

تأثير المستنبت المزرعي وتقويم فعالية المواد السامة المفرزة من الفطر المسبب لمرض البيوض

ر. الفاخوري¹، م.ح. السدرة² و ح.ب. لزرقي¹

(1) مختبر الكيمياء البيوعضوية بكلية العلوم السملالية، مراكش، المغرب.
(2) مختبر أمراض النباتات، المركز الجهوي للبحث الزراعي للحوز والمناطق المتاخمة للصحراء.

الملخص

الفاخوري، ر.، م.ح. السدرة و ح.ب. لزرقي. 1995. تأثير المستنبت المزرعي وتقويم فعالية المواد السامة المفرزة من الفطر المسبب لمرض البيوض. مجلة وقاية النبات العربية. 13(1): 10-13

النخيل الأكثر حساسية لمرض البيوض يتأثر بهذه المواد السامة أكثر من النوع المقاوم. واعتماداً على هذه النتائج، يمكن استعمال هذه المواد السامة في المستقبل لاختبار نباتات نخيل مقاومة لمرض البيوض
كلمات مفتاحية: فطر الفوزاريوم، مرض البيوض، المادة السامة الفطرية، البيبتيدات.

يفرز الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* المسبب لمرض البيوض مواد سامة ذات طبيعة بيبتيدية "peptidic toxin" إضافة لحمض الفيوزاريك. ويوضح البحث الحالي الظروف الملائمة لإفراز هذه المواد وتبوغ الفطر. حيث تمت دراسة عوامل مختلفة كطريقة الاستخلاص، والمستنبت الزراعي وتهويته. وأظهرت النتائج أن مستخلصات الوسط الذي نما فيه الفطر تؤثر في نمو النباتات الموصلة من زراعة الأسجة، محدثة نخراً وتيبساً للأوراق بعد امتصاصها للمواد السامة. كما أظهرت أن نوع

المقدمة

يعتبر مرض البيوض أخطر أمراض نخيل التمر في واحات شمال أفريقيا، حيث قضى على 10 ملايين نخلة في المغرب (5) وأكثر من 3 ملايين نخلة في الجزائر (1) ويشكل هذا المرض تهديداً كبيراً لواحات النخيل في تونس والأقطار المنتجة للتمر.

ترتكز مكافحة هذا المرض على إيجاد نخيل مقاوم وجيد وأسفرت النتائج حتى الآن عن تحديد أنواع وسلالات مختارة (3، 8، 10)، وبالإضافة لعمليات التقويم الكلاسيكية، يمكن استعمال طريقة بسيطة وفعالة لاختيار النوع المقاوم في مرحلة مبكرة من عمر الشجرة، كما هو الشأن عند بعض الأمراض التي تسببها أنواع الذبول الوعائي الذي يحدثها الفطر "*Fusarium oxysporum*" حيث تستعمل المواد السامة التي تفرزها هذه الفطور كوسيلة لتقويم مقاومة النباتات في وسط إصطناعي.

وفيما يخص مرض البيوض، تمت دراسة بعض المواد السامة التي يفرزها الفطر المسبب كحامض الفيوزاريك "*Fusaric acid*" وبعض مشتقاته (4، 13)، وتهدف الدراسة الحالية إلى:

- تحديد الظروف الملائمة لإفراز مواد سامة من نوع البيبتيدات "*Peptidic toxins*"
- قياس درجة وشدة تسمم المواد المختلفة الأخرى التي يفرزها

الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

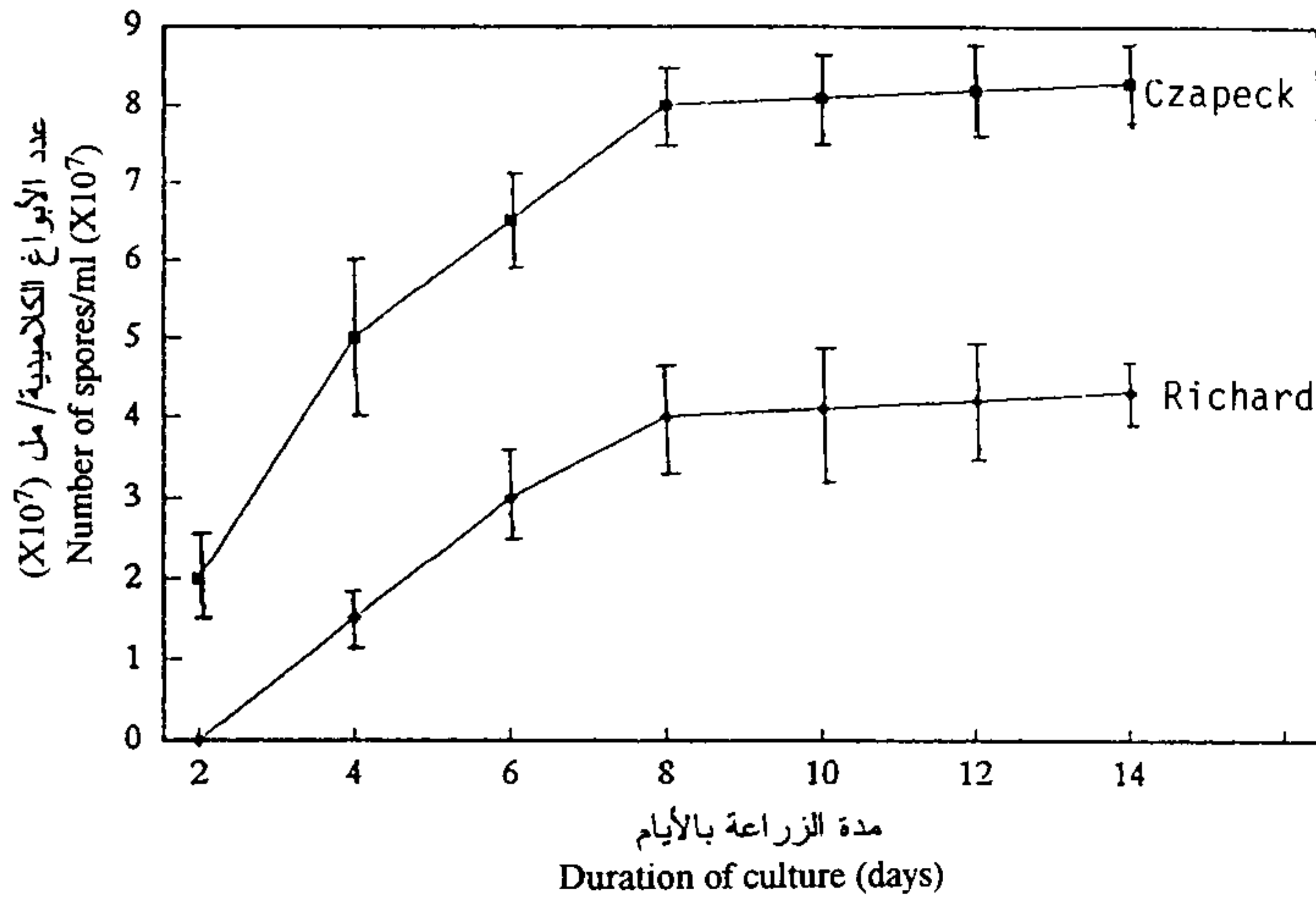
مواد وطرائق البحث

أ. دراسة تأثير المستنبت المزرعي في إفراز المواد السامة وتبوغ الفطر.

