

العلاقة بين سموم الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الحمضيات وامراضه

كامل سلمان جبر وديجة محسن خضير

قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة بغداد

المستخلص

تضمنت التجربة تحديد آلية تأثير بعض عزلات الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الحمضيات. اوضحت النتائج تأثير عالق العزلات الممرضة في بادرات النارج (*Citrus aurantium L.*) ان جميع العزلات احدثت زيادة معنوية في شدة المرض. اظهرت العزلة DF7 اعلى شدة مرض بلغت 100% فيما تراوحت شدة المرض التي احدثتها العزلات الاخرى 25% - 91.7% قياساً الى معاملي المقارنة التي كانت شدة المرض فيهما صفراً. بينت نتائج تأثير راشح مزارع عزلتين للفطر *F. solani* تحت ظروف التعقيم البارد المعامل وغير المعامل حرارياً في بادرات النارج ان كلا الراشحين اظهرا نشاطاً سميماً وفي جميع التراكيز المختبرة (25% و 50% و 75% و 100%) و اظهر راشح العزلة DF7 المعامل وغير المعامل حرارياً اعلى شدة مرض عند التركيز 100%. عند اجراء الكشف عن السموم التي تنتجها بعض عزلات الفطر *F. solani* بأستعمال تقانة كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة *Thin Layer Chromatography (TLC)* وتنقيتها حصل انفصال راشح تلك العزلات الى عدة مركبات ذات الوان بنفسجي واصفر واحمر فاتح وبرتقالي. من خلال قياس قيمة *Rf* لكل منها فقد يكون المركب باللون البنفسجي هو السم *Anhydrofusarubin* والمركب ذو اللون الاحمر قد يكون هو السم *Fusarubin* اللذان يعودان الى مجموعة السموم *Naphthazarin* وان جميع تلك المركبات احدثت تثبيطاً في نمو جذور الفجل فقد تراوح متوسط النسبة المنوية لتثبيط الجذور في معاملات المركبات المفصولة 43.5% - 67.51% في حين كان صفراً في معاملة المقارنة وأدت الى زيادة في شدة المرض في بادرات النارج بعمر ثلاثين يوماً فقد تراوح متوسط النسبة المنوية لشدة المرض في معاملاتهما 46.57% - 67.39% قياساً بصفر% في معاملة المقارنة.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences 40 (3):63-77 (2009)

Juber & Kuthair

THE RELATION BETWEEN *FUSARIUM SOLANI* THE CAUSAL OF CITRUS ROOT ROT TOXINS AND ITS PATHOGENICITY.

KAMIL S. JUBER

WADEJA M. KUTHAIR

Dept. of Plant Protection - College of Agriculture - University of Baghdad

Abstract

This experiment intended determination of the role of *Fusarium solani* in its virulence. The results showed that spores suspension of the pathogenic isolates induced significant increment in disease severity, isolate DF 7 was the superior (100%) while other tested isolates were 25%-91.7% as compared to control treatment 0%. Heated and unheated culture filterates of two *F.solani* isolates showed toxigenic effects on sour orange (*Citrus aurantium L.*) seedling and the toxicity was found to be the concentration and isolate dependence (25%,50%,75% and 100%). The culture filtrate of the isolate Df 7 heated and unheated treatments were more toxic when used at 100% concentration. Thin Layer Chromatography technique for *F.solani* culture filtrate showed the separation of several compounds in many different colors (purple, yellow, light and orange) and *Rf* values and according to certain publications we suggested that the purple color represented anhydrofusarubin toxin, the red color represented fusarubin toxin. However both toxins are from naphthazarin group. The separated toxin exhibited radish root growth inhibition, the mean percentage of root inhibition in the treatments of separated compounds ranged 43.51%-67.51% while it was 0% in the control treatment and caused disease severity on 30 day old sour orange seedlings, the mean percentage of disease severity in their treatments was 46.57%-67.39% compared with 0% in the control treatment.

المقدمة

البرتقال *Citrus sinensis* المطعمة على الاصل *Citrus* *volkameriana* ادى الى ظهور اعراض متمثلة بالموت التراجعي و نقص الزنك في خشب الساق و الذبول وانسداد الاوعية وعزى الباحثون ظهور تلك الاعراض الى احتواء راشح المزارع السائلة للفطر على السموم . اشار Achor وآخرون (4) الى ان تلك السموم تؤدي الى تحطم البلاستيدات الملونة مما يؤدي الى اصفرار العروق في اوراق الحمضيات . ووجد Janse Van Rensburg وآخرون (12) ان السم isomarticin والراشح غير النقي لمزارع الفطر *F. solani* سببت خفضاً في الوزن الجاف لنباتات الاصول Rough lemon و Troyer citrange و Swing citromelo مع زيادة معنوية في مستويات الزنك في خشب السيقان لنباتات تلك الاصول. ووجد أن هناك علاقة قوية بين تركيز سموم الـ naphthazarins التي ينتجها الفطر *F. solani* المسبب لمرض تعفن جذور اشجار الحمضيات واعراض التدهور على تلك الاشجار مقارنة مع الاشجار التي تبدو سليمة ظاهرياً والتي وجد فيها تركيز هذه السموم منخفضاً ، وظهرت اصول الحمضيات التي اظهرت تحملاً للمرض في الحقل تحملاً عالياً للسم isomarticin في المزارع المائية، اما الاصول الحساسة للمرض في الحقل فهي ذات حساسية عالية لهذا السم في المزارع المائية وبذلك استنتج الباحثون Janse Van Rensburg وآخرون (13) ان السم isomarticin الذي ينتجه الفطر *F. solani* يرتبط باعراض تدهور الحمضيات .

المواد وطرائق العمل

1. تأثير عائق عزلات الفطر *F. solani* في بادرات النارج اتبعت طريقة Elena و Kranias (10) المحورة باستعمال محلول مغذي (Total N) بدلاً من محلول هوكلاندي (Hogland) مكون من النتروجين الكلي (20%) مكون من نترات (Nitrate nitrogen) 6.2% و امونيا Amonial (Water soluble nitrogen) 6.2% و يوريا (urea) 7.6% و حامض الفسفوريك 20% و بوتاسيوم 20% فضلا عن العناصر الصغرى 0.02% بورون ، نحاس 0.05% ، حديد 0.1% منغنيوم 0.05% موليبدنيم 0.0005% و خارصين 0.05% . بأذابة 2غم لكل لتر بماء

