أول تسجيل لمرض ذبول وموت مخ البندورة في سورية
١ ـ أعراض المرض، توصيف الكائن المُمْرِض وبعض الظروف المهيئة للاصابة

بسام بياعة وواثق ورّاق
كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب ـ سورية

الملخص

بياعة، بسام وواثق ورّاق. 1990. أول تسجيل لمرض ذبول وموت مخ البندورة في سورية، ١ ـ أعراض المرض، توصيف الكائن المُمْرِض، الظروف المهيئة للإصابة مجلة وقاية النبات العربية 8 (2): 88 - 95.

لوحظت على نباتات البندورة/ الطماطم المزروعة في بعض الدفيئات البلاستيكية القريبة من مدينة حلب (سورية) أعراض مرض جرثومي جديد، أدّى إلى حدوث خسائر كبيرة في الانتاج، وذلك في آذار/ مارس، وتشرين الثاني/ نوفمبر 1989. وقد تمثّلت الأعراض بتأخر نمو النباتات وذبول يبدأ من قمة النباتات باتجاه الأسفل، واصفرار يعتري الأوراق القاعدية ويتقدّم باتجاه الأعلى، مع تلوّن الساق خارجيًا باللون البني الداكن، وظهور جذور عُرَضية (هوائية) عليه. وقد رافق هذه الأعراض الخارجية، من الداخل، تلوّن الأوعية الناقلة والمخ، وتحلل هذا الأخير وتجوفه. أظهرت نتائج العزل، واختبارات القدرة الامراضية، والاختبارات المزرعية، والبيوكيميائية، والحيوية، والمجهرية التي أجريت على الكائن/ الكائنات المعزولة، إضافة إلى دراسة تطوّر الأعراض الظاهرية للمرض حقلياً ومختبرياً، أن الكائن المُمْرِض هو جرثوم بكتيريا *Pseudomonas corrugata* Roberts&Scarlett. وقد تبيَّن أن زيادة الرطوبة، والافراط في التسميد الازوتي، وتقليم (إزالة) الأوراق السفلية، هي من أهم العوامل المهيئة للاصابة.

كلمات مفتاحية: موت المخ، بندورة، سورية.

المقدمة

أضحت الزراعة في الدفيئات البلاستيكية، خلال أشهر الشتاء، زراعة متميّزة في كافة أرجاء سورية. وقد تزايد عدد الدفيئات التي تزرع البندورة/ الطماطم (*Lycopersicon esculentum* (L.) Karst ex. Farw.) زيادة ملحوظة في الأعوام الأخيرة، وبخاصة عقب الانتشار الوبائي لمرض اصفرار وتجعّد أوراق البندورة الفيروسي (TYLCV) على البندورة/ الطماطم في المنطقة الساحلية من القطر عام 1985. ورغم الكفاءة الانتاجية العالية للنباتات في هذه الدفيئات، إلا أنها تتعرض لكثير من الارتكاسات؛ ذلك أن ارتفاع الرطوبة واعتدال الحرارة، وزيادة الكثافة النباتية، وهشاشية نسج النباتات النامية في ظروف الدفيئات، ساعدت على انتشار كثير من الأمراض النباتية. وتعتبر اثبات هويّة الكائن المسبب لمرض ما، خطوة أساسية، كونها تحدد الوسائل والاجراءات الواجب اتخاذها لتجنب حدوثه والحد من انتشاره.

في آذار/مارس 1989 لوحظ مرض يعتري نباتات البندورة/ الطماطم المزروعة في الدفيئات في موقعين بالقرب من مدينة حلب، شمالي سورية (قرية السفيرة، 25 كم شرق حلب، وقرية أرشاف، 35 كم شمال حلب). وفي تشرين الثاني/ نوفمبر من العام نفسه، لوحظ أيضاً على البندورة المزروعة في الدفيئات بقرية كفر أنطون، 35 كم شمال حلب، مرض يُحدث ذبولاً فجائياً للنباتات. وكان الصنف المزروع في المواقع الثلاثة هو صنف «كارملو».

أظهرت المشاهدات الحقلية الأولية التي قمنا بها على المرض، من حيث الأعراض التي يحدثها وتطوّرها مع الزمن، بالاضافة إلى الدراسة المختبرية للكائن الممرض وتوصيفه. اننا أمام مرض لم يسبق تسجيله في سورية. وقد استهدفت الدراسة الحاليّة استجلاء حقيقة هذا المرض الجديد، وتناولت كخطوة أولى في هذا الاتجاه توصيفاً كاملاً لأعراض المرض وتطوره، ودراسة شاملة للكائن الممرض، وإلقاء الضوء على الظروف المهيئة للاصابة، واقتراحات للاجراءات الوقائية المُمْكنة في ضوء المعلومات المتاحة.

مواد وطرائق البحث

١ ـ عزل الجرثوم: جُمعت عينات مريضة ممثلة من المناطق الثلاث، عُقمت سطحياً بوساطة هيبوكلوريت الصوديوم 0.525% (كلوروكس تجاري 10%). وبعد شق الساق طولياً، نُقلت أجزاء من المنطقة الواقعة بين النسج السليمة والمصابة في البخ، بوساطة مشرط معقم، إلى أنابيب اختبار تحوي ماء مقطراً

معقماً، ورُجّت بين راحتي اليد لمدة 10 دقائق، ثم خُططت قطرات من المعلّق، أُخذت بوساطة إبرة تلقيح معقمة، على سطح أحد المستنبتات التالية: آجار مغذي (Difco, NA)، مستنبت King b (18)، وآجار مغذي ـ غلوكوز (NAG) (آجار مغذي مضافاً إليه د (+) جلوكوز 1%) ومستنبت بسودوموناز الانتخابي (Pseudomonas selective (Difco) medium) وتمت تنقية الكائنات المعزولة بإعادة زرعها على المستنبتات نفسها.

