

مسح حقلي لمرض سل الزيتون المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* على الرمان في بعض المناطق الساحلية واختبار قابلية الإصابة لبعض الأصناف المزروعة

لارا صلاح مسلم^{1*} و إبراهيم خضر العبيد¹



¹ قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة اللاذقية، سورية.

(*للمراسلة: لارا مسلم، البريد الإلكتروني: laramsallem616@gmail.com ، هاتف: +963968783516)

تاريخ الاستلام: 2025 / 2 / 8 تاريخ القبول: 2025 / 8 / 3

الملخص

يعد مرض سل الزيتون الذي تسببه بكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* من الأمراض التي تصيب أشجار الرمان في بعض دول حوض البحر المتوسط، لذلك هدف البحث إلى دراسة انتشار المرض في بعض المناطق الساحلية التي تُزرع فيها أشجار الرمان وتحديد نسبة الإصابة وشدها. أُجري المسح الحقلي خلال عامي 2023 و 4202، لأربعة وعشرين حقلاً من الرمان في محافظتي اللاذقية وطرطوس في الساحل السوري. بينت النتائج انتشار المرض بنسبة 70.83%، إذ ظهر المرض في 17 حقلاً، بينما لم يسجل في بقية الحقول، وقد سجل المرض في كلتا محافظتي اللاذقية وطرطوس بنسبة 21.5% و 20.77% على الترتيب، وتباينت نسب الإصابة ضمن المحافظة ما بين منطقة وأخرى، فقد سجلت أعلى نسبة للإصابة في الهنادي 52%، بينما لم يلاحظ وجود المرض في كل من الدروقية وبعمره، وتباينت قابلية الأصناف المختبرة للإصابة ببكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*، إذ أبدى الصنف الفرنسي أكبر قابلية للإصابة، بينما كان الصنف الحلو أقل الأصناف قابلية للإصابة. من ناحية أخرى، بينت نتائج العدوى المتصالبة قدرة عزلة الرمان على إصابة الزيتون، وعزلة الزيتون على إصابة الرمان، مما يؤكد بأن المسبب المرضي واحد لكلا نوعي الأشجار، وأن الرمان أحد العوائل التي تهاجمها البكتيريا إلى جانب الزيتون، مع ملاحظة ظهور الأعراض في الزيتون بشكل أسرع منه في الرمان.

الكلمات المفتاحية: سل الرمان، تدرن، نسبة وشدة الإصابة، *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

المقدمة:

يُعدّ الرمان *Punica granatum* L. التابع للفصيلة Punicaceae من أشجار الفاكهة المهمة التي تزرع في عدد من دول العالم، إذ بلغت المساحة المزروعة لعام 2023 أكثر من 300000 هكتاراً أنتجت حوالي 8.1 مليون طن من الثمار، وتأتي الهند والصين وإيران وتركيا في مقدمة الدول المنتجة للرمان في العالم (Reza et al., 2023). تمتاز الثمار بقيمتها الغذائية العالية فهي تحتوي العديد من المركبات النشطة حيويًا، كما يعد محصولاً اقتصادياً هاماً للتصدير، وتستخدم أزهاره في الزينة (Seeram et al., 2006). يعتقد أن الموطن الأصلي للرمان إيران أو آسيا الوسطى، وقد انتشرت زراعته شرقاً وغرباً إلى المناطق الحارة والجافة في الهند وآسيا الصغرى وساحل المتوسط (Jurenka, 2008)، وتعد سورية أحد أهم البلدان العربية التي اهتمت بزراعة الرمان نظراً لأهميته الغذائية

والتجارية، إذ بلغت المساحة المزروعة لعام (2023) 6930 هكتاراً أعطت 92838 طناً بإنتاجية 13.4 طن/ هـ وقد بلغ عدد الأشجار الكلية 4038400 شجرة، والمنتجة منها فقط 3645100 شجرة، يزرع الرمان في العديد من المحافظات السورية وتعد محافظة درعا الأولى من حيث الإنتاج، إذ أنتجت في العام (2023) 21500 طناً، تلتها حلب فادلب ثم اللاذقية وطرطوس بإنتاج بلغ 17886، و16048، و12805، و10475 طناً على التوالي (المجموعة الإحصائية الزراعية السورية، 2023).

