ألمجلة أللليبية لوقاية النبات
Libyan Journal of Plant Protection
http://www.ljpp.org.ly
ISSN : 2709-0329

تشخيص أسباب مرض الموت المفاجئ لنباتات الطماطم بمنطقة الوسيطة، ليبيا.

نجية محمد جادالله موسى

قسم وقاية النبات كلية الزرعة، جامعة عمر المختار البيضاء - ليبيا.

Received – November 13, 2022; Revision –November 26, 2022; Accepted –November 30, 2022; Available Online – September 5, 2022.

*** Corresponding author E-mail:** nagia.mohamed@omu.edu.ly (Nagia Mohamed Jadalla Mousa)

الملخص /

أجريت هذه الدراسة خلال موسم 2021-2022 م. واستهدفت عزل وتعريف المسبب المرضي لأعراض ذبول وموت نباتات الطماطم بمنطقة (الوسيطة) بالجبل الأخضر، حيث جمعت 10 نباتات مصابة لوحظ عليها أعراض الذبول، تم التشخيص الحقلي لهذه النباتات المصابة من خلال الملاحظة الدقيقة للأعراض والتي تضمنت الذبول، اصفرار الأوراق، ظهور الجذور العرضية، تلون الحزم الوعائية. وقد أشارت نتائج هذه الدراسة من خلال إجراء عمليات العزل الى تكرار الحصول على عزلات بكتيرية ذات لون ابيض غير ناصع لامعة على بيئة الاجار المغذى (NA)، بينما تلك النامية على البيئة الانتقائية (TZC) كانت مستعمرات ذات حواف بيضاء ومركز احمر أو وردى، وأظهرت النتائج أن العزلات البكتيرية المتحصل عليها كانت سالبة لصبغة الجرام، موجبة لاختبار فرط الحساسية على أوراق التبغ، إنتاج الكتاليز واختزال النترات، واستطاعت هذه العزلات المختبرة إحداث المرض على شتلات الطماطم حيث لوحظ تقدم سريع للمرض ابتدأ من الأسبوع الأول بعد التلقيح، وبالتالي تم التأكيد على أنها بكتيريا *Ralstonia solanacearum* المسببة لمرض الذبول البكتيري،كما اتضح من نتائج العزل والتعريف وجود فطر *Fusarium oxysporum* في عينات الطماطم المصابة بالذبول، وأظهرت النتائج عدم قدرة هذه العزلة من الفطر على أحداث الذبول على نباتات الطماطم االتى تم حقنها بالفطر حيث لم تظهر اى من الإعراض علي النباتات المحقونة.

الكلمات الدالة : ذبول الطماطم، *Ralstonia solanacearum*، *Fusarium oxysporum*، Media (TZC).

المقدمة /

يحتل نبات الطماطم (*Solanum lycopersicum*) التابع للعائلة الباذنجانية *Solanaceae* والتي تضم 90جنساً وحوالي 2000 نوع المرتبة الأولي عالمياً بين محاصيل الخضر من حيث المساحة المزروعة سنوياً، يستهلك طازجاً أو مصنعاً، وثمارهُ غنية بالعناصر المعدنية التي يحتاجها الإنسان كذلك تحتوي على بروتينات ودهون وكربوهيدرات في الثمار الطازجة [1]. في ليبيا يأتي محصول الطماطم في