2 ـ الاعداء الاصطناعي: تم تحضير لقاح من الكائنات المعزولة بعمل معلق (10^7/مل وحدة مكونة للمستعمر cfu/ml) من النمو الجرثومي المأخوذ من مستعمرة فتية (24-48 ساعة) نامية على مستنبت (NA) أو (NAG). أُعديت به شتلات بندورة/ طماطم صنف كارملو، بعمر ثلاثة أسابيع، منماة في أصص بلاستيكية (قطر 12 سم) محتوية على تربة خُثّية، وذلك إما بحقن 1 مل من المعلق البكتيري/ الجرثومي في ابط الورقة القاعدية الأولى بوساطة مزرق طبي بلاستيكي ـ مسبق التعقيم ـ، أو بوضع جزء من النمو الجرثومي على الساق مباشرة، بعد عمل سلخ في بشرة الساق طوله 2 سم وإعادة البشرة إلى وضعها بعد الالقاح، ولُفّ المكان بشريط من ورق البارافين. وقد أخضعت الشتلات، قبل إلقاحها، إلى إجهاد رطوبي، ثم رويت الأصص، وغطيت بكيس بلاستيكي رُبطت فتحته إلى جسم الأصيص بوساطة رابط مطاطي. استخدمت ثلاثة مكررات لكل كائن معزول، وتركت الشتلات في المختبر (20-25°م) لمدة شهر، رويت خلالها الأصص حسب الحاجة. كما تم وضع عقل بندورة (طول 30 سم)، مأخوذة من القمة النامية لنبات بندورة ـ صنف كارملو ـ في دوارق مخروطية تحوي معلقاً جرثومياً كثيفاً، من العزلة S_1 بمعدل عقلة/ دورق، بعد أن أحيط ساق العقلة بقطن طبي معقم بحيث يسدّ فوهة الدورق.

كما تم إعداء ثلاثة نباتات بندورة صنف بلدي بعمر شهرين، نامية في حديقة منزلية، بطريقة الاعداء الثانية فقط، وبنمو من العزلة S_1. وبالطريقة نفسها، تمّ إعداء نباتتي فليفلة بعمر شهرين ناميتين على تربة حمراء ـ رملية ضمن أصص بلاستيكية (قطر 30 سم). أما معاملات المقارنة، فقد حُقنت بالماء المعقم، أو بوضع العقل في دوارق تحوي ماء حنفية معقم، أو بنشر جزء من مستنبت معقم تحت السلخ الذي أجري في منطقة الساق، حسب الحالة.

3 ـ توصيف الجرثوم/ البكتريا: تمت الدراسة على ثلاثة عزلات فقط (S_1، A_1، KA_1) وهي العزلات التي أحدثت أعراض المرض على الشتلات، وأنجزت الاختبارات التالية:

1.3 ـ مجموعة اختبارات: LOPAT

* إنتاج اللوفان حسب Lelliot et al., (23)
* تفاعل الأكسيداز حسب Kovacs (21)
* تعفن البطاطا حسب Kleman & Dickey (17)
* حل (تحطيم) الأرجنين حسب Thornley (35)
* تحسس التبغ حسب Kleman et al. (19) المعدلة (23)

2.3 ـ الاختبارات البيوكيميائية:

حلّ الجيلاتين: حسب Kleman and Dickey (17)

حلّ النشاء. خطط النمو الجرثومي على مستنبت مكوّن من مرق مغذي 0.8%، نشاء ـ ذواب في الماء ـ 0.2%، آجار 2% (Merck). وبعد 3 و 6 أيام من التحضين عند 25° م، غمر سطح الطبق، بعد إزالة النمو الجرثومي بمحلول لوغول اليودي (يود 1 غ، يوديد بوتاسيوم 2 غ، ماء مقطر 300 مل) واعتبر تلوّن سطح المستنبت باللون الأزرق الغامق وعدم ظهور مناطق غير ملونة دليلاً على التفاعل السلبي.

حلّ الكازئين. حسب Fraizer Rupp (14) المعدلة من Brandt (8).

حل التريبوتارين (Glycerol tributyrate) حسب Rhodes (28).

حل (Tween 80) Polyoxyethelene sorbitan monooleate حسب Sierra (33).

نشاط التيروسيناز. خُطط الجرثوم على مستنبت خاص (0.5% Glycerol، كازئين محلمة 1% ,0.1% L-tyrosine، K_2HPO_4 0.05%، $MgSO_4.7H_20$ 0.0125% آجار 2% pH.7.5 ±0.2) واعتبر تغيّر لون المستنبت إلى اللون البني الفاتح دليلاً على التفاعل الإيجابي.

نشاط الكاتالاز (Catalase). تم استحلاب خزعة كثيفة من نمو جرثومي (من مستعمرة بعمر 24 ساعة نامية على مستنبت NAG) في 1 مل (20 حجم) $H_2 0_2$، واعتبر صعود فقاعات غازية دليلاً على التفاعل الايجابي.