يُعد مرض سل الزيتون من الأمراض البكتيرية المهمة التي تصيب الرمان، تسببه البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Bozkurt et al., 2014) (Pss). وقد بين العديد من الدراسات أن البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* المسببة لمرض سل الزيتون هي ذاتها التي تسبب مرض سل الرمان، ويوجد مضيفات أخرى لها ومنها الآس (الريحان) (أبو غرة، 2004)، والدفلة (عيسى، 2010). ينتشر المرض في سورية في المناطق الرطبة وشبه الرطبة في الساحل السوري في محافظتي طرطوس واللاذقية وفي المناطق الداخلية في محافظتي حماه وحمص، وفي المناطق الشمالية الغربية من محافظة إدلب ونادراً ما ينتشر في المناطق الشرقية في محافظات الرقة والحسكة ودير الزور بسبب ارتفاع درجات الحرارة التي تمنع نمو البكتيريا وتطورها، وتخفض نسبة الإصابة بالمرض في المناطق الجنوبية في محافظتي درعا والسويداء، تتراوح نسبة الإصابة بين 7-90% وكان للسنف المزروع والعامل الجغرافي للموقع أهمية كبيرة في انتشار المرض، حيث ازداد انتشار المرض مع ازدياد ارتفاع الموقع عن سطح البحر وتتغير المساحات وعدد الأشجار المصابة بتغير الظروف المناخية (عيسى، 2010). تظهر أعراض المرض على شكل تدرنات على ساق وأفرع وأغصان الرمان، وتكون هذه التدرنات مفردة أو متجمعة، وغالباً ما لوحظت ككتلة واحدة يمكن أن تمتد حتى 10 cm على طول الساق (Young, 2004). تراوحت الأعراض بين انتفاخات صغيرة وتدرنات خضراء ملساء كروية يزداد حجمها (يمكن أن يصل قطرها إلى 3 cm) أثناء النمو. تبدو الإصابات القديمة بمظهر داكن أكثر وأكثر تجعداً بالمقارنة مع الإصابات الحديثة وتكون أغلب التدرنات غير بارزة وتظهر بشكل حزام حول الفروع (Bozkurt et al., 2014). تعد الثاليل التي توجد على أفرع الأشجار المصابة أهم مصدر من مصادر العدوى لاحتوائها من الداخل على تجايف مليئة بالبكتيريا والتي تخرج على سطحها الخارجي بشكل قطرات صغيرة كريمية اللون إذا توفر غشاء مائي عليها نتيجة تشكل قطرات الندى أو هطول الأمطار، ويكفي وجود غشاء مائي لمدة 7 دقائق فقط حتى تخرج البكتيريا إلى سطح الأورام الخارجية، كذلك تمتلك البكتيريا طوراً خارجياً (epiphytic) على الأوراق والأغصان وتتحول للشكل الممرض عندما تسمح لها الجروح بالدخول إلى أنسجة النبات وتشكّب عندئذ الطور الداخلي (endophytic) (Buonauro et al., 2015)، أثبت Krid وآخرون عام (2010) أن البكتيريا المسببة لمرض سل الزيتون قادرة على البقاء ضمن الأوعية الخشبية دون أن تبدي أي أعراض ظاهرية يدل على وجود المرض.

يتم اتباع طرائق ووسائل مختلفة في سبيل الوقاية من المرض مثل استخدام مركبات النحاس، إذ أظهرت دراسة، فعالية أوكسي كلور النحاس وكبريتات النحاس الثنائية cupric sulphate بالإضافة إلى المانكوزيب في تقليل الإصابة بالمرض (Ramos et al., 2012). وأشارت دراسات أخرى إلى فاعلية المكافحة الحيوية، حيث استخدمت سلالات من بكتيريا *Bacillus subtilis* في مكافحة المرض (Krid et al., 2012)، وأظهرت دراسة أخرى فعالية باكتيريوسينات معينة (بروتينات تنتجها سلالات من البكتيريا وتكون فعالة ضد سلالات قريبة من نفس النوع) في تثبيط تضاعف بكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*، وتقليل حجم التدرنات المتشكلة (Lavermicocca et al., 2002). كما أكد العديد من الدراسات فاعلية مستخلصات بعض النباتات في

مكافحة الأمراض البكتيرية، إذ أظهرت الزيوت الأساسية المستخلصة من الزعتر والمردكوش وإكليل الجبل فعالية ضد البكتيريا *Pss*، وبلغت نسب تثبيط العامل الممرض 56.26%، و50%، و37.50% على التوالي (Bouaichi et al., 2015).

وأبدت مستخلصات أوراق الفستق الحلبي والشوح تأثيراً مضاداً للبكتيريا *Pss* وأنواع بكتيرية وفطرية أخرى (Rhouma et al., 2009)، وأظهرت دراسة حديثة باستخدام مستخلصات من مياه الزيتون الناتجة عن المعاصر نشاطاً مضاداً لبكتيريا *PSS* كونها مقواة بالهاييدروكسي تيروزول (Caracciolo et al., 2019).

تأتي أهمية البحث من أهمية الناحية الاقتصادية والغذائية والطبية لشجرة الرمان ومن أهمية مرض سل الزيتون وانتشاره بشكل خاص في محافظتي طرطوس واللاذقية حيث يعد من أهم الأمراض البكتيرية التي تسبب ضرراً كبيراً للأشجار المصابة، وخسائر اقتصادية كبيرة، ونظراً لقلة الدراسات حول مرض سل الزيتون المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* على الرمان في سورية، فقد هدف هذا البحث إلى، دراسة أنتشار مرض سل الرمان في محافظتي اللاذقية وطرطوس، وتعريف مسببه المرضي واختبار قابلية أهم أصناف الرمان المزروعة للإصابة بالمرض، ودراسة العدوى المتصالبة للمسبب المرضي ما بين الزيتون والرمان.