ينتج الفطر *F. solani* على الاقل 11 سم تعود الى مجموعة naphthazarin (31). وان بعض هذه السموم يمكن ان تحدث اعراض مرضية في بادرات الحمضيات متمثلة بتلون العروق و ذبول الاوراق و غلق الاوعية الناقلة (17،18). وقد وجد ان هناك علاقة بين ضراوة Virulence العزلة وقابليتها على انتاج السموم الخاصة وسرعة تكشف اعراض المرض (6،15،21). تمكن Baker وآخرون (6) من تنقية السموم Fusarubin ، Javanicin و anhydrofusarubin من رواشح مزارع الفطر *F. solani* المعزولة من جذور اشجار الحمضيات المصابة في الحقل والبيوت الزجاجية ، وحدثت تلك السموم تثبيطاً لنمو جذور الليمون الخشن قياساً الى معاملة المقارنة (بدون سم). اشار Nemec (22) الى وجود سموم الـ naphthazarins في عصارة خشب الجذور الغليظة scaffold roots وافرع اشجار الحمضيات المصابة في فلوريدا التي لم يكشف مجهرياً عن وجود الفطر *F. solani* في اوعيتها الناقلة ، وعزله Nemec و Baker (27) من الجذور الغليظة بنسبة 36% ولم يؤشر وجوده في الافرع . وفي تجارب البيت الزجاجي التي اجراها Nemec وآخرون (24) وجد ان استعمال نوعين من سموم الفطر هما dihydrofusarubin و isomarticin ادى الى حدوث ذبول للنباتات بادرات الليمون الخشن في محلول dihydrofusarubin ادى الى زيادة عملية التنفس بشكل معنوي، وتراكم كثير من المعادن وقلّة محتواها من النشا مقارنة بالنباتات غير المعاملة بهذا السم . ووجد Nemec وآخرون (26) ان محتوى جذور اشجار الحمضيات المصابة باللفحة في ولاية فلوريدا من السم naphthazarin اكثر بـ 11.4 مرة عن تلك التي تبدو سليمة ظاهرياً. وعند اختبار راشح مزارع الفطر *F. solani* المعزولة من جذور اشجار حمضيات مصابة باللفحة في العراق باستعمال شتلات نارج حصلت حالة تسمم انعكست بشكل ذبول مفاجيء للشتلات المعاملة تماثل حالة الذبول التي تظهر على اشجار الحمضيات المصابة باللفحة في الحقل ، وتفاوتت العزلات المختلفة في درجة سميتها (1). وذكر Vegas وآخرون (30) ان حقن راشح المزارع السائلة للفطر *F. solani* في نباتات

(تركيز 2 غم / لتر ماء مقطر معقم) في دورق زجاجي معقم سعة 50 مل ويواقع ثلاث مكررات لكل عذلة ، وضع في كل دورق بادرة نارنج واحدة بعد قطع جزء من الجذر الرئيسي وترك منه حوالي 2 سم مع الجذور المغذية وللمقارنة وضعت مثل تلك البادرات في محلول مغذي فقط وفي ماء مقطر معقم فقط . ووضعت الدوارق في حاضنة عند درجة حرارة $25 \pm$ 1° م وشدة اضاءة 364 لوكس لمدة 16 ساعة وجرى فحص البادرات يومياً للتثبت من ظهور الاعراض المرضية وبعد 21 يوماً قدرت شدة المرض على البادرات وذلك باتباع الدليل المرضي الاتي: 0 = نبات سليم ومجموع خضري نضر ومجموع جذري ابيض اللون و 1 = تلون خفيف للجذور (اصفر فاتح) واصفرار وجفاف 1-3 اوراق و 2 = تلون الجذر بلون بني مصفر وجفاف 4-5 اوراق و 3 = تلون الجذر بلون بني مع امتداد التلون الى قاعدة الساق مع جفاف وموت معظم الاوراق والساق لايزال اخضر و 4 = موت النبات (تلون الجذر بلون بني وانسلاخه وجفاف الساق وجميع الاوراق)، وحسبت النسبة المئوية لشدة المرض باعتماد المعادلة الاتية :

عدد النباتات في عدد النباتات في عدد النباتات في

الدرجة 0 × 0 + الدرجة 1 × 1 + + الدرجة 4 × 4

% لشدة المرض = $\frac{\text{الدرجة 0} \times 0 + \text{الدرجة 1} \times 1 + \dots + \text{الدرجة 4} \times 4}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$ (20).

عدد النباتات الكلي × اعلى درجة اصابة

معقم حسب توصيات الشركة المنتجة. لاجراء هذا الاختبار انتخبت 40 عذلة (جدول 1) عزلت من عينات جذور اشجار البرتقال المطعمة على اصل نارنج التي ظهرت عليها اعراض تدهور متمثلة بجفاف وموت بعض الافرع وتساقط الاوراق منها وظهور اعراض تعفن الجذور متمثلة بتلون الجذور الرئيسية والجذور المغذية بلون بني وشخصت العزلات اعتماداً على الصفات المزريعية والمظهرية للفطر باتباع المفتاح التصنيفي الذي وضعه Booth (7) وقد جرى اختبار تأثير العزلات في بادرات النارج بعمر 6 اشهر تحتوي البادرة على 6-8 اوراق منماة في تربة معقمة بغاز بروميد المثل 500 غم / م³ بعد تركها لمدة 15 يوماً قبل زراعة بذور النارج ، حضر عالق ابواغ عزلات الفطر المنماة على بذور الدخن (9) وذلك باضافة 10 غم من البذور الحاملة لكل عذلة للفطر الى 100 مل ماء مقطر معقم في دورق زجاجي سعة 250 مل ووضعت الدوارق في جهاز رجاج كهربائي لمدة ساعة ، بعد ذلك رشح عالق الابواغ من خلال قطع شاش طبي معقم ، واضيف 10 مل من عالق ابواغ كل عذلة تركيز 1×10^6 بوغ / سم³ (قدر تركيز الابواغ باستعمال الهيموسيتوميتر (Haemocytometer) الى 50 مل من المحلول المغذي

جدول 1 . عزلات الفطر *F. solani* التي تم اختبار مقدرتها الامراضية

رمز العزلة	رقم العينة	رمز العزلة	رقم العينة*
KF1	3	BF1	1
KF2	3	BF2	1
KF3	3	BF3	1
KF4	3	BF4	2
KF5	4	BF5	2
KF6	4	BF6	2
KF7	4	BF7	2
KF8	11	BF8	10
KF9	11	BF9	10
KF10	11	BF10	10
DF1	5	HF1	8
DF2	5	HF2	8
DF3	5	HF3	8
DF4	6	HF4	9
DF5	6	HF5	9
DF6	6	HF6	9
DF7	7	HF7	12
DF8	7	HF8	12
DF9	7	HF9	12
DF10	7	HF10	12

* (1) بغداد/الراشدية (2) بغداد/الدورة (3) كربلاء/حسينية (4) كربلاء/قضاء الهندية (5) ديالى/قضاء الخالص (6) ديالى/بعقوبة (7) ديالى/بلدروز (8) بابل/قضاء الهاشمية (9) بابل/قضاء المسيب (10) بغداد/الجادرية (11) كربلاء/كاملية (12) بابل/الشوملي.