حلّ مستحلب صفار البيض (Egg yolk emulsion) لدراسة نشاط أنزيم Lecithinase. تمت إضافة مستحلب صفار البيض المعقم (Oxoid) إلى آجار مغذ مضافاً إليه كلوريد الصوديوم 0.5%، معقم ومبرّد (45° م) بحيث يكون التركيز النهائي للمستحلب في المستنبت 1%. وبعد صبّ الأطباق وتصلبها، لقح مركزها بنمو جرثومي (من مستعمرة بعمر 24 ساعة نامية على NAG) وروقبت الأطباق بحثاً عن تطوّر هالة شفافة حول النمو الجرثومي (تفاعل إيجابي).

تحمل تركيزات مختلفة من ملح الطعام نُميّ الجرثوم على آجار مغذ يحتوي على NaCl بنسب تتراوح من 0 - 6%. وتم فحص الأطباق دورياً حتى 14 يوم لملاحظة نمو الجرثوم (+) من عدمه (−).

إنتاج الأصبغة اللاصقة: خُطط الجرثوم على مستنبت King B (18)، وتمت متابعة النمو حتى سبعة أيام بحثاً عن

تشكل أصبغة منتشرة تمّ اختبارها تحت الأشعة فوق البنفسجية.

استخدام السكريات والكحولات كمصدر وحيد للكربون: استخدم مستنبت Ayers, Rupp& Johnson (1) وقد تم اختبار 21 مصدراً مختلفاً، وأخذت النتيجة بعد التحضين على 25 م° لمدة اسبوعين على أساس نمو الجرثوم (+) من عدمه.

أكسدة تخمر الغلوكوز حسب Hugh & Leifson (15)

3.3 - التحسس للمضادات الحيوية:

تم اختبار عدد من المضادات الحيوية بإضافتها وبتركيزات مختلفة إلى مستنبت (NA)، لدراسة تأثيرها على نمو الجرثوم وهي: ستربتومايسين Streptomycine (5، 10، 15، 20، 30، جزء بالمليون)، كلور امفنيكول Chloramphenicol (2، 10، 20، 30، جزء بالمليون)، نالدكسين Naladaxin (5، 10، 20، 30، جزء بالمليون)، فانكومايسين Vancomycin (2.5، 3.5، 5، جزء بالمليون)، كانامايسين Kanamycin (10، 20، جزء بالمليون)، أمبسلين Ampicillin (5، 7.5، 10، جزء بالمليون)، ريفامبيسين Rifampicin (0.5، 1، 3، 5، جزء بالمليون). وقد تمت إضافة هذه المواد إلى المستنبت، بعد تعقيمه وتبريده وقبل صبّه في الأطباق. وبعد تخطيط الجرثوم على هذه المستنبتات «المسممة»، والتحضين لمدة اسبوع على 25° م، تمّ رصد النتائج على أساس نمو الجرثوم (+) من عدمه (−).

4.3 ـ الدراسة المجهرية

تمت دراسة حركة الجرثوم بفحص قطرة من المعلق الجرثومي (موضوعة على ساترة نظيفة، بعد قلبها على شريحة مقعرة) بوساطة مجهر متباين الأطوار. (Phase contrast). ولوّن غشاء منه مثبت على شريحة زجاجية بصبغة غرام (32)لدراسة تفاعله لها، كما لُوّن غشاء جرثومي بالسودان الثالث، للكشف عن قطيرات الدهن (Poly-B hydroxybutyrate) داخل السيتوبلازم.

النتائج

أعراض المرض: كانت الاصابة في الدفيئات الموجودة في قريتي السفيرة وأرشاف، في آذار/ مارس، متقدمة (نسبة الاصابة 50 و20%، على التوالي) الأمر الذي لم يسمح بتتبع الأعراض المرضية. بينما أمكن متابعة تطورها بمراقبة الدفيئات الموجودة في كفر أنطون التي قُدرت نسبة الاصابة بها بحدود 5%.

تبدأ أولى الأعراض بالظهور على النباتات بعد شهرين تقريباً من نقل الشتلات إلى الدفيئة (تشرين أول/ أكتوبر ـ كانون الثاني ـ يناير، تبعاً لموعد النقل)، وتتمثّل في البداية بتأخر ملحوظ في نمو النباتات المصابة مقارنة بالسليمة (أقصر بنسبة 20%). يؤدّي المرض، في الحالات الحادة، إلى ذبول سريع يبدأ من قمة النبات باتجاه الأسفل، تُرافِقه طراوة غير طبيعية في نسج الساق، عند الضغط عليها بين أصابع اليد، وتموت مثل هذه النباتات بسرعة. وصاحب ذلك تهدُّل الأوراق القمية، في حالات أخرى، مع اصفرار حواف الأوراق القاعدية ومناطق ما بين العروق فيها، واستمر في تقدمه نحو الأعلى. وقد لوحظ، أحياناً، على ساق النبات المصاب وأعناق الأوراق المركبة تطوّر لطخ بنية إلى سوداء، علماً أن مظهر الساق كان طبيعياً في حالات أخرى. قد تظهر في منطقة اتصال أعناق الأوراق بالساق، وبخاصة الأوراق القاعدية، ندبة بنيّة متقرّحة، وتؤدي إزالة هذه الأوراق إلى سيلان إفراز عكر من منطقة الإزالة. وكان ظهور نتوءات بارزة على الساق، وأحياناً على أعناق الأوراق المركبة، عَرَضاً كثير التردد. وتطورت من هذه النتوءات، مع تقدم الاصابة، جذور عرضية هوائية، كانت كثيفة في بعض الأحيان. وكان قطر السوق المصابة، في نهاية الموسم، أرفع بكثير من قطر السوق السليمة.