المرتبة الثالثة كأهم المنتجات الزراعية بعد القمح والشعير، وثاني أهم محاصيل الخضروات بعد البطاطس [4]. لكن من محددات زراعته وانتاج هذا المحصول التعرض للإصابة بالعديد من المسببات المرضية النيماتودية، الفطرية، البكتيرية والفيروسية ويأتي في مقدمتها فطر الفيوزاريوم وهو من الاجناس الفطرية المهمة اقتصاديا إذا أصبح أحد اهم المسببات المرضية التي تسبب خسائر اقتصاديه كبيره لهذا المحصول [2]. كذلك الذبول الفرتسيليومي والسقوط المفاجي للبادرات. ويعد مرض الذبول الفيوزارمي المتسبب عن فطر *Fusarium oxyporum* f.sp. *lycopersici*احد الامراض المهمة اقتصاديا والذي يتواجد حيث يزرع محصول الطماطم مسببا هلاك النباتات وتشمل أعراض ذبول الفيوزاريوم التدلي، اصفرار الأوراق السفلية وذبولها وموتها على جانب واحد من النبات وقد تظهر الأعراض على التوالي في الأوراق الصغيرة،الأوراق المصابة بفرع واحد أو أكثر، بعد بضعة أسابيع يظهر تلون الاوعية الناقلة باللون البني وتكون واضحه عند أخذ قطاع في ساق النبات اما الامراض البكتيرية التي ينتج عنها ذبول وموت نباتات الطماطم مرض ذبول الطماطم البكتيريBacterial Wilt والذي يعرف بالعفن البني، المتسبب عن النوع البكتيري *Ralstonia solanacearum* وهي بكتريا هوائية غيرمتجرثمة سالبة لصبغة جرام، هذا المرض واسع الانتشار في مناطق عديدة من العالم وهو يصيب مجموعة كبيرة من الخضراوات كالطماطم والبطاطس والباذنجان والفلفل. تؤثر على العائد بشكل كبير وقد تصل إلى 100٪ [17,7]. تبدأ أعراض الإصابة في نبات الطماطم بتدلي الأوراق السفلية، ويلي ذلك ذبول عام للنبات. ويظهر على الساق قرب القاعدة جذور هوائية. وإذا قطع ساق الطماطم عرضياً يلاحظ وجود إفرازات بكتيرية، كما أن الحزم الوعائية تتلون باللون البني. يعيش هذا المسبب المرضي في التربة لمدة طويلة تمتد إلى بضع سنين. ويدخل النبات من خلال الجروح التي تحدث في المجموع الجذري، ثم يستعمر الأوعية الخشبية وينتشر من خلال النظام الوعائي للنباتات الحساسة حيث يؤدي في النهاية إلى الموت السريع للنبات المضيف، الحرارة والرطوبة المرتفعتان تساعدان على تطور المرض [19,11,9]. وتهدف هذه الدراسة الي عزل وتعريف المسبب المرضي المرافق لأعراض موت نباتات الطماطم بمنطقة الوسيطة.

طرائق ومواد البحث /

جمع العينات : تم جمع 10 نباتات طماطم لوحظ عليها أعراض الإصابة بالذبول من مزرعة بمنطقة الوسيطة الصورة (1)، تم التشخيص الميداني لعينات النباتات المصابة من خلال الملاحظة الدقيقة للاعراض والتي تضمنت الذبول، اصفرار الأوراق، ظهور الجذور العرضية، تلون الحزم الوعائية الصورة (2).

الصورة (1). يوضح إصابة أحد حقول الطماطم بمنطقة الوسيطة بمرض ذبول وموت النبتات.

الصورة (2). يوضح الاعراض على النباتات المصابة.

أولاً : البكتيريا :

عزل المسبب المرضي : تم عزل البكترياحيث اجريت عملية العزل بعد وصول العينات للمعمل مباشرة، ومن ثم غسلت العينات بالماء لإزالة الأتربة العالقة، وبواسطة مشرط معقم تم تقطيع الساق ألي قطع صغيرة وضعت في طبق بتري(Petri dish) معقم يحتوي على 3 مل ماء مقطر معقم ثم تركت لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة الغرفة، وأخذ جزء من المعلق الناتج بواسطة الإبرة ذات العقدة (Inoculating Loop) وتم تخطيطه على بيئة الأجار المغذي(Nutrient agar) ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 28˚م لمدة 3-4 أيام [5].

تعريف البكتيريا : الصفات العامة والشكلية: الشكل وترتيب الخلايا وصبغ جرام: تم ذلك وفقاً للطريقة التي أشار إليها Skerman [22] لتحديد إيجابية أو سلبية البكتيريا لصبغة جرام من خلال تحضير غشاء بكتيري(bacterial smear) لكل عزلة من العزلات البكتيرية على سطح شريحة جافة نظيفة وتجفيفه وتثبيته ثم الصبغ بصبغة جرام مع وصف الشكل وترتيب الخلايا.

