مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2008) ــ المجلد (24) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 313 -326

دراسة انتشار مرض التدرن التاجي *Agrobacterium tumefaciens* في بعض المشاتل السورية وتحديد الطرز الحيوية للبكتيريا الممرضة

محبة غنام[1] ومحمود أبو غرة[2]

الملخص

يعدُّ مرض التدرن التاجي إحدى المشكلات الأساسية التي تواجه مشاتل أشجار الفاكهة في سورية فقد بينت نتائج المسح الحقلي لبعض المشاتل الحكومية المنتجة لغراس الأشجار المثمرة في محافظات: القنيطرة -حماة -حمص ودرعا أن نسبة الإصابة تراوحت بين 2 -30% في مشاتل نبع الفوار وطرنجة وصيدا (محافظة القنيطرة) ومشتل تيزين (محافظة حماة) في حين لم يعثر على الإصابة في مشتل نهج (محافظة درعا) وفي مشتل المختارية (محافظة حمص). وقد بينت نتائج القدرة الإمراضية أن 64 عزلة فقط كانت ممرضة من أصل 180 عزلة بكتيرية عُزلتْ من غراس الأشجار المثمرة المصابة (إجاص -خوخ -دراق -لوز)، وقد أثبتت تجارب القدرة الإمراضية على نباتي البندورة ودوّار الشمس أن 29.69% من العزلات الممرضة أصابت النباتين معاً وأن 54.69% من العزلات أصابت دوّار الشمس فقط و15.63% أصابت البندورة، كما بينت الاختبارات البيوكيميائية لتحديد الطرز الحيوية لبكتيريا التدرن التاجي *Agrobacterium tumefaciens* أن 6.25% من العزلات تنتمي لكل من الطراز الحيوي Biovar I، والطراز الحيوي Biovar II، و18.75% للطراز الحيوي Biovar III، في حين انتمت 68.75% من العزلات للطراز الحيوي المتوسط Intermediate. حُدّدت في هذه الدراسة الطرز الحيوية للمرض وقدرتها الإمراضية أول مرة في سورية.

الكلمات المفتاحية: تدرن تاجي اختبارات بيوكيميائية طراز حيوي.

(1) طالبة ماجستير، (2) أستاذ، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، ص.ب.30621 جامعة دمشق، سورية.

Study of the Distribution of the Crown Gall Disease, *Agrobacterium tumefaciens* in Some Syrian Nurseries and Identifying the Biovars of the Pathogen

Mahabah, G.[(1)] **and M. Abu Ghora**[(2)]

ABSTRACT

Crown gall is one of the most important obstacles affecting many nurseries in Syria. Field inspection indicated that crown gall disease occurs in various fruit tree nurseries in different Syrian governorates: Al Qunetra, Hama, Homs and Daraa. The disease incidence percentage ranged from 2 to 30% in Nabaa al-fawwar, Trenja and Sayda nurseries (Al Qunetra governorate) and Tezeen nursery (Hama governorate); however the disease was not found in Nahj nursery (Daraa governorate) nor in Al-Mokhtarea nursery (Homs governorate). One hundred and eighty bacterial isolates were obtained from infected fruit trees (pear, peach, almond and plum). The pathogenicity test on tomato seedlings and sunflower plants proved that only 64 isolates were pathogenic: 29.69% were pathogenic to tomato and sunflower; 56.3% to sunflower only and 15.63% infected tomato only. The biochemical tests showed that 6.25% of the bacterial isolates belong to Biovar I and Biovar II, 18.75% were of Biovar III. And 68.75% belonged to an intermediate Biovar. This is the first study that determind the Biovars of the pathogen and their pathogenicity in Syria.

Key words: Crown gall, Biochemical tests, Biovar.

(1) M. Sc. Student. (2) Prof., Dept., Plant Protection, Faculty of Agriculture, P. O. Box. 30621, Damacus University, Syria.

المقدمة

تعدُّ المشاتل الحكومية المراكز الرئيسة لإنتاج غراس الأشجار المثمرة. تتعرض هذه المشاتل للإصابة بأمراض عديدة وخصوصاً أمراض التربة التي تصيب الغراس وتنتقل معها إلى الأرض الدائمة. يحدث مرض التدرن التاجي الذي تسببه البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsend) Conn أوراماً على النبات (Deng *et al.*, 1998)، ويؤدي ذلك إلى فقد واضح في الإنتاج وانخفاض في النوعية وضعف نمو الغراس ومجموعيها الجذري والخضري (Moore *et al.*, 1988). للبكتيريا المسببة مدى عوائلي كبير يصل إلى 391 عائلاً. (De Cleene and De Ley, 1981).