المائية ، 1 غم فوسفات البوتاسيوم الحامضية ، 30 غم سكروز و 1 لتر ماء مقطر . وزع الوسط الزراعي في دوارق زجاجية سعة 300 مل وضع في كل منها 100 مل ، عقم الوسط بجهاز المؤصدة (121 م وضغط 1.5 كغم / سم² لمدة 20 دقيقة). لفتحت الدوارق بقرص واحد اخذ من قرب حواف مزراع الفطر المنماة على الوسط الزراعي المعقم PSA بعمر 7 ايام بواقع 5 مكررات لكل عزلة، حضنت الدوارق عند درجة حرارة 25 ± 1 م لمدة اسبوعين ، بعدها رشحت المزارع باستعمال ورق الترشيح Whatman No.2 باستعمال قمع بخنر وبمساعدة جهاز التفريغ الهوائي (Vacumpump) ومرر الراشح من خلال مرشح دقيق (Millipore filter)

2. تأثير راشح عزلتين للفطر *F. solani* تحت ظروف التعقيم البارد المعامل وغير المعامل حرارياً في بادرات النارج

أنتخبت العزلتين DF7 و BF1 للفطر *F. solani* التي اثبت الاختبار السابق بأن الاولى عالية المقدرة الامراضية والثانية ضعيفة المقدرة الامراضية على بادرات النارج في الاصل لغرض دراسة تأثير رواشحهما في بادرات النارج. حضر الوسط الزراعي السائل Czapek's broth من المواد الاتية : 3 غم نترات الصوديوم ، 0.5 غم كلوريد البوتاسيوم ، 0.05 غم كبريتات المغنيسيوم المائية ، 0.01 غم كبريتات الحديدوز

لقتح الدوارق بقرص واحد اخذ من قرب حواف مزارع عزلات الفطر المنماة على الوسط الزرعي PSA بطريقة البوغ المنفرد بعمر 7 ايام بواقع 10 مكررات لكل عذلة و حضنت تحت درجة حرارة 27 ± 2 °م لمدة اسبوعين في حاضنه ذات هزاز كهربائي تحت ظروف الظلام.

استخلاص السموم من الوسط الزرعي السائل

تم الحصول على راشح عزلات الفطر باستعمال ورق ترشيح Whatman No. 4 وبعدها جرى الاستخلاص باستعمال خلات الاثيل وكررت هذه العملية مرتين (6). جمعت طبقة خلات الاثيل وجففت في فرن كهربائي على درجة حرارة 40 °م ثم جمع المتبقي بعد التجفيف باذابته 1 مل من خلات الاثيل ووضع في قنينة زجاجية معقمة غلفت بورق الامنيوم وحفظت في المجمدة لحين اجراء الكشف عن السموم.

الكشف عن السموم في مزارع عزلات الفطر باستعمال

صفائح الكروموتوغرافي الرقيقة Thin Layer Chromatography (TLC)

أستعمل في هذا الاختبار صفائح السليكاجيل (Silica gel) بابعاد 20×20 سم، تركت مسافة 2 سم من اسفل الصفيحة . اضيف 25 مايكروليتر من مستخلص كل عذلة من العزلات الثلاث باستعمال محقنة دقيقة (Micro syringe) بمسافة فاصلة بينها قدرها 2 سم ، تركت الصفيحة لتجف في الهواء ثم وضعت في حوض الفصل الحاوي على 100 مل من محلول الفصل (بنزين : اسيتون 85 : 15) وتركت لحين صعود المحلول الى 18 سم ثم رفعت الصفيحة وتركت لتجف في درجة حرارة المختبر ، حسبت قيمة Rf للبقع التي ظهرت وتم مقارنتها مع Rf للمركبات المفصولة التي اشار اليها Baker واخرون (6) لغرض تشخيصها كما ثبت لون البقعة للمركبات المفصولة على السليكا جل ، واجريت الخطوات نفسها لكل عذلة من عزلات الفطر الثلاث على حدة لغرض الحصول على كمية كافية من المركبات المفصولة لاستعمالها في الاختبارات الحيوية اللاحقة.

قطر فتحاته 0.22 مايكروميتر لضمان الحصول على راشح خالي من الوحدات التكاثرية للفطر، عمق نصف كمية الراشح حرارياً بجهاز المؤسدة (121 م ، 1.5 كغم / سم² لمدة 15 دقيقة). حضرت المستويات 25 ، 50 و 75% وذلك بالتخفيف بالماء المقطر المعقم فضلاً عن المستوى 100%. جهزت المستويات المختلفة للراشحين المعامل وغير المعامل حرارياً في انابيب اختبار حجم 20 مل وبواقع 15 مل لكل انبوية . تم وضع بادرة واحدة من بادرات النارج في كل انبوية اختبار تحتوي كل بادرة على 8 اوراق وذلك بعد قلعها من التربة المعقمة مباشرة ، وقد استعملت ثلاثة مكررات لكل معاملة . ولأجل المقارنة وضعت بادرات نارج في انابيب اختبار تحوي على المستوى صفر وبواقع بادرة واحدة لكل انبوية اختبار وسجلت الملاحظات واخذت النتائج بعد 2 و 4 و 6 ايام لحساب شدة المرض . اتبع الدليل المرضي الاتي : 0 = عدم وجود اعراض مرضية و 1 = جفاف 1-2 ورقة و 2 = جفاف 3-4 ورقة و 3 = جفاف 5-6 ورقة و 4 = جفاف 8-7 ورقة و 5 = موت البادرة. وحسبت شدة المرض باستخدام معادلة Mckinney (20) المذكورة في التجربة السابقة .

3. اختبار قابلية بعض عزلات الفطر *F. solani* على انتاج السموم

تنمية عزلات الفطر

أستخدمت في هذا الاختبار ثلاث عزلات وهي DF7 و BF5 و BF1 . اثبتت التجربة (1) بانها عالية ومتوسطة وضعيفة المقدرة الامراضية على التتابع . ولغرض تنفيذ هذا الاختبار هيئت دوارق زجاجية سعة 500 مل يحوي كل منها على 200 مل من الوسط الزرعي السائل المكون من : نترات الامونيوم 400 ملغم و فوسفات الصوديوم الحامضية 100 ملغم و كلوريد البوتاسيوم 300 ملغم و كبريتات المغنيسيوم المائية 40 ملغم و كلوريد الكالسيوم المائي 40 ملغم و حامض البوريك 1.0 ملغم و كبريتات النحاس 0.1 ملغم و كبريتات الحديدوز 1.0 ملغم و كبريتات المنغنيز 1.0 ملغم و مولبيدات الصوديوم 1.0 ملغم و كبريتات الزنك 1.0 ملغم و سكر الكلوكوز 20 غم. اذبيت هذه المكونات في 1 لتر من الماء المقطر (6). عمق الوسط بجهاز المؤسدة لمدة 20 دقيقة ،

هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) لمدة دقيقتين والمغسولة بالماء المقطر المعقم بعد التعقيم (6). وضعت الاطباق في الحاضنة تحت ظروف الظلام ودرجة حرارة 27 + 2 م لمدة 4 ايام بعدها قيس طول الجذر الرئيسي لبادرات الفجل النامية وحسب معدل طول الجذور للبذور النابتة ، كما حسب معدل طول الجذور في معاملة المقارنة التي استعمل فيها المذيب خلات الاثيل فقط وحسب مقدار تثبيط نمو الجذور باتباع المعادلة الاتية :

طول الجذر الرئيسي في معاملة المقارنة - طول الجذر الرئيسي في المعاملة

$$\% \text{ التثبيط} = \frac{\text{طول الجذر الرئيسي في معاملة المقارنة}}{100} \times 100$$

طول الجذر الرئيسي في معاملة المقارنة

(ماء مقطر معقم فقط ومحلول مغذي فقط) . وظهرت العزلة DF7 اعلى شدة مرض بلغت 100%، وتباينت شدة المرض التي احدثتها العزلات الاخرى اذ كانت شدة المرض في معاملاتها بين 25 - 91.7% وقد احدثت العزلات BF1 و BF6 و BF7 اقل شدة مرض (25%) وتعد بذلك اضعف العزلات امراضية لبادرات النارج و احدثت سبعة من عزلات الفطر تأثيراً متوسطاً في شدة المرض اذ بلغت شدة المرض في معاملاتها 66.7% ، وكانت شدة المرض التي احدثتها احدى عشرة عزلة دون هذا المعدل بينما احدثت ثمانية عشر عزلة شدة مرض عالية اذ كانت شدة المرض في معاملاتها 75-91.7%. بدأ ظهور الاعراض في العزلات شديدة الامراضية بعد سبعة ايام من غمر جذور البادرات في المحلول المغذي وعالق ابواغ الفطر بشكل اصفرار بعض الاوراق، ويتقدم الزمن حدث جفاف الاوراق والساق وتلون الجذور الليلية والجذر الرئيس بلون بين الاصفر الى البني الغامق و مع سهولة انسلاخه وربما ساعد قطع جزء من الجذر الرئيس في سرعة تغلغل الغزل الفطري لانسجة الجذور وهذا ربما ساهم في تلف الاوعية الناقلة مما ادى الى ذبول وجفاف الاوراق ، وتتفق نتائج هذا الاختبار مع ما وجدته Baker واخرون (6) من حدوث انسداد للاوعية الناقلة وتعفن الجذور وذبول ببادرات الليمون الخشن عند غمر جذور

اختبار سمية المركبات المفصولة حيويًا باستعمال بذور الفجل الابيض وبادرات النارج

أذيت كل من المركبات المفصولة التي تم الحصول عليها في الاختبار السابق باضافة 6 مل خلات الاثيل وتم اضافة 1 مل من كل منها على ورق ترشيح Whatman No. 1 في طبق زجاجي معقم وبواقع ثلاث مكررات لكل مركب مفصول وتركت الاطباق لتجف تحت ظروف معقمة وبعد زوال المذيب باكملة تم اضافة 1.5 مل ماء مقطر معقم لكل طبق ووزعت فيه 10 بذور فجل ابيض معقمة سطحياً بغمرها بمحلول

كما استعملت ببادرات نارج بعمر شهر واحد منماة في تربة معقمة لاجراء الاختبار الحيوي الاخر باستعمال انايبب اختبار معقمة حجم 20 مل وضع في كل انبوبة 1 مل من محلول المركب المفصول والمذاب بخلات الاثيل وبواقع ثلاث مكررات لكل منها وللمقارنة اضيف 1 مل من خلات الاثيل في انبوبة اختبار بالحجم نفسه وبواقع ثلاث مكررات وتركت لتجف وبعد زوال المذيب وضع في كل انبوبة 15 مل ماء مقطر معقم ووضع في كل انبوبة بادرتين من بادات النارج في كل منها ورقتين بحيث يغطي الماء في الانبوب جذور البادرات وتم ملاحظة ظهور اعراض الذبول على اوراق البادرات وبعد مرور اسبوع قدرت شدة المرض على الاوراق بأنواع الدليل المرضي الاتي: 0= عدم وجود اعراض ، 1=جفاف 25%من الورقة، 2= جفاف 25-50%من الورقة، 3= جفاف 51 - 75% من الورقة، 4= جفاف 76-100% من الورقة. وحسبت النسبة المئوية لشدة المرض بالاعتماد على معادلة McKinney (20).

النتائج والمناقشة

1. تأثير عالق عزلات الفطر *F. solani* في بادات

النارج

تشير النتائج (جدول 2) ان جميع عزلات الفطر المختبرة احدثت رفعاً معنوياً في شدة المرض قياساً بمعاملتي المقارنة

في عالق الفطر *F. solani* الحاوي على خيوط الفطر والكونيديا في الماء المعقم ، او الوسط الزراعي السائل ادى الى تعفن الجذور وذبول النباتات . وقد يحدث المرض نتيجة ما ينتجه الفطر *F. solani* من السموم في المزارع السائلة لعزلات الفطر مما يؤدي الى تحطيم الاوعية الناقلة وتخريب عملها كما اشار الى ذلك Nemecc (28).

البادرات في عالق عزلتين للفطر المعزولتين من جذور اشجار حمضيات مصابة بالتعفن الجاف في منطقتين جغرافيتين مختلفتين (فلوريدا وكاليفورنيا) . وظهرت هاتان العزلتان اختلافاً في شدة تأثيرهما في البادرات . وكذلك مع ما اشار اليه Nemecc واخرون (21) و Nemecc (22) و Nemecc واخرون (23) من ان غمر النظام الجذري لبادرات الحمضيات

جدول 2. تأثير عالق الابواغ لعزلات الفطر *Fusarium solani* في شدة مرض بادرات النارج بعمر 6 اشهر .

العزلة	% لشدة المرض*	العزلة	% لشدة المرض	العزلة	% لشدة المرض	العزلة	% لشدة المرض
BF1	25.0	HF1	66.7	DF1	83.3	KF1	58.3
BF2	66.7	HF2	50.0	DF2	83.3	KF2	66.7
BF3	83.3	HF3	75.0	DF3	83.3	KF3	66.7
BF4	58.3	HF4	75.0	DF4	83.3	KF4	66.7
BF5	75.0	HF5	66.7	DF5	91.7	KF5	91.7
BF6	25.0	HF6	66.7	DF6	50.0	KF6	83.3
BF7	25.0	HF7	58.3	DF7	100.0	KF7	75.0
BF8	50.0	HF8	58.3	DF8	75.0	KF8	83.3
BF9	50.0	HF9	50.0	DF9	50.0	KF9	75.0
BF10	50.0	HF10	75.0	DF10	91.7	KF10	91.7
المقارنة ماء مقطر معقم	0.0						
المقارنة محلول مغذي فقط	0.0						

