مجلة المختار للعلوم 38 (2): 180-184، 2023
ISSN: online 2617-2186 print 2617-2178
Journal Homepage https://omu.edu.ly/journals/index.php/mjsc/index
Doi: https://doi.org/10.54172/mjsc.v38i2.620

Isolation and Identification of the Pathogen of Apple Scab disease Jabal Al Akhdar Area, Libya

Nwara A. Mohamed*, Majduldeen F. Albarani and Mohammed A. Saeed
Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Omar Al- Mukhtar University, Libya

ARTICLE HISTORY
Received:
9 March 2022
Accepted:
4 June 2023

Keywords:
Apple scab disease, *Venturia inaequalis*, Libya.

Abstract: This study aimed to identify the cause of apple scab disease, which affects apple trees in the Al-Jabal Al-Akhdar region – Libya, and was conducted during the 2018-2019 season. Several samples were collected from the apple variety **(**Red delicious**)**, and the causal organism was isolated and purified. The results of the study of the general morphological and cultural characteristics of the pathogen proved that the cause of the disease is the fungus *Venturia* inaequalis, which produced typical symptoms of apple scab on leaves and seedlings of the same variety.

عزل وتعريف مسبب مرض جرب التفاح بمنطقة الجبل الأخضر في ليبيا

الكلمات المفتاحية :
جـــرب التفـــاح، *Venturia inaequalis*، ليبيا.

المستخلص : أجريت هذه الدراسة على مرض الجرب الذي يصيب أشجار التفاح بمنطقة الجبل الأخضر في ليبيا خلال الموسم 2018 – 2019، حيث جمعت عينات عديدة ممثلة لهذا المرض من صنف التفاح (Red delicious)، وتم عزل وتنقية المسبب المرضي، وأشارت نتائج دراسة الصفات العامة الشكلية والمزرعية إلى أن مسبب المرض كان الفطر *Venturia inaequalis*، الذي نجح في إحداث الأعراض النموذجية للجرب عند عدوى أوراق، وشتول من التفاح للصنف ذاته.

المقدمة

تعد أشجار التفاح (*Malus domestica*) من محاصيل الفاكهة المهمة في عديد من بلدان البحر المتوسط، وليبيا من ضمن الدول المنتجة لهذا المحصول، حيث بلغ متوسط الإنتاج 57.96 ألف طن في الفترة ما بين 2015–2017، وبمساحة زراعية بلغت (1.12) ألف هكتار (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 2018). تتعرض أشجار التفاح للإصابة بأمراض عديدة، ويعد مرض الجرب من الأمراض المسجلة على المحصول، والذي يسببه الفطر الأسكي (*Venturia inaequalis*) (Cooke & Winter, 1897)، حيث صنف هذا الجنس بواسطة Winterin عام 1880، ويمتاز بأن له حالتين أولهما الترممية *Venturia inaequalis*، والحالة التطفلية في حالة الطور الناقص *Fusicladium dendriticum* (Wallr) (Day et al., 1956). إن أنواعاً من جنس *Fusicladium* تابعة للعائلة Venturiaceae والرتبة Venturiales (Hora Júnior, 2012)، لفطر Fusicladium dendriticum مواصفات تساعد في التعرف عليه كالحامل الكونيدي المسنن، كما يحتوي على حلقات في القمة، وهذه الحلقات تقوم بإطلاق الجراثيم الكونيدية وفقا لوصف (Hohnel, 1923) الذى أكد على أن الفطر *Fusicladium dendriticum* (Wallroth) هو الاسم الآخر للفطر *Venturia inaequalis* (Cke.) Winter . وينجم عن

* نواره علي محمد nwboshakoa@gmail.com قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا.

الإصابة بمرض الجرب خسائر اقتصادية ضخمة للمزارعين سواءً نوعية، أو كمية في محصول التفاح عالمياً (Padder et al., 2013). ففي حالة الإصابة الشديدة تسقط الأوراق، والأوراق الحديثة هي الأكثر عرضة للإصابة من الكبيرة بالسن، كما يُسبب سقوط الأزهار، والثمار قبل اكتمال نموها (Doolotkeldieva & Bobusheva, 2017)، مما يقلل الإنتاج، والقدرة التخزينية. تهدف هذه الدراسة إلى عزل المسبب المرضي، وتحديد أطواره، وإثبات علاقته بالأعراض المصاحبة للحالة المرضية.