استعمل في هذه الدراسة مستنبتان غذائيان "Czapeck" الذي أعطى نتائج مهمة في نمو الفطر وتبوغه (12) مقارنة مع أوساط أخرى و "Richard". حيث زرع في كل وسط ما يعادل 10^6 بوغة كلاميديّة/مل. وتمت التجربة على عينة تتكون من عشر حوجلات بحجم 250 مل لكل وسط ووضع في كل منها 150 مل من الوسط الغذائي، مع استعمال جهاز التحريك من نوع "BOLAFITE" بمعدل 80 دورة في الدقيقة. وتم حساب عدد الأبواغ الكلاميديّة للفطر كل 48 ساعة ولمدة 14 يوماً باستخدام شريحة العدّ "Mallassez".

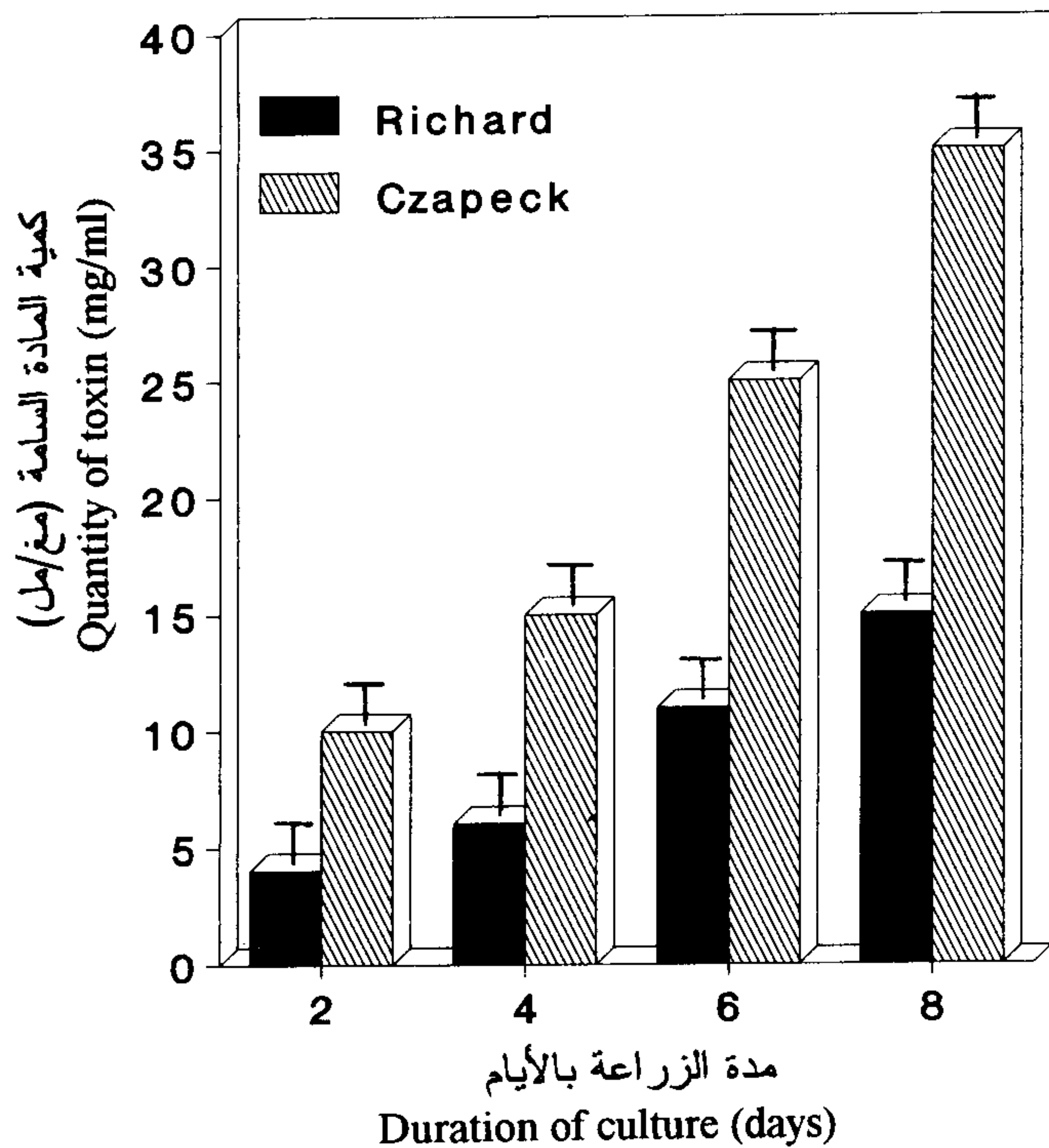
ب. استخلاص المواد السامة البيبتيدية

اعتمدت طريقة الإستخلاص المشروحة في (7) لفطر *Periconia circinata* في استخلاص المواد السامة البيبتيدية المفرزة من طرف الفطر المسبب لمرض البيوض مع إجراء بعض التغييرات. فبعد ترسيب الجزيئات الثقيلة بتأثير الكحول الميثيلي "Methanol" تم استخلاص الطفاوة بواسطة الخليط المكون من "Norite-Celite" بثلاث كثافات 10%، 30% و 50% من البريديين المائي "Pyridin aqueous".



شكل 1. تبوغ الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* في الأوساط المزرية Czapeck و Richard مع الوقت.

Figure 1. Sporulation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* in Czapeck and Richard media with respect to time.



شكل 2. كمية المادة السامة التي يفرزها الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* في الأوساط المزرية مع الوقت.

Figure 2. Quantity of toxin secreted by *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* in culture media with respect to time.

كما أظهرت النباتات التي أخضعت لتأثير المواد السامة (I، II، III) أعراضاً تميزت أولاً بتلون الجذور باللون البني والتفاف الأوراق وتيسها مما أدى إلى موت النباتات. في حين بقيت جذور نباتات الشاهد المستعملة كشاهد سليمة طيلة مدة التجربة.