مواد البحث وطرقه:

موقع تنفيذ البحث: نفذ البحث في البيت البلاستيكي (مشتل الجامعة) ومخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية - قسم وقاية النبات بكلية الهندسة الزراعة - جامعة اللاذقية.

المادة النباتية: استخدمت ثلاثة أصناف من الرمان بعمر السنتين (الفرنسي والحلو، والحامض)، وصنف الزيتون خضيري بعمر السنتين مأخوذة من أحد المشاتل الخاصة القريبة من جامعة اللاذقية.

المسح الحقل: أجري المسح الحقل في الربيع خلال شهري آذار ونيسان وفي الخريف خلال شهري أيلول وتشرين الأول خلال عامي 2023-2024 وفق استمارة مصممة لهذا الغرض تضمنت معلومات عامة عن المنطقة، والقرية، وعدد الأشجار في الحقل وعمرها.

شمل المسح مناطق مختلفة من محافظتي طرطوس واللاذقية كما موضح في الجدول (2)، وخلال المسح عدت الدرنات المتشكلة على أربع أفرع عشوائية بعمر 1 سنة وبطول 30 سم من كل شجرة ظهرت عليها أعراض الإصابة، وحسبت نسبة الإصابة وفق المعادلة:

$$\text{نسبة الإصابة\%} = \left(\frac{\text{عدد الأشجار المصابة}}{\text{عدد الأشجار الكلي}} \right) \times 100 \text{ (Tchymakov, 1974)}$$

ثم حسبت شدة الإصابة من خلال جمع عدد الدرنات المتشكلة على أربع أفرع عشوائية بعمر 1 سنة وبطول 30 سم من كل شجرة مصابة ووضع سلم لتقييم درجة الإصابة حيث اعتمد السلم على عدد الدرنات لتحديد درجة الإصابة (Pyrowolakiss and Weltzen, 1974) وفق ما يلي:

- 0- لا توجد إصابة
- 1- مجموع عدد الدرنات يتراوح من 1-6 درنات

- 2- مجموع عدد الرنات يتراوح من 7-12 درنة
- 3- مجموع عدد الدرنات يتراوح من 14-18 درنة
- 4- مجموع عدد الدرنات يتراوح من 19-24 درنة
- 5- مجموع عدد الدرنات يتراوح من 25-30 درنة
- 6- مجموع عدد الدرنات يتراوح من 31-36 درنة
- 7- مجموع عدد الدرنات يتراوح من 37-42 درنة
- 8- مجموع عدد الدرنات يتراوح من 43-48 درنة
- 9- مجموع عدد الدرنات أكثر من 48

كما حسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة في الحقل بعد تقدير درجة الإصابة للأشجار المصابة وفق المعادلة:

$$\text{شدة الإصابة الحقلية \%} = \left[\frac{\text{مجموع مضاريب عدد الأشجار المصابة بالدرجة الموافقة من السلم}}{\text{عدد الأشجار الكلي}} \times \text{أعلى درجة في السلم وهي } 9 \times 100 \right] \text{ (Song et al., 2004)}$$

وحسب متوسط نسبة الإصابة وشدها للموقع بعد حساب نسبة الإصابة وشدها لثلاثة حقول من كل موقع (وكان متوسط عدد أشجار 20 شجرة لكل حقل) بطريقة الزكزاك. جمع خلال المسح الحقلية تدرنات من أشجار الرمان المصابة ومن المضيف الرئيسي الزيتون، وأعطى رقم لكل عينة ووضعت في أكياس البولي إيثيلين وسجلت بيانات المسح الخاصة بالعينة، نقلت العينات إلى مخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية في كلية الهندسة الزراعية بجامعة اللاذقية لإجراء عمليات العزل والتعريف.

عزل البكتيريا المسببة للمرض: عزلت البكتيريا الممرضة من تدرنات طرية حديثة تم الحصول عليها أثناء المسح الحقلية لحقول الرمان، حيث قطعت إلى قطع صغيرة بعد أن تم تعقيم أدوات العمل مسبقاً، ثم غسلت التدرنات بالماء المقطر والمعقم ونشفت ثم نقلت إلى جفنة وهاون بورسلان معقمين من أجل عملية الهرس، تم إضافة هيبوكلووريد الصوديوم تركيز (2.5%) لمدة 3 دقائق، ثم إضافة كحول (70%) لمدة دقيقة ثم الغسل بماء مقطر معقم عدة مرات للتخلص من الكحول.

هرست العينة في الهاون بعد إضافة كمية مناسبة من الماء المقطر والمعقم حتى تنفقت بالكامل، تركت بعدها لمدة 10 دقائق، ثم أخذ جزء من المعلق البكتيري بواسطة إبرة تلقيح معقمة ووضع على البيئة الغذائية الصلبة (NA) Nutrient Agar (5 غ بيبتون، 5 غ كلوريد الصوديوم، 1.5 غ مستخلص لحم العجل، 1.5 غ مستخلص الخميرة، 15 غ أغار) وهي بيئة عامة للبكتيريا كما أخذ جزء من التدرن إلى طبق بتري آخر أيضاً يحوي بيئة NA. حضنت الأطباق على درجة حرارة $28 \pm 2^\circ \text{C}$ حتى ظهور النمو البكتيرية، ثم أخذ جزء من هذه النماوات البكتيرية ونقلت إلى أطباق جديدة وحضنت في نفس الشروط، كررت العملية حتى الحصول على مستعمرات نقية.