المواد وطرق البحث

وصف الأعراض: تم فحص الأوراق والثمار المصابة، ووصف الأعراض التي ظهرت عليها، وحفظها تحت ظروف رطوبة عالية لمدة 48 ساعة.

عزل مسبب المرض : عُزل مسبب المرض من العينات وفقاً لما ذكره (Doolotkeldieva & Bobusheva, 2017) بتعقيم الجزء المصاب بعد تقطيعه إلى أجزاء بمساحة 1 سم2 بالمشرط، ووضعت القطع في هيبوكلوريت الصوديوم تركيز 4% لمدة دقيقتين، ثم غُسلت بالماء المعقم ثلاث مرات، وجففت بورق الترشيح، ونقلت بواقع قطع/طبق إلى أطباق الوسط الغذائي بطاطس دكستروز اجار Potato Dextrose Agar (PDA) مع إضافة المضاد الحيوي streptomycin sulphate بنسبة 50µg/ ml لمنع حدوث تلوث بكتيري. حضنت الأطباق في الحضان عند حرارة 18 °م، لمدة تراوحت بين 10 إلى 12 يوم.

تنقية وتعريف المسبب المرضي: تمت عملية التنقية باستخدام طريقة القمة الهيفية (hyphal tip) بأخذ جزء من النهايات الهيفية من المستعمرات النامية للفطر تحت المجهر الضوئي وفقا لـ (Stanis & Jones, 1984)، ونقلها إلى أطباق الوسط الغذائي PDA.

بعد الحصول على مستعمرة الفطر، فُحصت التراكيب بواسطة المجهر الضوئي؛ لتعريفه اعتماداً على الخصائص الشكلية، والمجهرية من خلال وصف التراكيب الخضرية، والتكاثرية وفقاً لتصنيف (Schubert et al., 2003) مع تحديد صفات المستعمرات، وشكل النمو الميسيليومى على سطح البيئة، ولون المسيليوم، والصبغة الناتجة في الوسط، والتي استخدمت جميعها في تعريف المسبب المرضي استناداً للمراجع المختصة (Doolotkeldieva & Bobusheva, 2017; Köhl et al., 2009; Schubert et al., 2003; Sivanesan & Waller, 1974).

اختبار القدرة الإمراضية : أُجريت اختبارات القدرة الإمراضية بعدوى أوراق سليمة لمفصولة، وعدد من ثمار التفاح صنف (Red delicious) بوضع قرص قطره 0.3 سم من النمو الفطري بعمر يوم، تم وضع الأوراق المفصولة المُلقحة داخل أطباق زجاجية بينما وضعت الثمار تحت الناقوس الزجاجي المعقم، ووفقا لطريقة (Bénaouf & Parisi, 1998; Ross, 1973) مع توفير الرطوبة وحفظها بالحضان.

و بالنسبة لاختبار المرضية على الشتول تم عدوى شتول تفاح السليمة صنف (Red delicious) بعمر عامين، بوضع قرص من نمو الفطر على السطح العلوي للورقة بواقع .ورقة/شتلة مع توفير الرطوبة الملائمة، بتغطيتها بأكياس بلاستيكية لمدة 24 ساعة ثم نقلها إلى الصوبة الزجاجية (Masny, 2017).

النتائج والمناقشة

وصف الأعراض، وتعريف المسبب المرضي: ظهرت أعراض الجرب على التفاح في صورة بقع سوداء على كلا سطحي الورقة متفرقة، ومنتشرة كما في الشكل (1) ذات لون بني فاتح، وحواف داكنة مشوهة، أو تؤدي إلى التواءها، وتشوهها، وبالتالي سقوطها. وتتفق هذه الأعراض مع الأعراض التي وصفها (MacHardy, 1996; Sandskär, 2003) بأن الإصابة تظهر على الثمار بشكل تبقعات سوداء اللون، وذات ملمس فليني، كما يظهر بالشكل (1-ب) وهذا ما يتوافق مع دراسة (Belete & Boyraz, 2017) الذي ذكر أن البقع على الثمار تكون سوداء اللون مع تشوهات تؤدي إلى تغير شكل الثمرة، وتشوهها، الأمر الذي يعرضها للسقوط من على الشجرة، أما على الأغصان فقد كانت على شكل تقرحات سوداء اللون، و

