التسجيل الأول لوجود فطر *Pestalotiopsis sp.* على نبات العرعر في منطقة الجبل الأخضر – ليبيا

أ. نجاة إدريس عمر أ. خليفة جمعة بو فراج
مركز البحوث الزراعية والحيوانية - ليبيا

المستخلص:

أجريت هذه الدراسة في الفترة من شهر يوليو **2023** م حتى شهر أبريل 2024 م حيث لوحظ تلون أوراق نبات العرعر الفينيقي *juniperus phoenicea* ***L.*** باللون الأصفر ومن ثم تحولها الي اللون النحاسي ولاحقا الى اللون البنى ومن ثم تساقطها في ظاهرة تعرف بالموت التراجعي لذلك حددت أربع مناطق ظهرت فيه الاعراض وبشدة بغرض دراسة هذا الظاهرة وهي على التوالي (سوسة، الوسيطة، وادي الكهوف، عمر المختار). تمت عمليات العزل معملياً وتبين أن هذه الأعراض تعود للفطر. ***Pestalotiopsis sp*** وأجريت اختبارات القدرة المرضية على مجموعة من النباتات السليمة، فلوحظ ايجابية هذا الاختبار عند تحديد نسبة الإصابة بين المناطق فكانت أعلى نسبة إصابة في منطقة سوسة (50 **%**) يليها منطق الوسيطة (48 **%**)، ثم وادي الكهوف (48 **%**)، أخيراً منطقة عمر المختار (33 **%**)، وتبين أن نسبة الإصابة تزداد في فصلي الخريف والربيع وتقل في فصل الشتاء والصيف, وعند تنمية الفطر معملياً, على درجات حرارة مختلفة تبين أن الدرجة المثلى لنمو الفطر تتراوح بين (15-25) **مْ**، ولم ينمو عند درجة حرارة (35) درجة مئوية.

الكلمات المفتاحية: العرعر الفينيقي، ليبيا، الموت الرجعى، الجبل الاخضر، تدهور، الوسيطة.

المقدمة

يعتبر نبات العرعر ***juniperus phoenicea L.*** شجرة صغُيرة متساقطة الأوراق ٌيصل ارتفاعها إلى حوالً 4م، لها تفرعات كثُرة من القاعدة (تعطً خلفات)، والأوراق مشابهة فً شكلها لخف الجمل، والأزهار كبُيرة بيُضاء أو زهرٌة تظهر اللون تظهر في فصلً الربيُع والصُيف، والثمار صغُرة، والجذور منتشرة .تحمل النبات للظروف البيئية المحلية تنمو الشجرة تحت الظروف البُيئية المحلُية كما أن تحملها جُيد للعوامل البُيئية من حُيث ارتفاع درجة الحرارة إلى 40 درجة مئوُية والجفاف وكذلك تحملها للملوحة. التكاثر: بالبذور وعمل الخلفات .تستخدم للزُينة في الشوارع والحدائق والمنتزهات، وعادة تزهر الشجرة في السنة الأولى من عمرها. ولقد ثبت أن بعض أنواع العرعر من الأشجار المعّمرة فقد اكتشف في أمريكا أشجارا تبلغ من العمر مئات السنين. لبعض أنواعه تاريخ عريق في علاقته مع الأنسان يعود إلى آلاف السنين فقد ذكر العرعر في وصفات فرعونية في بردية" هيرست "و"ايبرز "وصنعوا منه عشرا ت الأدوية، مرورا بابن سينا وابن البيطار وداوود الأنطاكي وغيرهم. وتطورت هذه العالقة عبر التاريخ لتغدو هذه الشجرة ثروة اقتصادية كبيرة في بعض دول العالم التي قدرتها حق تقدير واستثمرتها خير استثمار في المجالات التطبيقية الطبية والغذائية والبيئية، وفي برامج الإدارة المتكاملة لآلفات.