تم الحصول على عزلة الزيتون Z من قرية المنزلة في منطقة بانيس والتي عزلت من التدرنات الطرية بنفس الطريقة التي عزلت فيها البكتيريا من عينات الرمان.

الصفات المزرعية والاختبارات البيوكيميائية:

عرفت العزلات البكتيرية للرمان وعزلة الزيتون عن طريق الصفات المزرعية مثل لون المستعمرة البكتيرية وشكلها وحوافها، والاختبارات البيوكيميائية واختبار القدرة الأمراضية، وشملت الاختبارات البيوكيميائية (صبغة غرام) (Paray et al., 2023)، واختبار التنفس

(العبد الله وأبو غرة، 2019)، وتشكل اللوفان (Lelliot *et al.*, 1966)، وتحلل البكتين (Klement and Rudolph, 1990)، والكاتالاز (Reiner, 2016)، والأوكسيداز (Kovacs, 1956)، وفرط الحساسية على التبغ (Schaad *et al.*, 2001)، وإنتاج صبغات وميضية على بيئة King⁷ B (King *et al.*, 1954).

اختبار القدرة الإراضية:

أجري اختبار القدرة الإراضية نصف حلقياً لثلاث عزلات بكتيرية HN1، وMR2، وRS3 والتي تم الحصول عليها من مواقع الهنادي¹، والمريقب²، والسرسكية³ على الترتيب، حيث كان المرض أكثر انتشاراً في هذه المناطق، حيث حضر اللقاح البكتيري باستخدام بيئة غذائية سائلة Nutrient broth، ووضع في زجاجات خاصة بتمية البكتيريا BIOGEN سعة 2 لتر تسمح بالتحريك وتأمين التهوية الملائمة للنمو، استخدمت وحدة تنمية لكل عزلة بكتيرية. تم لقحت البيئة السائلة بالعزلات بعد تنشيطها للحصول على مستعمرات حديثة، وضعت على هزاز بسرعة 100 دورة بالدقيقة وحضنت على درجة حرارة 28 ± 2 °C لمدة 48 ساعة، واستخدم جهاز المطياف الضوئي عند طول موجة 600 نانومتر OD₆₀₀ لتقدير تركيز البكتيريا وضبطها في المعلق وفق التركيز المطلوب 10^8 cfu/ml و استخدم الصنف الفرنسي حيث لوحظ أنه الصنف الأكثر قابلية للإصابة بالمرض من خلال الجولات الحقلية التي تم القيام بها وذلك بحقن أفرع وسوق الغراس (ساق وفرعين لكل غرسة) التي كانت بعمر سنتين بكمية 500 ميكرو من معلق بكتيري تركيزه 10^8 cfu/ml باستخدام محقن طبي معقم على جروح أجريت بواسطة مشروط معقم بمعدل 10 جروح لكل عزلة بينما حقن الشاهد بالماء المقطر والمعقم فقط، ثم غطيت الجروح بالبارافيلم لمدة ثلاثة أيام، تم تغطية الغراس بأكياس البولي إيثيلين لمدة 48 ساعة، حضنت الغراس في بيت محمي $40 \times 9.25 \times 2.5$ متر، تم مراقبة العزلات التي أدت إلى تشكل درنات حيث أخذت النتائج بعد ثلاثة أشهر قيمت شدة الإصابة وفق سلم التقييس سابق الذكر، واعتبرت العزلة الأكثر شراسة هي التي تعطي أكبر عدد من التدرنات.

تقييم قابلية أصناف الرمان للإصابة:

قيمت قابلية أصناف الرمان للإصابة بالمرض بقياس عدد الدرنات المتشكلة عند كل صنف مختبر، استخدمت العزلة الأكثر شراسة لتقييم قابلية الإصابة لثلاثة أصناف من الرمان (الفرنسي والحو والحامض) كونها أكثر الأصناف انتشاراً في المنطقة، حيث أجريت العدوى خلال شهر أيار من عام 2024 على غراس بعمر السنتين بإجراء جروح بواسطة مشروط معقم، وضع على كل جرح 500 ميكرو من المعلق البكتيري بمعدل 3 مكررات (غرسة) من كل صنف، شمل المكرر 10 جروح، حقن الشاهد من كل صنف بماء مقطر ومعقم فقط. أخذت القراءات بعد 3 شهور من إجراء العدوى حيث سجل عدد التدرنات المتشكلة باستخدام سلم التقييس سابق الذكر.

