

الكشف عن فيتوبلازما تضاعف التفاح *Candidatus phytoplasma mali* في سورية

خلدون الجبر

كلية الزراعة الثانية، فرع السويداء، جامعة دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: kaljebr@hotmail.com

المخلص

الجبر، خلدون. 2012. الكشف عن فيتوبلازما تضاعف التفاح *Candidatus phytoplasma mali* في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 30: 128-130.

تم التحري عن وجود فيتوبلازما تضاعف التفاح (*Candidatus phytoplasma mali*) بغية تفسير ظهور بعض الأعراض الشاذة في الآونة الأخيرة على أشجار التفاح مثل: مكنسة الساحرة، والتلون الأحمر على أوراق التفاح في الخريف، وصغر حجم الثمار، وتناول أعناقها وفي بعض الأحيان تشوهها. تمت دراسة حقل مؤلف من 160 شجرة تفاح من صنف الغولدن الستاركن في محافظة السويداء في موسم 2006، وذلك باستخدام اختبار DAS-ELISA، فاخترت عينات من بتلات الأزهار في الربيع، ومن طرود خضرية في الصيف، ومن قلف الطرود في الخريف، ومن نهايات الجذور في أواخر الخريف. تم الكشف عن فيتوبلازما تضاعف التفاح في العينات المختبرة، وبلغت نسبة الإصابة 8.1%، ولم يتمكن من الكشف عن هذه الإصابات إلا في العينات الجذرية فقط. تأتي أهمية البحث من الكشف عن انتشار هذه المسببات في زراعة التفاح، ووجوب العمل على إنتاج مادة نباتية سليمة، علماً بأن فيتوبلازما تضاعف التفاح من المسببات المهمة المطلوب استبعادها من المادة الوراثية المعدة للإكثار والتداول. كلمات مفتاحية: تضاعف التفاح، فيتوبلازما، إيزا، مكنسة الساحرة، تفاح، سورية.

المقدمة

بالفيتوبلازما اتجاه بعض الأمراض كالبياض الدقيقي (11)، والورقة الفضية الذي يسببه *Chondrostereum purpureum* (12). يتم الكشف عن الفيتوبلازما باختبارات الإعداد الحيوي على الأنواع والأصناف الحساسة، مثل النوع *Malus dawsoniana* (4)، ويمكن الكشف عنها بالطرائق المصلية باستخدام اختبار إيزا (ELISA) باستخدام الأجسام المضادة أحادية الكلون (MAbs) ومتعددة الكلون (PABs)، ولكن يبقى تركيز الفيتوبلازما في العصارة النباتية عاملاً محدداً لنجاح عملية الكشف باستخدام الطرائق المصلية (9)، ولذلك يتم اللجوء إلى طرائق البيولوجيا الجزيئية للكشف عن الفيتوبلازما، نظراً لدقتها في الكشف عن المسبب حتى في حال وجود الفيتوبلازما في العصارة النباتية بتركيز منخفض جداً (10).

هدف البحث إلى التحري عن المسبب المرضي لهذه الأعراض الشاذة على أشجار التفاح، وتأتي أهمية هذا العمل من خطورة انتشار هذه المسببات، نظراً لمحدودية طرائق الإدارة والمكافحة في حال الانتشار في بساتين التفاح، علماً بأن زراعة التفاح باتت من القطاعات المتطورة في سورية، وقد بدأ الإنتاج في السنوات الأخيرة يغزو الأسواق العربية المجاورة بصورة منافسة. ويعد المسبب المرضي الذي تم استهدافه في هذا البحث من المسببات المهمة المطلوب استبعادها من المادة الوراثية المعدة للإكثار والتداول وفق معايير منظمة وقاية النبات الأوروبية EPPO (4).

يعد التفاح (*Malus domestica* Borkh.) من أشجار الفاكهة المهمة في سورية، حيث بلغت المساحة المزروعة في عام 2008 حوالي 47 ألف هكتار، وبلغ الإنتاج في العام نفسه 361 ألف طن (1). وتعتبر فيتوبلازما تضاعف التفاح *Candidatus phytoplasma mali* (14) التي تتبع الفصيلة *Acholeplasmataceae*، إحدى الآفات التي تصيب بشكل أساسي معظم أصناف التفاح المزروع (4). وتم تصنيف هذا المسبب ضمن جنس *Candidatus* في عام 2004 (14). ينتشر المرض في أوروبا (12) والهند وجنوب أفريقيا (13)، وينتقل هذا المسبب عن طريق التطعيم الطبيعي بتلامس الجذور، والتطعيم بمادة نباتية ملوثة، وعن طريق بعض النواقل الحشرية مثل نطاطات الأوراق التي تتغذى على اللحاء (9، 10)، وبعض أنواع البسيلا مثل *Cacopsylla costalis*، *C. mali* و *C. melanoneura*. وتعتبر حشرات البسيلا من أهم عوامل نقل هذا المسبب (5، 6، 16، 17).