تحضير المعلق البكتيري: معلق بكتيري محضر بوضع الماء المقطر المعقم فوق طبق بتري يحتوي علي نمو بكتيري 24 ساعة، تم بعد ذلك سكب المعلق في أنبوب اختبار بعد ذلك تم ضبط تركيز اللقاح عند 10^8 وحدة تكوين مستعمرة/مل (CFU) باستخدام جهاز المطياف الضوئي(Spectrophotometer) (6300) عند طول موجي 600 نانومتر وتعديله على الكثافة البصرية (O.D) = 0.5 وفقًا لطريقة[8].

اختبار فرط الحساسية : حقنت أوراق نبات التبغ صنف (White burly) بعمر أكثر من شهر باللقاح البكتيري وفحصت الأوراق بعد 24 ساعة لملاحظة ظهور الأعراض المتمثلة في الموت السريع للمناطق المحقونة من الأوراق والتي تمثل أعراض تفاعل فرط الحساسية (HR) [21].

اختبار القدرة المرضية: تمت تربية شتلات طماطم (صنف مني) بعمر شهر واحد (30 يومًا) تم تلقيحها بطريق[15] وذلك بتلقيح التربة بالمعلق البكتيري بعد أحداث جروح بالمشرط في الجذور (20 مل / شتلة) بمعدل 3 مكررات تحت ظروف الضوء /الظلام 12 ساعه بالتبادل و الاحتفاظ بالنباتات حتى تطور الأعراض واستخدام الشاهد للمقارنة وهو الماء المقطر المعقم.

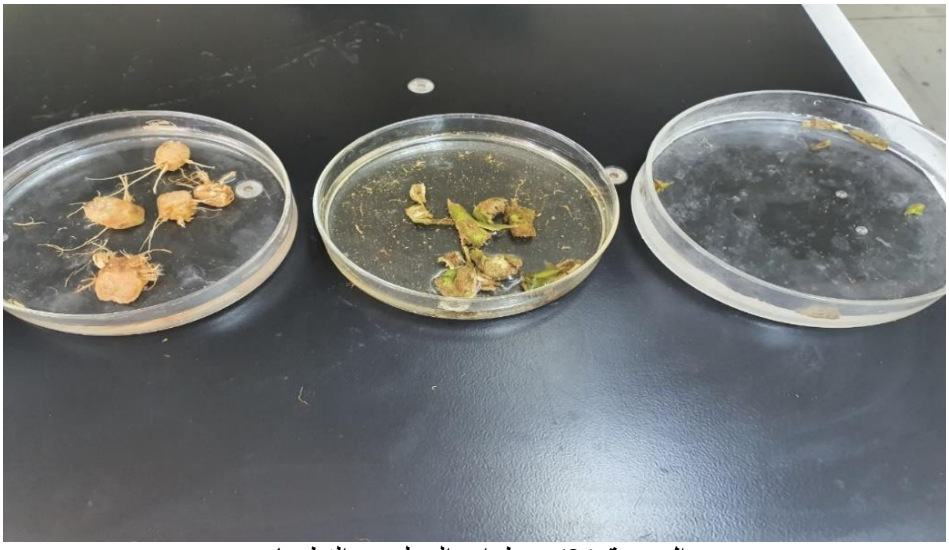
الصفات المزرعية: تم تنميه البكتيريا علي الوسط الشبه انتقائي triphenyl tetrazolium chloride agar (TZC) [13] وأيضا لقحت بيئة (King B) التي وصفها[14].

الصفات الفسيولوجية والبيوكيماوية: تضمنت الصفات البيوكيماوية اختبار الكتاليز، الأرجينين هيدرولاز، التحلل المائي للنشا، تسييل الجيلاتين، اختزال النترات، واستخدام الكربوهيدرات كمصدر للكربون.

ثانياً :الفطريات:

عزل الفطريات: تم تحضين قطع من الساق بعد تعقيمها وغسلها كما في (الصورة 3) على بيئة (PDA)حيث تركت لمدة 7 أيام في الحضان على درجة حرارة 25 م^{o} وحضرت منه شرائح للتعريف.