- *A. tumefaciens* الذي يسبب مرض التدرن التاجي.
- *A. rhizogenes* الذي يسبب مرض الجذر الشعري (Gelvin, 1990).
- *A. rubi* الذي يسبب مرض التدرن التاجي على العليق (Moore *et al.*, 1988) *Rubus*.sp.
- *A. larrymoorei* وقد عزل هذا المسبب من أشجار *Ficus benjamina* في فلوريدا بدءاً من أورام هوائية على الأغصان (Bouzar *et al.*, 1995).
- *A. vitis* الذي يسبب مرض التدرن التاجي على الكرمة وقد فصل هذا النوع عن النوع الأول منذ عام 1973 حسب (Burr and Otten, 1999).
- *A. radiobacter* وهو نوع غير ممرض للنبات.

لبكتيريا *A. tumefaciens* ثلاثة طرز Biovars تبعاً لصفاتها البيوكيميائية: Biovars I Biovars II Biovars III المتخصص بالكرمة، وقد أعطي الأخير تسمية مستقلة هي *A. vitis* (Nester *et al.*, 1984).

تشكل بكتيريا التدرن التاجي على العائل أوراماً ذات طبيعة سرطانية، تتطور عادة على الجذور أو على تاج النبات ونادراً على الساق. تكو هذه الأورام بلون مائل إلى الأخضر المحمر عند بداية الإصابة، لا تلبث أن تكتسب لوناً مائلاً إلى البني مع تقدم النبات بالعمر، وتستمر بالنمو إلى أن يصل قطرها أحياناً إلى 25 سم.

تدخل البكتيريا المسببة النبات عن طريق الجروح (الجروح المحدثة بواسطة التطعيم، عمليات الخدمة المختلفة، والنيماتودا المتطفلة..الخ). ثم ترسل الخلية البكتيرية قطعة من البلاسميد Ti تسمى T-DNA التي تتحد مع الجينوم النباتي داخل الخلية النباتية (Nester *et al.*, 1984)، والتي تحث الخلية النباتية على الانقسام نتيجة إنتاج حمض الاندول الخلي IAA والسيتوكينين وكذلك إنتاج مركبات الأوبين ومن ثم إنتاج المزيد من

الخلايا التي تخدم البكتيريا في الحصول على مزيد من الطاقة وتوفير مصدر للآزوت (Gelvin, 2000). يهدف هذا البحث إلى إجراء مسح حقلي لتحديد نسبة الإصابة بالمرض في المشاتل وعزل البكتيريا المسببة للمرض في المشاتل السورية وتحديد طرزها والتأكد من قدرتها الإمراضية على بعض المضيفات النباتية.

مـ واد البحـ ث وطرائقـ ه

جمع العينات

جُمعت عينات غراس الأشجار المثمرة المصابة (خوخ-دراق-تفاح-إجاص-لوز) خلال موسمي قلع الغراس 2002-2003 و2003-2004م في الفترة بين شهري تشرين الثاني وشباط من المشاتل الحكومية المنتجة للغراس المثمرة في محافظات درعا (مركز نهج) والقنيطرة (مشتل صيدا وطرنجة ونبع الفوار) وحمص (مركز المختارية) وحماه (مشتل تيزين). وضعت عينات الغراس ضمن أكياس خيش مرطبة بالماء لتجنب جفافها إلى حين الوصول إلى المختبر، فُحصت في مختبر الأمراض البكتيرية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية.

قدرت نسبة الإصابة بالمرض بأخذ عينة عشوائية في أثناء قلع الغراس تقدر بـ 100 غرسة وطبقت عليها المعادلة الآتية:

نسبة الإصابة = (عدد الغراس المصابة ÷ عدد الغراس الكلي) × 100

عـ زل المسـ بب

تم انتقاء التدرنات الحديثة وغير المتعفنة من الغراس المصابة وأجريت عملية عزل البكتيريا حسب (Moore, 1995) وغسلت الأورام بماء الحنفية، ثم عقمت سطحياً بالكحول، وعرضت للهب للتخلص من الكحول المتبقي، ثم قطعت إلى شرائح صغيرة بواسطة مشرط معقم ضمن طبق بتري وضع فيه 15 ميليمتراً ماءً مقطراً معقماً، وتركت مدة نصف ساعة للسماح للبكتيريا بالتحرر من الأنسجة النباتية ثم نشرت قطرة من المعلق على الوسط المغذي YPGA (Yeast, Pepton, Glocose, Agar) وعلى الأوساط الانتخابية الثلاث والمتخصصة بكل طرز بيوكيميائي وهي:

1A وهو الوسط المغذي للطرز البيوكيميائي الأول ذو التركيب الكيميائي:

Arabitol, NH_4NO_3, KH_2PO_4,K_2HPO_4, $MgSO_4$, Sodium taurcholate, crystal violet, agar

2E الوسط المغذي للطرز البيوكيميائي الثاني ذو التركيب الكيميائي:

Erythritol, NH_4NO_3, KH_2PO_4, K_2HPO_4, C, Sodium taurcholate, yeast extract, malachite green, agar.