لوحظ عند شق الساق المصاب طولياً تلوّن لنسج المخ، كان في البداية أصفر برتقالياً، ثم تحوّل مع تقدم الاصابة إلى اللون البني. كما لوحظ أن بُنْية نسج المخ تكون في البداية متجانسة، لا تلبث أن تأخذ مظهراً سُلّيماً، وتتحلل بشكل كامل في النهاية، مؤدية إلى تجوّف الساق. يبدأ التلوّن عادة على بعد سنتيمترات قليلة من مستوى سطح التربة، ويستمر باتجاه الأعلى ـ بشكل خاص ـ والأسفل، ويمتد داخل أعناق الأوراق والفريعات الجانبية، وقد يصل في تطوره إلى القمة النامية. كما تتلون الأوعية الناقلة للساق والأوراق، ويظهر هذا التلوّن في مناطق لم يتلون أو يتحلل فيها المخ بعد، أي أنه يمتد إلى مسافة أبعد.

لوحظ تركّز الاصابة على الخطين الجانبيين الموجودين على طول الدفيئة، وبخاصة على الناحية الشرقية منها، وتواترها بزيادة الريّ والتسميد الآزوتي. وهناك بيّنات تشير إلى أن ولوج الكائن الممرض إلى داخل النبات يحدث عبر الجروح المتشكلة عقب إزالة (خصي) الأوراق القاعدية.

أدت الاصابة إلى انخفاض ملحوظ في الانتاج، نظراً لموت عدد من النباتات المصابة واقتلاع بعضها الآخر، إضافة إلى قلة حمل النباتات المريضة، وصِغَر حجم الثمار المتشكلة عليها. وقد لوحظ تشكل الثمار على نباتات كان فيها الساق مجوفاً بالكامل.

نتائج العزل: أمكن التعرف على أربع عزلات من منطقة السفيرة أخذت الأرقام (S_1، S_2، S_3، S_4)، وثلاث عزلات من قرية أرشاف (A_1، A_2، A_3)، وعزلة واحدة من قرية كفر أنطون (KA_1).

نتائج العدوى الاصطناعية: ظهرت على شتلات البندورة المُعداة بالعزلات (S_1، A_1، KA_1) أعراض الاصابة خلال

اسبوع من الاعداء، وتمثلت باصفرار الأوراق القاعدية، ذبول القمة، وتلوّن المخ مسافة 2 سم ـ أعلى منطقة الحقن ـ؛ كما ذوت قمة العقل المنمّاة على معلق جرثومي، واصفرّت أوراقها السفلى، وظهرت نتوءات على ساقها تحولت إلى جذور عَرَضية، وتلونَ المخ في ساق العقلة لمسافة 10 سم فوق قمة سطح المعلق في الدورق، وتحللت نسجه. واستغرق تطوُّر هذه الأعراض قرابة 15 يوماً؛ وأبدت النباتات المُعداة المزروعة في حديقة منزلية كافة الأعراض المميّزة للمرض، على أن الندبات البارزة التي ظهرت على الساق، باستثناء تلك المتشكلة قريباً من سطح التربة، لم تتحول إلى جذور عَرَضية. وكانت عُصارية المخ أقل من تلك الملاحظة على النباتات المصابة في الدفيئة. هذا ولم تظهر أيّة أعراض خارجية على نباتي الفليفلة، إنما لوحظ ظهور تلوُّن بني امتد فوق وأسفل منطقة الإعداء، ولم يلاحظ ذلك في نباتي الشاهد. وقد أخفقت بقيّة العزلات في إحداث أعراض المرض واعتُبرت مترممات ثانوية.

وقد تشابهت العزلات S_1، A_1، وKA_1 في الصفات الظاهرية للمستعمرات التي أعطتها، كما أحدثت جميعها أعراض المرض، وتماثلت نتائجها في الاختبارات الأخرى.

توصيف الكائن الممرض: سيقتصر توصيفنا على العزلات التي أثبتت تجارب الإعداء الاصطناعي قدرتها الإمراضية (S_1، A_1، KA_1) مشيرين إلى أنّ مستعمراتها كانت سائدة في مختلف عمليات العزل التي أجريناها، وكانت في معظم الأحوال، المستعمرات الوحيدة التي ظهرت على سطح المستنبت. واعتُبرت الجراثيم الأخرى، التي أخفقت في إنتاج الأعراض المرضية، ملوثات مترممة. وقد شكلت مستعمرات هذه الجراثيم نسبة بسيطة جداً (1 - 5%).

مجهرياً: عصيّات متحركة، غير متبوغة، سالبة لصبغة غرام، وتحوي على قطيرات دهنية (Poly-B-hydroxybutyrate).

جدول 1. نتائج اختبارات LOPAT للعزلات التي أُثبتت قدرتها الإمراضية.

Table 1. Results of LOPAT'S tests on pathogenic isolates.

الاختبار المنجز Test performed	العزلة Isolate: سفيرة S_1	أرشاف A_1	كفر انطون KA_1
إنتاج اللوفان Levan Production	–	–	–
نشاط الأكسيداز Oxidase activity	+	+	+
تعفن البطاطا Potato rot	–	–	–
حلّ الارجنين Arginine breakdown	–	–	–
تحسس التبغ Tobacco hypersensibility	+	+	+

جدول 2. نتائج بعض الاختبارات البيوكيميائية على العزلات الجرثومية المُمْرِضة.

