الفصل الثالث

التربية لمقاومة الأمراض البكتيرية

الذبول البكتيرى

تسبب البكتيريا *Ralstonia solanacearum* (سابقًا: *Pseudomonas solanacearum*) مرض الذبول البكتيرى bacterial wilt (أو الذبول البكتيرى الجنوبى southern bacterial wilt)، وهى تصيب — إلى جانب الطماطم – أكثر من ٢٠٠ نوع نباتى تتضمن معظم النباتات الاقتصادية الهامة من ذوات الفلقتين، وتصيب من محاصيل الخضر كُلاً من البطاطس والفلفل والباذنجان.

مصادر المقاومة لمختلف سلالات البكتيريا ووراثتها

اكتشفت المقاومة للذبول البكتيرى فى صنف الطماطم لوزيانا بنك Louisiana Pink والسلالة T414، وأنتج التهجين بينهما مصادر للمقاومة أفضل من أى منهما، علمًا بأن المقاومة صفة كمية متنحية. وقد استخدمت هذه المقاومة فى برامج التربية، كما استخدمت مقاومة الصنف لوزيانا بنك فى إنتاج الصنفين المقاومين: فينس Venus، وساترن Saturn (عن Russell ١٩٧٨).

ومن المصادر الأخرى الجيدة للمقاومة السلالة PI 127805A من *S. pimpinellifolium* التى اكتشفت فى هاواى عام ١٩٥٣، وتورث المقاومة التى تحملها كصفة سائدة جزئيًا فى طور الباردة، ومتنحية فى النباتات البالغة، وقد نقلت إلى سلالة الطماطم Hawaii 5808-2 (عن Gilbert & Mohanakumaran ١٩٦٩).

كما وجد Van Steekelenburg (١٩٨٥) أعلى مستوى لمقاومة المرض فى الصنفين Irat L3، و Okitsu Sozai I-20 اللذين كانت مقاومتهما جزئية لوجود البكتيريا فى النباتات الخالية من أعراض الإصابة.

وقد وُجِدَ أن السلالة Hawaii 7998 كانت الأعلى مقاومة للسلالة ١ (biovars ١، ٣) من بكتيريا الذبول البكتيرى، من بين ٧ أصناف وسلالات تم تقييمها، وكانت الهجن التى دخلت فى إنتاجها الأعلى مقاومة، إلا أن صِغَر حجم ثمارها يجعلها اختيار غير مناسب لإنتاج الهجن (González & Summers ١٩٩٥).

وتبين أن المقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى فى السلالة Hawaii 7996 هى مقاومة بسيطة وسائدة، وتتحكم فى منع انتشار البكتيريا فى ساق النبات واستعماره لها وترتبط درجة المقاومة سلبيًا بمدى استعمار البكتيريا لمنتصف الساق (Grimault وآخرون ١٩٩٥).

وفى دراسة أخرى أجريت على وراثة المقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى فى الصنف المقاوم Hawaii 7996، أمكن – باستخدام واسمات الـ RFLP – التعرف على عدة QTLs كان أهمها تلك التى تقع على الكروموسوم ٦، مع وجود اثنتان من الـ QTLs على كروموسوم ٤، وبعض الـ QTLs الضعيفة الأخرى فى مواقع أخرى (Thoquet وآخرون ١٩٩٦).

وأجريت دراسة أخرى تحت ظروف الحقل أمكن التعرف منها على ٦ QTLs، منها تلك التى توجد على الكروموسومين ٦، و ٢، إضافة إلى اثنتان على الكروموسومين ٣، و٨، وواحدة ضعيفة على الكروموسوم ١٠ (Thoquet وآخرون ١٩٩٦).

وأظهر التحليل الوراثى الدقيق أن الـ QTL التى كان يُعتقد بوجودها على الكروموسوم ٦، وتتحكم فى المقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى، هى فى الواقع اثنتان (Mangin وآخرون ١٩٩٩).

هذا.. وقد تأكد وجود عدة QTLs تتحكم فى المقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى (المقاومة كمية)، وكان من أبرزها الـ QTL التى تقع على الكروموسوم ٦، وهى التى تلعب دورًا رئيسيًا فى المقاومة. واكتشف موقع آخر على الكروموسوم ١٢ بدا أنه نشط –

خاصة – ضد الـ biovar 3 Pss 4 من السلالة ١ من البكتيريا، وهى التى تنتشر فى تايوان، مع استمرار إسهام كروموسوم ٦ فى المقاومة (Wang وآخرون ٢٠٠٠).

