

Growth and health response of citrus against arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and *Candidatus* *Liberibacter asiaticus* inoculation in rootstock and scion combinations

Yenny Sariasih (19/450336/SPN/00661)

Abstract

Candidatus *Liberibacter asiaticus* (CLas) is a pathogenic agent responsible for huanglongbing (HLB), a highly destructive citrus disease with global implications. The effective management of HLB is envisaged through the synergistic implementation of two strategies: the utilization of healthy seedlings and the integration of biological control agents, specifically arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). This study aims to analyze the growth and health responses of citrus against inoculation of AMF and CLas, both applied to the rootstock, as well as in the context of rootstock and scion grafting. Additionally, the investigation seeks to evaluate the microbial richness on orange roots post-treatment to discern the optimal response. The study was bifurcated into four distinct parts: 1. Detection and identification of naturally colonizing mycorrhizae in nursery roots. This experiment employed a completely randomized design with four treatments (rootstock species) and 10 replications. 2. Identification of symptomatic leaves as a source of HLB inoculum. This experiment followed a completely randomized design with three treatments (orchards) and six replications. 3. Treatment with AMF and CLas on four types of rootstock, involving four treatments with eight replications, and rootstock/scion combinations, involving four treatments with five replications. This was designed using a factorial completely randomized design. 4. Metagenomic analysis utilizing ITS and 16S primers. Native AMF successfully invaded citrus roots, forming vesicles and intracellular hyphae. Morphological identification of spores revealed the presence of *Glomus* (*Funneliformis*), *Gigaspora*, and *Acaulospora* genera in the rhizosphere soil. AMF treatment significantly augmented citrus growth and mitigated HLB for up to 11 months post-inoculation across all rootstocks and rootstock/scion combinations. Notably, *C. jambhiri* exhibited variable enhancements in plant growth and varying HLB disease levels, demonstrating a positive response to AMF treatments. Rootstocks and rootstock/scion combinations treated with AMF and inoculated with CLas exhibited superior responses compared to those untreated with AMF and inoculated with CLas in all evaluated variables. *C. jambhiri*/*C. reticulata* displayed varying improvements in plant growth and HLB disease levels, showcasing the most favorable response to AMF treatments. Metagenomic analysis utilizing ITS1 and 16S V3V4 primers uncovered the highest genus and species richness in plants not treated with AMF and CLas, as well as in grafted plants compared to non-grafted plants. Genera of soil borne plant pathogens were predominantly found in plants not treated with AMF and CLas.

Keywords: citrus, growth, health, huanglongbing, metagenomics, mycorrhizal.

Respon pertumbuhan dan kesehatan jeruk terhadap inokulasi fungi mikoriza arbuskular (FMA) dan *Candidatus* *Liberibacter asiaticus* pada kombinasi batang bawah dan batang atas

Yenny Sariasih
(19/450336/SPN/00661)

Intisari

Candidatus *Liberibacter asiaticus* (CLas) merupakan patogen penyebab penyakit huanglongbing (HLB) yang paling merusak di dunia. Dua metode yaitu penggunaan benih sehat dan dikombinasikan dengan agen pengendali hayati diharapkan berhasil untuk mengendalikan HLB. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis respon pertumbuhan dan kesehatan tanaman jeruk terhadap inokulasi fungi mikoriza arbuskular (FMA) dan CLas pada batang bawah, dan kombinasi batang bawah dan batang atas. Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kelimpahan mikroba pada akar jeruk pasca perlakuan yang menunjukkan respon terbaik. Penelitian ini terbagi menjadi empat bagian: 1. Deteksi dan identifikasi FMA yang mengkolonisasi akar secara alami di persemaian. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan (spesies jeruk), 10 ulangan. 2. Survey dan identifikasi daun bergejala sebagai sumber inokulum HLB dengan menggunakan RAL dengan tiga perlakuan (kebun jeruk), enam ulangan. 3. perlakuan FMA dan CLas pada empat jenis batang bawah dengan empat perlakuan dan delapan ulangan, dan perlakuan FMA dan CLas pada delapan kombinasi batang bawah/batang atas, dengan empat perlakuan dan lima ulangan, kedua percobaan menggunakan rancangan percobaan RAL factorial. 4. Analisis metagenomik dengan menggunakan primer ITS dan 16S. Dalam penelitian ini, FMA mengkolonisasi akar bibit jeruk, membentuk vesikel dan hifa intraseluler. Berdasarkan identifikasi morfologi spora, genus FMA yang ditemukan pada tanah rhizosfer adalah *Glomus*(*Funneliformis*), *Gigaspora*, dan *Acaulospora*. Perlakuan FMA efektif meningkatkan pertumbuhan tanaman jeruk dan efektif menurunkan HLB hingga 11 bulan setelah inokulasi AMF dari seluruh batang bawah dan kombinasi batang bawah dan batang atas. *C. jambhiri* dan kombinasi *C. jambhiri*/*C. reticulata* menunjukkan peningkatan pertumbuhan tanaman yang paling baik dan tingkat penyakit HLB yang paling rendah. Batang bawah yang diberi perlakuan FMA dan diinokulasi CLas menunjukkan hasil yang lebih baik daripada kontrol (tanaman tanpa FMA dan diinokulasi CLas). Hasil analisis metagenomik menggunakan primer ITS1 dan 16SV3V4 menunjukkan bahwa kelimpahan genus dan spesies tertinggi terdapat pada tanaman yang tidak diberi perlakuan AMF dan CLas, serta tanaman yang disambung lebih tinggi dibandingkan tanaman yang tidak disambung. Genus mikroba yang biasanya menjadi patogen tanaman tular tanah, dominan ditemukan pada tanaman yang tidak diberi perlakuan AMF dan CLas.

Kata kunci: huanglongbing, jeruk, kesehatan, mikoriza, pertumbuhan.