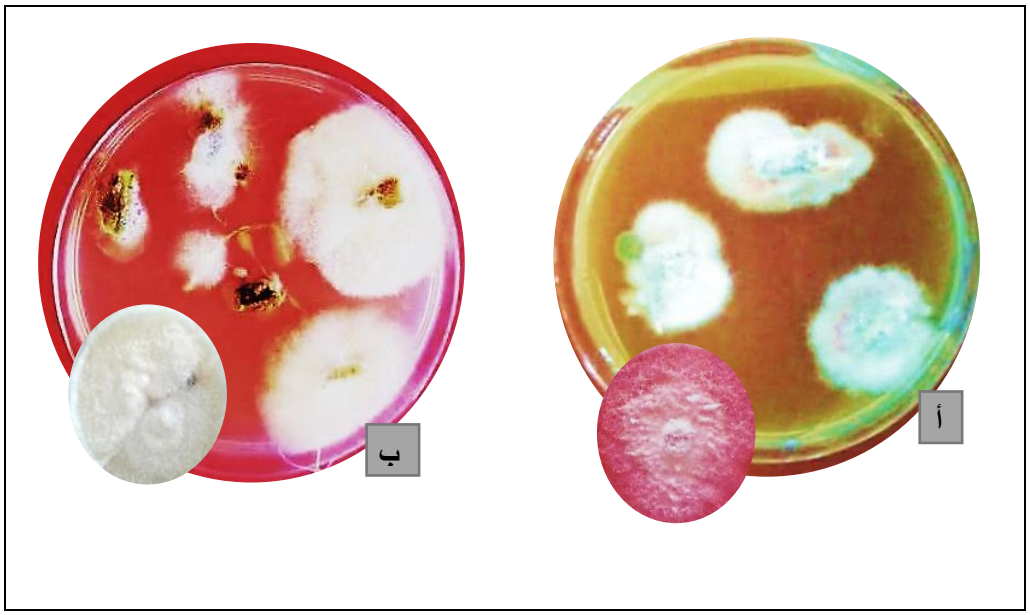
2. عزل الفطر *Fusarium* spp. في مزرعة نقية

1.2. العزل من الجذور

أظهرت النتائج أن مرض الذبول كان متلازماً مع نباتات الطماطم في منطقتي الدراسة بعد تنميتهُ على الوسط المغذي PDA (شكل 3)، وعرف المسبب على أنه *F. oxysporum* على محصول الطماطم وكان منتشرا في مزارع منطقة عين زارة أكثر من مزارع جنزور وذلك لأن منطقة عين زارة معروفة بزراعة هذا النوع من المحاصيل حيث التربة غنية بالمواد العضوية، كما وجد الفطر

متلازماً مع النباتات أكثر من التربة وقد تم تأكيد وجود المرض على النباتات المصابة بفحص الأوعية الناقلة للنبات والتي عادة تأخذ اللون البني وكانت مرافقة لجميع النباتات المصابة.

تتفق هذه النتائج مع Alarbiو Abughania (1998) في دراسة لمسح وتعريف بعض عزلات فطر *Fusarium* من بعض المناطق الساحلية في ليبيا. فقد عرفوا عدة أنواع لفطر *Fusarium* والتي عزلت من محصول الطماطم منها: *F. solani, F. moniliformae, F. fusarioides.* و *F.equiseti* والأخير عُزل لأول مرة في ليبيا، والنوع الذي كان أكثر شيوعا هو *F. oxysporum*وتتفق نتائج هذه الدراسة أيضاً مع النتائج التي تحصل عليها (wong ،2003 Sundaramoorthyو Baskar 2013) حيث عزل الفطر *Fusarium* من جذور نباتات الطماطم على الوسط المغذي PDA وتم تنقية الفطر والحصول على مزارع نقية منه، وكذلك اتفقت هذه النتائج مع Haggag و EL-Gamal (2012) والمصري 2008، حيث عزل الفطر *Fusarium* من الجذور والتربة المحيطة بجذور نباتات الطماطم المصابة.



شكل 3 نمو فطر *Fusarium* spp. المعزول من جذور نباتات الطماطم المصابة على الوسط PDA المغذي من منطقتي الدراسة عين زارة (أ)، جنزور (ب).