3DG الوسط المغذي للطرز البيوكيميائي الثالث ذو التركيب الكيميائي:

Sodium tartrate, D-glutamic acid, Na_2HPO_4, NaCl, $MgSO_4$, $7H_2O$, Sodium taurcholate, yeast extract, congo red, $MnSO_4$, $4H_2O$, agar.

وذلك حسب (Brisbane and Kerr, 1983).

حضنت الأطباق في درجة حرارة 22 -24 سيلزيوس مدة 72 ساعة، واختيرت المستعمرات البكتيرية التي لها مواصفات بكتيريا التدرن التاجي (حيث كانت بيضاء إلى كريمية اللون دائرية منتظمة الحافات ولامعة وملساء وذات قطر 1 -2مم)، (1992، عبد الرحيم)، وحفظت العزلات على وسط مغذ PYDAC (peptone, calcium carbonate, yeast, agar) تحت زيت البارافين إلى حين إجراء الاختبارات البيوكيميائية (أبو غرة ودوه جي 1996).

اختبار القدرة الإمراضية

تم هذا الاختبار بإجراء العدوى الاصطناعية على شتول البندورة *Lycopersicum esculentum* صنف ديamond إضافة إلى نباتات عباد الشمس *Helianthus annus*. وقد أجريت العدوى الاصطناعية على شتول النبات فيها 25 -30سم بعمل ثلاثة جروح على كل نبات لكل عزلة بكتيرية، استخدمت ثلاثة نباتات لكل عزلة بكتيرية من العزلات التي بلغ عددها 180 عزلة. وأعديت ثلاثة نباتات بالماء المقطر والمعقم كشاهد سالب، تم إجراء العدوى بإحداث شق صغير في ساق النبات تم حقنه بقطرة من معلق بكتيري تركيزه 10^8 خلية بكتيرية/ميليليتر بعدها غطيت النباتات بأكياس مدة 24 ساعة لتأمين الرطوبة اللازمة للعدوى، تركت نباتات عباد الشمس المعداة ضمن ظروف الحقل. أما شتول البندورة فقد حضنت في درجة حرارة 22 -25 سيليزيوس ضمن البيت الزجاجي. وتمت مراقبة ظهور الأورام على النباتات المعداة وأخذت القراءة بعد شهر تقريباً (Tarbah and Goodman, 1986).

تحديد الطرز الحيوية

اختيرت العزلات البكتيرية التي أعطت نتيجة إيجابية في العدوى الاصطناعية على أحد النباتين الدالين أو على كليهما، وأجريت لها الاختبارات البيوكيميائية التي تحدد الطرز الحيوية للبكتيريا بعمر 24 ساعة وهي صبغة غرام (Suslow *et al.*, 1982)، اختبار أكسدة/تخمر السكريات (Hugh and Leifson, 1953)، اختبار الأوكسيداز (Kovacs, 1956)، القدرة على تحمل 2% من NaCl، إنتاج الحمض من السكريات مثل السكروز، Melezitose Erythritol، إنتاج القلوي من الحموض العضوية مثل Propionic acid-Malonic acid-Tartaric acid واختبار إنتاج 3-Ketolactose، أجريت هذه الاختبارات حسب (Moore *et al.*, 1988) (الجدول 1).

الجدول (1) يبين الاختبارات البيوكيميائية لتحديد الطرز الحيوية (Moore *et al.*, 1988)

الاختبار البيوكيميائي / الطراز الحيوي	إنتاج 3 كيتولاكتوز	تحمل 2% NaCl	إنتاج الحمض من السكريات			إنتاج القلوي من الحموض العضوية		
			سكروز	ايرثريتول	ميليزيتوز	بروبيونيك	ترتريك	مالونيك
Biovar I	+	+	+	-	+	±	-	±
Biovar II	-	-	-	+	-	-	+	+
Biovar III				-	-	-	+	+
intermediate	±	±	±	±	±	±	±	±