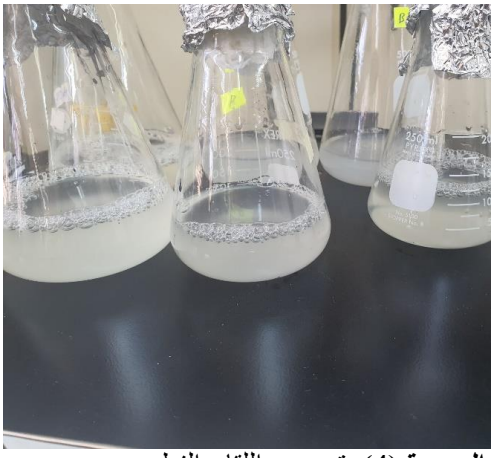
وتم تحضير مزرعة نقية من الفطر باستخدام طريقة قمة هيفا واحدة [3].



الصورة (3). خطوات العزل من الفطريات.

تعريف الفطر*Fusarium oxysporum* اعتمدت طريقة **[23,20]**في التشخيص المظهري والمجهري للفطر، اذ تم تنمية الفطر بنقل قرص قطره 1سم من حافة مستعمرة فطرية حديثة لعزلة نقية الى منتصف طبق بتري حاوي على الوسط الغذائي PDA وحضنت الأطباق بدرجة حرارة٢٥±٢م ولمدة خمسة أيام. بعد انتهاء مدة التحضين فحصت المزارع الفطرية خاصة لون المزرعة وحوافها وتطور صبغتها. وتم دراسة الخصائص المجهرية باستعمال المجهر الضوئي وبعدة قوى تكبير وبالاعتماد على شكل الخيط الفطري والحامل الكونيدي.

تحضير اللقاح الفطري: لغرض تقييم إمراضيه عزلات الفطر حضر اللقاح بنقل قرص قطره 1سم من حافة مستعمرة فطرية حديثة لعزلة نقية الى منتصف طبق بتري حاوي على الوسط الغذائيPDA وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 25± 2 م و لمدة خمسة أيام ثم تم أخذ أقراص من الفطر النقي بقطر 5ملم ووضعت في بيئة البطاطس والدكستروز بواقع قرص لكل دورق يحوى 100 مل بيئة (الصورة 4) ووضعت في الحضان على درجة حرارة 27م لمدة 10 ايام مع التحريك كل يوم لمدة خمس دقائق بعدها تحضير اللقاح الكونيدي بتركيز 5* 10^6 جرثومة/ مل ماء مقطر باستخدام الـHemacytometer [18].

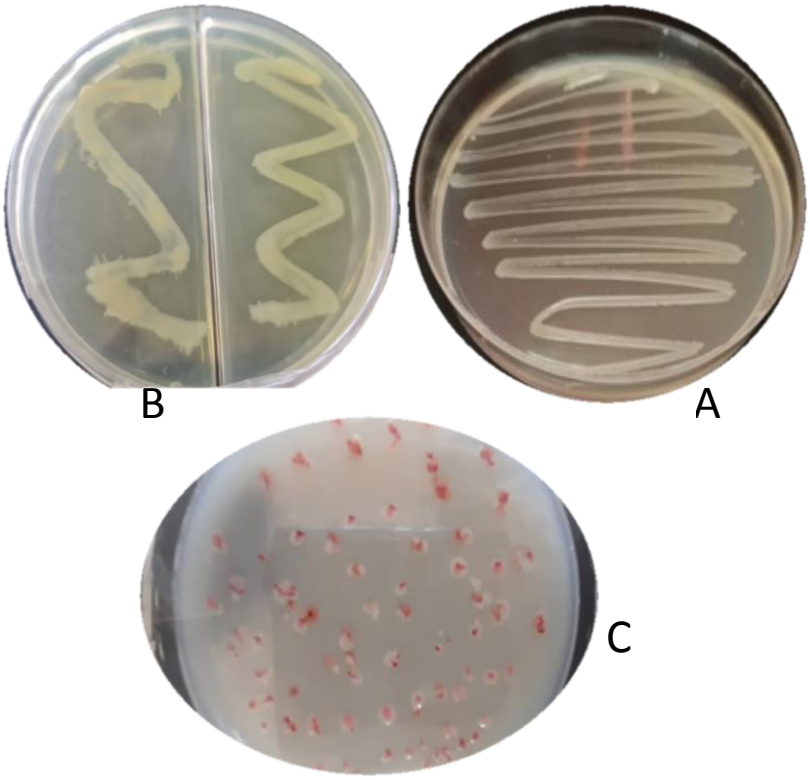


الصورة (4). تحضير اللقاح الفطري.