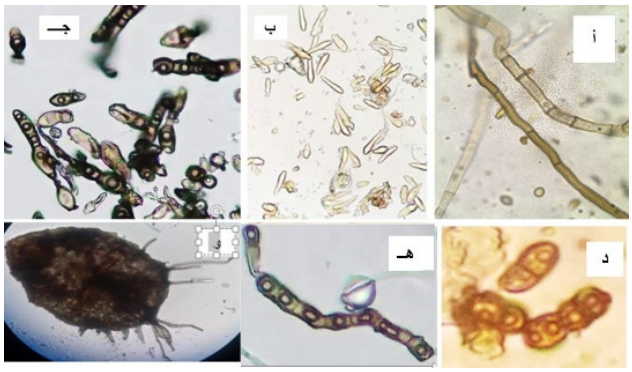
© 2023. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

(Khajuria et al., 2012

بأن الأعراض على الأفرع تكون على شكل تقرحات بلون أسود تظهر عليها أحياناً أجسام ثمرية كما في الشكل (1-جـ) بينما تم الحصول على أجسام ثمرية من على الأوراق المتساقطة بأرض المزرعة كما في الشكل (1-د) وهذا ما يتوافق مع (Gladieux et al., 2011) الذي أشار بأن الفطر الممرض يكون الأجسام الثمرية على سطح الأوراق المتساقطة، ويقضي بها فترة السكون .

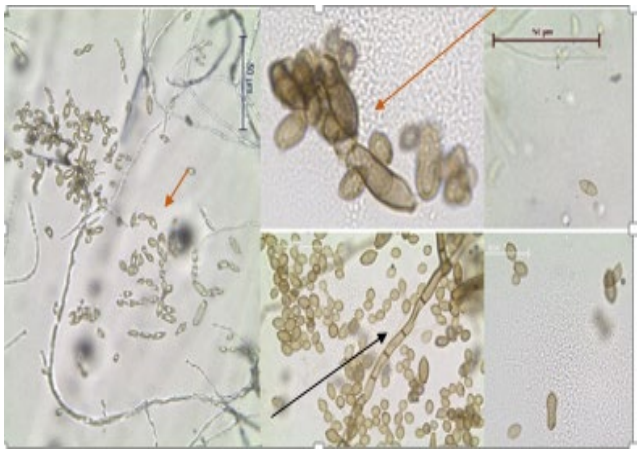
شكل (1): أعراض مرض جرب التفاح على المجموع الخضري لنبات التفاح (أوراق وثمار وأفرع والأوراق المتساقطة). السهم الأبيض يوضح مكان وجود الأجسام الثمرية على شكل نقاط سوداء.

حيث ظهرت تراكيب الفطر مشاهدة ميسيلوم مقسم، وجراثيم متباينة الأحجام، بالإضافة إلى الأكياس الأسكية، والجسم الثمري، وكانت الجراثيم الكبيرة مفردة ذات شكل يشبه لهب الشمعة، وملساء الشكل في الشكل (2-ب) أما في الشكل (2-جـ، د) تظهر جراثيم أسكية، مقسمة في منتصفها، وهو ما يتفق مع (Sandskär, 2003) الذي أشار إلى أن الصفة المميزة للجراثيم الأسكية هي وجود خط يقسم الجرثومة الأسكية، وأن لونه أخضر زيتوني إلى داكن، بينما في الشكل (2-هـ) تظهر الأكياس الأسكية، وفي الشكل (2-و) يظهر الجسم الثمري المتحصل عليه من الأوراق المتساقطة، والذي يحتوي بداخله على الجراثيم الأسكية التي بداخل الأكياس، وبكل كيس 8 جراثيم أسكية، وتتفق مع دراسة (Sivanesan & Waller, 1974) التي ذكرت أن الأكياس الأسكية تحتوي على عدد 8 جراثيم مقسمة أسكية داخل الجسم الثمري.



شكل (2) تراكيب الفطر *V.inaequalis* المعزول من الثمار (أ) ميسيلوم، (ب) جراثيم كونيدية، (جـ، د) جراثيم أسكية، (هـ) أكياس أسكية، (و) جسم ثمري من الأوراق.