تجربة العدوى المتصالبة على الرمان والزيتون:

استخدمت عزلة الرمان الأكثر شراسة (RS3) والتي تم اختيارها بعد اختبار القدرة الإراضية وعزلة الزيتون (Z)، وأجريت العدوى الاصطناعية على المضيفين الرمان والزيتون، على غراس بعمر السنتين وذلك بعمل 10 جروح على كل مضيف من كل عزلة باستخدام مشروط معقم، وضع على كل جرح 500 ميكرو من المعلق البكتيري بتركيز 10^8 cfu/ml محضر من مستعمرة بعمر 24 ساعة، أجريت العدوى خلال شهر أيار من عام 2024، سجلت النتائج بعد 3 شهور وذلك بمشاهدة تشكل أو عدم تشكل الدرنات.

تصميم التجربة:

نفذت تجربة القدرة الامراضية باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، وتجربة اختبار الأصناف باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بثلاثة مكررات وبمعدل ثلاث غراس للمكرر الواحد وتضمنت معاملة جميع الأصناف المختبرة (رمان حامض ورمان حلو والصنف الفرنسي)، بالعزلة الأثرس RS3، فيما عوملت نفس الأصناف بالماء (كشاهد للمقارنة) 0

التحليل الاحصائي:

حللت النتائج احصائياً باستخدام برنامج Costat وقورنت المتوسطات الحسابية باستخدام اختبار أقل فرق معنوي عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة:**نتائج المسح الحقلية:**

بينت النتائج (جدول 1) انتشار مرض سل الزيتون على الرمان في محافظتي طرطوس واللاذقية، إذ ظهر في 17 حقلاً من أصل 24 حقلاً شملها البحث اي ما يشكل 70.83%، وقد تباينت نسب الاصابة وشدها ما بين منطقة وأخرى ضمن المحافظة الواحدة ففي اللاذقية تراوحت نسب الإصابة ما بين 2.5% في موقع زغرين و52% في موقع الهنادي فيما لم تظهر الإصابة في بعض المواقع، وكان متوسط نسبة الاصابة في المحافظة 21.5%، بينما تراوحت شدة الاصابة وفقاً لسلم التقييس المعتمد ما بين 0.5% - 7.4%، بمتوسط 3.35%، وقد يعود هذا التباين إلى الصنف المزروع، وعمر الأشجار، وشراسة العزلات، والظروف البيئية، بينما تراوحت في محافظة طرطوس ما بين 20% في موقع بعمرائل و50% في عدة مواقع فيما لم تظهر الإصابة في بعض المواقع، وكان متوسط نسبة الإصابة في المحافظة 20.77% بينما تراوحت شدة الإصابة وفقاً لسلم التقييس المعتمد ما بين 0.5% - 16.5%، بمتوسط 3.88% كما في الجدول رقم (1)، قد يعود الاختلاف في نسبة وشدة الإصابة إلى قدرة البكتيريا الممرضة على الانتشار عن طريق رذاذ المطر أو الرياح وأيضاً عمليات الخدمة المختلفة كالتقليم، كما أن الرطوبة تلعب دور مهم في انتقال الإصابة (Teviotdale et al., 2004)، وقد يعزى الاختلاف بين المحافظات إلى الارتفاع عن سطح البحر وقرب أشجار الزيتون من أشجار الرمان وعمر الأشجار وأيضاً الصنف المزروع.

الصفات المزرعية:

تبين لدينا بعد جمع العينات وعزل البكتيريا من الأجزاء النباتية المصابة وزرعها على بيئة الأغار المغذي NA (Nutrient Agar) أن البكتيريا تشكل مستعمرات مجمدة ونادراً ما تكون ملساء، ذات لون أبيض رمادي، وتتفق هذه الصفات مع (Bozkurt et al., 2014) و (عيسى، 2010).

الاختبارات البيوكيميائية:

بينت الاختبارات أن البكتيريا سالبة غرام، ذات شكل عصوي، هوائية، موجبة لاختبار الكاتلاز ولاختبار وفراط الحساسية على التبغ وسالبة لاختبارات اللوفان والبكتين والأوكسيداز، وتتفق نتائج الاختبارات البيوكيميائية لهذه الدراسة مع نتائج دراسات سابقة (Bozkurt et al., 2014) و (عيسى، 2010) كما في الجدول (3).

الجدول (1): انتشار مرض سل الزيتون على الرمان في محافظتي اللاذقية وطرطوس خلال عامي 2023-2024

المحافظة	المنطقة	الموقع	متوسط نسبة الإصابة %	متوسط شدة الإصابة %
اللاذقية	اللاذقية	فديو	27	4.1
اللاذقية	اللاذقية	الهنادي	52	6.6
اللاذقية	اللاذقية	السرسكية	34.3	7.4
اللاذقية	اللاذقية	زغرين	2.5	0.5
اللاذقية	اللاذقية	وادي قنديل	15.5	0.92
اللاذقية	اللاذقية	الحراجية	10	4.4
اللاذقية	اللاذقية	بللوران	30	7
اللاذقية	اللاذقية	الدروقية	0	0
اللاذقية	جبله	سيانو	20	3
اللاذقية	جبله	دوير الخطيب	30	4
اللاذقية	جبله	بسيين	29	4
اللاذقية	جبله	عين شفاق	10	1
متوسط محافظة اللاذقية			21.5^a	3.35^a
طرطوس	الشيخ بدر	مربق	50	11.5
طرطوس	صافيتا	السيستية	0	0
طرطوس	صافيتا	بعمرة	0	0
طرطوس	طرطوس	الموشة	0	0
طرطوس	طرطوس	صايا	0	0
طرطوس	طرطوس	متن أبو ريا	50	15
طرطوس	طرطوس	المتن	0	0
طرطوس	بانياس	المنزلة	0	0
طرطوس	بانياس	الضهيره	50	0.5
طرطوس	بانياس	العصيبة	50	5
طرطوس	بانياس	خرية السناسل	50	16.5
طرطوس	بانياس	بعمرائيل	20	2
متوسط محافظة طرطوس			20.77^b	2.88^b
المتوسط العام			0.49	0.36