تكمن الأهمية الاقتصادية للعرعر في استخدام زيوته ومكوناته ومشتقاته كعوامل منكهه في جميع أنحاء العالم في صناعة الأغذية والأدوية والعطور والنكهات كما أنه من الموثوق جدا أن للزيوت الأساسية ومستخلصات أنواع العرعر تمتلك خصائص مضادة للميكروبات ومبيدات للفيروسات والفطريات ومبيدات للحشرات ومضادة للأكسدة، لذلك تعتبر زيوت العرعر من أهم الزيوت العطرية المنتجة في العالم (عكو, 2012). أظهرت البيانات الحديثة أن نبات العرعر جنس *Juniperus* يتكون من حوالي 67 نوعا و 28 صنفا، ينمو العديد من أنواع العرعار وJ.thurifera L في جبال الجزء الشمالي من إفريقيا (Romane *et al* 2009) تتراوح نسبة الزيت الطيار في أجزاء النبات بين 2-5,0 % تبعا لمصدر النبات الجغرافي

وطريقة التجفيف والتقطير. يحوي الخشب زيتاً طيارا 6,0 % غنيا بالمركبات السيسكوتربينية 58 % أهمها مركب السيدرول13 cedrol, % تحوي الأوراق زيتا طيارا 8,0-7,1 % غنيا

بالمركبات السيسكوتربينية 87 % أهمها: ألفا بينين pinene–a،48% ألفا توجين thujene– a

36, %كادينين6 cadinene،% كاريوفيلين5 caryophelène % إضافة إلى بعض المركبات

الكحولية الجيرانيولgeraniol . تحوي الثمار زيتا طيارا 7,0 % كذلك المركبات أحادية التربين 60 % أهمها: ألفا بينين 13 pinene–a, % فيربينونverbinone 6% كحول تربيني السابينولsabinol.اظافة إلى السكريات ومركبات انتوسيانية9%leucanthocyanes تشير جميع المراجع العالمية سابقا أن أهم المكونات الكيميائية الفعالة في نبات العرعار هي المستخلصات الزيته الطيارة من الأجزاء المختلفة من النبات (عكو: 2012). ولك في السنوات السابقة لوحظ تدهور في نبات العرعر وتغير لون الأوراق وتحولها إلى اللون البني النحاسي (الرقاص والفقهي: 2018).

الهدف من هذه الدراسة: التعرف على مسببات تدهور أشجار العرعر ورصد أعراض المرض في مناطق الدراسة من الأفرع التي ظهرت عليها الإصابة وعزل المسبب وتعريفه مورفولوجيا وتطبيق فرضيات كوخ عليها.

المواد وطرق البحث

حصر وانتشار المرض:

لدراسة انتشار المرض حددت مواقع مختلفة بمنطقة الجبل الأخضر على النحو التالي، وادي الكهوف - عمر المختار- الوسيطة – سوسة) و هي مناطق تنتشر بها أشجار العرعر بوفره والتي لوحظ فيها انتشار الأعراض التدهور , و لجمع العينات حددت في كل موقع (4) مكررات وكل مكررة اشتملت على (4) شجيرات عرعر و وكل شجيرة علمت فيها (4) أفرع وتم متابعتها من شهر يوليو 2023 حتى شهر أبريل 2024 (صيف وخريف وشتاء وصيف) وسجلت الملاحظات على الأوراق حيث أخذت قراءات للمرض على الأفرع المحددة حسب المقياس الذي يشتمل (6) درجات ثم قدرت شدة الإصابة وفقاً لمعادلة Horsfatl & (Heuberger1942) ، DS (%) = Σ a b/ r n

حيث : DS= شدة الإصابة (Disease Severity).

Σ= المجموع.

a = درجة المقياس .

b = عدد الأفرع التي أخذت نفس درجة المقياس .

n = عدد الأفرع الكلية .

R = عدد درجات المقياس.