ج. دراسة تأثير المواد السامة البيبتيدية في نباتات زرعت في بيئة اصطناعية

تم تقسيم المواد المستخلصة إلى ثلاثة أجزاء (I، II و III) و اقيمت تجربة لدراسة درجة سمية هذه الأجزاء. استخدمت في التجربة بادرات نوعين من النخيل: "تادمانت" المعروف بمقاومته لمرض البيوض و "الجهل" الحساس، لكل منهما ورقتان أو ثلاثة، حصل عليها بواسطة زراعة الأنسجة. وتم إعداؤها بغمر المجموع الجذري في معلق مائي للمواد السامة المفرزة بمعدل 25 مل لكل نبتة وبكثافة 0.5 مغ/مل. واستعملت في التجربة 5 نباتات لكل نوع من النخيل.

قومت نسبة درجة التسمم لكل نوع من النخيل ولكل مادة بعد 34 يوماً وذلك بملاحظة الأعراض الظاهرية الآتية:

- تلون الجذور بلون بني "Browning of roots"
- التفاف الأوراق "Rolling of leaves"
- جفاف الأوراق "Withering of leaves"
- موت النبتة "Death of plantlet"

النتائج والمناقشة

أ. تأثير المستنبت المزري في إفراز المواد السامة وتبوغ الفطر
توضح النتائج المحملة في الشكل رقم 1 بأن الوسط "Czapeck" يعتبر الوسط الغذائي الأفضل لإفراز المواد السامة وتبوغ الفطر مقارنة بوسط "Richard". وتتطابق هذه النتيجة تماماً ما نشر سابقاً بالنسبة للسموم المفرزة من الفطر *Alternaria citri* (2). كما أظهرت نتائج دراسة سابقة بأن الوسط الغذائي "Czapeck" يعتبر أكثر الأوساط ملائمة لنمو الفطر المسبب لمرض البيوض وتبويغه. ويلاحظ من الشكل نفسه بأن تبوغ الفطر يتطور بوتيرة سريعة خلال الأيام الثمانية الأولى ثم يصبح التطور بطيئاً بعد ذلك. وقد يرجع ذلك إلى ارتفاع قيمة الأس الهيدروجيني pH في الوسط المزري (9)، ولا يمكن الحصول على هذه النتائج في هذا الوقت الوجيز (30 يوماً) إلا بتهوية الوسط المزري.

