

عزل وتشخيص مسبب مرض الأنثراكنوز لثمار الزيتون بلبيبا.

فاتح عمر عجاج زيدان ومحمد نافع أسطيل وإسماعيل مصباح الفار.

قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - بني وليد، جامعة الزنتونة- ليبيا.

e-Mail: Zidan49104@yahoo.com.

المخلص

شوهدت أعراض الانثراكنوز على ثمار الزيتون الخضراء غير الناضجة والناضجة وهي عبارة عن بقع دائرية غائرة قليلاً بنية محمرة اللون ذات أقطار 2 - 10 ملم. جمعت عينات من أصناف ثمار الزيتون المصابة بأعراض الانثراكنوز من بساتين وهي (الراسلي، القرقاشي، البيوضي، الخادمي والقرطومي) بوادي بني وليد. عزلت ودرست المسببات، أتضح أن المسبب المرضي الفطر *Colletotrichum gloeosporioides*، وعند اختبار القدرة الإمرضية لثمار خمسة أصناف الزيتون المذكورة أعلاه ظهرت أعراض المرض مشابهة لمظهر الأعراض الحقلية على كافة الأصناف المعدة.

الكلمات المفتاحية: الانثراكنوز، ثمار الزيتون، *Colletotrichum gloeosporioides*،

بني وليد ليبيا.

المقدمة

تنتمي شجرة الزيتون *Olea europaea* L. للعائلة الزيتونية، تحتل شجرة الزيتون مكانة هامة بين أشجار الفاكهة الأخرى في دول حوض البحر الأبيض المتوسط لما تنتجه من ثمار وزيت يستعمل في تغذية الإنسان (11). وتعد الأمراض الفطرية من أهم العوامل التي تسبب خسائر اقتصادية مهمة لهذه الشجرة في مناطق غرب ليبيا وحوض البحر الأبيض المتوسط (1). يمثل مرض الانثراكنوز أخطر وأهم الأمراض التي تصيب شجرة الزيتون وأكثرها انتشاراً على المستوى العالم (18)، سجل فطر *Colletotrichum gloeosporioides* المسبب مرض الأنثراكنوز لثمار الزيتون لأول مرة في البرتغال من قبل Almeida في عام 1899، وتوالت العديد من الدراسات التي تشير إلى انتشار المرض في معظم أنحاء العالم وفي المناطق التي تزرع الزيتون مثل إيران (16)، وأستراليا (18)، ودول حوض البحر الأبيض المتوسط مثل إيطاليا (6)، أسبانيا (13، 12)، تونس (15)، المغرب

(2)، ومصر (10). حيث يتمثل ضرر الإصابة بهذا المرض إلى تكوين بقع دائرية على ثمار الزيتون الأخضر والناضجة غائرة بنية تميل للاحمرار ويتسبب مرض الأنثراكنوز في تعفن الثمار قبل وبعد الحصاد وتفقد قيمتها الاقتصادية وكذلك فقد في الإنتاج الزراعي، وكذلك جودة الزيت الناتج من الثمار المصابة بالفطر (20). مرض الأنثراكنوز من أهم وأخطر الأمراض التي تصيب ثمار الزيتون الناضجة حيث يستطيع الفطر خرق القشرة الخارجية السليمة للثمرة العائل، يبدو أن الظروف البيئية التي تسبق فترة جمع الثمار مهمة جداً لتكشف المرض على الثمار، إن السنوات التي يسود فيها فترات ذات طقس رطب وأمطار شديدة، مع درجات حرارة معتدلة يؤدي إلى ذبول الأوراق، والموت الرجعي للأفرع وكل أنواع الجنس *Colletotrichum spp.* تسبب الأنثراكنوز على الزيتون، وتسبب تعفن الثمار ويكون النسيج الغشائي عبارة عن مادة جيلاتينية وتجف الثمار وتصبح جلدية الملمس (13،14).