يسبب مرض فيتوبلازما التفاح ضرراً اقتصادياً كبيراً، فقد يقلل 50% من حجم الثمار، وينقص وزنها بنسبة 63-74%، كما يؤثر سلباً في نوعية الثمار بتخفيض محتوى السكر والحموضة، ويؤدي إلى ضعف النمو العام للأشجار، وقد تموت الأشجار الفتية في حال الإصابة الشديدة (12، 13، 15). وتزداد حساسية الأشجار المصابة

الأمصال، وقد يعود هذا لانخفاض تركيز الفيتوبلازما في عصارة النبات.

جمع العينات

تم جمع العينات من حقل مؤلف من 160 شجرة تفاح، من صنفى غولدن وستاركن، يشتبه بإصابة بعض أشجاره. تم أخذ العينات من هذه الأشجار في أربع فترات على مدار موسم 2006؛ الفترة الأولى خلال الإزهار في الربيع وأخذت العينات من بتلات الأزهار، والفترة الثانية خلال مرحلة النمو في الصيف وأخذت العينات من الأوراق، والفترة الثالثة خلال الخريف وأخذت العينات من الأوراق وقلف الطرود الفتية، وكانت الفترة الأخيرة مع بدء سكون العصارة في النبات وأخذت العينات من نهايات جذور الأشجار بقطر حوالي 1-3 مم. تم اختبار هذه العينات للكشف عن فيتوبلازما تضاعف التفاح باستخدام طريقة الاحتواء المزدوج بالأجسام المضادة (DAS-ELISA) وفق ما نشر سابقاً (2)، واعتمدت لهذه الغاية الأمصال المنتجة من قبل شركة بيوريبا السويسرية، وتمت قراءة الأطباق بوساطة جهاز Multiskan EX من شركة Thermo Labsystems الفنلندية. كُـرر كل اختبار مرتين، واعتبرت العينة مصابة بالفيتوبلازما إذا تساوى أو زاد متوسط قيمتا قراءتيها عن ثلاثة أمثال متوسط قيم قراءات الشاهد السليم.

النتائج والمناقشة

تمّ رصد مجموعة من الأعراض الشاذة مثل تشكل مكنسة الساحرة على معظم الأشجار المدروسة (شكل 1)، وتضخم أذينات الأوراق، واحمرار الأوراق في الخريف، وقد تم الكشف وفق اختبار إليزا عن فيتوبلازما التفاح في 13 عينة، وذلك باستخدام الأجسام المضادة متعددة الكلون، حيث زاد متوسط قراءتي الحفرتين عن ثلاثة أمثال متوسط قراءتي حفرتي الشاهد السليم في كل طبق، وتم الكشف عن هذه الإصابات في العينات المأخوذة في الفترة الأخيرة من النهايات الجذرية مع بدء سكون العصارة، في حين أخفقت محاولات الكشف عن هذه المسببات في العينات المأخوذة من الأزهار والأوراق وقلف الطرود الفتية، ويعود ذلك لانخفاض تركيز الفيتوبلازما في عصارة النبات في الأجزاء الهوائية. وقد يكون السبب في ذلك ارتفاع درجات الحرارة في موسم النمو، حيث يعدّ المجال الحراري المناسب للفيتوبلازما هو 21-24°س (3). وتمّ ربط الأعراض الشاذة مثل: تشكل مكنسة الساحرة على معظم الأشجار المدروسة، وتضخم أذينات الأوراق، واحمرار الأوراق في الخريف، مع نتائج الاختبارات المصلية، فوجد أن الأشجار التي تفاعلت بصورة إيجابية مع الأمصال كانت تُظهر هذه الأعراض. وأظهرت بعض الأشجار أعراضاً شاذة (تشكل مكنسة الساحرة، تضخم الأذينات، احمرار الأوراق في الخريف) ولكنها لم تتفاعل بصورة إيجابية مع



شكل 1. يبين أعراض مكنسة الساحرة Witch's broom على أشجار التفاح المصابة بالفيتوبلازما.

Figure 1. Witch's broom symptoms on apple tree infected with phytoplasma.

كانت نسبة الإصابة في الحقل المدروس حوالي 8.1%، وذلك وفقاً لإختبار إليزا (جدول 1)، مع الأخذ بعين الاعتبار، توقع ارتفاع هذه النسبة في حال تم الكشف عن هذا المسبب باستخدام طرائق البيولوجيا الجزيئية، ويبدو ذلك جلياً من خلال ظهور بعض العينات التي كانت تحمل أعراض المرض وتفاعلت مع الأمصال بصورة خفيفة في اختبار إليزا، حيث كان متوسط قراءتيها أقل بقليل من عتبة ثلاثة أمثال متوسط قراءتي الشاهد السليم، وقد تكررت هذه الحالة في العديد من العينات.

جدول 1. نتائج الكشف بواسطة اختبار إليزا عن فيتوبلازما تضاعف التفاح في 160 عينة جمعت في مواعيد مختلفة على مدار العام.

Table 1. Detection of apple proliferation phytoplasma by using DAS-ELISA in 160 samples collected at different dates during 2006.