عزل الفطريات:

اجري اختبار لكل العينات التي تم جمعها لمعرفة الفطريات المصاحبة لهذه العينات , بوضع العينات بعد تقطيعها إلى قطع صغيرة , ثم عرضت لعملية تعقيم السطحي بهدف القضاء على الكائنات الحية التي تعيش على السطح, ثم قطعت إلى أجزاء صغيرة , وغمرت تسلسلياً في كحول الإيثانول **75%** لمدة دقيقة واحدة , ثم في هيبو كلورايت **الصوديوم 3 % لمدة 2** دقائق, ثم غسلت بماء مقطر معقم لمدة 2 دقيقه , ثم ازيل الماء منها بوضعها على ورق ترشيح معقم , نقلت بعدها القطع بواسطه ملقط معقم الى اطباق بترى تحتوى على (**Potato Dextrose Agar (PDA)** والمعقم تحت درجه حرارة **121** مئوية لمدة **15** دقيقه بجهاز التعقيم عند ضغط 1.5 ضغط جوى بعد اضافه المضاد الحيوي لمنع نمو البكتيريا ثم حضنت في الحضان على درجة حرارة 25مْ وتم مراقبة الأطباق يومياً بعد عملية الحضن وتم اقتطاع جزء من الطرف النامي للعزلات و أعيد زرعها على وسط **Potato Dextrose Agar (PDA)** بهدف تنقية كل نمو (Larran*et al*., 2007).

الخصائص المظهرية والمجهرية للفطر

إن أهم الخصائص المظهرية التي اعتمدت في تشخيص هي لون المستعمرة ونسجتها. ولفحص لون المستعمرة للعزلة الفطرية تم نقل قرص **1 سم** من حافة مستمرة حديثة لعزلة فطرية نقية إلى منتصف طبق بتري حاوي على الوسط P D A. أما الخصائص المجهرية التي اعتمدت لون وسرعة النمو ووجود أكياس من عدمها، تم تشخيص الفطريات باستخدام المجهر الضوئي وبالاستعانة بالمفتاح التصنيفي لكل من

Pitt J.I and Hocking . , 1985; Botton *et al* . , 1990; Champion . , 1997

اختبار القدرة الإمراضية للفطر

حضرت مزارع نقية للفطر المعزول على المستنبت الغذائي P D A بالإضافة لشتلات سليمة لم تظهر عليها أعراض الإصابة من نبات العرعر وبتاريخ **8/7/2023** تم إزالة الأتربة والغبار عليها بالماء، ومن بعد غسلها جيدا وجففت بورق الترشيح ثم عمقت سطحيا بالكحول الإيثلين تركيز **70 %** لمدة ثلاثة دقائق ومن ثم إعادة غسلها بالماء المعقم لإزالة آثار الكحول وتجفيفها بورق الترشيح المعقم. عمل خدش سطحي على سطح الأفرع لشتلات، وأفرع شتلات أخرى لم تخدش للمقارنة. لوثت أسطح الأفرع بوضع قرصين بقطر **5 ملم** من طرف المستعمرة الفطرية **PDA** نامي عليها الفطر عمره أسبوع أخذت بوساطة ثاقب من الفلين المعقم (borer Cork). ولضمان الإصابة غطيت القطع بقطعة قطنية مبللة بالماء المعقم لتوفير الرطوبة وتم لفها بورق السولوفان الشفاف وذلك لمنع التبخر لكلتا المعاملتين.

أما معاملة الشاهد تم تغطيتها بالقطن المبلل والملفوفة بورق السولوفان، ومن ثم وضعت داخل دوارق تحتوي على ورقة ترشيح مبللة بالماء وتركت لمدة أربعة أيام عند حرارة الغرفة **(20–25° م)** ثم أزيلت أوراق السولوفان وتركت الأفرع داخل الأطباق وتم ملاحظة تطور البقع كل يومين للتأكد من حدوث الإصابة وذلك حسب ما نشر سابقا (شاكر 2008) ومع بعض التعديلات بما تلائم ظروف التجربة (El-Meleigi *et al.*,1986

كما تم إجراء القدرة المرضية على شتلة من نبات الزينة Platycladus orientalis (Tuya oriental) بتكرار نفس الطريقة السابقة. وشتلة نبات *السرو Cupressus sempervirens* لاختيار المدى العائلي لهذا الفطر.