الجدول (3): نتائج الاختبارات البيوكيميائية للبكتيريا الممرضة *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

العزلة	صبغة غرام	التنفس	تشكل اللوفان	تحلل البكتين	الكاتالاز	الأوكسيداز	إنتاج صبغات وميضية على بيئة King B	فرط الحساسية على التبيغ
1	-	+	-	-	+	-	+	+
2	-	+	-	-	+	-	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+	+

نتائج اختبار القدرة الإمراضية:

تبين بعد اختبار شراسة العزلات البكتيرية الثلاث أن العزلة (RS3) كانت الأكثر شراسة، وتطابقت مواصفات هذه العزلات مع

مواصفات البكتيريا المسببة للمرض، حيث أدت إلى ظهور الأعراض بشكل واضح على غراس الرمان المختبرة حيث ظهرت الأعراض بعد شهرين من العدوى وتمثلت بظهور تدرنات صغيرة على ساق وأفرع الرمان وكان عددها أكثر مقارنة مع العزلتين الباقيتين.

متوسط عدد العقد/النبات	العزلة
6.33 ^a	RS3
4.67 ^b	MR2
3.67 ^b	HN1
1.17	LSD _{5%}



تقييم قابلية أصناف الرمان للإصابة بمرض سل الرمان:

بينت النتائج وجود فروقات عالية المعنوية في قابلية الأصناف المختبرة إزاء الإصابة بالمرض ($P < 0.001$)، وكان صنف الرمان الحلو الأقل قابلية للإصابة بالمرض، حيث لوحظ بدء تشكل الدرناات بعد 10 أسابيع من العدوى الممرضة، وبلغ متوسط عدد العقد المتشكلة 1.67 عقدة، تلاه الصنف الحامض بمتوسط عدد عقد 3.33 عقدة، بينما كان صنف الرمان الفرنسي هو الأكثر قابلية للإصابة بالمرض بمتوسط 6 عقد كما هو موضح في الجدول (4).

الجدول (4): تقييم قابلية أصناف الرمان إزاء العدوى الاصطناعية بالعزلة الشرسة RS3 للبكتيريا P.S.S المسببة للمرض

التوصيف	متوسط عدد العقد/النبات	الصنف
قابل للإصابة	6 ^a	فرنسي
متحمل	3.33 ^b	حامض
مقاوم	1.67 ^c	حلو
	1.53	LSD _{5%}

المتوسطات ذات الأحرف المتشابهة عمودياً لا يوجد بينها فروق معنوية.

جميع أصناف الرمان التي اختبرت أصيبت بالمرض وحسب هذه الدراسة والدراسات السابقة حتى الآن لا يوجد صنف مقاوم بشكل كامل (Lacobellis, 2001)، وإنما يوجد تباين في استجابة الأصناف للسلاطة الواحدة (Young et al., 2004). تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن أصناف الرمان المزروعة في سورية تتباين في قابليتها للإصابة بمرض سل الرمان، وأن هذا التباين ربما يعود للاختلاف ما بين أصناف الرمان.

نتائج العدوى المتصالية:

بينت نتائج العدوى المتصالية أن عزلة الرمان أحدثت تدرنات على الزيتون وكذلك عزلة الزيتون قد أحدثت تدرنات على الرمان ولكن كان هناك اختلاف في موعد ظهور الأعراض، حيث أن التدرنات على الزيتون ظهرت بعد 6 أسابيع من العدوى الاصطناعية بينما على الرمان ظهرت التدرنات بعد 3 أشهر وكان عدد العقد على الزيتون أكثر عدداً وأكبر حجماً بالمقارنة مع الرمان، إن هذا الأمر يستدعي دراسة التنوع الوراثي للعزلات المعزولة من العوائل المختلفة الخاصة بالبيئة الساحلية لأنه من الممكن أن تختلف عن العزلات

من المناطق الأخرى حيث اثبت (Alvarez et al.,1998) أن هناك تأثيراً كبيراً للعوامل البيئية على الطرز المظهرية للعزلات، حيث أن العزلات من نفس المضيف ومن مناطق مختلفة كانت مصنفة ضمن مجموعات مختلفة (Bozkurt et al. 2014). تبين من خلال نتائج الاختبارات البيوكيميائية والعدوى المتصالبة أنه يمكن اعتبار الرمان *Punica granatum* L. عائلاً جديداً للبكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (عيسى، 2010).



