

# دراسة أولية حول سل الزيتون (التثأل البكتيري) المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*

## في المغرب

عبد الهادي بن جامع

المعهد الوطني للبحث الزراعي، مختبر علوم البكتيريولوجيا،

مكناس، المغرب

### الملخص

بن جامع، عبد الهادي. 1987. دراسة أولية حول سل الزيتون (التثأل البكتيري) المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* في المغرب. مجلة وقاية النبات العربية 5: 67 - 69

وقد تم اختبار 140 عزلة). جمع اللقاح المستعمل من الأورام فقط ولم يحدث ذلك مطلقاً من الفروع (سطحياً أو من الحزم الوعائية) ولا من الأوراق أو الثمار. لم تصب بالمرض جميع أصناف المجموعة الوطنية المزروعة في المركز الوطني للبحوث الزراعية بمحطة «عين تاوجدات» قرب مكناس، فقد ظهرت أعراض المرض خفيفة على بعض الأصناف في حين كانت أصناف أخرى خالية من الإصابة تماماً. ويمكن الاستفادة من هذه الملاحظات في دراسات مستقبلية.

كلمات مفتاحية: سل الزيتون، التثأل البكتيري، المغرب.

يوجد سل الزيتون المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* في جميع مناطق حوض البحر الأبيض المتوسط والولايات المتحدة والشرق الأوسط. وقد سجل المرض في منطقة مكناس بالمغرب عام 1960، ومنذئذ وسل الزيتون يتم الإبلاغ عنه في جميع أنحاء المملكة المغربية. تم عزل وتعريف العامل المرضي وهو *P. syringae* pv. *savastanoi* وقد ظهر أن البكتيريا المعزولة مختلفة فيما بينها بيوكيميائياً لأربعة طرز (biovars)، ومرضياً عندما حقنت في النبات العائل بتركيز  $10^9$  من الخلايا البكتيرية في الملييلتر الواحد من كل عزلة

### المقدمة

يوجد شجر الزيتون أساساً في جميع أنحاء حوض البحر الأبيض المتوسط ويغطي في المغرب مساحة تقدر بـ 340000 هكتاراً موزعة على مجمل تراب الوطن (1). وهو يمثل 50% من الأشجار المزروعة. من أصناف الزيتون المزروعة نجد أن صنف «Picholine marocaine» يحتل 95% من بقية الأصناف. وقد أصبح هدفاً للكثير من الإصابات الفطرية مثل *Spilocaea oleagina* أو الحشرية مثل *Euphyllura olivina*، *Dacus olea*، *Sesstia olea* أو المتسببة عن البكتيريا *P. syringae* pv. *savastanoi*، العامل المرضي لسل الزيتون (التثأل البكتيري). وقد أعلن عنه منذ القرن الثالث قبل الميلاد (7)، ولم يعزل إلا في القرن التاسع عشر (9).

انتشر المرض كثيراً وعم مختلف دول حوض البحر الأبيض المتوسط (جنوب أوروبا وشمال إفريقيا والشرق الأوسط) والولايات المتحدة (كاليفورنيا). أما فيما يتعلق بالمغرب فلم يعلن عن هذا المرض إلا في عام 1960 وذلك في منطقة مكناس (8). وفي الوقت الراهن فإن جل مناطق الزيتون بالبلد مصابة به. وأمام هذه الآفة، فإن من المفروض باديء ذي بدء دراسة مسبب المرض للتعرف عليه، يلي ذلك القيام بحصر الأصناف المصابة وغير المصابة في الحقول بهدف اختيار الأصناف

المقاومة. وقد أنجزت هذه الأعمال في سنتي 1984 و 1985.

### مواد وطرق البحث

(1) أماكن التجول: بساتين الزيتون بالمحطة التجريبية لعين تاوجدات، بالمعهد الوطني للبحث الزراعي بمكناس.

(2) عزل وتعريف العامل المسبب:

العزل: انطلاقاً من الأورام البكتيرية الحديثة ومن الطعم البيئية المكونة من مستخلص الخميرة (levure): 5 غم، بيبتون (peptone): 5 غم، سكر غلوكوز (Glucose): 7 غم، أغار (Agar): 20 غم في اللتر الواحد من الماء المقطر.

تعريف العامل المسبب: بواسطة

أ - Fluorescence (3)

ب - مجموعة Lopat:

- Levane المكون من مستخلص الخميرة (Levure) (3 غم)  
وبيبتون بكتيري (Bactopeptone) (5 غم) وسكر القصب (Saccharose) (50 غم) وأغار (Agar) (20 غم) في لتر واحد من الماء المقطر.

- oxydase (NN dimethylphenylen diamine oxalate) (4)

- Peptine (التحليل على البطاطس).

- Arginine (10)

(3) اختبارات استعمال السكريات : Inositol, Glucose, Aesculine, Erythritol, DL Lactate, L (+) Tartrate Mannose, Mannitol, Sorbitol, وكلها بنسبة 1%. أجريت هذه الاختبارات باستعمال البيئة الأصلية لـ Ayers ومساعدته (2).