تأثير درجة الحرارة على نمو الفطر

للحرارة تأثير كبير في نمو وتكاثر الفطور حيث تؤثر مباشرة في التفاعلات الإنزيمية لعمليات الأيض، (البوني، 1990). جهز المستنبت الغذائي PDA ووسط آجار مستخلص الشعير (Agar Extract Mal) والذي يتكون من 30 غ خلاصة بذور الشعير المحلي و15 غ آجار و20 غ سكروز و1000 مل ماء مقطر. تم تعقيم المستنبتين الغذائيين أولاً في جهاز التعقيم عند حرارة 121 °س وضغط جوي 1.5 ة وترك للتبريد الهوائي حتى درجة 40 °س لمدة 20 دقيقة وأضيف إليهما 500 مل غرام من المضاد الحيوي Amoxallin ثم سكبت في أطباق بتري معقمة قطرها

9 سم، ولقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5سم من مستعمرة الفطر بعمر خمسة أيام مأخوذة من طرف المستعمرة. غلفت الأطباق بشريط من البارا فيلم وحضنت في الحاضنة عند درجات حرارية مختلفة (،20 ،25 ،30 35 °م) ولمدة ستة أيام وبخمسة مكررات. وبعد انتهاء فترة التحضين تم قياس النمو القطري. وبعد انتهاء فترة التحضين تم قياس النمو القطري) سم) باستخدام مسطرة بلاستيكية مرقمة في اتجاهين متعامدين وفي جميع الأطباق وحساب متوسط النمو العام (الأسدي والسعدون، 2011). كما حسبت نسبة نمو الفطر وفقا لمعادلة Ababutain (2013).

النتائج:

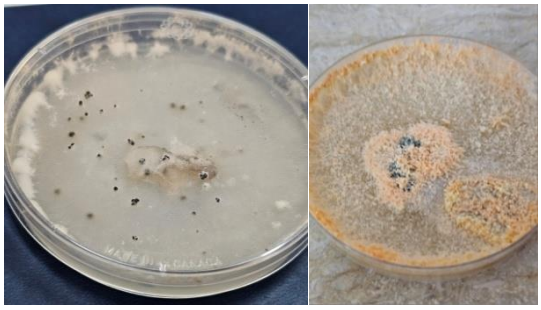
أعراض المرض

ظهرت أعراض الإصابة حقلياً على أوراق والأفرع الحديثة لنبات العرعر على شكل موت أنسجة النبات وتحول لونها إلى اللون الأصفر شكل(1أ) ثم إلى اللون البني النحاسي شكل (1ب). حيث أن الفطر يخترق النبات عبر الثغور ويرسل أنبوب الإنبات إلى المسافات البينية بين الخلايا النباتية لنبات العرعر. بينت ***Pestalotiopsis*** في جميع القطع المختبرة اعتماداً على خصائص مورفولوجيا % وسرعان ما غطى الفطر, كون الفطر كتلة من الجراثيم كونيدية لونها أسود لها جدران ناعمة على الطبق شكل (3) ذات لون أسود وبالفحص تحت المجهر لوحظ جراثيم سابحة طويلة تتكون من 4إلى 5 حلقات بمقياس 18-26 × 4.6-7.7 ميكروميتر و لها أنبوب أنبات عند القاعدة و تحمل 5 زوائد شفافة طرفية طويلة عند قممها بمقياس 8.2 ميكروميتر تقريباً شكل (4) تحت المجهر ومشاهدة الجراثيم الكونيدية برميلية الشكل للفطر وهذه الصفات مشابهه للتي تم وصفها من قبل **Nag Raj(1985)**.

أوضحت دراسة انتشار وظهور المرض خلال فصول السنة أن فصل الربيع أكثر الفصول ملاءمة لظهور الأمراض يليه فصل الصيف، يليه فصل الخريف وأقل نسبة إصابة سجلت في فصل الشتاء. أعلى نسبة إصابة في منطقة سوسة بنسبة 50% يليها منطقة الوسيطة 43% ثم منطقة وادي الكهوف بنسبة 38% بينما نسبة الإصابة في منطقة عمر المختار كانت 33% شكل (6), وهذا لارتفاع هذه المنطقة عن باقي المناطق ربما يعود إلى اعتدال نسبة الرطوبة ودرجات الحرارة التي يحتاجها الفطر