النتائج

نسبة الإصابة

جمعت العينات المصابة من المشاتل المنتجة لغراس الأشجار المثمرة، وقد تركزت الإصابة على غراس الإجاص في العينات التي تم جمعها من مشاتل محافظة القنيطرة حيث كانت نسبة الإصابة في موسم 2002-2003 قرابة 2%. أما في الموسم 2003-2004 فكانت نسبة الإصابة 30% وقد بلغت نسبة الإصابة في مشتل تيزين في محافظة حماة عام 2002-2003، 1%، 3%، 5% على كل من اللوز والدراق والخوخ على التوالي، وارتفعت هذه النسبة خلال الموسم 2003-2004، 15%، 15%، 40% على التوالي، والإجاص في محافظة القنيطرة التي ارتفعت نسبة إصابته من 2% في الموسم 2002-2003م لتصبح 30% في الموسم 2003-2004. أما في محافظة درعا (مشتل نهج)، فلم يلاحظ وجود إصابات بالتدرن التاجي علماً بأن إدارة المشتل قد استبعدت اللوز من خطتها واستبدل بحقل أخر لزراعة أنواع أخرى من الغراس كما لم يلاحظ وجود الإصابة على غراس الكرمة في مشتل المختارية في محافظة حمص. (جدول 9).

عزل المسبب

بلغ عدد العزلات التي عُزلتْ على الأوساط الانتخابية المغذية والوسط YPGA 180 عزلة، واختيرت المستعمرات ذات الشكل الدائري والمحدب وذات اللون الأبيض الكريمي وبقطر 1-1.5 مم بعد 72 ساعة من التحضين في درجة حرارة 25 سيلزيوس. بلغ عدد العزلات التي عُزلت من الإجاص 75 عزلة ومن اللوز 21 عزلة ومن الدراق 31 عزلة ومن الخوخ 53 عزلة. وتوزعت هذه العزلات بحسب الأوساط الانتخابية حيث عُزلت 52 عزلة على الوسط 1A، و57 عزلة على الوسط 2E و21 عزلة على الوسط 3DG و 50 عزلة على الوسط YPGA (جدول2).

الجدول (2) يوضح عدد العزلات الممرضة وغير الممرضة على كل وسط انتخابي.

قدرة العزلات الإمراضية	الأوساط المغذية الانتخابية			
	وسط مغذ 1A	وسط مغذ 2E	وسط مغذ 2DG	YPGA
الممرض	29	23	9	3
غير الممرض	25	32	12	47
النسبة المئوية للممرض	%46.30	%41.82	%42.86	%6

مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2008) ــ المجلد (24) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 313 -326

اختبار القدرة الإمراضية

بينت نتائج القدرة الإمراضية (جداول 2 3 6) أن 64 عزلة بكتيرية استطاعت إحداث المرض على العوائل المختبرة وهي تمثل 35.56% من العزلات البكتيرية التي عُزلتْ.

الجدول (3) يبين نتائج اختبار العدوى الاصطناعية على عباد الشمس والبندورة

مصدر العزلة	أرقام العزلات	القدرة الإمراضية: عباد الشمس	القدرة الإمراضية: البندورة
الخوخ	F53.1, F57.1, F58.1, F62.2, F66.2, F66.1, F67.2, F60.3, F60.2, F65.3, F65.1.	+	+
الخوخ	F52.1, F53.2, F59.1, F63.2, F60.1, F61.2, F61.1, F46.2, F54.2, F54.1	+	-
الخوخ	F64.1, F65.2	-	+
اللوز	F25	+	+
اللوز	F27.1, F22.2, F21.2, F23.3, F22.1.	-	+
اللوز	F21.3, F23.4, F26.1, F28.1	+	-
الدراق	F37.3, F42.2, F35.2, F55.1, F56.1.	+	+
الدراق	F31.2, F34.2, F56.2.	-	+
الدراق	F34.1, F34.3, F35.1, F35.3, F37.1, F37.2, F38.1, F39.1, F40.2, F41.2, F32.3.	+	-
الإجاص	F3.1, F11.4	+	+
الإجاص	لا يوجد عزلات	-	+
الإجاص	F14.3, F3.1.1, F15, F4.1.6, F9.1, F10.1, F11.1, F15.1, F19.2, F29.2	+	-