Table 2. Results of some biochemical tests carried out on bacterial pathogenic isolates.

الاختبار المنجز Test performed	العزلة isolate: سفيرة S_1	أرشاف A_1	كفر أنطون KA_1
حلّ الجيلاتين Gelatine hydrolysis	+	+	+
حلّ الكازئين Gasein hydrolysis	+	+	+
حلّ (توين 80) Hydrolysis of Tween	+	+	+
حلّ التريبوتيرين Hydro. of Trybutyrin	+	+	+
حلّ مح البيض، ليسيثيناز Lecithinase activity	+	+	+
نشاط التيروسيناز Tyrosinase activity	+	+	+
نشاط الكاتالاز Catalase activity	+	+	+
أكسدة الغلوكوز oxidation of glucose	+	+	+
تخمر الغلوكوز Fermentation of glucose	–	–	–
تحمل كلوريد الصوديوم NaCl Tolerance 2%	+	+	+
تحمل كلوريد الصوديوم NaCl Tolerance 4%	+	+	+
تحمل كلوريد الصوديوم NaCl Tolerance 6%	–	–	–
النمو عند 37° م Growth at 37°C	+	+	+
النمو عند 41° م Growth at 41°C	–	–	–

مزرعياً: آ) على مستنبت NA. كانت المستعمرات كريمية اللون، مموّجة الحافة، شفافة، لامعة، وصل قطرها بعد اسبوع من التحضين على 25° م إلى 5 مم. وتغيّر لونها مع تقدم الزمن إلى لون اصفر (خاكي)، وأصبح مركزها أغمق من بقية أجزاء المستعمرة. ب) على مستنبت NAG. بدت المستعمرات أصغر قطراً (3 مم خلال اسبوع)، مرتفعة، قبيّة، ذات سطح مجعد، مستديرة، متموجة الحافة، شفافة وتصبح نصف عاتمة مع تقدم الزمن، كريمية صفراء، وتفرز إلى المستنبت صبغة صفراء غير لاصفة. جـ) على مستنبت King B. أفرزت المستعمرات صبغة صفراء غير لاصفة (عند تعريضها للأشعة فوق البنفسجية). د) على مستنبت بسيدوموناز الانتخابي (Difco). أعطت المستعمرات صبغة بنية غير لاصفة.

بيوكيميائياً: أظهرت العزلات الثلاثة تفاعلاً إيجابياً للأنشطة التالية: الأكسيداز، حلّ الجيلاتين، حلّ صفار البيض ـ ليسيثيناز، حلّ الكازئين، حلّ مادة توين 80، حل التريبيوترين، تيروسيناز، كاتالاز، أكسدة الغلوكوز، تحمّل تركيزان (2 - 4%) من كلوريد الصوديوم، النمو على 37 درجة مئوية. وتفاعلاً سلبياً للأنشطة التالية: إنتاج اللوفان، تعفن البطاطا، تحلل الآرجنين، تخمير الغلوكوز، حلّ النشاء، تحمل تركيز 6% كلوريد الصوديوم، والنمو على 41° م (جدول 1 و 2). وبالنسبة لاستخدام السكريات والكحولات كمصدر وحيد للكربون، تبيّن أنها تستطيع استخدام التريهالوز والغلوكوز والغليسرول و L (+) أرابينوز بينما كان نموها على المصادر الأخرى ضعيفاً جداً أو غير ملحوظ (جدول 3).

جدول 3. قدرة العزلات المختبرة على النمو على مصادر فحمية مختلفة.

Table 3. Ability of tested isolates to grow on different carbon sources.

مصدر الفحم Carbon Source	العزلة isolate		
	سفيرة	أرشاف	كفر أنطون
	S_1	A_1	KA_1
أدونيتول Adonitol	−	−	−
L (+) أرابينوز L (+) Arabinose	+	+	+
أسكلين Asculin	−	−	−
دلسيتول Dulcitol	−	−	−
D، B (−) فركتوز			
B, D, (−) Fructose	−	−	−
D(+) غالاكتوز D (+) Galactose	−	−	−
D (+) غلوكوز D (+) Glucose	+	+	+
غليسرول Glycerol	+	+	+
إينولين Inulin	−	−	−
لاكتوز Lactose	−	−	−
D (+) لاكتوز D (+) Lactose	−	−	−
مالتوز Maltose	−	−	−
مانيتول Mannitol	+	+	+
D (+) مانوز D (+) Mannose	−	−	−
ميو ـ اينوزيتول Myo-inositol	−	−	−
رافينوز Raffinose	−	−	−
L (+) رامنوز L (+) Rhamnose	−	−	−
سوربيتول Sorbitol	−	−	−
سكروز Sucrose	−	−	−
D (+) تريهالوز D (+) Trehalose	+	+	+
كسيلوز Xylose	−	−	−

جدول 4. حساسية العزلات المُخْتَبَرة لتراكيز مختلفة من بعض المضادات الحيوية.

Table 4. Sensitivity of tested isolates to some antibiotics at different concentrations.