مواد وطرق البحث

جمع العينات

درست خمس أصناف من أشجار الزيتون المزروعة في بساتين مختلفة من مناطق وادي بني وليد وهي (الراسلي، القرقاشي، البيوضي، الخادمي والقرطومي)، جمعت الثمار الزيتون التي تظهر عليها أعراض الإصابة متمثلة ببعض البقع الملونة باللون البني المحمر، وضعت في أكياس ورقية معقمة والمحكمة الغلق، وحفظت في الثلاجة على درجة حرارة 5م° لحين الاستعمال.

عزل وتشخيص الفطر من ثمار الزيتون

عقمت الثمار بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم 5% ولمدة 5 دقائق، بعدها نقلت الثمار إلى ماء مقطر معقم للتخلص من تأثير المادة المعقمة، وجففت الثمار باستخدام ورق النشاف المعقم وعزلت من البقع الدائرية الغائرة قليلاً، بنية محمر اللون قطع بطول 0.5سم بواسطة ملقط معقم وزعت في إطباق بتري تحتوي على 20مل من الوسط الغذائي من مستخلص البطاطس والسكروز والأجار "PSA"، المضاف إليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول Chloromphenicol بمعدل 0.5 مليجرام/لتر لمنع نمو المستعمرات البكتيرية. حضنت

على درجة حرارة 23م°. فحصت بعد 5-7 أيام مجهرياً وشخص الفطر إلى مستوى الجنس (5)، ثم إلى مستوى النوع وفقاً للمفاتيح التصنيفية (9).

اختبار الأمراض:

تحضير المعلق الجرثومي:

حضر لقاح الفطر بإضافة 10مل ماء مقطر معقم إلى مزرعة الفطر النامية على الوسط الغذائي PSA بعمر 10 أيام، أزيلت الأبواغ بواسطة فرشاة ناعمة ورشح المعلق من خلال طبقتين من قماش الشاش المعقم وضبط التركيز إلى 1×10^6 جرثومة/مل بواسطة شريحة العد Haemocytometer.

الحقن

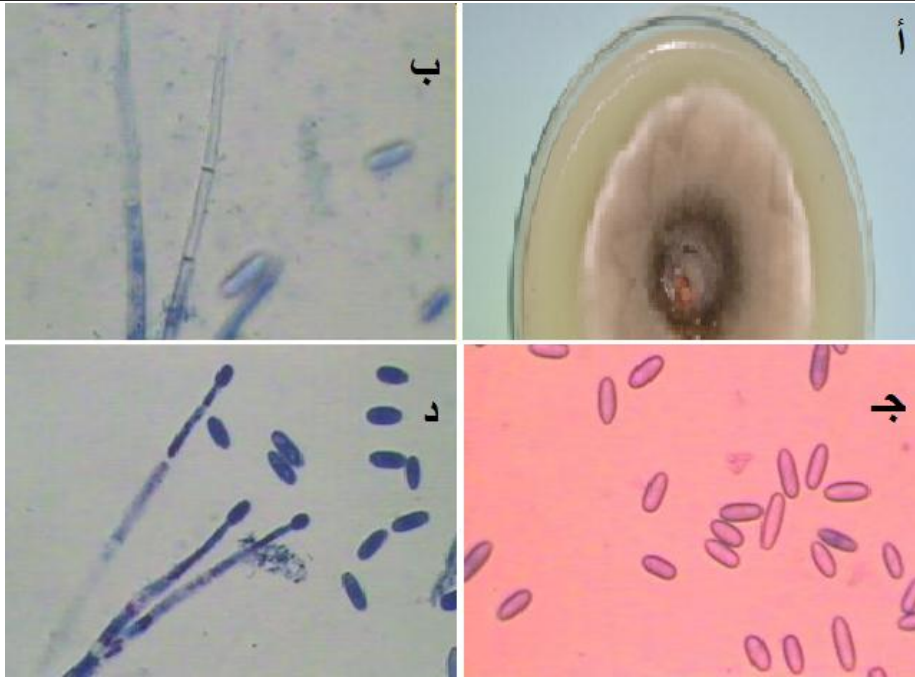
ثم إجراء العدوى الاصطناعية لثمار أصناف الزيتون (الراسلي، القرقاشي، البيوضي، الخادمي والقرطومي)، والخالية من الإصابة، عقت الثمار بمحلول ايثانول 70% ولمدة 20-30 ثانية، بعدها غسلت الثمار ثلاث مرات بماء مقطر معقم للتخلص من تأثير المادة المعقمة، ثم جففت الثمار باستخدام ورق النشاف المعقم ونقلت بواسطة ملقط معقم عشرة ثمار لكل صنف، حقنت بمقدار 0.1 مل من معلق الجراثيم لكل مكرر معاملة كلاً على حدا في طبق بتري، وبمقدار 0.1 مل ماء مقطر ومعقم لكل مكرر معاملة المقارنة، نقلت الثمار إلى حقيبة بلاستيكية مشبعة بالرطوبة ووضعت في المعمل. وبعد عشرة أيام أعيد عزل الفطر من ثمار الزيتون المصابة للتأكد من إن الإصابة ناتجة عن الفطر المستعمل في الدراسة. حسب الطريقة الموصوفة (4،7). مع بعض التعديلات.