إن المقاومة للبكتيريا *R. solanacearum* التى تتوفر فى صنف الطماطم Hawaii 7996 هى من نوع المقاومة الثابتة stable. وقد أمكن التعرف على اثنتين من الـ QTLs مصاحبتين لتلك المقاومة، هما: Bwr-12، و Bwr-6. تقع Bwr-12 على مسافة ٢,٨ سنتى مورجان بالكروموسوم ١٢ وتتحكم فى ١٧,٥٪ – ٥٦,١٪ من التباين فى المقاومة. وللوظيفة الرئيسية لهذه الـ QTL علاقة بتثبيط تكاثر البكتيريا فى ساق النبات، ولم يكن لهذه الـ QTL علاقة بالمقاومة للسلالة ٣ من الطراز الباثولوجى II من البكتيريا المرضة. أما Bwr-6 فتقع على الكروموسوم ٦، وتفسر ١١,٥٪ – ٢٢,٢٪ من التباين فى الشكل المظهرى للمقاومة. ويعنى ذلك أن المقاومة الثابتة لبكتيريا الذبول فى صنف الطماطم Hawaii 7996 كمية ويُصاحبها اثنتان من الـ QTLs، هما: Brw-6، و Bwr-12 (Wang وآخرون ٢٠١٣).

وعلى خلاف ما تقدم بيانه.. وجد أن صفة المقاومة لبكتيريا الذبول متنحية جزئيًا؛ حيث ظهرت سيادة غير تامة تجاه القابلية للإصابة (Monma وآخرون ١٩٩٧).

كما وجدت المقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى فى سلالة الطماطم الكريزية LA 1421، وهى مقاومة تختلف عن تلك التى تتوفر فى *S. pimpinellifolium*، وتبين أن المقاومة فى كليهما صفة معقدة مع وجود duplicate epistasis. وذُكر أنه يفضل تأجيل الانتخاب فى الأجيال الانعزالية حتى يتم تثبيت مستوى عالٍ من المقاومة، كما أُوصى بالجمع بين مصدرى المقاومة معًا للحصول على مستوى أعلى من المقاومة (Mohamed وآخرون ١٩٩٧).

وقد أُجرى تلقيح دياليل بين خمسة أصناف وسلالات مقاومة للذبول البكتيرى حصلت على مقاومتها من مصادر مختلفة (هى: CL5915، وL285، وCRA84،

و H7997، و GA219)، والسلالة القابلة للإصابة UC204A. أظهرت الدراسة وجود كفاءة توريث فى المعنى العام عبر مواقع الدراسة لكل من H7997، و CRA84، و L285؛ بما يعنى أن أنسال تلك السلالات عندما استخدمت كآباء للهجن أظهرت مستوى من المقاومة للذبول البكتيرى أعلى من متوسط المقاومة التى ظهر فى كل هجن الجيل الأول. وكانت السلالة H7997 الوحيدة التى أعطت كفاءة توريث إيجابية فى المعنى العام فى كل المواقع لكل جيل، وكانت كفاءة توريثها لصفة المقاومة على النطاق العريض عبر المواقع أعلى جوهريًا عما حدث فى الآباء الأخرى فى كل من أنسال الجيلين الأول والثانى. وتبين أن من بين الآباء المقاومة التى استخدمت فى الدراسة كانت السلالة H7997 أفضل مصدر للمقاومة للاستخدام فى تطوير سلالات مقاومة للذبول. هذا.. فى الوقت الذى لم يُلاحظ وجود زيادات جوهرية فى مستوى المقاومة عندما جُمع بين مصادر مختلفة للمقاومة (Hanson وآخرون ١٩٩٨).

هذا.. وتتأثر المقاومة للمرض بدرجة الحرارة؛ حيث تُفقد فى حرارة ٣٢°م. كما تؤدى الإصابة بنيماتودا تعقد الجذور إلى فقدان المقاومة كذلك (عن Russell ١٩٧٨).

طرق التقييم للمقاومة

أمكن تقييم الطماطم لمقاومة الذبول البكتيرى بغمس جذور الشتلات فى معلق للبكتيريا قبل شتلها فى صوانى شتلات معقمة ومملوءة بخلطة زراعة؛ حيث كانت النباتات القابلة للإصابة أسرع ذبولاً بكثير عن نظيراتها المقاومة، ووُجدت علاقة إيجابية قوية بين نتائج التقييم بتلك الطريقة ونتائج التقييم الحقلى (Vuwdrey & Gounder ١٩٩٣).