المضاد الحيوي وتركيزه جزء بالمليون Antiniotic tested (p.p.m)			العزلة isolate		
			سفيرة	أرشاف	كفر انطون
			S_1	A_1	KA_1
فانكومايسين	2.5	Vancomycin	+	+	+
	3.5		−	−	−
	5		−	−	−
كانامايسين	10	Kanamycin	+	+	+
	20		−	−	
	30		−	−	−
	80		−	−	
أمبسلين	5	Ampicillin	−	−	−
	7.5		−	−	−
	10		−	−	−
ريفامبيسين	0.5	Rifampicin	+	+	+
	1		−	−	−
	3		−	−	−
	5		−	−	−
ستريبتومايسين	5	Streptomycin	++	+	+
	10		+	+	+
	15		+	+	
	20		+	+	+
	30		+	+	
كلورامفينيكول	2	Chloramphenicol	++	+	+
	10		+	+	+
	20		+	+	+
	30		+	+	+
نالادكسين	5	Naladaxin	+	+	+
	10		+	+	+
	20		−	−	−
	30		−	−	−

نمو جيد (++)، نمو ضعيف (+)، لا يوجد نمو (−)
good growth (++), poor growth (+), no growth (−)

حيوياً: أمكن وقف نمو العزلات الثلاثة على مستنبت (NA) باستخدام المضادات الحيوية التالية: فانكومايسين (3.5 جزء بالمليون)، أمبسلين (5 جزء بالمليون)، ريفامبسين (1 جزء بالمليون) نالدكسين (20 جزء بالمليون) وكانامايسين (30 جزء بالمليون)، بينما استمر النمو على المستنبت نفسه باستخدام

الكلورامفنيكول والستربتومايسين على تركيزات وصلت إلى 30 جزء بالمليون (جدول 4).

المناقشة

تطابقت أعراض المرض موضوع الدراسة التي لوحظت على نباتات البندورة/ الطماطم في الدفيئات، مع الأعراض التي أوردتها Scarlett وزملاؤها في إنكلترا عام 1978 (30) عن مرض موت مخ البندورة الذي يحدثه الجرثوم *P. corrugata*، باستثناء أنّ الاصفرار في الحالة التي درسناها كان يظهر أولاً على الأوراق القاعدية ـ وليس على القمة النامية ـ ويعود السبب الذي حدانا لإضافة «الذبول» إلى الاسم الذي اقترحوه للمرض، إلى ظهور هذا العَرَض على النبات قبل تَبيُّن موت المخ داخلياً. وتجدر الاشارة إلى أن المرض الذي يحدثه هذا الجرثوم قد سجل على البندورة/ الطماطم المزروعة في الدفيئات في تسع دول أوروبية حتى الآن هي/ إنكلترا (30)، ألمانيا الشرقية (26)، الدانمرك (5)، ألمانيا الغربية (20)، ايطاليا (13، 31، 34)، البرتغال (29)، اليونان (4)، نيوزيلندة (10)، السويد (27)، الولايات المتحدة الامريكية (22). كما تمّ تسجيله على نباتات البندورة/ الطماطم المزروعة في الحقل بولايتي فلوريدا ولويزيانا (7، 16). ونشير هنا إلى أنه تم عزو مرض مشابه على البندورة/ الطماطم المزروعة في الدفيئات البلاستيكية في نيوزيلندة (37) واليونان (2، 3، 25) إلى *P. viridiflava* (Burkholder) Dowson. وعُزيت حالات مشابهة أخرى في تركيا (11) ونيوزيلندة (36) إلى الجرثوم *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.، وفي كندا (12) إلى الجرثوم *Erwinia carotovora* Sub sp. *carotovora*، إلّا أن وصف أعراض المرض في هذه الدراسات لم يتضمن ظواهر تشكل الجذور العَرَضية أو سيلان الافراز الجرثومي على الساق. وما سبق يشير إلى ضرورة إجراء العزل والتعريف، وعدم الاكتفاء بالأعراض الظاهرية لتحديد هوية الكائن المسبب.

إن نجاح العدوى الصناعية على البندورة/ الطماطم بالطرائق المختلفة التي لجأنا إليها، تثبت أن الجرثوم الذي قُمنا بتوصيفه هو الكائن المحدث للمرض. كما تشير إلى أهمية الجروح في حدوث الإصابة. وتؤكد السرعة التي تطوّر بها المرض على شتلات البندورة المغطاة بأكياس بلاستيكية، وعقل البندورة المغمورة في المعلق الجرثومي، مقارنة بتطوره على النباتات المزروعة في حديقة منزلية، إلى أهمية الدور الذي تلعبه الرطوبة في سرعة تطوّر الأعراض، ووبائية انتشار المرض في الدفيئات. وقد يعود سبب عدم تطور أعراض المرض على الفليفلة إلى كون أنسجتها أكثر تخشباً من نسج ساق البندورة/ الطماطم. كما أنّ عدم تشكل الجذور العَرَضية على سوق نباتات البندورة/ الطماطم المُعداة والمزروعة في العراء قد يكون عائداً إلى قلة الرطوبة الجوية في هذه الظروف.

لقد تطابقت نتائج الاختبارات المجهرية والمزرعية والبيوكيميائية التي حصلنا عليها مع النتائج الواردة في دراسة Scarlett et al. وعليه فإن الكائن المسبب لمرض ذبول وموت نخاع البندورة في سورية هو جرثوم *Pseudomonas corrugata* Roberts&Scarlett. وفيما يخص المجموعة الأخيرة من الاختبارات تعتبر النتائج التي حصلنا عليها بالنسبة لحلّ مادة «توين 80»، والتريبيوترين، والكازئين، ونشاط التيروسيناز، معايير إضافية لتوصيف جرثوم *P. corrugata* المعزول من نباتات البندورة. ونشير هنا إلى أن Lukezic (24) أشار إلى أنه عزل *P. corrugata* من جذور نباتات فصّة لا تُبدي أعراضاً مرضية، ويتبين من نتائجه أنّ العزلة التي وصفها من جذور الفصة تختلف عن عزلة البندورة الموجودة لدينا، وتلك التي وصفتها Scarlett et al.، في أنها تفتقر إلى أنزيم «ليسيثيناز» الذي يروّق مستحلب محّ البيض.