الشكل (3) تراكيب الفطر النامي على الوسط الغذائي (PDA) متمثلة في جراثيم كونيدية مختلفة الحجم، والميسيلوم المقسم، وجراثيم كونيدية كبيرة الحجم.



شكل (3). الجراثيم الكونيدية للفطر المعزول على بيئة تشابك دوكس اجار (لسهم الأحمر الطويل:ل الجراثيم الكبيرة الحجم، السهم القصير: الجراثيم صغيرة الحجم، ، السهم الأسود : الميسيليوم)

وفي الجدول (1) سجل سمك الميسليوم الذي بلغ 2.4 µ، وطول جراثيم كونيدية الكبيرة الحجم بقياس 13 µ، وبعرض 5µ، وكانت هذه القياسات مقاربة لدراسة (Sivanesan & Waller, 1974)، وقياسات الجراثيم الأسكية كانت 12-15 ميكرومتر وعرض 6-8 ميكرومتر، تظهر الأكياس الأسكية، و قياساتها تقدر بـ40 ميكرومتر متوسط للطول، وبمتوسط عرض 3.94 ميكرومتر، والتي كانت قياساتها 40.43 µ، وبعرض 3.94µ،

© 2023. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

وكانت هذه القياسات مقاربة لدراسة (Sivanesan & Waller, 1974) التي أشارت إلى أن قياسات الكونيدات تتراوح من 12-15 ميكرومتر في الطول، وبعرض 6-8 ميكرومتر.

جدول (1). قياسات وصفات الفطر *Venturia inaequalis*

التراكيب	قياسات التراكيب الخضرية والتكاثرية للفطر المعزول من الثمار	
	متوسط طول الجراثيم ± StDv	متوسط عرض الجراثيم ± StDv
جراثيم كبيرة الحجم	13.12 ±0.77	4.93 ± 0.51
جراثيم متوسطة الحجم	9.48 ±0.74	4.48 ±0.93
جراثيم صغيرة الحجم	6.99 ± 0.67	3.68 ± 0.31
الأكياس الأسكية الكبيرة	40.43 ± 3.39	3.94 ± 0.29
الأكياس الأسكية الصغيرة	19.92 ±4.86	3.35 ± 0.24
الميسليوم	2.433 ±0.72	
قياسات التراكيب الخضرية والتكاثرية للفطر النامية على بيئة PDA		
جراثيم كبيرة الحجم	10.962.0 ±5	0.50 ± 504.
جراثيم متوسطة الحجم	47.9 ±0.67	30.7± 64.2
جراثيم صغيرة الحجم	5.99 ±0.21	0.51± 3.67
الميسليوم	3.105 ±0.43	

اختبار القدرة الإمراضية: عند إجراء دراسة القدرة الإمراضية ظهرت الأعراض على شكل بقع على الأوراق المفصولة المُعدى بالفطر المعزول (شكل 4)، ولوحظ ظهور البقع على أوراق الشتول، وعلى ثمار التفاح التي تمت معاملتها بالفطر كما هو موضح بالشكل (4)، وتتفق هذه النتيجة مع دراسة (González et al., 2006)، الذي قام بإجراء القدرة الإمراضية على الثمار والأوراق. وطبقاً لما ورد عند وصف أعراض المرض التي تمت ملاحظتها على الأجزاء النباتية المصابة طبيعيا، والتي ظهرت عليها الأعراض بعد الحقن بالفطر ظهر تطابق مع أعراض مرض جرب التفاح، والتي وصفها كل من (Doolotkeldieva & Bobusheva, 2017; Khajuria et al., 2014; Ziems, 2009).

شكل (4). نتائج القدرة الإمراضية بالفطر المعزول على الأوراق المفصولة والثمار والشتول

استنتاج

تم في هذه الدراسة تعريف مسبب مرض جرب التفاح بناء على خصائصه الشكلية، والحصول على تراكيبه التكاثرية، والخضرية، وتحديد أعراضه المميزة. وقد تم تعريف الفطر المسبب للمرض

المراجع

المنظمة العربية للتنمية الزراعية، (2018).إحصائيات إنتاج المحاصيل بالدول العربية. المجلد 38، القسم الثالث، جدول 110.