(4) الصنف الدال على أحداث العدوى الصناعية: تم اختيار الصنف ميسلالا (Meslala) لدراسة أحداث العدوى الصناعية. حيث بلل شيء من القطن بالمعلق البكتيري (bacterial suspension) ووضع في جرح أحدث على فرع زيتون، أعد لهذا الغرض، بواسطة موسى صغيرة. وغطي الجميع بغشاء خاص (Parafilm) لمدة 3 أيام فقط. واستمر أخذ القراءات والنتائج مدة شهرين.

### النتائج والمناقشة

(1) حصر المرض في مجموعة أصناف الزيتون المغروسة بالمحطة التجريبية للمعهد الوطني للبحث الزراعي بمكناس: تضم هذه المجموعة 120 صنفاً مصدرها عدد من الدول (إيطالية، إسبانية، البرتغال، الولايات المتحدة الأمريكية، فرنسا وشمال إفريقية) والمزروعة سنة 1951.

فمن بين الأصناف المصابة نجد Frantoi و Moraillo (إيطالية)، Bouchouk (الجزائر)، Meslala و Ronde de Menara و Picholine Marocaine (المغرب) وهذا الصنف الأخير المزروع بنحو 95% بالمغرب مصاب بقدر ضئيل جداً يناهز 2%. ومن الأصناف غير المصابة نجد Ascolana (إيطالية) و Manzanille و Gordale (إسبانية) و Mission (الولايات المتحدة الأمريكية)، و Zitoun و Zerhoun (المغرب) و Sigoise (الجزائر) و Zarazi (تونس).

ومما يلفت النظر، رغم أن هذه المجموعة الزيتونية مزروعة في محطة واحدة، فإن صنف ميسلالا «Meslala» هو الوحيد المصاب بالمرض بنسبة 100%. ويكون بذلك المصدر الأول للمرض. بيد أن الأصناف السليمة تظهر نوعاً من التحمل أو المقاومة للمرض في الظروف الطبيعية هذه.

(2) عزل وتعريف العامل المسبب للمرض: تأكد لنا بعد اختبارات عزل العامل الممرض من الفروع والبراعم والأوراق ومن الأورام أن المسكن الوحيد للجراثيم هو الأورام. ويوجد أساساً في نقطة التقاء الورم بالفرع وعلى الورم ذاته. وعليه فإن الورم هو المصدر الرئيسي للجراثيم البكتيري وهو بالتالي أصل انتشاره بل وبقائه لأنه عزل من الورم حتى في فترات الحرارة المرتفعة (درجة الحرارة بين 37°م و 40°م).

تجاوبت البكتيريا المعزولة مع الخصائص الأولية لـ Pseudomonas fluorescent مجموعة I تبعاً لنموذج LELLIOT (6) أي (T +, A -, P -, O -, L +) (جدول 1) وأظهرت الاختبارات البيوكيميائية التي أجريت على البكتيريا

المعزولة أن خصائصها تتفق مع خصائص Pseudomonas syringae pv. savastanoi غير أن تفاعلها مع Levane و Inositol (تارة إيجابي وتارة سلبي) يوحي بوجود أربع فصائل (أو مجموعات) داخل هذه السلالات، (جدول 2) الشيء الذي يدفعنا إلى القول بوجود اختلاف في الطبع بيوكيميائياً داخل سلالات Pseudomonas syringae pv. savastanoi المغربية. وهذا ما أكدته دراسة أحداث المرض بالعدوى الصناعية.

جدول 1. تحليلات بيوكيميائية أولية لـ Pseudomonas syringae pv. savastanoi المستخلص من الزيتون بالمغرب.

Table 1. Preliminary biochemical tests of P. syringae pv. savastanoi isolated from the Moroccan olive trees.

التحليلات الأولية البيوكيميائية					مجموعة ليلوت Lelliot group
Primary biochemical tests					
عدد العزلات No. of isolates	F	L	O	P A T	
140	+	v	-	- - - +	Pseudomonas Ib

(- تفاعل سلبي (Negative reaction) و + تفاعل إيجابي (Positive reaction) reaction) (v تفاعل سلبي - إيجابي (Variable reaction).

جدول 2. الاختبارات البيوكيميائية الفصلية Pseudomonas syringae pv. savastanoi المعزولة من الزيتون بالمغرب.

Table 2. Biochemical additional tests of P. syringae pv. savastanoi isolated from the Moroccan olive trees.