النتائج /

عزل المسبب المرضي : من خلال عملية عزل البكتريا التي أجريت على نباتات الطماطم المصابة بأعراض الذبول أظهرت النتائج تكرار الحصول على عزلات ذات مستعمرات بيضاء ناعمة مستديرة لامعة على سطح الأجار المغذي (Nutrient agar) وعند تنمية البكتيريا على بيئة (King B) والتحضين لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 28 مْ اتضح أن هذه العزلات قادرة على إنتاج صبغات وميضيه (متوهجة) أما على بيئة TZC agarكانت المستعمرات بيضاء والمركز باللون الأحمر العزلات البكتيرية أظهرت النتائج لصبغة جرام

أنها خلايا سالبة لصبغة وذات شكل عصوي وكانت الخلايا مفردة والبكتيريا غير قادرة علي تكوين الجراثيم (الصورة 5).



الصورة (5). نمو البكتيريا على البيئات الغذائية المختلفة

A: بيئة ; B Nutrient agar : بيئة King B و C: بيئة TZC agar

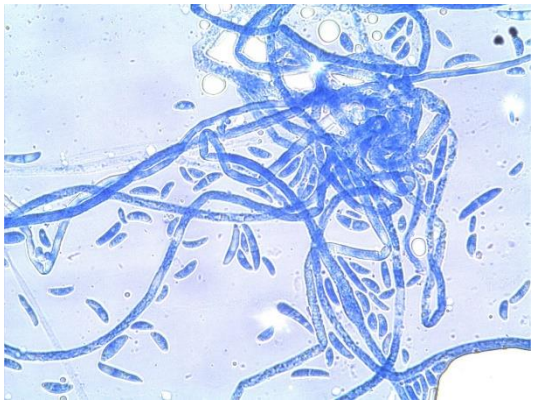
اختبار فرط الحساسية والقدرة الامراضية: أظهرت نتائج الحقن ظهور تلون باللون الأصفر وتحول الانسجة المحقونة للون البني بعد 48 ساعة في أوراق التبغ المحقونة الصورة (6)، والعزلات التي أعطت نتيجة إيجابية مع اختبار فرط الحساسية تم استخدامها في اختبار القدرة الامراضية حيث لوحظت أعراض الذبول البكتيري النموذجية بعد أسبوع واحد من التلقيح مع تقدم معدل حدوث المرض بسرعة

الصورة (6). إختبار فرط الحساسية

ابتداء من الأسبوع الأول وتم متابعه الاعراض حتى موت النبات بالكامل الصورة (7).

الصورة (7). اختبار القدرة الامراضية.

عزل الفطريات : بينت نتائج العزل والتعريف وجود فطر الفيوزاريم في عينات الطماطم المصابة بالذبول وتم التعريف وهو النوع *Fusarium oxysporium* ولوحظ وجود الجراثيم الهلالية والكونيدية (الصورة 8)



الصورة (8). جراثيم فطر *Fusarium oxysporium* المعزول من شتلات الطماطم المصابة

اختبار القدرة المرضية لفطر *Fusarium oxysporium*: أظهرت نتائج اختبار القدرة الامراضية عدم قدرة هذه العزلة من الفطر على إصابة نباتات الطماطم المحقونة بالفطر حيث لم تظهر الاعراض على النباتات المحقونة الصورة (9).

الصورة(9) إختبار القدرة الامراضية لفطر الفيوزاريوم على شتلات الطماطم.