وعندما قُيم ٢٢ صنفًا وسلالة من الطماطم لمقاومة بكتيريا الذبول البكتيرى تقييمًا حقليًا فى مواقع مصابة بشدة بالبكتيريا فى كل من إندونيسيا، والفلبين، وكوالالمبور، وتايوان، وكذلك بطريقة بَلّ بيئة الزراعة التى تنمو فيها النباتات (soil drench) فى

بيت محمى بالمعلق البكتيرى (فى تايوان) .. وجد ارتباط قوى (ر = ٠,٧٠) بين نتائج طريقة الـ soil drench ونتائج التقييم الحقلى (Hanson وآخرون ١٩٩٦).

كما أُجرى تقييم لخمسة وثلاثين صنفًا وسلالة من الطماطم التى تُعرف بمقاومتها للذبول البكتيرى، وذلك فى ثمانى تجارب تقييم حقلية بالإضافة إلى تقييم فى حجرات النمو، وقد تراوح متوسط نسبة بقاء النباتات (كدليل على المقاومة) بين ٢٧,٩٪، و٩٥,٨٪، مقارنة بنسبة بقاء بلغت ٢٢,٥٪ فى صنف المقارنة القابل للإصابة. وقد كانت أعلى نسب للبقاء فى Hawaii 7996 (٩٥,٨٪)، و BF-Okitsu 101 (٩٤,٢٪)، و Hawaii 7997 (٩٣,٧٪)، و R-3034-3-10-N-UG (٩٣,١٪)، و Tml46-N-12-N-early N.T. (٩١,٧٪) (Wang & Hanson ١٩٩٦).

طبيعة المقاومة

وجد أن التيلوزات تتجمع (ظاهرة الـ tylosis) وتسد الأوعية التى تستعمرها البكتيريا والأوعية الملامسة لها والقريبة منها فى النباتات المقاومة للذبول البكتيرى؛ مما يحد من انتشارها؛ لعملها كحاجز فيزيائى يحد من تقدم الإصابة. هذا بينما لم تتكون أى تيلوزات فى الأوعية الناقلة التى استعمرتها البكتيريا فى النباتات القابلة للإصابة أو كان تكوينها بطيئًا وأقل تجمعًا؛ الأمر الذى لم يحد من انتشارها (Grimault وآخرون ١٩٩٤).

وقد ذبلت الطعوم المقاومة التى طُعِّمت على أصول قابلة للإصابة ببكتيريا الذبول البكتيرى؛ بما يعنى أن الأنسجة الوعائية للأصناف المقاومة لا تتحمل الأعداد الكبيرة من البكتيريا أكثر من الأصناف القابلة للإصابة، وتبين أن المقاومة ترتبط بالحد من انتشار البكتيريا فى الجزء السفلى من ساق النبات (Grimault & Prior ١٩٩٤).

وعندما دُرست طبيعة المقاومة للذبول البكتيرى فى أصل الطماطم LS-89 (وهو منتخب من Hawaii 7998)، وذلك بفحص الأنسجة الوعائية فى الجزء العلوى من

السويقة الجينية السفلى، وجد أن بطء حركة البكتيريا فيها قد يكون مرده إلى زيادة سمك أغشية النقر pits، وتراكم مواد بكثافة فى الأوعية والخلايا البرانشيمية (Nakaho وآخرون ٢٠٠٠).

كما وُجد أن تقدم البكتيريا *R. solanacearum* داخل الجذر الوتدى للطماطم كان أسرع فى الصنف القابل للإصابة Marion عما حدث فى الصنف المقاوم L285 (كان التقدم فيه أبطأ خمس مرات)، والصنف الآخر المقاوم Hawaii 7996 (الذى كان التقدم فيه أبطأ ١٥ مرة). وما أن أصبحت البكتيريا داخل الجذر الوتدى فإنها استعمرت كل الأنسجة فى كل من النباتات المقاومة والقابلة للإصابة، إلاّ أن ذلك الاستعمار البكتيرى كان أسرع فى الصنف القابل للإصابة عما فى الصنفين المقاومين. كذلك كانت معدلات تكاثر البكتيريا وأقصى كثافة للخلايا البكتيرية أعلى فى الصنف القابل للإصابة عما فى الصنفين المقاومين. وقد أنتجت البكتيريا فى الصنف القابل للإصابة كميات أكبر من عامل الضراوة exopolysaccharide I بكل نبات عما حدث فى الصنفين المقاومين (McGarvey وآخرون ١٩٩٩).