ونستنتج أيضاً أنه كلما تطور التبوغ بسرعة كلما ازدادت كمية إفراز المواد السامة من طرف الفطر (شكل 2). تتوافق هذه النتائج مع تلك التي توصل إليها Pinon (6) حيث استطاع عزل المواد السامة لفطر *Hypoxyton mammatum* الذي يتطفل على أشجار الحور من مشيجة الفطر ومن مستخلص الوسط المزري في ظرف 8 أيام.

ب. تأثير المواد السامة في نباتات زرعت في بيئة اصطناعية

عند دراسة تأثير المواد السامة المفرزة من الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* على نباتات نخيل التمر تبين بأن هناك تباين بين أصناف النخيل في تفاعلها مع هذه المواد وكانت الفروقات معنوية (جدول 1).

- إضافة إلى المواد التي التي تم اكتشافها سابقاً (3، 11) تم في هذه الدراسة ولأول مرة اكتشاف مواد سامة بيتيدية تتكون من ثلاث أجزاء (I، II، III) وتعتبر المادة II أكثر سمية.
- يتأثر نوع النخيل الأكثر حساسية لمرض البيوض بكيفية كبيرة بهذه المواد السامة مقارنة بالنوع المقاوم.

إن هذه النتائج المتحصل عليها من خلال هذه الدراسة تفتح آفاقاً جديدة في مجال البحث تهدف إلى توضيح بعض الوسائل التي يستعملها الفطر الطفيلي في العدوى واستعمال المادة السامة في المستقبل والإعتماد على تطبيقها بعد دراسة اختصاصها وقوة طاقتها في انتقاء أنواع النخيل المقاومة لمرض البيوض في ظروف اصطناعية.

ويشير سدر (11) أن بداية ظهور الأعراض لا تتوقف على درجة سمية المواد السامة المختبرة فقط بل على نوع النخيل المستعمل أيضاً. وكان ظهور الأعراض سريعاً بالنسبة لمختلف المواد السامة وبالأخص المادة II على نوع الجيهل الحساس لمرض البيوض. وكان التفاف أوراق نباتات تادمانت المقاوم لمرض البيوض بطيئاً ولم يشمل جميع النباتات المختبرة (شكل 3).

وبناء على ماتقدم يمكن استخلاص مايلي:

- يعتبر الوسط المزرعي "Czapeck" أكثر الأوساط ملائمة لتبوغ الفطر *F. O. f.sp. albedinis* وإفرازه للمواد السامة.
- ترتبط سرعة التبوغ بالتحريك المتواصل للوسط المزرعي كما ترتبط كمية المواد السامة المفروزة بسرعة التبوغ.

جدول 1. نتائج التحليل الإحصائي لتأثير المواد السامة في نباتات نخيل التمر الناتجة من زراعة الأنسجة.

Table 1. Results of variance analysis of the effect of three toxic fractions on two date palm varieties.

مصدر التباين	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F
Source of variation	degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	F value
الأصناف	1	661.5	661.5	12.8***
Cultivar				
الأجزاء السامة	2	999	499.5	9.7**
Toxic fraction				
الخطأ	2	103	51.5	<1(NS)
Interaction				
الخطأ المتبقي	18	132.5	7.4	
Residual variation				

- نتائج تحليل معامل الارتباط لمعيارين (صنف - جزء سام)
- Results of two criteria variance analysis (Cultivar-fraction).