اقل فرق معنوي عند مستوى 0.05 = 16.6

2. تأثير راشح عزلتين للفطر *Fusarium solani* تحت ظروف التعقيم البارد المعامل وغير المعامل حرارياً في بادرات النارج

أظهرت نتائج هذه التجربة ان راشح مزارع عزلتي الفطر *F. solani* DF7 و BF1 المنمأة على الوسط الزراعي Czapek's broth المعامل وغير المعامل حرارياً (جدول 3 و4) احدث زيادة معنويه في شدة المرض اذ ازداد المرض بزيادة التركيز، وهذا مؤشر لدور افرازات الفطر في امراضه ولكن لم يختلف الراشح المعامل حرارياً عن غير المعامل حرارياً وهذا يعطي دليلاً لدور السموم فقط في امراضه الفطر؛ اذ لو كان للانزيمات دوراً واضحاً لانخفاض تأثير الراشح المعامل حرارياً عن غير المعامل لتحطيم الانزيمات بالحرارة

وهذا يؤكد ما اشار اليه (6,13,28,31) من ان عزلات الفطر *F. solani* المعزول من اشجار الحمضيات المصابة تنتج العديد من المركبات السامة تعود الى مجموعة Naphthazarin . ووصف Nemecc واخرون (24) اعراض المرض على بادرات الليمون الخشن المعاملة بكل من السمين dihydrofusarubin و isomarticin العائدين الى تلك المجموعة (Naphthazarin) بالتفاف الاوراق وانسداد الاوعية الناقلة والذبول. وقد اختلف تأثير افرازات العزلتين DF7 عالية المقدرة الامراضية و BF1 ضعيفة المقدرة الامراضية في تأثيرها في بادرات النارج فقد تفوقت العزلة الاولى في تأثيرها في البادرات في جميع مستويات تراكيز الراشح المستخدمة في الراشح المعامل وغير المعامل بالحرارة،

الحنطة في حين ادى تخفيف تلك الراشح بالماء المقطر الى خفض الاصابة في الجذور ، وكذلك مع ما وجدته Hartman وآخرون (11) من ان شدة المرض على المجموع الخضري لبادرات فول الصويا المعاملة بتركيز مختلفة من راشح مزارع الفطر *Fusarium solani f.sp. glycines* كانت بين 8 و 85% باختلاف تركيز الراشح اذ تزداد شدة المرض بزيادة التركيز ، ومع ما اشار اليه علي (3) من وجود زيادة في تأثير راشح الفطريات المختلفة في شدة المرض على اوراق فسائل النخيل بزيادة التراكيز . ارتفعت شدة المرض على بادرات النارج معنوياً بزيادة مدة التعرض لراشح كلا العزلتين المعامل وغير المعامل بالحرارة اذ بلغت اعلى شدة مرض بعد 6 ايام 73.3 و 54.7% في الراشح المعامل بالحرارة و 72.0 و 69.3% في الراشح غير المعامل بالحرارة لكل من العزلتين DF7 و BF1 على التتابع وربما يعود السبب الى انتقال كمية من السم في الراشح عن طريق الجذور الى الجزء الخضري مما يؤدي الى جفاف الاوراق (لفحة الاوراق) بزيادة مدة التعرض للراشح خصوصاً في العزلة ذات المقدرة الامراضية العالية (DF7) ففي الوقت الذي حقق راشح العزلة BF1 المعامل بالحرارة شدة مرض 73,3 في التركيزين 50% و 75% و 80 في التركيز 100% بعد 6 ايام فان المستوى نفسه من التأثير أحدثه راشح العزلة DF7 بعد أربعة ايام.

وهذا ما يؤكد ان للعزلات الممرضة اليات مختلفة في التأثير في العائل اكثر من العزلات الضعيفة الامراضية وهذا مطابق لما وجدته الهيتي وآخرون (1) ؛ اذ اشاروا الى تفاوت راشح عزلات الفطر *F. solani* المعزولة من جذور اشجار الحمضيات المصابة في درجة سميتها على شتلات النارج وما اشارت اليه حمادي (2) عن وجود تباين في القابلية الامراضية لثمان عزلات للفطر *Fusarium spp.* في افرع اشجار الزيتون باستعمال راشح تلك المزارع على الوسط الزراعي Czapeks broth المعامل وغير المعامل بالحرارة وبذلك فقد تعزى شدة امراضية العزلة DF7 الى تركيز السموم المنتجة في مزارعها قياساً الى العزلة الضعيفة الامراضية. فقد اظهرت العزلة BF1 ضعيفة الامراضية انخفاضاً في تأثير راشحها المعامل حرارياً مقارنة بغير المعامل حرارياً اذ كانت شدة المرض فيهما 31.6 و 40.7% على التتابع . وهذا يعطي مؤشراً الى ان للانزيمات دوراً في امراضية هذه العزلة و اشار الى ذلك Charudattan (8) و Lozovaya وآخرون (19). وقد تعود زيادة شدة المرض بزيادة التركيز لكل من الراشحين المعامل وغير المعامل بالحرارة الى زيادة تركيز السموم فيها وجاءت هذه النتيجة مطابقة لما اشار اليه Quershi وآخرون (29) من ان التراكيز العالية لراشح بعض سلالات الفطر *F. solani* احدثت اصابة في جذور نباتات

جدول 3. تأثير راسح العزلتين DF7 و BF1 للفظر *F. solani* في بادرات النارج تحت ظروف التعقيم الحراري

الوقت × العزلات	شدة المرض %					تراكيز الراسح الراسح	الوقت (يوم)
	100	75	50	25	0		
24.0	40.0	40.0	26.7	13.3	0.0	DF7	2
9.3	20.0	13.3	13.3	0.0	0.0	BF1	
52.0	80.0	73.3	73.3	33.3	0.0	DF7	4
30.7	53.3	40.0	33.3	26.7	0.0	BF1	
73.3	100.0	93.3	93.3	80.0	0.0	DF7	6
54.7	80.0	73.3	73.3	46.7	0.0	BF1	
8.9	19.8					اقل فرق معنوي 0.05	
متوسط الوقت							
16.7	30.0	26.7	20.7	6.7	0.0	2	الوقت × التركيز
41.3	66.7	56.7	53.3	30.0	0.0	4	
64.0	90.0	83.3	83.3	63.3	0.0	6	
6.3	14.0					اقل فرق معنوي 0.05	
متوسط العزلات							
49.8	73.3	68.9	46.4	42.4	0.0	DF7	العزلات × التركيز
31.6	51.1	42.2	40.0	24.4	0.0	BF1	
5.1						اقل فرق معنوي 0.05	
	62.2	55.6	52.2	33.3	0.0	متوسط التراكيز	
	8.1					اقل فرق معنوي 0.05	

جدول 4 . شدة مرض لراشح العزلتين DF7 و BF1 للفطر F. solani في بادرات النارج تحت ظروف التعقيم البارد