العدد الإجمالي للعينات المختبرة Total no. of tested samples	مصدر العينة The sample source	مصدر أخذ العينة Sampling date	عدد العينات المصابة No. of infected samples	معدل الإصابة % Infection rate %
160	بتلات الأزهار	الربيع	0	0.0
160	أوراق	الصيف	0	0.0
160	أوراق ولحاء الطرود	الخريف	0	0.0
160	جذور رهيقة	أواخر الخريف	13	8.1

Abstract

Al-Jabor, K. 2012. Detection of Apple Proliferation Phytoplasma *Candidatus phytoplasma mali* in Syria. Arab Journal of Plant Protection, 30: 128-130.

Apple proliferation phytoplasma *Candidatus phytoplasma mali* causes significant damage on apple trees, such as reduction in fruit size, sugar and acids content and trees growth and vigor, and in severe cases death of young trees. A survey was conducted to identify the causal agent associated with some abnormal symptoms on apple trees such as which's broom, leaf reddening in Autumn, small fruit size with elongated peduncle and sometimes fruits deformation. Samples an apple orchard of 160 trees of Golden and Starking varieties in Al-Sewida governorate, were tested serologically by using DAS-ELISA. Samples of petals in spring, leaves in summer, bark of shoots in autumn and roots in late autumn were collected. Antiserum against apple proliferation was used. Apple proliferation phytoplasma was detected in root samples only, and infection rate was 8.1%.

Keywords: Apple proliferation, phytoplasma, ELISA, Which's broom, Apple, Syria.

Corresponding author: Khaldoun Al-Jabor, Second Faculty of Agriculture, Sweida Branch, Damascus University, Syria, Email: kaljebr@hotmail.com

References

المراجع

1. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. 2008. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي في الجمهورية العربية السورية، الجدول رقم 83.
2. Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34: 475-483.
3. Ducroquet, J.P., F. Dosba, M. Lansac and K. Mazy. 1986. Effet de la température sur l'expression des symptômes de la prolifération du pommier. Agronomie, 6: 897-903.
4. EPPO/CABI. 1996. Apple proliferation phytoplasma. Pages 959-962. In: Quarantine pests for Europe. 2nd edition. I.M. Smith, D.G. McNamara, P.R. Scott and M. Holderness (eds.). CAB International, Wallingford, UK.
5. Grando, M.S., D. Forti and M.E. Vindimian. 1998. DNA sequences of the apple proliferation phytoplasma found in psyllid collected from diseased apple trees. Journal of Plant Pathology, 80: 257.
6. Jarusch, B., N. Schwind, W. Jarusch, G. Krczal, E. Dickler and E. Seemüller. 2003. First report of *Cacopsylla picta* as a vector of apple proliferation phytoplasma in Germany. Plant Disease, 87: 101.
7. Krczal, G. and K. Bliefernich. 1992. Distribution of apple proliferation disease in orchards with integrated and conventional pesticide programs. Acta Horticulture, 309: 253-260.
8. Krczal, G., H. Krczal and L. Kunze. 1988. *Fiebierella florii* (Stsl), a vector of apple proliferation agent. Acta Horticulture, 235: 99-106.
9. Loi, N., P. Ermacora, L. Carraro, R. Osler and T. Chen. 1988. Apple proliferation detection using monoclonal antibodies. Pages 73-74. In: XII International Organisation of Mycoplasma Abstracts, 22-28 July. Australian Microbiological Society, International Organisation for Mycoplasma, Sydney, Australia.
10. Lorenz, K.H., B. Schneider, U. Ahrens and E. Seemüller. 1995. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and non-ribosomal DNA. Phytopathology, 85: 771-776.
11. Maszkiewicz, J., W. Blaszcak and D. F. Millikan. 1980. Changes in phloridzin content, osmotic values of cellular sap, and cell wall thickness of apple leaf tissue associated with the proliferation disease. Phytopathologische Zeitschrift, 99: 33-36.
12. Németh, M. 1986. Virus, Mycoplasma and Rickettsia diseases of fruit trees. Lancaster, Boston, USA/Dordrecht, Netherlands: M. Nijhoff Publishers, 841 pp.
13. Seemüller, E. 1990. Apple proliferation. In: Compendium of apple and pear diseases. St Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society, 67-68 pp.
14. Seemüller, E. and B. Schneider. 2004. 'Candidatus Phytoplasma mali', 'Candidatus Phytoplasma pyri' and 'Candidatus Phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54: 1217-1226.
15. Smith, I.M., J. Dunez, D.H. Phillips, R.A. Lelliott and S. A. Archer. 1988. European Handbook of Plant Diseases. Blackwell Scientific, London, UK. 598 pp.
16. Tedeschi, R. and A. Alama. 2004. Transmission of apple proliferation phytoplasma by *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae). Journal of Economic Entomology, 97: 8-13.
17. Tedeschi, R., C. Visentin, A. Alama and D. Bosco. 2003. Epidemiology of apple proliferation (AP) in northwestern Italy: evaluation of the frequency of AP-positive psyllids in naturally infected populations of *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae). Annals of Applied Biology, 142: 285-290.

Received: November 24, 2010; Accepted: May 29, 2011

تاريخ الاستلام: 2010/11/24؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2011/5/29