العامل الممرض Name of pathogen	النسبة المئوية لعدد السلالات				اختبارات تفاعل السكريات Sugar test reaction
	3%	4%	33%	60%	
P. syringae pv. savastanoi	+	+	-	-	
Aesculine	-	-	-	-	
Erythritol	-	-	-	-	
DL Lactate	-	-	-	-	
Glucose	-	-	-	-	
Sorbitol	-	-	-	-	
L (+) tartrate	-	-	-	-	
Malonate	-	-	-	-	
Mannose	-	-	-	-	
Mannitol	-	-	-	-	
Biovar (B)	B <sup>1</sup>	B <sup>2</sup>	B <sup>3</sup>	B <sup>4</sup>	
(ط) طراز	ط <sup>1</sup>	ط <sup>2</sup>	ط <sup>3</sup>	ط <sup>4</sup>	

(- تفاعل سلبي (Negative reaction) و + تفاعل إيجابي (Positive reaction) reaction).

مصدر المرض في صنف «ميسلالا» «Meslala» الأمر الذي يوحي بأن الأصناف الموجودة تمتاز على أقل تقدير بنوع من مقاومة المرض.

أما تأثير المرض وتقييم درجة خطورته وكذا درجة حساسية شجر الزيتون له فهو في طريق البحث.

#### شكر وتقدير

نشكر مدير المعهد الوطني للبحث الزراعي على تشجيعه ومساعداته للقيام بهذا البحث، كما نشكر الأخوة الفنيين بالمحطة التجريبية لعين تاوجدات على مساعدتهم. وأخيراً نود أن نشكر السيد حسن أشباني على ترجمته لهذا المقال كما نشكر الأنسة سميرة المقرري على المجهود الذي بذلته في طباعته.

(3) إحداث المرض: أظهرت جميع السلالات المضرة قدرتها على إحداث مرض سل الزيتون (التألل البكتيري) في شجيرات الزيتون الملقحة. وقد أمكن لنا مشاهدة أعراض المرض ابتداء من 12 يوماً بعد التلقيح عند بعض السلالات أو أكثر من ذلك حتى 50 يوماً عند البعض الآخر الأمر الذي أكد لنا نتائج الاختبارات البيوكيميائية.

إن مرض سل الزيتون (التألل البكتيري) متوطن في المغرب منذ سنين طويلة. ولقد تم عزل وتعريف العامل الممرض في الوقت الراهن. يستقر العامل المرضي خصوصاً داخل الأورام، وتتميز سلالاته باختلاف في السلوك. ولهذا يجب أن يؤخذ هذا الاختلاف بعين الاعتبار في البحوث القادمة. معظم أصناف الزيتون الموجودة بالمحطة التجريبية لعين تاوجدات التابعة للمعهد الوطني للبحث الزراعي لم تصب بأذى رغم وجود

#### Abstract

Benjama, A.. Preliminary studies on olive knot caused by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* in Morocco. Arab J. Pl. Prot. 5: 67 - 69.

Olive knot caused by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* occurs in all the Mediterranean basin, United States and Middle East. In Morocco, the disease was reported in 1960 in the Meknes region. Since then, olive knot is reported to occur in all areas of Morocco.

The pathogen has been isolated and identified as *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. The bacterial population appears to be heterogenous biochemically (4 biovars) and pathogenically when inoculated artificially to host at the con-

centration of  $10^9$  bacterial cells/ml per isolate (140 isolates were tested). The inoculum used was obtained from the tumors and never from twigs (external or vascular), leaves or fruits. Not all the varieties in the national collection planted at the I.N.R.A. station of Ain Taoujdate near Meknes were infected. Some varieties produced less symptoms, and others were completely immune. This observation is to be exploited in future studies.

**Additional key words:** olive, bacterial knot, Morocco.

#### References

1. Anonyme, 1984. Situation actuelle de l'Oleiculture au Maroc par le Ministère de l'Agriculture et de la Réforme Agraire. Olivae 3: 18 - 21.
2. Ayers, S.H., P. Rupp and W.T. Johnson. 1919. Study of the alkali forming bacteria in milk. US. Depart. Agro. Bull. 782.
3. King, E.O., M.K. Ward and D.E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. J. of Lab. and Clin. Med. 44: 301 - 307.
4. Kovacs., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxydase reaction. Nature 178 - 703.
5. Klement, Z..1963. Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonas*. Nature 199: 299 - 300.
6. Lilliot, R.A., E. Billing and A.C. Hayward. 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant

pathogenic *Pseudomonas*. J. Applied Bacteriol. 29: 470 - 489.

7. Pyrowolakis, E., and H.C. Weltzien. 1974. Studies on the distribution of olive knot induced by *Pseudomonas savastanoi* (Smith-Stev) in the Greek island of Crete. Phytopathol. Mediterr. 12 - 13: 118 - 120.
8. Rieuf, P., 1960. Organismes pathogènes et saprophytiques des plantes au Maroc. Les Cahiers de la Recherche Agronomique. Direction de la Recherche Agronomique. Rabat, Maroc 9: 309.
9. Savastano, L.. 1886. Les maladies de l'olivier et la tuberculose en particulier. Compt. Ren. Acad. Sci. (Paris) 103: 1278 - 1281.
10. Thornley, M.J.. 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other gram (-) bacteria on the basis of arginine metabolism. J. Applied Bacteriol. 23: 37 - 52.

#### المراجع