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

نفدت هذه الدراسة خلال فصل الصيف والخريف 2014 وشتاء 2015، وقد أوضحت نتائج الفحص المجهرى أن الفطر المسبب لمرض الانثراكنوز على ثمار الزيتون هو *Colletotrichum gloeosporioide* (Penz.)، إذ ظهر بصورة نقية من ثمار أشجار الزيتون التي جمعت من وادي بني وليد، وأتصف الفطر بالموصفات الآتية: ظهرت

مستعمرات الفطر (شكل 1-أ) النامية على الوسط الغذائي PSA ، بيضاء اللون في البداية تحولت بعدها إلى اللون الرمادي الأبيض، ثم إلى اللون الرمادي القرنفلي (الأحمر الوردي). تتفق هذه النتائج مع كلاً من (8، 9). ميسليوم الفطر (شكل 1-ب) شفاف مقسم، ويتكاثر بسهولة كبيرة نسبياً والجراثيم الأجنسية تتكون في كويمة كونيديية (Acervulus)، الجراثيم الكونيديية (شكل 1-ج) المتكونة شفافة، عديمة اللون، مكونة من خلية واحدة، اسطوانية ومستطيلة وأحد حوافها مستدير أما الجانب الآخر فيكون مدبباً (مستدقة الطرف)، الحوامل الكونيديية شمعية قائمة (شكل 1-د)، وتتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات (8، 2، 9)، كما لوحظ ظهور الأعراض الانثراكوز (شكل 2-أ) على الثمار قبل وبعد فترة النضج، متمثلة في صورة بقع دائرية، غائرة ذات لون بني محمر، وأحياناً قد تمتد الإصابة لجميع سطح الثمرة مما يؤدي إلى جفافها وتجدها، في بساتين أشجار الزيتون بوادي بني وليد، وعلى كافة الأصناف وهي (الراسلي، القرقاشي، البيوضي، الخادمي والقرطومي). كما لوحظت أعراض تحنط (Mummification) لبعض ثمار الزيتون (شكل 2-ب) عند بداية نضجها. وتتفق هذه الدراسة مع (13، 6، 14). حيث أشاره دراسة (17) إن إصابة الفطر *C. gloeosporioides* و *C. acutatum* تصيب أزهار الزيتون في المراحل المبكرة على صنفى Barnea و Manzanillo. كما لوحظت الإصابة على السطح العلوي لبعض أوراق أشجار الزيتون وخصوصاً على الصنف الراسلي (شكل 2-ج) على شكل بقع بنية داكنة الحواف، تتسع هذه البقع وتتحد مغطية جزءاً كبيراً من سطح الورقة، مؤدية إلى ذبول الأوراق ثم سقوطها، وربما تعزى هذه الأعراض إلى إصابة الفطر *C. gloeosporioides* على أوراق الزيتون. حيث تشير الدراسات (8، 18)، إلى إصابة أوراق أشجار الزيتون.