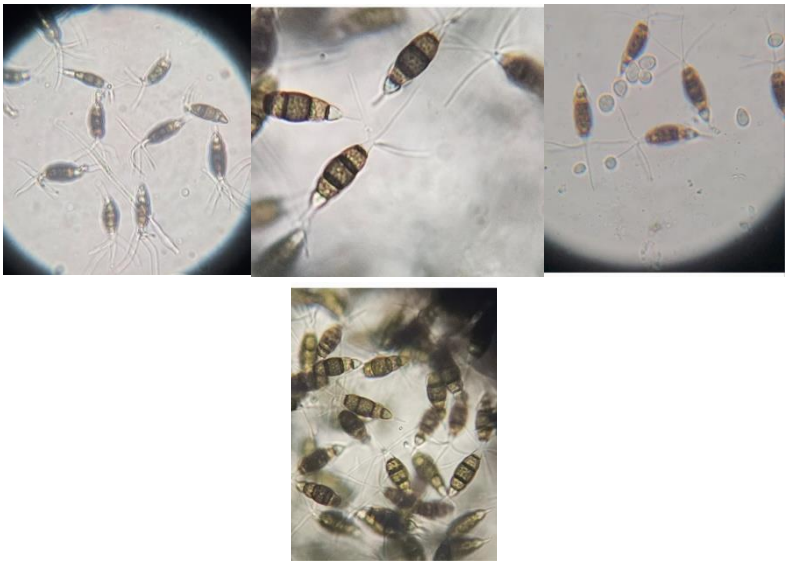
للنمو والتجرثم(Hashem et al) (2014وأن انخفاض الإصابة في فصل الصيف أو استقرارها او قلة انتشارها ربما يعود إلى ارتفاع الحرارة والجفاف فيمنع الانتشار والتوزيع الطبيعي للمرض والعدوى (Tuse et al 1999). وربما تحدث العدوى عن طريق الجراثيم الكونيدية وتسبب موت الأطراف في النباتات ذات الأوراق الإبرية والحرشفية كذلك تبقع الأوراق والتي أشار إليها كل من (Wei et al 2007 Wei and Xu 2004).

شكل (1) يوضح أعراض الإصابة بفطر *Pestalotiopsis* sp.



شكا (2) يوضح نمو فطر Pestalotiopsis sp.على المستنبت الغذائي (PDA)

شكل (3) يوضح الجسم الثمري لفطر *Pestalotiopsis* sp.



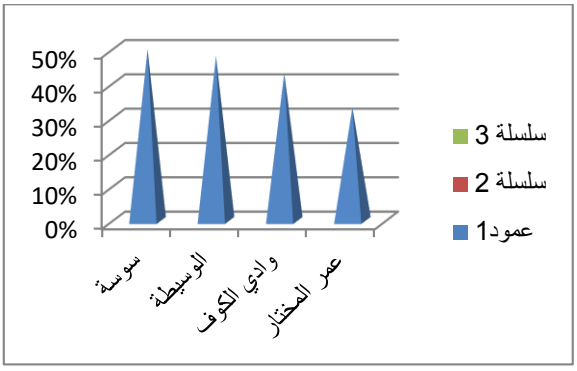
شكل (4) يوضح الجراثيم الكونيدية لفطر *Pestalotiopsis sp.*

اختبار القدرة الامراضية لفطر *Pestalotiopsis sp.*

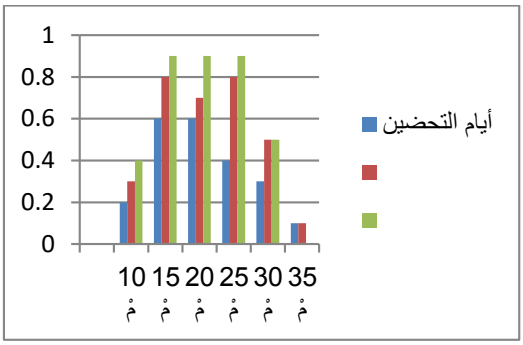
القابلية للإصابة: ظهرت أعراض العدوى الصناعية على شتلات نبات العرعر وعلى الأوراق والأفرع الحديثة لنبات العرعر مشابهة لتلك التي شوهدت على أشجار نبات العرعر المصابة على هيئة موت واصفرار ومن ثم تلونها باللون النحاسي المحمر بعد عشرة أيام من العدوى على الأفرع التي تم خدشها ومعاملتها بالفطر وعدم ظهور الفطر على الشتلات في المعاملة المقارنة.