وتبين أن الطماطم المقاومة للبكتيريا *R. solanacearum* يزداد فيها نشاط الإنزيمين: الفينيل آلانين أمونيا لايز phenylalanine ammonia lyase، والبولى فينول أوكسيديز polyphenoloxidase — بعد عدواها بالبكتيريا — إلى أن يصل النشاط إلى أقصى معدلاته بعد ١٢، و ١٥ ساعة بالنسبة للإنزيمين، على التوالى، وكانت الزيادات فى النشاط الإنزيمى، وكذلك فى محتوى النباتات من الفينولات الكلية جوهرية فى الأصناف المقاومة للبكتيريا، بينما لم تكن تلك الزيادات جوهرية فى الأصناف القابلة للإصابة (Vanitha وآخرون ٢٠٠٩).

وقد وجد أن المقاومة الكمية للبكتيريا *R. solanacearum* — مسببة مرض الذبول البكتيرى — التى تتوفر فى أصل الطماطم الجذرى LS-89، هى مقاومة تتضمن تفاعل

فرط حساسية يُستحث فى كل من خلايا الخشب البارانشيمية وخلايا النخاع التى تحيط بأوعية الخشب لدى تعرضها للبكتيريا (Nakaho وآخرون ٢٠١٧).

التربية للمقاومة

التربية التقليدية

أسهمت جامعة فلوريدا بجهد ملحوظ فى تربية الطماطم لتحمل الذبول البكتيرى؛ حيث أنتجت السلالة المتحملة Neptune، والهجين المتحمل Fla. 7514 (Scott ٢٠٠٧).

وقد قدم Daunay وآخرون (٢٠١٠) دراسة وعرضًا للمعلومات المتاحة — من واقع البحوث المنشورة والاتصالات الشخصية – عن أصول وعلاقات النَسَب بين أصناف وسلالات الطماطم المقاومة للذبول البكتيرى، والتى أُنتجت منذ خمسينيات القرن العشرين وحتى ٢٠١٠.

الانتخاب فى مزارع الأنسجة

أمكن انتخاب نبيتات من مزارع كالوس الطماطم كانت مقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى، تمثلت فى تثبيط أو تأخير نمو البكتيريا، وانتقلت هذه المقاومة — كاملة — فى النسل الناتج من التلقيح الذاتى لتلك النباتات (Toyoda وآخرون ١٩٨٩).

كما أمكن انتخاب somaclones من صنف الطماطم Healani مقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى، وباختبارها فى حقل موبوء بالبكتيريا تراوحت نسبة البقاء survival rate بين ٤٠٪، و ١٠٠٪، بينما كانت نسبة البقاء صفر ٪ فى الصنف الأصلى Healani، و ٣٠٪ فى الصنف المقاوم Kewalo. هذا إلا أن الصنف الأصلى تفوق على السلالات المنتخبة للمقاومة فى صفات حجم الثمرة وسمك جدرها (Bobisud وآخرون ١٩٩٦).

التحويل الوراثى

أدى التحويل الوراثى للطماطم بجين المضاد البكتيرى: lactoferrin (وهو: cationic iron-binding glycoprotein) إلى جعلها مقاومة جزئيًا للبكتيريا *R. solanacearum* مسببة مرض الذبول البكتيرى (Lee وآخرون ٢٠٠٢).

وأمكن تحويل الطماطم وراثيًا بجين الفلفل ferredoxin-1protein (اختصارًا: PFLP)، حيث أُنتج الـ PFLP بجذورها، وكانت النباتات المحولة وراثيًا مقاومة لبكتيريا الذبول البكتيرى (Huang وآخرون ٢٠٠٧).

التقرح البكتيرى

تسبب البكتيريا *Clavibacter michiganensis* ssp. *michignensis* (سابقًا *Corynebacterium michiganensis*) مرض التقرح البكتيرى Bacterial Canker فى الطماطم.

مصادر المقاومة لمختلف سلالات البكتيريا ووراثتها

اكتشفت المقاومة للمرض فى بعض سلالات الطماطم والنوع البرى *S. pimpinellifolium* (Thyr ١٩٦٨)، والسلالة PI 251305 من *S. habrochaites* (Hassan وآخرون ١٩٦٨)، وسلالات أخرى من نفس النوع. يتحكم فى مقاومة النوع *S. pimpinellifolium* عدة جينات ذات سيادة غير تامة.

وجدير بالذكر أن أصناف الطماطم تختلف — فى خاصية انتقال البكتيريا عن طريق البذور — حيث تختلف نسبة البذور التى تكون حاملة للبكتيريا (عند استخلاص البذور من ثمار نباتات مصابة) باختلاف الأصناف كما يلى:

الصنف	البذور الحاملة للبكتيريا (٪)
Highlander	٤٩
Heinz 1350	٣
Campbell	صفر