Belete, T., & Boyraz, N. (2017). Critical review on apple scab (Venturia inaequalis) biology, epidemiology, economic importance, management and defense mechanisms to the causal agent. *J. Plant Physiol. Pathol, 5*(2), 2 .

Bénaouf, G., & Parisi, L. (1998 .(Characterization of Venturia inaequalis pathogenicity on leaf discs of apple trees. *European journal of plant pathology, 104*(8), 785-793 .

Day, P., Boone, D., & Keitt, G. (1956). Venturia inaequalis (Cke.) Wint. XI. The chromosome number. *American Journal of Botany*, 835-838 .

Doolotkeldieva, T., & Bobusheva, S. (2017). Scab disease caused by Venturia inaequalis on apple trees in Kyrgyzstan and biological agents to control this disease. *Advances in Microbiology, 7*(06), 450 .

© 2023. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

American Phytopathological Society (APS Press).

Masny, S. (2017 .(Occurrence of Venturia inaequalis races in Poland able to overcome specific apple scab resistance genes. *European journal of plant pathology, 147*, 313-323 .

Padder, B. A., Sofi, T. A., Ahmad, M., Shah, M. U. D., Hamid, A., Saleem, S., & Ahanger, F. A .(2013) .Virulence and Molecular Diversity of V enturia inaequalis in Commercial Apple Growing Regions in K ashmir. *Journal of Phytopathology, 161*(4), 271-279 .

Ross, R. (1973). Suppression of perithecium formation in Venturia inaequalis by seasonal sprays of benomyl and thiophanate-methyl. *Canadian Journal of Plant Science, 53*(3), 601-602 .

Sandskär, B. (2003). *Apple scab (Venturia inaequalis) and pests in organic orchards* (Vol. 378 .(

Schubert, K., Rischel, A., & Braun, U. (2003). A monograph of Fusicladium s. lat.(hyphomycetes). *Schlechtendalia, 9*, 1-132 .

Sivanesan, A., & Waller, J. (1974). Venturia inaequalis.[Descriptions of Fungi and Bacteria]. *Descriptions of Fungi and Bacteria*(41), Sheet 401 .

Stanis, V., & Jones, A. (1984). Genetics of benomyl resistance in Venturia inaequalis from North and South America, Europe, and New Zealand. *Canadian Journal of Plant Pathology, 6*(4), 283-290 .

Ziems, A. (2009). Cedar-apple and related rusts of apple and ornamentals. University of Nebraska–Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources. NebGuide. G1907.

Cooke, G. Winter, (1897). Venturia inaequalis. Hedwigia 36: 81.

Gladieux, P., Guérin, F., Giraud, T., Caffier, V., Lemaire, C., Parisi, L., Didelot, F., & Le Cam, B. (2011). Emergence of novel fungal pathogens by ecological speciation: importance of the reduced viability of immigrants. *Molecular ecology, 20*(21), 4521-4532 .

González, E., Sutton ،T. B., & Correll, J. C. (2006). Clarification of the etiology of Glomerella leaf spot and bitter rot of apple caused by Colletotrichum spp. based on morphology and genetic, molecular, and pathogenicity tests. *Phytopathology, 96*(9), 982-992 .

Hohnel, F .v. (1923). Fragmente zur Mykologie. XXV. Mitteilung, Nr. 1215 bis 1225. Sitz.-ber. *Akad. Wiss. Wien, Math.-nat. KX, I, 132*, 89-118 .

Hora Júnior, B. T. d. (2012). Molecular phylogeny and population genetics of Microcyclus ulei, causal agent of the south american leaf blight of Hevea brasiliensis .

Khajuria, Y., Kaul, S., & Dhar, M. (2012). Molecular characterization of Venturia inaequalis causing apple scab in Kashmir. *Open Access Scientific Reports, 1*, 339 .

Khajuria, Y. P., Kaul, S., Wafai, B., & Dhar, M. K. (2014). Screening of apple germplasm of Kashmir Himalayas for scab resistance genes .

Köhl, J. J., Molhoek, W. W., Groenenboom-de Haas, B. B., & Goossen-van de Geijn, H. H. (2009). Selection and orchard testing of antagonists suppressing conidial production by the apple scab pathogen Venturia inaequalis. *European journal of plant pathology, 123*, 401-414 .

MacHardy, W. E. (1996). *Apple scab: biology, epidemiology, and management*.

© 2023. الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0