أفاد المزارعون الذين ظهر المرض في دفيئاتهم بأنهم استخدموا كميات زائدة من الآزوت وبما يعادل 35 - 40 كغ N/ دونم. والمعروف أن هذا العنصر يحفّز النمو الخضري للنبات، ويؤدي إلى زيادة عصارية نسجه وهشاشيتها، وهما أمران يشجعان على نمو الجرثوم وتكاثره. كما أن تركُّز الاصابة على جانبي الدفيئة، واشتداد أعراض المرض، وزيادة نسبة الاصابة بتواتر ري النباتات، يشير إلى أهمية عامل الرطوبة في تطور المرض؛ فالغالب أن تكون هاتين المنطقتين أكثر رطوبة من باقي مناطق الدفيئة، كونهما تتلقيان المياه المتكثفة على الوجه الداخلي للغطاء البلاستيكي والتي تنساب عليه لتصل إلى النباتات المزروعة على الطرفين. وقد لاحظنا تراجعاً معنوياً في نسبة الاصابة بمباعدة الفترة بين الريات إلى الحد الذي لا يؤدي إلى تعطيش النباتات (15 - 20 يوماً).

دلّت معظم المقاطع الطولية في عدد كبير من السوق المصابة على أن التلون يبدأ، في معظم الأحيان، من الجروح التي تخلفها إزالة الأوراق القاعدية، الأمر الذي يشير إلى أهمية هذه الجروح في إحداث الاصابة. ويحملنا على التوصية بتعقيم مقصات التقليم بالفورمول والبدء بتقليم النباتات السليمة قبل تقليم المصابة.

أشارت دراسات سابقة (13، 31) إلى عزل الجرثوم المسبب للمرض من التربة، وعليه قد يكون تعقيم تربة الدفيئات بالطاقة الشمسية أثناء فصل الصيف إحدى الاجراءات التي من شأنها تقليل خطورة المرض. وقد بدأنا بتنفيذ تجربة في هذا المجال.

بيّنت دراسة حديثة (9) إلى أن جرثوم *P. corrugata* يفرز سمّاً نباتياً (فيتوتوكسين)، وقد أدى حقن هذا السمّ (بعد استخلاصه) في نبات بندورة/ طماطم سليم، إلى ظهور التلون البني في المخ.

شكر وتقدير:

يتوجه الباحث الرئيسي بالشكر إلى إدارة المركز الدولي للبحوث الزراعية (إيكاردا) للتسهيلات العديدة التي قدمتها لتنفيذ هذا البحث. كما يتقدم بالشكر إلى الدكتور Psallidas من معهد Benaki (أثينا، اليونان) لتقديمه مادة مستحلب محّ البيض المعقم، واقتراحه تنفيذ بعض الاختبارات التشخيصية.

Abstract

Bayaa, B. and Warrak, W. 1990. First record of tomato wilt and pith necrosis in Syria. 1 – Disease symptoms, characterization of the causal organism and some conditions predisposing plant to infection. Arab J. Pl. Prot. 8 (2): 88 - -95.

Symptoms of a new bacterial disease have been observed on tomato plants grown in some plastic houses in the vicinity of Aleppo (Syria) during March and November 1989, and caused severe yield losses. Affected plants showed retarded growth, wilting which starts from the upper part downward, chlorosis of the basal leaves which culminate upward, dark brown discoloration of the stem, on which many aerial roots were observed. External symptoms were accompanied with pith discoloration, disintegration, and hollowing. Results of isolation, pathogenicity, cultural, biochemical, biological and microscopic tests performed on the isolated organism (s), and the chronology of disease symptoms' development, both in plastic house and laboratory, revealed that the causal organism is the bacterium *Pseudomonas corrugata* Roberts and Scarlett. Observations indicated that high relative humidity, exaggeration in nitrogen fertilization and pruning of basal leaves are important factors predisposing plants to infection.

Key words: pith necrosis, tomato, Syria.

References

1. Ayers, S.H., Rupp, P. and Johnson, W.T. 1919. A study of the alkali-forming bacteria found in milk. United State Department of Agriculture Bulletin, 782 p.
2. Alivizatos, A.S. 1984. Aetiology of tomato pith necrosis in Greece. **Proceeding of the 2nd Working Group on *Pseudomonas syringae* Pathovars. Sounion, Greece, 24 – 28 April 1984.** pp. 55 – 57.
3. Alivizatos, A.S. 1986. Tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas viridiflava.* Annls. Inst. Phytopath. Benaki 14: 41 – 47.
4. Alivizatos, A.S. 1987. Tomato pith necrosis in Greece: Present status. **4th National Phytopathological Conference. Forest Research Institute, Athens. Oct. 13 – 16, 1987,** pp. 27 (abstract).
5. Anon. 1981. Plant diseases and pests in Denmark in **97th Annual Report Research Center for Plant Protection. Statens Planteavlsforsog,** Lyngby.
6. Billing, E. and Luckhurst, E.R. 1957. Lipolyses. J. Appl. Bact. 20, 90.
7. Bond, W.P. 1986. Tomato pith necrosis *(Pseudomonas corrugata)* in field grown tomatoes in Louisiana. Plant Disease 70: 1074 (abstract).
8. Brandt, H. 1939. Die bacteriologische untersuchung von butter und ihre auswirkung. Molkereizeitg 9: 262 – 264.
9. Chun, W. and Leary, J.V. The role of phytotoxine production by *Pseudomonas corrugata* in tomato pith necrosis. Phytopathology :1536 (abstract).
10. Clark, R.G. and Watson, D.R.W. 1986. New plant disease record in New Zealand: Tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata.* New Zealand Journal of Agricultural Research 29: 105 – 109.