الصفات الفسيولوجية والبيوكيماوية: تمت دراسة الاختبارات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية للعزلات البكتيرية الممرضة والتي أظهرت اعراض الذبول حيث أظهرت العزلتين نتائج إيجابية مع تفاعل أوكسيديز واختبار أنتاج أنزيم الكتاليز حيث أعطت فقاعات ولزوجه عند وضع المستعمرات البكتيرية على محلول فوق أكسيد الهيدروجين 3% واختزال النترات والنمو بنسبة 1٪ كلوريد الصوديوم. ومع ذلك، كانت العزلات سلبية لإنتاج الإندول، وإسالة الجيلاتين، والأرجينين دي هيدرولاز، واختبار التحلل المائي للنشا، وتكوين ونمو الليفان (الجدول 1).

جدول (1). الخصائص البيوكيماوية والفسيولوجية للعزلات المتحصل عليها من نباتات الطماطم المصابة.

الاختبار	العزلات	
	R1	R2
أنتاج الكتاليز	+	+
تفاعل أوكسيديز	+	+
اختزال النترات	+	+
اساله الجيلاتين	-	-
التحلل المائي للنشا	-	-
الأرجينين دي هيدرولاز	-	-
انتاج الإندول	-	-
انتاج الليفان	+	+
النمو عند 1% NaCl	+	+

- = سلبية الاختبار +=إيجابية الاختبار

تكشف البيانات الواردة في (الجدول، 2) أن العزلات المختبرة تستخدم المالتوز واللاكتوز والفركتوز والجلوكوز ولكن لا تستخدم المانيتول والسوربيتول.

جدول (2). استخدام بعض أنواع السكريات المختلفة بواسطة العزلات البكتيرية

السكر المختبر	العزلات	
	R2	R1
جلوكوز	+	+
مانوز	+	+
مانيتول	-	-
لاكتوز	+	+
مالتوز	+	+
فركتوز	+	+
سوربيتول	-	-

- = سلبية الاختبار +=إيجابية الاختبار

المناقشة /

يعتبر محصول الطماطم *Lycopersico esculentum* L التابع للعائلة الباذنجانية *Solanaceae* الأول عالمياً بين محاصيل الخضر من حيث المساحة المزروعة سنوياً، وهو الثالث كأهم المنتجات الزراعية بعد القمح والشعير، وثاني أهم محاصيل الخضروات بعد البطاطس في ليبيا وينتشر الذبول البكتيري للمحاصيل الباذنجانية في عدد من البلدان الأفريقية بما في ذلك مصر وليبيا ونيجيريا وزامبيا وجنوب إفريقيا يصيب العامل الممرض أيضًا عددًا من المحاصيل الزراعية المهمة الأخرى والأشجار المزروعة بما في ذلك التبغ والفول السوداني والفلفل والبطاطس والأوكالبتوس [8] تم إدراج *Ralstonia solanacearum* ككائن حجر صحي في الاتحاد الأوروبي [25] ويمكن أن ينتشر العامل المسبب للذبول بين البلدان عن طريق الماء، ومواد الزراعة والتربة المصابة بالعدوى. تعتبر الطماطم أحد الأنواع النباتية التي تتأثر بشدة بالذبول البكتيري، وقد أعاق هذا المرض عمومًا الجهود المبذولة لزراعة الطماطم على نطاق واسع في المناطق الاستوائية [12]. تم التعرف علي بكتيريا *R. solanacearum* من خلال الاختبارات الشكلية وصبغه جرام و تنميتها على بيئة شبه أنتقائية 1٪ TZC agar حيث كانت المستعمرات مميزة بالمركز الأحمر وحواف المستعمرات بيضاء وكذلك أعطت أعراض الموت الموضعي علي أوراق التبغ بالإضافة الي قدرتها الامراضية علي الطماطم واحداث الاعراض النموذجية خلال10 ايام من العدوي و استخدام مصادر الكربوهيدرات المختلفة وهذا اتفق مع نتائج العزل والتعريف كلا من [16,10].