NS = Not significant

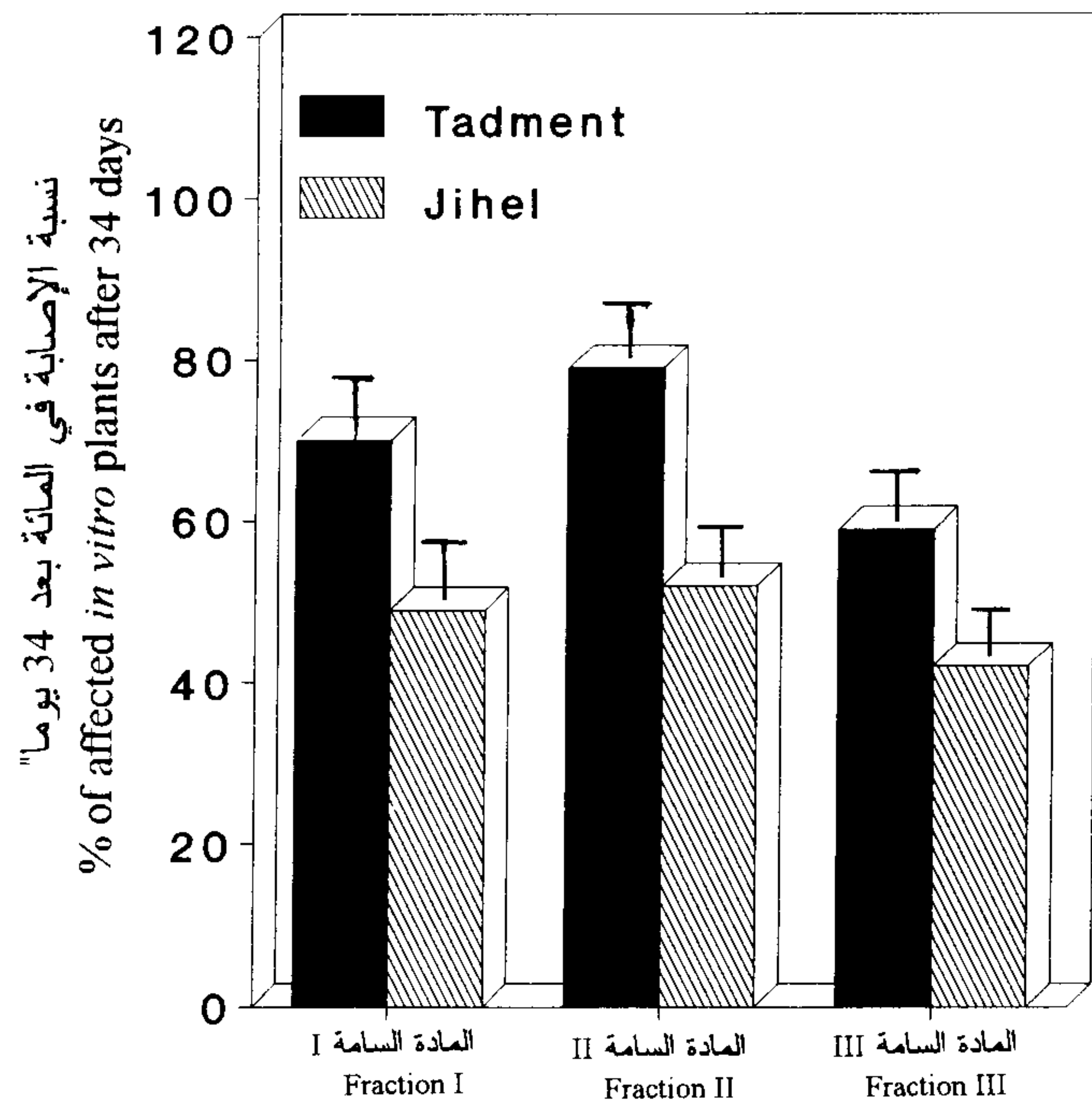
**= Very significant

***= Highly significant

NS = ليس هناك فرق جوهري

** = فرق جوهري

***= فرق جد جوهري



شكل 3. تأثير المواد السامة المفروزة من الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* في النباتات النامية في بيئة اصطناعية.