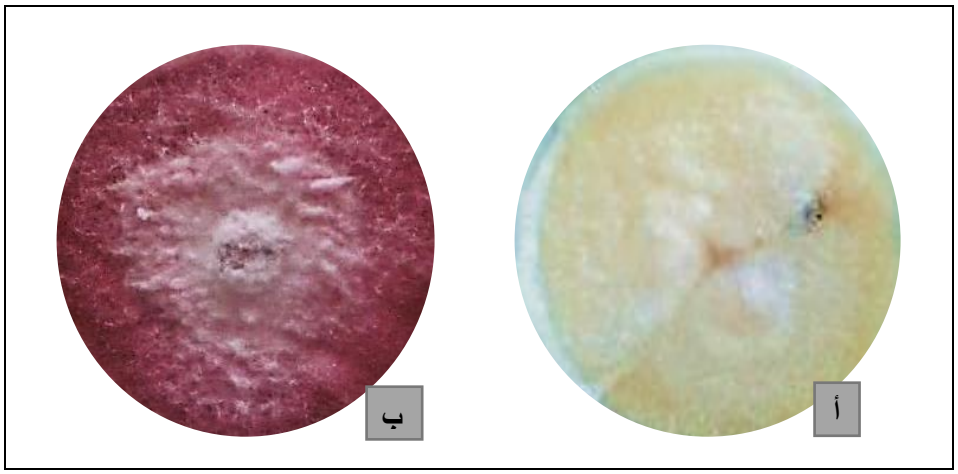
2.2. العزل من التربة

أوضحت نتائج العزل من تربة نباتات الطماطم المصابة بعد تنميتها على الوسط المغذي PDA وجود فطر *Fusarium* spp. في منطقتي الدراسة، وكأفضل نمو للفطر في التخفيف 10^{-3} (شكل 4).

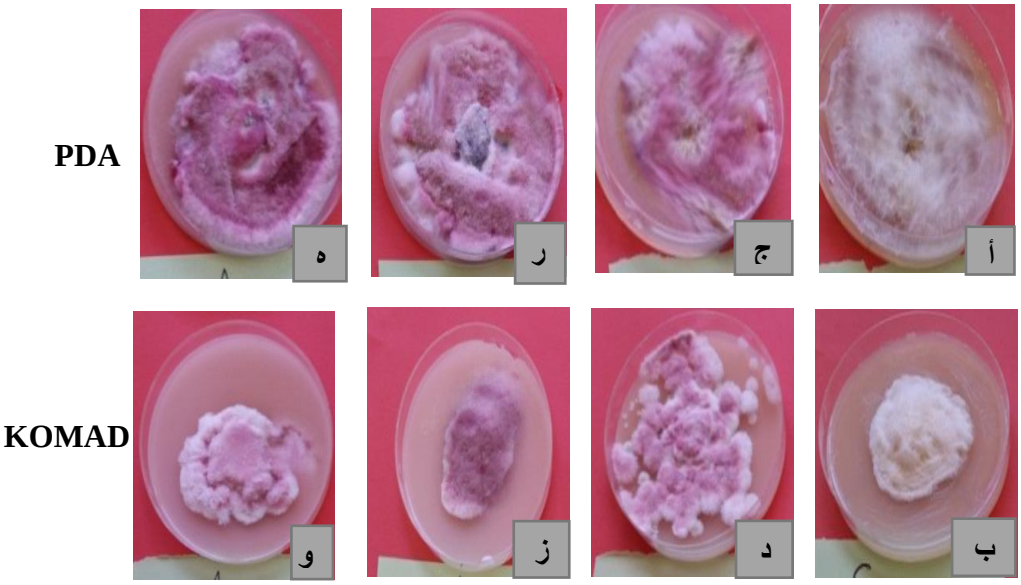
تتفق هذه الدراسة مع نتائج دراسة (Wong، 2003 وForoutan، 2013) حيث عُزل فطر *Fusarium* من تربة نباتات الطماطم المصابة على الوسط المغذي PDA.

لزيادة تأكيد تعريف فطر *Fusarium* spp. لمستوى النوع *F. oxysporum* استخدم الوسط المغذي Komada كوسط انتقائي لفطر *F. oxysporum* وكان لون الغزل الفطري أرجواني غامق في العزلة FA_2، الأرجواني المائل للاصفرار في العزلة FA_1 و FG_2، أما اللون الأبيض مائلاً للاصفرار في العزلة FG_1، وكان لون الغزل الفطري على الوسط المغذي PDA مثل الألوان التي أعطاها الوسط المغذي Komada (شكل 5).

اتفقت هذه النتائج مع Wong (2003) حيث الغزل الفطري يحمل اللون الأبيض المصفر والأرجواني المصفر، ويتفق مع Nel وآخرون (2005) ومولاي الحسن (2006) الذين عزلوا الفطر *F.oxysporum* على الوسط الانتقائي Komada، وكان لون الغزل الفطري أرجواني فاتح إلى أرجواني غامق.



شكل 4. مزارع نقية لعزلات فطر *Fusarium* spp. من تربة النباتات المصابة، (أ) جنزور، (ب) عين زارة على الوسط المغذي PDA.



FG_2 FG_1 FA_1 FA_2

شكل 5. نمو عزلات فطر *Fusarium oxysporum* لمنطقتي الدراسة على الوسط المغذي PDA والوسط المغذي Komada (أ، ب) FG_1 جذور، (ج، د) FG_2 تربة منطقة جنزور، (ر، ز) FA_1 جذور، (هـ، و) FA_2 تربة منطقة عين زارة.