اختلفت العزلات الممرضة فيما بينها في قدرتها على إصابة نوع واحد أو أكثر من النباتات التي تم إجراء العدوى عليها. حيث بينت النتائج أن 64.69% من العزلات كانت ممرضة على عباد الشمس فقط و15.63% من العزلات كانت ممرضة على البندورة فقط أما العزلات التي أصابت الاثنين معاً فكانت نسبتها 29.69%. كما تباينت القدرة الإمراضية للعزلات بحسب مصادرها النباتية (الإجاص -اللوز -الدراق -الخوخ) حيث وجد أن 83.33% من عزلات الإجاص كانت ممرضة في عباد الشمس 16.67% فقط ممرضة على البندورة وعباد الشمس معاً، ولم تُصبْ أي عزلة البندورة وحدها، أما عزلات اللوز فكانت أعلى نسبة من العزلات 50% تصيب البندورة فقط، تليها النسبة 40% للعزلات التي أصابت عباد الشمس وحده، و15% للعزلات التي أصابت النباتين معاً. وعزلات الدراق التي كانت أعلى نسبة ممرضة لها57.89% على عباد الشمس مقابل 26.32% كانت ممرضة على البندورة وعباد الشمس وأدنى نسبة من العزلات 13.79% كانت ممرضة على البندورة فقط وتوزعت عزلات الخوخ بنسب متقاربة في إصابتها لعباد الشمس 43.49% وإصابة النباتين معاً بنسبة 47.83%. أما العزلات التي أصابت البندورة فقط فنسبتها 8.70%. والجدول (6) يوضح هذه النسب.

كما يبين الجدول (2) أن نسبة: 51.9%، 43.9% من العزلات التي عزلت على الأوساط الانتخابية 1A 2E 3DG على التوالي كانت ممرضة على عباد الشمس أو البندورة أو النباتين معاً، في حين انخفضت هذه النسبة إلى 6% فقط عند البكتيريا المعزولة من الوسط YPGA (وسط مغذ عام).

الجدول (4) يبين نتائج الاختبارات البيوكيميائية التي أجريت على العزلات الممرضة

رقم العزلة	الوسط المغذي	تحمل 2% من NaCl	إنتاج الحمض من السكريات			إنتاج القلوي من الحموض العضوية			إنتاج 3 كيتو لاكتوز
			سكروز	ارثريتول	ملزيتور	ترتريك	مانوليك	بروبونيك	
F3.1	2E	+	+	+	+	-	+	-	-
F3.1.1	3DG	+	-	+	+	-	+	-	-
F14.3	2E	+	+	+	-	-	+	-	-
F4.1.6	3DG	+	+	+	-	-	+	-	-
F9.1	YPGA	+	+	-	+	-	-	-	+
F10.1	3DG	+	+	-	-	*	+	-	-
F11.1	2E	+	-	+	-	-	*	+	-
F11.4	3DG	-	-	+	-	+	+	-	-
F15.1	2E	-	-	-	+	-	-	-	-
F15	YPGA	+	-	-	-	-	-	-	-
F19.2	1A	-	-	-	+	*	*	-	-
F21.3	1A	+	+	+	-	-	+	-	-
F23.4	2E	+	-	-	-	+	+	-	-
F25	YPGA	+	+	-	+	-	+	-	+
F26.1	1A	+	+	-	+	+	+	-	-
F27.1	1A	+	-	*	-	-	-	-	-
F28.1	1A	+	+	-	-	+	+	-	-
F29.2	2E	+	+	-	-	+	+	-	-
F32.3	3DG	+	+	-	-	+	+	-	-
F34.3	3DG	+	*	-	+	+	-	-	+
F34.1	2E	+	+	-	-	+	+	-	-
F35.1	2E	-	-	+	-	+	+	-	-
F35.3	3DG	+	-	-	-	+	+	*	-
F35.2	1A	+	-	+	-	-	-	-	+
F37.1	1A	+	+	-	+	-	-	-	+
F37.2	3DG	+	-	-	+	+	+	-	-
F37.3	2E	-	+	-	+	-	-	-	+
F38.1	1A	+	+	+	+	-	+	-	-
F39.1	2E	-	-	+	-	+	+	-	-
F40.2	3DG	-	-	+	-	-	+	-	-
F41.2	1A	-	-	+	-	-	+	-	-
F42.2	1A	-	-	+	+	-	-	-	+