الوقت (يوم)	تركيز الراشح	شدة المرض %				
		0	25	50	75	100
2	DF7	0.0	20.0	26.7	46.7	53.3
	BF1	0.0	0.0	13.3	33.3	40.0
4	DF7	0.0	66.7	66.7	66.7	73.3
	BF1	0.0	26.7	40.0	60.0	66.7
6	DF7	0.0	86.7	86.7	86.7	100
	BF1	0.0	80.0	86.7	86.7	93.3
اقل فرق معنوي 0.05		17.6				
متوسط الوقت		7.9				
الوقت × التركيز	2	0.0	10.0	20.0	40.0	46.7
	4	0.0	46.7	53.3	66.7	66.7
	6	0.0	83.3	86.7	86.7	96.7
اقل فرق معنوي 0.05		12.4				
العزلات × التركيز	DF7	0.0	57.8	60.0	66.7	75.6
	BF1	0.0	35.6	46.7	56.6	64.4
اقل فرق معنوي 0.05		10.1				
متوسط التراكيز		0.0	46.7	53.3	61.7	70.0
اقل فرق معنوي 0.05		7.2				

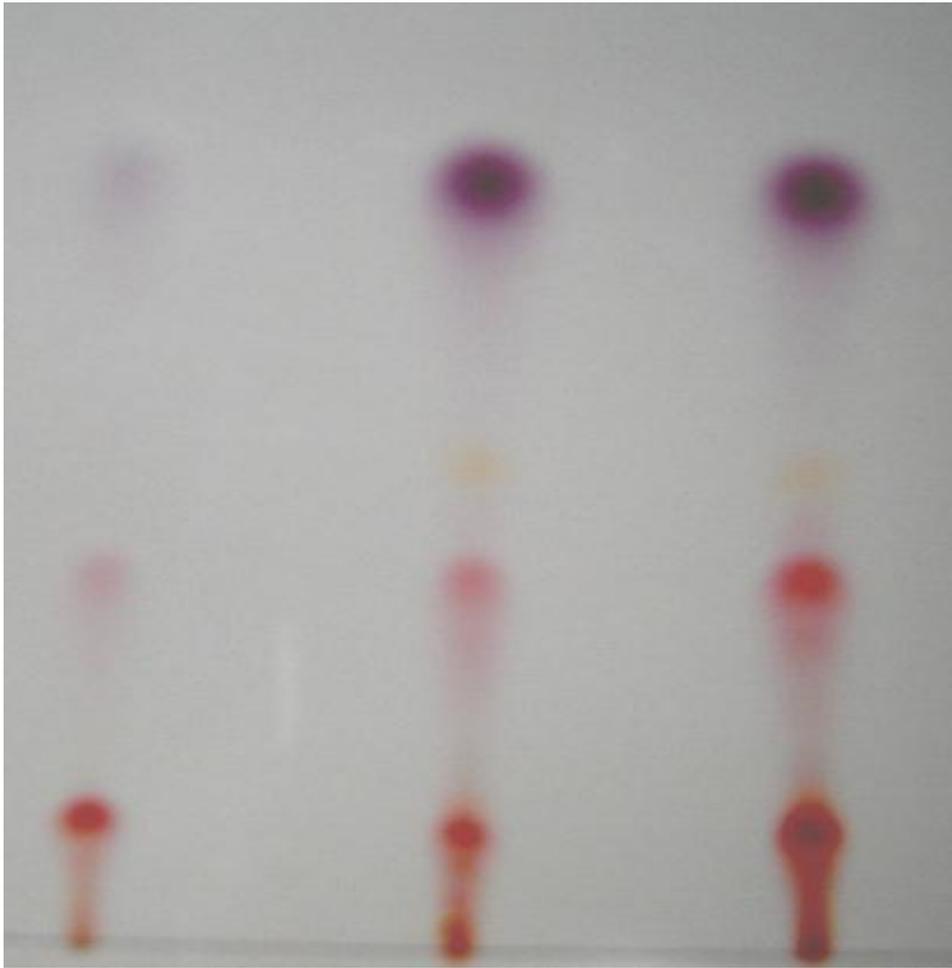
البنفسجي 0.73 (جدول 5). وبذلك فقد يكون هو المركب نفسه الذي حصل عليه Baker واخرون (6) باجراء عملية فصل لراشح احدى عزلات الفطر *F. solani* والذي كانت قيمة Rf له 0.74 الذي شخص على انه احد سموم مجموعة الـ Naphthazarin وهو Anhydrofusarubin والذي ظهر في قمة المركبات المفصولة على صفيحة الـ TLC. واطهرت النتائج ان المركب باللون الاحمر ذو قيمة Rf 0.46 ربما يكون هو ذاته الذي ظهر باللون نفسه وبقية الـ Rf نفسها وبذلك فقد يكون هو السم Fusarubin الذي شخصه Baker واخرون (6) بالمواصفات نفسها. الا ان قيمة Rf للمركب باللون الاصفر والمركب باللون البرتقالي لم تتطابق مع ذكره

3. اختبار قابلية بعض عزلات الفطر *Fusarium solani* على انتاج السموم

يتضح من الشكل (1) ظهور عدة ألوان مرئية لمركبات انفصلت على صفيحة TLC من راشح عزلات الفطر DF7 و BF5 و BF1، اذ يلاحظ ظهور الالوان الاتية ابتداءً من القمة وهي البنفسجي، الاصفر، الاحمر الفاتح والبرتقالي عند استعمال راشح العزلتين DF7 و BF5، اما راشح العزلة BF1 فقد انفصل الى المركبات بالالوان نفسها فيما عدا المركب باللون الاصفر فلم يلاحظ ظهوره على الصفيحة وقد كان التأكد من عدم وجوده عند اجراء الاختبارات الحيوية لسمية تلك المركبات. وكانت قيمة Rf للمركب ذو اللون

كان التأكد من ذلك باجراء قشط مادة السليكاجيل في خط انفصال مركبات راشح هذه العزلة من الموقع الذي حدد مقابل ما قطعه هذا المركب في خط انفصال مركبات راشح العزلتين DF7 و BF5 بتطبيق الخطوات نفسها التي تم اجراؤها في هذا الاختبار فقد كان مساوياً الى معاملة المقارنة وربما اسهم هذا المركب في امراضية العزلتين DF7 و BF5 وجعلها اكثر امراضية من العزلة BF1 . وظهرت العزلات الثلاث فروقاً معنوية فيما بينها في نسبة تثبيط جذور الفجل فقد تفوقت العزلة DF7 في تحقيق اعلى نسبة تثبيط بلغ 59.92% قياساً الى العزلتين BF5 و BF1 44,37 و 25,07 على التتابع. ولقد اظهرت معظم المركبات المفصولة من راشح العزلات الثلاث اختلافاً معنوياً في نسبة تثبيط نمو جذور الفجل وحقق المركب باللون الاحمر الذي انتجته العزلة DF7 اعلى نسبة تثبيط بلغ 86.53% تبعه المركب باللون الاصفر للعزلة نفسها. وجاءت نتائج اختبار تقويم فاعلية المركبات المفصولة في شدة امراضية بادرات النارج بعمر شهر واحد (جدول 7) مشابه لنتائج الاختبار باستعمال بذور الفجل، فقد اظهرت تلك المركبات اختلافاً معنوياً فيما بينها في متوسط شدة المرض على البادرات و تباينت العزلات الثلاثة فيما بينها معنوياً في شدة تأثيرها، وكانت العزلة DF7 اشدها تأثيراً تلتها العزلة BF5 وبالتالي العزلة BF1 اذ بلغت 62.10 و 49.18 و 25.44% على التتابع .