وأوضحت نتائج العزل من نباتات الطماطم التي تظهر عليها أعراض الذبول من منطقة الوسيطة، وذلك من خلال الفحص المجهري واختبار القدرة الامراضية بأن المسؤول عن الاعراض بكتيريا الذبول *Ralstonia solanacearum* وان عزلات الفطر *Fusarium oxysporium* لم تعطي أعراض الذبول وهذا اتفق مع وجده [3] حيث أستخدم في البحث 10 عزلات من فطر الفيوزاريوم من مناطق مختلفة وكانت 5 منها غير ممرضه لنبات الطماطم تحت ظروف الحقل والصوبة الزجاجية كذلك اختلفت هذه العزلات في معدلات النمو على الوسط الغذائيPDA. ان نمط الامراضية للعزلات الفطر قد جرى تقسيمها الى ثلاثة سلالات اعتماد اعلى قدرتها في اصابة الاصناف المختلفة لنبات الطماطم التي تمتلك جينات مقاومه مختلفة وان تصنيف السلالات التي يضمها الفطر يعتمد على قابلية هذه السلالات في كبح جينات

المناعة المتخصصة (specific I genes) للعائل مما يؤشر وجود الجينات غير الممرض(avirulence) في الفطر والتي تقابل جينات المناعة في العائل[24,6].

الاستنتاجات /

أظهرت نتائج العزل من نباتات الطماطم المصابة بأعراض الذبول من منطقة الوسيطة_ليبيا وجود مسببين مرضيين بكتريا وفطر. حيث كان الفطر الذي تم تعريفة فطر الذبول الفيوزاريومي *Fusarium oxysporium* وبينت نتائج اختبار القدرة الامراضية على صنف الطماطم منى عدم قدرة الفطر على احداث الاصابة بينما النوع البكتيري المتحصل عليه راجع الى البكتيريا *Ralestonia solanacearum* وتم إعادة العزل من النباتات المعداه و الحصول على نفس البكتريا .

المراجع /

[1]. أبوغنية، عبد النبي. 1998.أمراض المحاصيل البستانية وطرق مكافحتها. شركة المطبوعات للتوزيع والنشر. بيروت

[2]. أدم، محمد على موسى، محمد على سعيد و محمود أكريم حويطي. 2002. التفاعل بين نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* وفطر الذبول الوعائي *Fusarium oxysporium* sp. *Lycopersici*.على الطماطم. مجلة المختار للعلوم، 9(1): 55-66.

[3]. علي فاضل مرجان وجواد كاظم الجنابي. 2015. تشخيص عزلات الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* وتقييم امراضيتها تجاه الأصناف التفريقية لنبات الطماطه

[4]. فحيمة، عزالدين نصرالدين.2004–2012إحصائية لمحاصيل الخضروات والمساحات الإنتاجية. إدارة البستنة بوزارة الزراعة والثروة الحيوانية والبحرية في ليبيا.المنظمة العربية للتنمية الزراعية.

[5].Abo-El-Dahab, M. K. and El-Goorani, M. A. 1969. Antagonism among strains of *Pseudomonas solanacearum*. Phytopatholgy., 59: 1005-1007.

[6].Amini, J.2009. Developing of DNA-marker to the *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* resistance genes of tomato. J. Plant Prot. Res. 49:175-178.

[7].Barik, S., Ponnam, N., Acharya, G. C., Sandeep, V., Singh, T. H., Kumari, M., Srinivas, P. and Shankar, S. 2021. Genetic analysis of bacterial wilt resistance in eggplant (*Solanum melongena* L.). Eur. J. Plant Pathol., 160: 349-364

[8].Balamurugan, A., Muthamilan, M., Kamalakannan, A., Shanthi, A. and Arumugam, T. 2020. Characterization of *Ralstonia solanacearum* Causing Bacterial Wilt Disease of Tomato in Coimbatore District of Tamil Nadu, India. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci *9* (2): 3010-3016

[9].Buyela, D. Khasabu., David M. M., David M. M. and George T. O. 2017. Pascaline Jeruto Isolation and Characterisation of *Ralstonia Solanacearum* Strains of Tomato Wilt Disease from Maseno, Keny. Journal of Asian Scientific Research, 2017, 7(9): 404-420.