شكل (1). أ. مستعمرة الفطر على الوسط الغذائي PSA، ب. ميسيليوم مقسم، ج. الجراثيم الكونيدية شفافة وحيدة الخلية أسطوانية مستدقة الطرف أحد جوانبها، د. الحوامل الكونيدية قائمة شمعية الشكل، للفطر *Colletotrichum gloeosporioides*، مُسبِّب الانثراكنوز لثمار الزيتون.

اختبار الأمراض

كما أوضحت اختبار شدة القدرة المرضية بواسطة الفطر *Colletotrichum gloeosporioides* المسبب مرض الأنثراكنوز لثمار على أحداث الإصابة المتمثلة بظهور الأعراض بشكل بقع دائرية غائرة بنية محمر اللون على ثمار الزيتون حول مواقع التلقيح (شكل 2)، وهذه الأعراض مشابهة لمظهر الأعراض، التي تظهر على بعض ثمار أشجار الزيتون المصابة بوادي بني وليد- ليبيا، كما أشارت العديد من الدراسات (2، 6، 8، 10، 15). إلى أن هذا الفطر يسبب مرض الانثراكنوز لثمار أشجار الزيتون، وبعد عشرة أيام من عملية الحقن، عزل الفطر من البقع الثمار المحقونة على الوسط الغذائي PSA، وأوضحت عملية العزل أن الصفات المظهرية للمستعمرات الفطرية والفحص المجهرية، نفس المواصفات التي شوهدت من ثمار الزيتون بوادي بني وليد- ليبيا. وهذا ما يؤكد أن الفطر المسبب لمرض الانثراكنوز لثمار الزيتون *C. gloeosporioides*.



شكل (2). أ. الأعراض الظاهرية لمرض الانثراكنوز المتسبب عن الفطر *Colletotrichum gloeosporioides* لثمار أشجار الزيتون، ب. أعراض التحنط *mummification* على الثمار، ج. أعراض تبقع الأوراق على أشجار الزيتون.



شكل (3). أ. الشاهد، ب. الأعراض النموذجية للانثراكنوز على ثمار الزيتون المحقونة بالفطر *Colletotrichum gloeosporioides* بعد عشرة أيام من عملية العدوى.

Isolation and Diagnoses Anthracnose Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on Olive Fruits in Libya.

Fateh O. A. Zidan, Mohammed N. Astill and Ismail M. Al-far

Protection Department, Agriculture Faculty, Bani Waled University, Libya.

Zidan49104@yahoo.com.

Abstract

Reddish-browning in color spot circular, slight sunken ranged from 2 – 10mm in diam. On ripe and overripe olive fruits were observed, samples were collected of olive fruits suspected to be infected with anthracnose disease symptoms from olive trees orchardes in Beni-Walid village (western Libya). The fungus *Colletotrichum gloeosporides* was identified from disease symptoms disease. The pathogenicity test was confirmed by inoculating of fruits of five cultivars selected, in which symptoms developed were similar to those observed in the field, which confirm that *C. gloeosporides* is the causal agent.

Keywords: Anthracnose, Olive cultivars, *Colletotrichum gloeosporides*, Beni-walid, Libya.

المراجع

1- العربي، خديجة فرج، نورية علي العامري، والزروق الدنقلي. (2007). حصر الأمراض المعدية على أشجار الزيتون بالمناطق الغربية من ليبيا، المؤتمر العلمي الأول حول شجرة الزيتون، غريان - ليبيا.