Figure 3. Effect of toxic substances excreted by *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* on in vitro plants.

- نوع "الجيهل" الحساس و "تادمانت" المقاوم لمرض البيوض
- Cultivars Jihel (susceptibel) and Tadment (Bayoud resistant)
- المواد السامة I، II و III

Abstract

El-Fakhouri, E., M.H. Sedra and H.B. Lazrek. 1995. Effect of Culture Media and Toxic Activity Produced by *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, Causal Agent of Bayoud Diseases. Arab J. Pl. Prot. 13(1): 10-13

Fusarium oxysporum f.sp. *albedinis*, the causal agent of Bayoud disease, produced various phytotoxins of peptidic nature in addition to fusaric acid. This paper deals with the determination of optimal conditions for the secretion of toxins which have peptidic nature, such as: agitation, culture media and extraction procedure. Different extracts from the culture filtrate inhibited seedling

elongation and caused necrosis of detached leaves. Furthermore, the susceptible cultivars of date palm to Bayoud disease were badly affected by these toxins. On the basis of the results obtained, these toxins could be used in future for the *in vitro*-selection.

Key words: *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, Bayoud, date palm, phytotoxins.

References

المراجع

1. **Djerbi, M.** 1988. Les maladies du palmier dattier. Project régional du lutte contre le Bayoud. F.A.O. project régional Rab/84/018, Alger. 127 pp.
2. **Khomoto, K., R.P. Scheffer and J.O. Whiteside.** 1979. Host-selective toxins from *Alternaria citri*. Phytopathology 69:667-671.
3. **Louvet, J. et C. Toutain.** 1973. Recherches sur les fusarioses VII. Nouvelles observations sur la fusariose du palmier dattier et précisions concernant la lutte. Ann. Phytopath. 5:35-52.
4. **Moukhilisse, N.** 1987. Contribution à l'identification et l'étude de la toxicité des différents constituants de la toxine sécrétée par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Thèse de 3ème cycle-Marrakech.
5. **Pereau-Leroy, P.** 1958. Le palmier dattier au Maroc. Ministère de l'agriculture Instit. France. Recher. Outermer, Paris. 142 pp.
6. **Pinon, J.** 1984. Propriétés biologiques de la toxins d'*Hypoxylon mammatum* parasite des peupliers de la section Leuce. Rev. Cyt. Biol. Vég. 7:271-277.
7. **Pringle, R.B. and R.P. Scheffer.** 1963. Purification of the selective toxin of *Periconia circinata*. Phytopathology 53:785-787.
8. **Saaidi, M., C. Toutain, H. Bannerot et J. Louvet.** 1981. La sélection du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) pour la résistance au Bayoud. Fruits, 4, 36:241-249.
9. **Samson, R.A., E.S. Hoekstra and C.A.N. Van oorschot.** 1981. Introduction to Food borne Fungi "Ed. Central bureau Voorschimmal cultures Baarn".
10. **Sedra, My. H.** 1992. Evaluation and sélection of cultivars and clones of the date palm for résistance to the Bayoud disease. Arab J. Pl. Prot. 10(2):155-160.
11. **Sedra, My.H., R. El-Fakouri et H.B. Lazrek.** 1993. Recherche d'une méthode fiable pour l'évaluation de l'effect des toxines du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* sur le palmier dattier. AL Awamia 82:89-103.
12. **Sedra, My.H.** 1993. Caractérisation morphologique et culturale de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent de la fusariose vasculaire (Bayoud) du palmier dattier. Al Awamia 83:209-222.
13. **Surico, G. and A. Graniti.** 1977. Produzione di tossine da *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Phytopathology 16:30-33.