الباحثون انفسهم ، وقد تكون تلك المركبات عائدة الى مجموعة الـ Naphrhazarin التي تضم العديد من السموم التي تنتجها عزلات الفطر *F. solani* . وقد ربط Baker واخرون (6) قابلية بعض عزلات الفطر *F. solani* التي عزلت من جذور اشجار حمضيات مصابة باللحة على انتاج السموم عند تنميتها على الوسط الزراعي السائل المكون من املاح غير عضوية فقط وسكر الكلوكوز وقدرة تلك العزلات على انتاج السموم في جذور الحمضيات بعد غزو الفطر لمنطقة القشرة في الجذور التي تحتوي على تلك المواد مما يطور من قابلية تلك العزلات على انتاج السم في العائل. الا ان بعض عزلات الفطر ليست ذو تأثير عالي السمية وان بعض العزلات لا تنتج السموم او تنتجها بكميات قليلة مما يؤدي الى اختزال نمو الجذور فقط (16). وعند اجراء اختبار لتقويم سمية المركبات المفصولة باستعمال بذور الفجل الابيض اظهرت النتائج (جدول 6) ان جميع المركبات المفصولة قد اثرت معنوياً في تثبيط نمو جذور الفجل قياساً الى معاملة المقارنة وتباينت فيما بينها معنوياً في نسبة تثبيطها لنمو الجذور وكان المركب ذو اللون الاحمر الذي يعتقد بأنه السم Fusarubin اشدها تثبيطاً لنمو الجذور بلغ 67.51%، وتبعه المركب باللون البنفسجي والذي يعتقد بأن السم anhydrofusarubin وانخفض معدل نسبة تثبيط الجذور بتأثير المركب باللون الاصفر عن ما سبق ذكره من مركبات الى عدم ظهوره في راشح العزلة BF1 وقد



BF1

BF5

DF7

شكل 1. فصل السموم على صفائح الكروماتوغرافي الرقيقة المنتجة من بعض عزلات الفطر *F. solani*

جدول 5 . لون المركبات المفصولة على صفيحة TLC من راشح ثلاث عزلات للفطر *F. solani* ومقدار Rf لكل منها وقابلية العزلات على انتاجها

قابلية العزلات على انتاج تلك المركبات			Rf	لون المركب المفصول على صفيحة TLC
BF1	BF5	DF7		
+	+	+	0.73	بنفسجي
-	+	+	0.54	اصفر
+	+	+	0.46	احمر فاتح
+	+	+	0.21	برتقالي

+ يعني وجود المركب المفصول.

- يعني عدم وجود المركب المفصول.

جدول 6 . تقييم فاعلية المركبات المفصولة على صفيحة TLC من راشح ثلاث عزلات للفطر *F. solani* في تثبيط نمو جذور الفجل

النسبة المئوية لتثبيط نمو جذور الفجل				العزلة Rf	لون المركب المفصول على صفيحة TLC
المتوسطات	BF1	BF5	DF7		
56.80	39.60	60.93	69.87	7.53	بنفسجي
47.76	0	62.00	81.33	0.54	اصفر
67.51	53.73	62.27	86.53	0.46	احمر فاتح
43.51	32.00	36.66	61.87	0.21	برتقالي
0.00	0.00	0.00	0.00		المقارنة
4.96	2.52			اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	
	25.07	44.37	59.92	المتوسطات	
3.20				اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .

الى استهلاك النشأ ، وان التعرض لهذه السموم تحدث موت الخلايا البرنكيميية وانسداد الاوعية الناقلة وتعطيل عملية التوصيل المائي (25،26،27،28،32). جاءت نتائج هذه الدراسة مطابقة لنتائج اختبار تأثير راشح عزلتين للفطر *F. solani* تحت ظروف التعقيم البارد المعامل وغير المعامل حرارياً في بادرات النارج مما يؤكد شدة امراضية العزلة DF7 ويعزى ذلك ربما الى كمية السموم التي تنتجها تلك العزلة ، مما تزيد من مقدرتها الامراضية التي اثبتت التجارب السابقة امراضيتها من خلال اليات تأثيرها المتعددة .

وتفوق المركب الاحمر في راشح عزلة الفطر DF7 في تأثيره في شدة المرض على بادرات النارج ولم يختلف معنوياً في تأثيره عن المركب الاصفر للعزلة نفسها اذ بلغ 87.53 و 83.37% على التتابع . تتفق نتائج هذا الاختبار مع ما اشار اليه Albrigo واخرون (5) و Nemec واخرون (24) و Janse Van Rensburg (13) من حدوث ذبول في اوراق نباتات الحمضيات بتأثير سموم الفطر *F. solani* التي تعود الى مجموعة Naphthazarin ، اذ تؤثر هذه السموم على اغشية وجدران الخلايا مما يسبب حدوث نضوح وتسرب نواتج التمثيل الحيوي وانها تؤدي الى زيادة تنفس الجذور مما يؤدي

جدول 7 . تقييم فاعلية المركبات المفصولة على صفيحة TLC من راشح ثلاث عزلات للفطر *F. solani* في بادرات النارج عمر 30 يوماً

* النسبة المئوية لشدة المرض على بادرات النارج				العزلة Rf	لون المركب المفصول على صفيحة TLC
المتوسطات	BF1	BF5	DF7		
61.83	50.02	62.53	72.93	7.53	بنفسجي
52.1	0	72.93	83.37	0.54	اصفر
67.39	45.87	68.77	87.53	0.46	احمر فاتح
46.57	31.30	41.70	66.70	0.21	برتقالي
0.00	0.00	0.00	0.00		المقارنة
2.13	7.92			اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	
	25.44	49.18	62.10	المتوسطات	
3.75				اقل فرق معنوي على مستوى 0.05	

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات.

الدليل المرضي المتبع في تقدير شدة المرض في بادرات النارج =0 عدم وجود اعراض ، 1= جفاف 25% من الورقة، 2= جفاف 25-50% من الورقة، 3= جفاف 51-75 % من الورقة، 4= جفاف 76-100% من الورقة.

المصادر

10. Elena , K. and L. Kranias . 1996. *Fusarium* spp. as a cause of crown and root rot of asparagus in Greece. OEPP EPPO , Bulletin 26 : 407-411.