-
- 2-**Achbani, E. H., Benbouazza, A. and Douir, A. (2013).** First Report of Olive Anthracnose, Caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, in Morocco. Atlas Journal of Biology, 2(3): 172-175.
- 3-**Almeida, M. J. V. (1899).** La Gaffa des Olives en Portugal. Bulletin de La Societe Mycologique de France, 15: 90-94.
- 4-**Aranlou, M., Torbati, M. and Jafary, H. (2013).** Fruit rot of olive (*Olea europaea* L.) caused by *Truncallella angusta*. Plant Pathology and Quarantine 2: 117-121.
- 5-**Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (1972).** Illustrated genera of Imperfect Fungi (3rd Eds.). Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, USA
- 6- **Cacciola, S. O., Faedda, R., Sinatra, F., Agosteo, G. E., Schena, L., Frisullo, S., and Magnano di San Lio, G.. (2012).** Olive anthracnose. Journal of Plant Pathology, 94(1): 29-44.
- 7-**Chliyeh, M., Achbani, E., Rhimini, Y., Selmaoui, K., Touhami, A. O., Filali-Maltouf, A., El Modafar, C., Moukhli, A., Oukabli, A., Benkirane, R. and Douira, A. (2014).** Pathogenicity of four Fungal Species on Fruits and Leaves of the Olive Tree (*Olea europaea* L.). International Journal of Pure & Applied Bioscience, 2: 1-9.
- 8-**Chliyeh M, Rhimini Y, Selmaoui K, Touhami AO, Filali-Maltouf A, El Modafar C, Moukhli A, Oukabli A, Benkirane R, Douira A. (2014).** Survey of the Fungal Species Associated to Olive-tree (*Olea europaea* L.) in Morocco. International Journal of Recent Biotechnology 2: 15-32.
- 9-**Chowdappa, P., Chabanahalli S. C., Bharghavi, R., Sandhya, H. and Pant, R. P. (2012).** Morphological and molecular

- characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sac. isolates causing anthracnose of orchids in India. Journal, Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering, 2(1): 567–572.
- 10–EL–Sayed, M. E., Haggaga, L. F., Abdel–Monem, M. O., El–Sayed, T. I. and Al–Awam. L. R. (2014).** Anthracnose disease (*Colletotrichum* sp.) affecting olive fruit quality and its control in Egypt. Journal of Agricultural Technology, 10 (5): 1289–1306.
- 11–Loummou, A. and Giourga, C. (2003).** Olive groves: “The life and identity of the Mediternean”. Agriculture and Human Values Vol. 20, pp. 87–95.
- 12–Martínez, E. P., Hío, J. C., Osorio, J. A., Torres, M. F. (2009).** Identification of *Colletotrichum* species causing anthracnose on Tahiti lime, tomato and mango. Agronomia Colombiana, 27(2): 211–218.
- 13–Moral, J., Oliveivra, R. and Trapero, A. (2009).** Elucidation of disease cycle of olive anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Phytopathology, 99, 548–56.
- 14–Moral, J. and Trapero, A. (2012).** Mummified fruit as a source of inoculums and disease dynamics of olive anthracnose by *colletotrichum* spp. Phytopathol. 102: 982–989.
- 15–Rhouma, Ali., Mohamed, Ali, Triki., and Monji, Msallem. (2010).** First report of olive anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in Tunisia. Phytopathologia Mediterranea, 49: 95 – 98.
- 16–Santei, S. J., and Razavi, S. E. (2011).** Survey of olive fungal disease in north of Iran. Annual Review & Research in Biology, 2(1): 27–36.

-
- 17–Sergeeva, V., Nair, N. G. and Spooner–Hart, R. (2008) . Evidence of olives (*Olea europaea*) in Australia by *Colletotrichum actutatum* and *C. gloeosporioides* causing anthracnose disease. Australasian Plant Disease Notes, 3: 8–82.
- 18–Sergeeva, V., Spooner–Hart, R. and Nair, N. G. (2008) . First report of *Colletotrichum actutatum* and *C. gloeosporioides* causing leaf spot of olives (*Olea europaea*) in Australia . Australasian Plant Disease Notes, 3: 143 –144.
- 19–Talhinhas, P., C. Mota–Capitao, S. Martins, A. F. Rames, J. Neves–Martins, L. Guerra–Cuimaraes, V. Varzea, M. S. Sliva, Sreenivasaprasad, S., Neves–Martins, J. and Oliveira, H. (2011). Epidemiology, histology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. Plant Pathology, 60, 483– 495.
- 20–Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves–Martins, J. and Oliveira, H. (2005). Molecular and phenotypic analyses reveal the association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. Applied and Environmental Microbiology 71(6):2987–2998.