كما كشفت نتائج وتحضين الشتلات السليمة من نبات الثويا الشرقية ونبات السرو إلى نجاح عزلات الفطر ***Pestalotiopsis sp*** على إصابة الشتلات قيد التجربة بأعراض تطابقت مع تلك التي حدثت لشتلات نبات العرعر والتي بدورها مشابهة لتلك الموجودة على أشجار نبات العرعر في الطبيعة شكل (5). وبتكرار العزل من الشتلات التى تمت عدوتها تم الحصول على نفس الفطر المعزول من الأشجار المصابة وبهذا يتبين أن الفطر يصيب النباتات من العائلة السروية Cupressaces.

شكل (5) يوضح إيجابية القدرة المرضية على السرو (a) ونبات العرعر(b,c) ونبات الثويا الشرقية (d)



شكل (6) نسبة الإصابة بفطر *Pestalotiopsis* sp. في الجبل الأخضر



شكل (7) تأثير درجات الحرارة المختلفة على نمو فطر *Pestalotiopsist* sp.

جدول (1) تأثير درجات الحرارة على نمو الفطر في المعمل

درجات الحرارة	أيام التحضين		
	بعد يومين	بعد ثلاثة أيام	بعد ثمان أيام
10	2سم	3سم	4سم
15	6سم	8سم	9سم
20	6سم	8سم	9سم
25	5سم	7سم	9سم
30	4.4سم	4سم	6سم
35	1سم	1سم	1.2

أشارت النتائج(جدول 1) أن نمو الفطر قد تغير بتغيرات درجات الحرارة المختلفة حيث أنتج نموات بيضاء عند حرارة ،10 ,20و 25 °س وبمعدلات نمو قدرها 9 ، 9 , 1.3 سم، على التوالي، في مدة ستة أيام على المستنبت الغذائي PDA وكانت درجات الحرارة المثلى لنمو الفطر 15و 25 و 25°س على المستنبت الغذائي، بينما لوحظ شبه توقف النمو على درجة حرارة 35 سْ حيث ذكرت دراسة سابقة (Bennett, 2010)، أن العوامل البيئية كدرجات الحرارة تسهم بدور مهم في تفريق

وانتشار أبواغ الفطر في الهواء لمسافات قصيرة أو طويلة عندما تسقط هذه الأبواغ على سطح صلب أو سائل بشرط توافر الغذاء والرطوبة اللازمين فإنها تنمو أو تنبت على الفور. كما تؤثر درجات الحرارة في نمو الفطور وإنتاج التراكيب التكاثرية وزيادة كمية اللقاح التي ينتجها (Baskaran & Ayyasamy2005, ؛ 2017 . El-Gali,.)إن سبب زيادة النمو الفطري في المدى الحراري 20–35 °س ترجع إلى فعاليته الحيوية في النمو والتي تصل إلى قمة نشاطها عند الدرجة الحرارية المثلى ومن تم يسهل لها استغلال المصادر الغذائية في الوسط الغذائي وبناء الجزيئات الكبيرة في بناء كتلة الفطر، وهذا يتفق مع ما نشر سابقا (الأسدي والسعدون، 2011) بأن الفطر قد نما بمعدل 9 سم عند حرارة في نمو الفطر على ° 25س، وان حرارة 30 °س شكل (7) قد سببت ضعفا المستنبت الغذائي PDA حيث بلغ متوسط قطر نموه 1.3 سم بينما توقف نمو الفطر عند درجات الحرارة 30 °س، بينما لم ينمو الفطر في المستنبت الغذائي MEA عند درجات الحرارة المختبرة، وربما يرجع إلى تأثير الفطر بالرقم الهيدروجيني لمستخلص الشعير مما أثر ذلك في الحالة الأيونية لمكونات الوسط وعدم جاهزية الأحماض الأمينية والمغذيات الأخرى في الوسط لاستغلالها من قبل الفطر (Danew & Klossek, 1989).