11. Hartman , G.L., Y. H. Huang and S. Li. 2004. Phytotoxicity of *Fusarium solani* culture filtrates from soybeans and other hosts assayed by stem cutting. Australian Plant Pathology. 33 : 9-15.

12. Janse Van Rensburg , J.C. , N. Labuschagne and S. Nemeč. 1998. Effect of naphthazarin toxins produced by *Fusarium solani* on the three citrus rootstocks in a hydroponic system. Proceedings of the 8th congress of the international society of Citriculture 2 : 427-430.

13. Janse Van Rensburg , J.C., N. Labuschagne and S. Nemeč. 2001. Occurrence of *Fusarium* – produced naphthazarins in citrus trees and sensitivity of rootstocks to isomarticin in relation to citrus blight. Plant Pathology. 50 : 258-265.

14. Ji , J., M.P. Scott and M.K. Bhattacharyya. 2006. Light is essential for degradation of Ribulose -1,5-Bisphosphate carboxylase oxygenase large subunit during sudden death syndrome development in soybean. Plant Biology 8 : 597-605.

15. Kamel , M., M.N. Shatta and M.Z. Shanawanai . 1973. Histopathological studies on the hypocotyls of lentils infected by *Fusarium solani*. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz 80 : 547-550.

16. Kern , H. and S. Naef-Roth. 1967. Two new naphthazarin-derivatives formed through fusaria of the martiella group . Phytopathology. 60:316-324.

17. Kern , H. 1978. The naphthazarins of *Fusarium* . Annals of Phytopathology 10 : 327-345.

18. Kimura , Y., T. Hamasaki and H. Nakajma . 1981. Isolation , identification and biological activities of 9-0-methyl javanicin produced by *Fusarium solani*. Agri. Biol. Chem. 45 : 2653-2654.

19. Lozovaya , V.V., A.V. Lygin , O.V. Zernova , S., Li , J.M. Widholm and G.L.

1. الهيتي ، اياد عبدالواحد وناهدة مهدي وبشرى حامد

ووديعة محسن . 1995. اللفة الخريفية : تحديد مسببها وتفسير طبيعة حدوثها ومقاومتها. مجلة العلوم الزراعية العراقية. 26 : 162-174.

2. حمادي ، خلود علي. 2000. عزل وتشخيص بعض الفطريات المسببة لذبول اشجار الزيتون وتأثير مستويات من الشد الرطوبي على امراضيتها . رسالة ماجستير. قسم وقاية النبات. كلية الزراعة. جامعة بغداد. 77 صفحة

3. علي ، عبدالزهرة جبار . 2005. تحديد مسببات ظاهرة موت فسائل النخيل ومكافحتها. رسالة ماجستير. قسم وقاية النبات. كلية الزراعة. جامعة بغداد. 98 صفحة.

4. Achor , D.S., S. Nemeč and R.A. Baker. 1993. Effects of *Fusarium solani* naphthazarin toxins on the cytology and ultrastructure of rough lemon seedlings . Mycopathologia 123 : 117-126.

5. Albrigo , L.C., J.P. Syvertsen and R.H. Young. 1986. Stress symptoms of citrus trees in successive stage of decline due to blight. J. Am. Soc. Hort. Sci. 111 : 465-470.

6. Baker , R.A., J.H. Tatum and S. Nemeč. 1981. Toxin production by *Fusarium solani* from fibrous roots of blight diseased citrus. Phytopathology. 71 : 951-954.

7. Booth , C. 1977. *Fusarium* . Laboratory Guide to the Identification of The Major Species . Commonwealth Mycological Institute , Kew, Survey , England , 58 pp.

8. Charudattan , R. 1970. Studies on strains of *Fusarium vasinfectum* Atk. 11. In vitro production of toxin and enzymes and immunoserology. Phytopathology 60 : 131-143.

9. Dewan , M.M. 1989. Identity and frequency of fungi in root of wheat and Ryegrass and their effect on take all and host growth . Ph. D. Thesis , Univ. , West. Australia pp.210

27. Nemec , S. and R. Baker. 1992. Observation on *Fusarium solani* naphthazarin toxins , their action , and potential role in citrus plant disease. Proceeding of the 7th Congress of the International Society for Citriculture 2 : 832-837.
28. Nemec , S. 1995. Stress related compound in Xylem fluid of blight – diseased citrus containing *Fusarium solani* naphthazarin toxins and their effect on the host. Can. J. Microbial . 41 : 515-524.
29. Qureshi , S.A., R. Riaz , V. Sultana , S. Ehteshamul-Haque and J. Ara. 2003. Pathogenicity and antimicrobial activity of seed borne *Fusarium solani* (Mart) Appel and Wollenw. Emend. Snyder and Hans Strains. Pakistan Journal of Biological Sciences 13 : 1183-1186.
30. Vegas , A., F. Ochoa , N. Albarcein , A., Arcia , T. Barreto , G. Romeo , G. Gutierrez , G. Trujillo and R. Mendit. 1991. On the etiology of the citrus sudden decline in Venezuela In proceedings of the 11th. University of California at Riverside , Riverside , Calif. Pp. 297-302.
31. Tatum , J.H. and R.A. Baker. 1983. Naphthoquinones produced by *Fusarium solani* isolated from citrus. Phytochemistry 22 : 543-547.
32. Taylor , K.C., L.G. Albrigo and C.D. Chase. 1988. Zinc complexation in the phloem of blight affected citrus. Journal of the American Society of Horticultural Science 113 : 407-411.
- Hartman . 2006. Lignin degradation by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Plant Dis. 9 : 77-82.
20. Mckinney , H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. J. Agric. Res. 26 : 195-217.
21. Nemec , S., R. Baker and H.C. Burnett. 1980. Pathogenicity of *Fusarium solani* to citrus roots and its possible role in blight etiology. Proc. Fla. State. Hort. Soc. 93 : 36-41.
22. Nemec , S. 1984. Characteristics of *Fusarium solani* infected pioneer roots on blight – diseased and healthy citrus. Proc. Fla. Soil Crop Sci. 43 : 177-183.
23. Nemec, S., D.S. Achor and L.G. Albrigo . 1986. Microscopy of *Fusarium solani* infected rough lemon citrus fibrous roots. Can. J. Bot. 64 : 2840-2847.
24. Nemec , S., R.A. Baker and J.H. Tatum. 1988. Toxicity of dihydrofusarubin and isomarticin from *Fusarium solani* to citrus seedling. Soil Biology and Biochemistry 20 : 493-499.
25. Nemec , S., R.M. Zablotowicz and J.L. Chandler. 1989. Distribution of *Fusarium* spp. And selected microflora in citrus soils and rhizospheres associated with healthy and blight diseased citrus in Florida . Phytophylactica 21 : 141-146.
26. Nemec , S., S. Jabaji – Hair and P. M. Charest. 1991. ELISA and immunological detection of *Fusarium solani* produced naphthazarin toxins in citrus tress in Florida . Phytopathology 81 : 1497-1503.