العدوى على الرمان



العدوى على الزيتون

الاستنتاجات:

- بينت نتائج المسح الحقلية انتشار مرض سل الرمان في بعض مناطق الساحل السوري بنسب متفاوتة، إذ تباينت نسبة الإصابة وشدها ما بين محافظتي اللاذقية وطرطوس من جهة وما بين المواقع ضمن المحافظة ذاتها.
 - أبدت الأصناف المختبرة تبايناً معنوياً في قابلية الإصابة إزاء العزلة الشرسة، وكان صنف الرمان الحلو الأكثر تحملاً للمرض.
 - أثبتت نتائج العزل والاختبارات البيوكيميائية والعدوى المتصالبة أن البكتيريا المعزولة من الرمان كانت ممرضة على الزيتون لذلك فهي من العوائل الطبيعية للبكتيريا ويمكن أن تكون مصدر عدوى لأشجار الزيتون.
- وفي خلاصة البحث نقترح إجراء مسوحات حقلية لانتشار المرض في مختلف المناطق السورية والبحث عن أصناف متحملة للمرض

المراجع:

العبدالله، هائل ومحمود أبو غرة. انتشار مرض سل الزيتون الذي تسببه البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* في بعض المحافظات السورية . مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد (35)، العدد 2، 2019.

- محمود أبو غرة، 2004. تعريف بكتيريا *pseudomonas savastanoi pv savastanoi* المعزولة من نبات الآس *Myrtus communis* في سوريا. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، المجلد (20) العدد الأول ص 175-189.
- عيسى، سامر. (2010). دراسة انتشار مرض سل الزيتون *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* على العوائل الطبيعية، وتقييم بعض أصناف الزيتون تجاه الإصابة. رسالة ماجستير. قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق، دمشق، سورية. 60 صفحة.
- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. (2023). مديرية الإحصاء والتخطيط وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية. جدول رقم 87.
- Alvarez, J. E., Garcia de Los Rios, P., Jimenez, A., Rojas, P., Reche, P. and M. T. Troya (1998). Phenotypic variability in different strains of *pseudomonas syring* subsp. *savastanoi* isolated from different hosts. European Journal of Plant Pathology. 104: 603-609.
- Bozkurt, I. A., Soyly, S., Mirik, M., Ulubas Serce, C., and Ö. Baysal (2014). Characterization of bacterial knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* on pomegranate (*Punica granatum* L.) trees: a new host of the pathogen. Letters in applied microbiology, 59(5), 520-527.
- Bouaichi, A., Benkirane, R., Habbadi, K., Benbouazza, A., and E. H. Achbani (2015). Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* causal agent of olive knot. J Agric Vet Sci, 8(12), 41-5.
- Buonaurio, R., Moretti, C., Da Silva, D. P., Cortese, C., Ramos, C., Venturi, V. (2015). The olive knot disease as a model to study the role of interspecies bacterial communities in plant disease. Front. Plant Sci, 6434.
- Caracciolo, R., Pannucci, E., Bernini, R., Varvaro, L., and L. Santi (2019). Antibacterial activity of hydroxytyrosol-enriched extracts obtained from olive mill waste waters by membrane technologies against olive tree pathogens. Comunicazione orale.
- Graniti, A. (1990). Plant diseases in the Mediterranean region. Phytoparasitica. 18: 57-65.
- Iacobellis, N. S. (2001). Olive knot. In: Encyclopedia of plant pathology, Vol 2, eds Maloy, O. C. and Murray, T. D., John Wiley, London, UK. pp:713-715.
- Jurenka, J. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. Alternative medicine review, 13(2).
- Klement, Z. K. and D. C. Rudolph (1990). Methods in phytobacteriology. Academiai Kiado, Budapest. Pp:11-121.
- King, E. O. Ward, M. K. and Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 44: 301-307.
- Krid, S., Triki, M. A., Gargouri, A., and A. Rhouma (2012). Biocontrol of olive knot disease by *Bacillus subtilis* isolated from olive leaves. Annals of microbiology, 62(1), 149-154. SSW
- Krid S., A. Rhouma, I. Mogou, J.M. Quesada, X. Nesme and A. Gargouril, 2010. *Pseudomonas savastanoi* endophytic bacteria in olive tree knots and antagonistic potential of Strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. Journal of Plant Pathology, 92 (2), 335-341.
- Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. Nature. 178: 703.