رقم العزلة	الوسط المغذي	تحمل 2% من NaCl	إنتاج الحمض من السكريات			إنتاج القلوي من الحموض العضوية			إنتاج 3 كيتو لاكتوز
			سكروز	ارثريتول	ملزيتور	ترتريك	مانوليك	بروبونيك	
F46.2	2E	+	+	+	-	-	+	-	-
F52.1	1A	+	+	-	+	-	+	-	+
F53.1	1A	-	-	+	+	-	-	-	+
F53.2	2E	+	+	+	-	-	+	-	-
F54.2	2E	+	+	-	-	+	+	-	-
F54.1	1A	+	+	+	+	-	+	-	-
F55.1	1A	+	+	+	+	-	+	-	-
F56.1	1A	-	-	+	-	-	+	-	+
F57.1	1A	+	+	+	+	-	+	-	-
F58.1	1A	+	+	+	+	-	+	-	-
F59.1	1A	+	-	+	-	-	+	-	-
F60.1	1A	+	+	+	-	+	+	-	-
F60.2	1A	+	+	+	-	+	+	-	-
F61.1	2E	+	+	+	-	+	-	-	-
F62.2	2E	-	+	-	+	-	-	-	+
F63.2	2E	+	-	-	-	+	+	-	-
F64.1	1A	-	-	+	-	-	-	-	+
F65.1	2E	+	+	-	-	+	+	-	-
F66.2	1A	-	-	+	+	*	*	-	+
F66.1	2E	+	+	+	-	+	+	-	-
F67.2	2E	+	+	+	+	-	+	-	-
F65.2	2E	+	+	+	+	-	+	-	-
F65.3	1A	+	+	+	-	-	+	-	-
F60.3	2E	+	+	+	+	-	+	-	-
F65.2	1A	+	+	-	-	+	+	-	+
F21.2	1A	-	-	+	-	-	-	-	+
F22.2	1A	-	-	+	-	-	-	-	+
F22.1	2E	+	-	+	-	-	-	-	-
F23.3	1A	*	*	*	-	-	-	-	*
F31.2	1A	*	*	*	-	-	-	-	-
F34.2	1A	-	+	+	+	-	-	-	-
F61.2	2E	+	+	+	-	+	+	-	-

* لم تختبر (لعدم نمو العزلة بشكل كافٍ عند اختبارها).

تحديد الطرز الحيوية

بينت نتائج الاختبارات البيوكيميائية التي أجريت على عزلات التدرن التاجي الممرضة المعزولة من غراس الأشجار المثمرة المصابة بالمرض (الجداول5، 7) وجود ثلاثة طرز حيوية حسب ما وصفها (Moore *et al.*, 1988)، تعادل الطرازان الأول

(Biovar I) والثاني (Biovar II) بنسبة وجودهما بين العزلات الممرضة 6.25%، أما الطرز الثالث (BiovarIII) فكانت نسبته 18.75%. أما بقية العزلات والتي تمثل نسبة 68.75% من العزلات البكتيرية والتي لا تنطبق عليها مواصفات الطرز الثلاثة السابقة، فقد صنفت في طرز رابع سمي بالطرز المتوسط (Fakhouri and Khlaif, 1996). وتباين توزع العزلات على هذه الطرز بحسب مصدرها النباتي حيث توزعت عزلات الإجاص فكانت 8.33% تنتمي لكل من الطرازين الأول والثاني، والطرز الثالث بنسبة 16.67%، و66.67% للطرز المتوسط، أما عزلات اللوز التي احتوت على ثلاثة طرز حيوية فقط حيث غاب الطرز الثاني (Biovar II) منها فكانت نسبة الطرز الأول 10% بين العزلات والطرز الثالث بنسبة 30% أما المتوسط فكان بنسبة 60%. وعزلات الخوخ التي تماثلت مع عزلات اللوز في عدم احتوائها على الطرز الثاني. أما الطرز الأول فكانت نسبته 4.35% و8.70% للطرز الثالث، و86.96% للطرز المتوسط. توزعت عزلات الدراق على الطرز الأربعة بنسبة: 5.26% 15.80% 26.32% 52.63% للطرز Intemediate, Biovar III, Biovar II, Biovar I على التوالي.

الجدول (5) يبين توزع العزلات على الطرز الحيوية المختلفة ونسبتها.

الطرز الحيوية			
I	**II**	**III**	**المتوسط**
إجاص: F9.1	إجاص: F11.4	إجاص: F29.2, F10.1,	بقية العزلات
لوز: F25	لوز: لا يوجد	لوز: F23.4, F28.1, F26.1	بقية العزلات
دراق F37.1	دراق: F35.1, F39.1, F41.2	دراق: F35.3, F32.3, F43.1, F37.2, F56.2	بقية العزلات
خوخ: F52.1	خوخ: لا يوجد	خوخ: F63.1, F65.1	
%6.25	%6.25	%18.75	%68.75

المناقشة

بينت هذه الدراسة وجود بكتيريا التدرن التاجي *Agrobacterium tumefaciens* وانتشارها في المشاتل السورية التي تنتج غراس الأشجار المثمرة كالإجاص واللوز والدراق والخوخ، وارتفاع نسبة الإصابة في الموسم الثاني للدراسة، ربما يعزى ذلك إلى الظروف المناخية التي تسهم بدور كبير في الإصابة وانتشار المرض، ولوحظت إصابة الغراس الصغيرة العمر مقارنة مع الغراس بعمر السنتين وهذا ما أكدته دراسة تقول: إن الأذى يكون على الغراس الصغيرة أكثر من الغراس الأكبر عمراً (Roberts and Boothroyd, 1975). كما لوحظ تباين في نسبة الإصابة بين المشاتل حيث لم تلاحظ الإصابة في مشتل نهج (محافظة درعا) وقد يعزى ذلك إلى وقف إنتاج الغراس في بعض الحقول واستخدام حقول جديدة لم تزرع مسبقاً وغير ملوثة. إن عزل هذه البكتيريا من