المراجع

11. Demir. G. and Gundogdu, M. 1988. The bacterial disease of tomato caused by *Pseudomonas cichorii* in Turkey. The Journal of Turkish Phytopathology 17:99 (abstract).
12. Dhavantari, B.N. 1983. Bacterial stem rot – a new disease of green house tomato in Ontario. Canadian Journal of Plant Pathology 6:261 (abstract).
13. Fiori, M., Corda, P. and Carta, C. 1983. *Pseudomonas corrugata* Roberts Scarlett, causal agent of tomato (*Lycopersicon esculentum* Miller) pith necrosis . Revista di Patologia Vegetale 19: 21 – 27.
14. Fraizer,W.C. & Rupp, P. 1928. Studies on the proteolytic bacteria of milk. 1. A medium for direct isolation of caseolytic milk bacteria. J. Bact. 16: 57 – 63.
15. Hugh, R. and Leifson, E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. Journal of Bacteriology 66: 24 – 26.
16. Jones, J.B, Jones, J.P., Stall, R.E. and Rillers, J.W. 1983. Occurrence of stem necrosis of field grown tomatoes incited by *Pseudomonas corrugata* in Florida. Plant Disease 67: 425 – 426.
17. Kleman, A. and Dickey, E. 1980. Soft rot of «carotovora» group. in **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.** pp. 31 – 35. Ed. N.W. Schaad, St. Paul. Minnesota: American Phytopathological Society.
18. King, E.O., Ward, M.K. and Raney, D.E. 1954. Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 44: 301 – 307.
19. Klement, E., Farkas, G.L. and Lovrekovich, I. 1964.

Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology 54: 474 - - 477.

20. Köhn, S. 1982. [First occurrence of *Pseudomonas corrugata* as causal agent of tomato pith necrosis in the German Federal Republic.] Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 34: 81 - 82.

21. Kovacs, N. 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. **Nature,** London 178, 703.

22. Lai, M., Opgenorth, D.C. and Whithe, J.B. 1983. Occurrence of *Pseudomonas corrugata* on tomato in California. Plant Disease 67: 110 - 112.

23. Lelliott, R.A., Billing, E. and Hayward, A.C. 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. J. Appl. Bact. 29: 470 - 489.

24. Lukezic, F.L. 1979. *Pseudomonas corrugata,* a pathogen of tomato, isolated from symptomless alfalfa roots. Phytopathology 69: 27 - 31.

25. Malathrakis, N.E. and Goumas, D.E. 1987. Bacterial soft rot of tomato plastic green house in Crete. Ann. Appl. Biol. 111: 115 - 123.

26. Naumann, K. 1980. [Tomato bacterial pith necrosis, a new disease of glasshouse crops.] nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR. 34: 226 - 231.

27. Olsson, K. 1986. [A disease of tomato new for Sweeden, caused by *Pseudomonas corrugata* Roberts Scarlett. Växtskyddsnotiser 50: 20 - 27.

28. Rhodes, M.E. 1959. The characterization of *Pseudomonas fluorescens*. J. Gen. Microbiol. 21:221.

29. Santa Marta, J.M.C.P. 1985. [*Pseudomonas corrugata* Roberts Scarlett, causal agent of new bacterial disease of tomato *(Lycopersicon esculentum* Miller) in Portugal] Publicacao do Laboratorio de Patologia Vegetal «Verissimo de Almeida» No. 45. 5pp.

30. Scarlett, C.M., Fletcher, J.T., Roberts, P. and Lelliot, R.A. 1978. Tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata* n.sp.. J. Appl. Biol. 88: 105 - 114.

31. Scortichini, M. 1989. Occurrence in soil and primary infection of *Pseudomonas corrugata* Roberts Scarlett. Journal of Phytopathology 125: 33 - 40.

32. Schaad, N.W. 1980. Initial identification of common genera. in **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.** pp. 1 - 11, Ed. N.W. Schaad. St. Paul. Minnesota: American Phytopathological Society.

33. Sierra, G. 1957. A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. Leeuwenhock ned. Tujdshr. 23, 15.

34. Tamietti, G. and Gugudda, L. 1987. Note sur les épidémies causées en Italie par deux bactéries phytopathogènes dans les cultures de tomates sous abri. Bulletin OEPP/EPPO 17: 295 - 297.

35. Thornley, M.J. 1960. The differenciation of *Pseudomonas* from other gram-negative bacteria on the basis of arginine metabolism. J. Appl. Bacteriol. 23: 37 - 52.

36. Wilkie, J.P. and Dye, D.W. 1974. *Pseudomonas cichorii* causing tomato and celery diseases in New Zealand. New Zealand Journal of Agricultural Research 17: 123 - 130.

37. Wilkie, J.P., Dye, D.W. and Watson, D.R.W. 1973. Further hosts of *Pseudomonas viridiflava.* New Zealand Journal of Agriculture Research 16: 315 - 323.