التوصيات

- ✓ اتباع دورة زراعية.
- ✓ اتلاف بقايا نباتات المحصول السابق أو النباتات المصابة.
- ✓ زراعة الأصناف المقاومة للمرض.

المراجع

أبوغنية، عبد النبي. 1998. أمراض المحاصيل البستانية وطرق مكافحتها. شركة المطبوعات للتوزيع والنشر. بيروت.

مولاي الحسن، سدرة.2006. مرض البيوض على نخيل التمر ظهوره، أضراره، انتشاره، ظروف تفاقمه، طرق تشخيصه ومكافحته، إنجازات وآفاق وتوصيات عملية. المنظمة العربية للتنمية الزراعية، جامعة الدول العربية، المغرب.

فحيمة، عزالدين نصرالدين. 2004–2012. إحصائية لمحاصيل الخضروات والمساحات الإنتاجية. إدارة البستنة بوزارة الزراعة والثروة الحيوانية والبحرية في ليبيا.المنظمة العربية للتنمية الزراعية.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th ed. Elsevier lnc. EA. Press publication. USA.

Elarabi, K. F and Abughania, A.M. 1998. Distribution of *Fusarium* spp. of Tomato from different regions in Libya. Acta Phytopathologica Hungarica, 33 (1-2): 107-110.

Foroutan, A. 2013. Evaluation of *Trichoderma* Isolates for biological control of wheat foot and Root rot. Romanian Agricultural Research. 30: 365–342.

Haggag, K.; H.E. and El-Gamal N.G. 2012. In vitro study on *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* isolates causing the damping off and Root rot diseases in tomatoes. Nature and science. 10 (11): 16-25.

Ignjatov, M.; Milošević, D.; Nikolić, Z.; Gvozdanovic-Varga, J.; Dusica, J. and Zdjelar, G. 2012. *Fusarium oxysporum* as causal agent of tomato wilt and Fruit rot. Pestic. Phytomed. (Belgrade). 27 (1): 25-31.

Joshi, M.; Srivastava, R.; Sharma, A.K. and Prakash, A. 2013. Isolation and characterization of *Fusarium oxysporum*, a wilt causing fungus, for its pathogenic and non- pathogenic nature in tomato (*Solanum lycopersicum*). Journal of Applied and Natural Science. 5 (1): 108-117.

Lucas, J.A. 1998. Plant Pathology and Plant Pathogens. Blackwell Science Led. 3th ed. U.K. pp 274.

Mishra, V.K.; Passari, A.K and Singh, B.P. 2013. Identification of *Trichoderma* BPS–1, A biological control agent against Pea wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Interntional Journal of Biotechnology and Bioengineering. 4 (4): 375 – 382.

Nel, B.; Steinberg, C.; Labuschagne, N. and Viljuen, A. 2006. Isolation and characterization of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates from the rhizosphere of healthy banana. Plant pathology. 55: 207-216.

Ommati, F. and Zakee, M. 2012. Evaluation of some *Trichoderma* isolates for Biological control of potato wilt disease (*Fusarium oxysporum*) under Iabortory and greenhouse conditions. Journal Crop protection. 1 (4): 279–286.

Rowe, R.C. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-grown tomatoes in North America and Japan. Ecology and Epidemiology. 70 (12): 1143-1148.

Sundaramoorthy, S. and Baskar, P. 2013. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of Applied Biology and Biotechnology.1 (3): 36–40.

Wong, M.Y. 2003. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (sacc.). In Soil Borne Plant Pathogens, Snyder, W.C. and Hans H.N.(eds), Kansas State University. pp728.

Isolation and Identification of Tomato Wilt Pathogen under Green House Conditions in Tripoli Area

Khayriyah Misbah Dayab
Ministry of Agriculture

Najat Khalifa El - Gariani
Plant Protection Department,
Agriculture Faculty, Tripoli University
Karya8522@gmail.com

https://doi.org/10.36602/jmuas.2019.v01.01.26

Abstract

The tomato crop is *Lycopersico esculentum* L. of the Solanaceae family. The considered world's first among the vegetable crops in terms of cultivated area annually. It is the third most important agricultural products after wheat and barley and the second most important vegetable crops after potatoes in Libya. The study aimed to isolate and identify the cause of tomato wilt disease its under greenhouse conditions. Four *Fusarium oxysporum* isolates were obtained from tomato roots and surrounding area growing under protected agricultural conditions at Janzour and Ein Zara in Tripoli- libay. The fungus were more frequent at Ein Zara area (37%), compared with Janzour (22%).

Key words: Tomatoes, Roots, Rhizosphere, *Fusarium oxysporum*.