- Lavermicocca, P., Lonigro, S. L., Valerio, F., Evidente, A., and A. Visconti (2002). Reduction of olive knot disease by a bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*. *Applied Environmental Microbiology*. 68: 1403-1407.
- Lelliott, R. A., Billing, E. and A. C. Hayward (1966). A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. *J. Appl. Bacteriol.* 29: 470-489.
- Oriolani, E., Bueno, L., Perez, B. A., Otero, L., Docampo, D., Brancher, N., Nieto, A., Reta, A., and C. Matias (2005). Olive knot in western Argentina. In: Libro de Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología (ALF). III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatólogos (AAF). Villa Carlos Paz, Córdoba. P: 19-22.
- Osman, W. A., Tarabeih, A. M., and S. H., Michail (1980a). Studies on olive knot disease in Iraq with reference to response of different cultivars. *Mesopotamia journal of agriculture*. 15: 245-261
- Osman, W. A., Tarabeih, A. M., and S. H., Michail (1980b). Studies on the distribution of olive knot disease induced by *Pseudomonas savastanoi* in Iraq. *Mesopotamia journal of agriculture*. 15: 235-243.
- Panagopoulos, C. G. (1993). Olive Knot disease in Greece. *EPPO Bulletin*. 23: 417-422.
- Paray, A. A., Singh, M., Mir, M.A. and A. Kaur (2023). Gram Staining: A Brief Review. *International Journal*. 10(09): 336-341.
- Pyrowolakis, E. and H. C. Weltzie (1974). Studies on the distribution of olive knot, induced by *Pseudomonas savastanoi* (Sm) Stev. Nell Isola greca di Greta. *Phytopatologia Mediterranea*. 13: 118-120.
- Ramos, C., Matas, I. M., Bardaji, L., Aragón, I. M., and J. Murillo (2012). *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: some like it knot. *Molecular plant pathology*, 13 (9), 998-1009.
- Reiner, K. (2016) Catalase test protocol. American Society for Microbiology.
- Rhouma, A., Ben Daoud, H., Ghanmi, S., Ben Salah, H., Romdhane, M., and M. Demak (2009). Antimicrobial activities of leaf extracts of *Pistacia* and *Schinus* species against some plant pathogenic fungi and bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 339-345.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. (2001). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd ed. American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN.
- Seeram, N.P., Schulman, R.N. and Heber, H. (2006) Pomegranate: Ancient Roots to Modern Medicine. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Sherkhane, A. S., Suryawanshi, H. H., Mundada, P. S., and B. P. Shinde (2018). Control of bacterial blight disease of pomegranate using silver nanoparticles. *J. Nanomed. Nanotechnol*, 9 (3), 500.
- Sisto, A. Cipriani, M. G., Telgli, S., Cerboneschi, M., Stea, G. and E. Santilli (2007) Genetic characterization by fluorescent AFLP of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains isolated from different host species. *Plant Pathology*. 56: 366-372.
- Song, W., Zhou, L., Yabg, C., Cao, X., Zhang, L., and X. Liu (2004). Tomato Fusarium Wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop Prot.* 23: 243-247.
- Tchymakov, A.Z. (1974). Osnovi methods phytopathological researches, Kolos, Moscow. 6-8.
- Thornley, M. J. (1960). The differentiation of *Pseudomonas* from other Gram-Negative bacteria on the basis of arginine metabolism. *Journal of Applied Bacteriology*. 23: 37-52.

- Teviotdale B. L., Krueger W. H. 2004. (2004). Effects of timing of copper sprays, defoliation, rainfall, and inoculums concentration on incidence of olive knot disease. *Plant Disease*, 88(2). 131_135.
- Young, J. M., Wilkie, J. P., Fletcher, M. J., Park, D. C., Pennycook, S., Triggs, C. M. and D. R. W. Watson (2004). Relative tolerance of nine olive cultivars to *Pseudomonas savastanoi* causing bacterial knot disease. *Phytopathology Mediterraneana*. 43: 395-402.
- Young, J.M. 2004. Olive knot and its pathogens. *Australian Plant Pathology* 33:33-39.

Survey of olive knot disease caused by (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*) on pomegranate in some coastal areas, and testing the susceptibility of cultivated varieties

Lara Salah Msallem^{1*} and Ibrahim Khdr Alabid¹

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Engineering, Lattakia University, Syria.



(*Corresponding author: Lara Msallem, Email: [: laramsallem616@gmail.com](mailto:laramsallem616@gmail.com), Tel: :+963968783516)

Received: 8/ 2/ 2025 Accepted: 3/ 8/ 2025

Abstract

Olive knot disease, caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, is a disease affecting pomegranate trees in Mediterranean Region. Therefore, this research aimed to study disease's prevalence, incidence, and severity in some coastal regions. The field survey was conducted during 2023-2024 on 24 pomegranate orchards in Latakia and Tartous provinces on the Syrian coastal region. The results showed that the disease was widespread of 70.83%, as the disease appeared only in 17 fields out of 24. The disease was recorded in both Lattakia and Tartous at 21.5% and 20.77% respectively. The infection average varied from region to another. The highest infection was recorded in Al-Hanady at 52%, while the disease was not observed in Al-Drouqiah and Baamra, The varieties susceptibility to *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* varied from one to another, where the French variety was a susceptibility, while the sweet variety was tolerance. On the other hand, the results showed that the pomegranate isolate was able to infect olives, and the olive isolate was able to infect pomegranates, confirming that the pathogen is the same for both tree species, and that pomegranates are one of the hosts attacked by the bacteria, along with olives. the symptoms appeared in Olive more quickly than in pomegranates.

Keywords: Pomegranate knot disease, knot, incidence and severity of infection, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastano*.