[10].Garcia, R.O., J.P. Kerns and Thiessen, L. 2019. *Ralstonia solanacearum* Species Complex: A Quick Diagnostic Guide. Plant Health Progress. 20 (1):7-13

[11]. Genin, S. and Denny, T. P. 2012. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. Annu. Rev. Phytopathol., 50: 67-89

[12].Hayward, A., 2000. *Ralstonia solanacearum*. In: Encyclopedia of Microbiology, Lederberg, J. (Ed.) 2nd Edn.,

Academic Press, ISBN-10: 0122268008, pp: 32-42

[13].Kelman, A. 1954. The Relationship of Pathogenicity of Pseudomonas solanacearum to Colony Appearance in a Tetrazolium Medium. Phytopathology, 44, 693-695

[14].King, E. G., Ward, M. K. and Raney, D. E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyarin and fluoresce in. Journal of laboratory and Clinical Medical 44: 301-307.

[15].Kumar, A. 2006. Methods for screening ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) for bacterial wilt resistance. Indian Phytopathology. 59 (3):281-286

[16].Kumar, A., Prameela, T. P., Suseelabhai, R., Siljo, A., Anandaraj, M. and Vinatzer, B. A. 2014. Host specificity and genetic diversity of race 4 strains of *Ralstonia solanacearum*. Plant Pathology. 63 (5):1138-1148

[17].Manda, R., Addanki, V. and Srivastava, S. 2020. Bacterial wilt of solanaceous crops. Int. J. Chem. Stud., 8(6): 1048-1057

[18].Marlatt, M. L., Correll, J. C., Kaufmann, P. and Cooper, P. E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. Plant Dis., 80: 1336-1342

[19].Mihovilovich, E., Lopes, C., Gutarra, L., Lindqvist-Kreuze, H., Aley, P., Priou, S. and Bonierbale, M. 2017. Protocol for Assessing Bacterial Wilt Resistance in Greenhouse and Field Conditions. International Cooperators' Guide.

[20].Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* species: an Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA, USA, 193 pp.

[21].Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Aps press.

[22].Skerman, V. B. 1967. Aguide to the identification of the Genera of Bacteria 2nd edition. Baltimore, Maryland : Williams and Wilkins

[23].Summerell, B. A., Salleh, B. and Leslie, J. F. 2003. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. Plant Disease 87: 117-128.

[24].Tanyolaç, B. and Akkale, C. 2010. Screening of resistance genes to fusarium root rot and *fusarium* wilt diseases in F3 family lines of tomato (*Lycopersicon esculentum*) using RAPD and CAPs markers. Afr. J. Biotechnol., 9:2727-2730

[25].Yabuuchi, E., Y. Kosako, I. Yano, H. Hotta and Nishiuchi, Y. 1995. Transfer of Two Burkholderia and An Alcaligenes Species to *Ralstonia* Gen. Nov. Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) Comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Comb. Nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) Comb. Nov. Microbiology and Immunology. 39 (11):897-904.

Diagnosing The Causes Of The Sudden Death Disease Of Tomato Plants In The Wasta Area, Libya.

Nagia Mohamed Jadalla Mousa

Dept. of plant protection Faculty of Agriculture / University of Omar Al-Mukhtar /El-Beida, Libya.

Abstract \

This study was conducted in 2021-2022 seasons, which aimed to isolation and identification of the pathogen produced the symptoms of wilting and death of tomato plants in the (Al-Wasita) area of Al-Jabal Al-Akhdar, where 10 infected plants were collected with symptoms of wilting. The field diagnosis of these infected plants was done through careful observation of the symptoms. Which included wilting, yellowing of leaves, appearance of adventitious roots, discoloration of vascular bundles. The results of this study indicated that by conducting repeated isolations, bacterial isolates with a bright white color were obtained on the nutrient agar environment (NA), while those growing on the selective environment (TZC) were colonies with white edges and a red or pink center, and the results showed that, the bacterial isolates were Gram-negative, positive for hypersensitivity test on tobacco leaves, production of catalase and nitrate reduction, and these tested isolates were able to cause the disease on tomato seedlings, where a rapid progression of the disease was observed starting from the first week after inoculation, and thus it was confirmed that it is *Ralstonia solanacearum* that causes bacterial wilt disease. The results indicated the isolation and identification of the fungus *Fusarium oxysporum* in wilt-infected tomato samples, and the results showed the inability of this fungus isolate to cause wilting on heathy inoculated tomato plants by the fungus, due to no symptoms appeared.

Keyword : Tomato wilt, *Fusarium oxyporum*, *R. solanacearum*, Libya. medium(TZC).