الأورام النباتية صعب جداً على الأوساط العامة وذلك لنمو عدد كبير من الأنواع البكتيرية الرمية، لذلك تم العزل على أوساط مغذية انتخابية خاصة بكل طرز حيوي، وقد بدا واضحاً من النسبة المنخفضة 6% للعزلات الممرضة التي عُزلتْ على وسط YPGA مقارنة مع الأوساط الانتخابية وذلك حسب (Brisbane and Kerr, 1983) وللتأكد من انتماء العزلات لبكتيريا التدرن التاجي *Agrobacterium tumefaciens*.

الجدول (6) عدد ونسبة العزلات الممرضة من عوائل نباتية مختلفة على النباتات الدالة

العائل	عدد العزلات الممرضة		
	عباد الشمس	البندورة	عباد الشمس والبندورة
	عدد العزلات/السبة المئوية	عدد العزلات/السبة المئوية	عدد العزلات/السبة المئوية
إجاص	10 / 83.33%	*	2 / 16.67%
لوز	4 / 40%	5 / 50%	1 / 10%
دراق	11 / 57.89%	3 / 15.79%	5 / 26.32%
خوخ	10 / 42.49%	2 / 8.70%	11 / 43.83%

* لا توجد عزلة من عزلات الإجاص تصيب البندورة فقط.

أجريت عملية العدوى الاصطناعية على نباتين دالين هما عباد الشمس والبندورة ونتائج هذه التجربة تؤكد ضرورة استخدام أكثر من نبات دال للتمييز بين العزلات حيث أصابت عزلتان 8.70% من الخوخ البندورة فقط مقابل إحدى عشرة عزلة 47.83% أصابت النباتين معاً، وعزلات الإجاص التي لم تصب البندورة وحدها أبداً وأيضاً عزلات الدراق الثلاث فقط 15.79% التي أصابت البندورة وعلى الخلاف من ذلك نجد عزلات اللوز فقد كانت عزلة واحدة فقط 10% أصابت النباتين معاً كما لوحظ أن معظم العزلات كانت تعدي عباد الشمس وحده بنسبة كبيرة 83.33% لعزلات الإجاص، 57.89% لعزلات الدراق، 43.49% لعزلات الخوخ، والنسبة الدنيا لمعظم العزلات كانت تصيب النباتين معاً، عدا عزلات الخوخ التي حققت أدنى نسبة لها عندما أصابت البندورة وحدها. وربما يفسر ذلك أن معظم العزلات تميل إلى أن تكون ذات مدى عوائلي ضيق وذلك يتحكم به مورثات ترمز على بلاسميد Ti (Knauf *et al.*, 1982).

الجدول (7) النسبة المئوية لانتشار الطرز الحيوية على العوائل النباتية

العائل	عدد العزلات			
	الطرز I	الطرز II	الطرز III	الطرز Intermediate
إجاص	1 / 8.33%	1 / 8.33%	2 / 16.67%	8 / 66.67%
لوز	1 / 10%	-	3 / 30%	6 / 60%
دراق	1 / 2.26%	3 / 15.80%	5 / 26.32%	10 / 52.63%
خوخ	1 / 4.35%	-	2 / 8.70%	20 / 86.96%
المجموع	4 / 6.25%	4 / 6.25%	12 / 18.75%	44 / 68.75%

ملاحظة: قربت الأرقام بعد الفاصلة إلى أقرب رقمين عشريين.

لوحظ من الجدول (8) أن 35 عزلة أصابت نبات عباد الشمس فقط أي بنسبة 54.69%، و10 عزلات أصابت البندورة أي بنسبة 15.63% و19 عزلة أصابت النباتين معاً وذلك بنسبة 29.69% أي أن نسبة كبيرة من العزلات قد أصابت عباد الشمس فقط وذلك لا يتفق مع دراسة قام بها De Cleen and De ley, 1976 والتي تقول: إن 81% من العزلات الممرضة يمكن أن تصيب أكثر من عائل. انتمت معظم العزلات البكتيرية المعزولة من العوائل النباتية المدروسة إلى الفئة المتوسطة intermediate group يليها الطرز Biovar III في المرتبة الثانية في جميع العزلات، في حين يأتي الطرز Biovar I والطرز Biovar II في المرتبة الأخيرة من حيث وجودهما بين العزلات البكتيرية.