المراجع

- الأسدي، رامز المهدي صالح وعبد الله حمود السعدون. (2011). دراسة لفطر المسبب خياس النخيل مجلة البصرة (العراق) 1:10-9 *Alternaria alternata* .

- **البوني، عبد العزيز محمد. (1990)**. اساسيات الفطريات العملي، الطبعة الأولى، منشورات جامعة طرابلس، ليبيا. 256 صفحة.

- **شاكر، كوثر عبد الوهاب. .(2008)** تعفن ساق وتبقع أوراق اليوكالبتوس ومكافحته. مجلة الأنبار للعلوم الزراعية,6: 310-315.

- **عكو، برهان. (2012)**. أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي دمشق: جامعة الدول العربية، المركز الوطني لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة- اكساد.

-Ababutain, I.M. (2013). Effect of some ecological factors on the growth of Aspergillus niger and Cladosprium

spherosporum. American Journal of Applied Science, 10: 159-163.

-Ayyasamy, R. and P. Baskaran.(2005). Effect of temperature and relative humidity on radial growth and sporulation of Paeciilomyes frainnosus. Journal of Food, Agriculture and Environment, 3: 137-138

-Bennett, J.W. (2010). An Overview of the Genus Aspergillus. Pages 238-255. In: Aspergillus: Molecular Biology and Genomics. M. Machida and K. Gomi (eds.). Horizon Scientific Press, Wymondham, Norfolk, UK.

-Botton, B. Breton A., Fevre M., Guy P.H., Iarpent J.P., Sanglier J.J., Vayssier V. and Veau,P(1990). Moisissuresutiles et nuisibles.ImportanceIndustrielle.Masson. Pp. 20-191.

-Champion, R.(1997). Identifier Les champignons transmis par Les semences. INRA edition. P. 401.

-Danew, J.R. and P. Klossek.(1989). The dependence of the physiological properties of Trichophyton mentagrophytes on the pH value of the culture medium. Mycoses, 32: 302-303.

-El-Gali, Z.Y. (2017). Effect of some ecological factors on growth of Pestalotiopsis spp. isolated from mastic shrubs leaves. Journal of Advanced Botany and Zoology, 5: 1-5.

-El-Meleigi, M.A., A.A. Al-Rokibah and G.H. Ibrahim. (1986). Study of fungi leaf spots of date palm in AlQassim region, Saudi Arabia. Pages 401-410. In: 303 Arab J. Pl. Prot. Vol. 38, No. 4 (2020) Proceedings of the Second Symposium on Date palm, Alahssa, Saudi Arabia.

- **FAO. (1979).** Eucalyptus for planting. FAO Forest 737 Series No. II. Roma, Italy. 94 pp.

-Horsfall, J. G. and Heuberger, J. W. (1942). Measuring of a defoliation disease of tomatoes. Phytopathology 32, 226-232.

Larran, S., Perello A. and Simon M.(2007). R. the endophytic Fungi From wheat (Triticumaestivum L.). World J MicrobiolBiotechnol 23: 565-572.

-Nag Raj TR.(1985) .Redisposals and redescriptions in the Monochaetia-Seiridium, PestalotiaPestalotiopsis complexes. II. Pestalotiopsis besseyii Guba) comb. nov. and *Pestalosphaeria varia* sp. nov. Mycotaxon 22, 52–63

Pitt, J. I. and Hocking A. D.(1985). Fungi and Food spoilage. Academic press Inc. Sydney. Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Tokyo. Pp. 414

-ROMANE A, P.A ROBERT and A. MOHAMED (2009). Chemical Studies Of Leaf Essential Oil Of Threespecies Of Juniperus From Tensif Al Haouz - Marrkech Region. Article In Journal Of Essential Oil.

-Wei JG, Xu T. (2004). Pestalotiopsis kunmingensis, sp. nov., an endophyte from *Podocarpus macrophyllus*. Fungal Divers 15:247–254.

-Wei JG, Xu T, Guo LD, Liu AR, Zhang Y, Pan XH (2007) Endophytic *Pestalotiopsis* species associated with plants of Podocarpaceae, Theaceae and Taxaceae in southern China. Fungal Divers 24:55–74.