الجدول (8) عدد ونسبة العزلات الممرضة التابعة لطرز حيوية مختلفة على النباتات الدالة.

الطرز / عدد العزلات	عباد الشمس %	البندورة %	عباد الشمس والبندورة %
I	50 / 2	*	50 / 2
II	75 / 3	*	25 / 1
III	83.33 / 10	8.33 / 1	8.33 / 1
Intermediate	45.45 / 20	20.45 / 9	34.09 / 15

*: لا توجد عزلات تصيب البندورة فقط.

الجدول (9) يبين نسبة الإصابة بمرض التدرن التاجي في المحافظات المختلفة خلال موسمي الدراسة.

المحافظة / سنة الدراسة	القنيطرة	حماه			حمص	درعا
	إجاص	لوز	خوخ	دراق	كرمة	تفاحيات
2003- 2002	%2	%1	%5	%3	0	0
2004- 2003	%30	%15	%40	%15	0	0
المتوسط	%16	%8	%23	%9	0	0

REFERENCES المراجع

عوض عبد الرحيم. (1992). أمراض النبات البكتيرية. جامعة عمر المختار. ليبيا.

أبو غرة محمود ودوجي زياد. (1996). أمراض النبات البكتيرية. جامعة دمشق.

Al Karablieh, N. and Khlaif, H. (2002). Occurrence and distribution of crown gall disease in Jordan (fruit trees). Phytopathologia-Mediterranea. 41(3): 226-234.

Bouzar, H.; Chilton, W S.; Neseme, X.; Dessaux, Y.; Vaudquin, V.; Petit, A.; Jones, J. B. and Hodge, N. C. (1995). A new *Agrobacterium* strain isolated from aerial tumors on *Ficus benjamina* L. Appl. Envi. Micro. 61(1): 65-73.

Brisbane, P. G. and Kerr, A. (1983). Selective media fod three biobars of *Agrobacterium.* J. of Applied Bacteriology. 54: 425- 431.

Burr, T. J. and Otten, L. (1999). Crown gall of grape: biology and disease management. Annu.Rev.Phytopathology.37: 53- 80.

De Cleene, M. and De Ley, J. (1976). The host range of crown gall. Biotanical Review, 42 (4): 389- 466.

Deng, W.; Chen, L.; Wood, D.; Metcalfe, T.; Liang, X.; Gordon, M.; Comai, L. and Nester, E. (1998). *Agrobacterium* Vir D2 protein interacts with plant host cyclophilins. Microbiology. 95(12): 7040-7045.

Fakhouri, W. D. and Khlaif, H. (1996). Biocontrol of crown gall disease in Jordan. Agricultural Sciences. 33(1): 17- 22.

Gelvin, S. B. (1990). Crown gall disease and hairy root disease. Plant Physiol. 92: 281 -285.

Gelvin, S. B. (2000). *Agrobacterium* and plant genes involved in T-DNA transfer and integration. Annul.Rev. Plant Physiology. Plant Mol. Biol. 51:223 -256.

Hugh, R. and Leifson, E. (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. J. of Bacteriology 66:24 -26.

Knauf, V. C.; Panagopoulos, C. G.; Nester, E. W. (1982). Genetic factors controlling the host range of *Agrobacterium tumefaciens*. Phytobathology 72: 1545 -1549.

Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidas reaction. Nature: 178 -703.

Moore, L. W., Kado, C. I., Bouzar, H. 1988. Agrobacterium. *In*: Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, 2nd ed., ed. Sachaad, N. W., pp. 16 -36. Minneapolis: A.P.S.Press.

Moore, L. W. (1995). Detection of *Agrobacterium* species. *In*: Detection of bacteria in seed and other planting material, 2nd ed., ed. Saettler, A. W., Schaad, N. W., Roth, D.A, pp. 108-115. APS Press Oregon State University Corvalis, Oregon. (USA).

Nester, E. W.; Gordon, P. M.; Amasino, R. and Yanofsky, M. (1984). Crown gall: A Molecular and Physiological Analysis. Ann. Rev. Plant Pathology. 35: 387- 413.

Roberts, D. A. and Boothroyd, C. W. (1975). Fundamental plant pathology. W. H Freeman and combany.pp. 203 -205.

Suslow, T. V.; Schrot, H. M. and Isalca, M. (1982). Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology 72(7):917 -918.

Tarbah, F. A. and Goodman, R. N. (1986). Rapid detection of *Agrobacterium tumefaciens* in grapevine propagation material and the basis for an efficient indexing system. Plant disease.70:566 -559.

Received	**2006/04/06**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2006/05/28**	**قبول البحث للنشر**