under conditions nonconducive to disease development. *Phytopat*. **77(9):** 1341 – 1345.

Van Loon, LC (1997) Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *Eur. J. Plant Pathol*. **103:** 753 – 765.

Ref. No. 2563
Rec. 1/8/2010
In-revised form: 2/4/2011

Nurnberger, T, and **Brunner, F** (2002). Innate immunity in plants and animals emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecules. *Curr. Opin. Plant Biol*. **5:** 1- 7.

SAS, (2001). SAS/STAT. User's guide for personal computers. Release 6.12. SAS Institute Inc., Cary. NC, U.S.A.

Schaad, NW (1988). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. (2nd ed.). Bacteriology committee of American Phytopathological society, Minnesota, pp. 81 – 92.

Scott, JB, Somodi, GC, and Jones, JB (1989). Genetic resistance to bacterial spot in tomato. in: Proc. Tomato and Pepper Production in the Tropics. S.K. Green, ed. AVRDC, Shanhua, Tainan, Taiwan Pages 200 – 207.

Scott, JW, Jones, JB, and **Somodi, GC** (1991) Disease severity of tomato hybrids heterozygous or homozygous for resistance to bacterial spot: commercial outlook. *Proc. Fla. State Hortic. Soc*. **104:** 259 – 262.

Shih-Tien, H, and **Robert, SD** (1972) Comparative growth of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas vesicatoria* and development of symptoms in bean and tomato leaves. *Phytopath*. **62:** 329 – 332.

Somodi, GC, Jones, JB, and **Scott, JW** (1989) Relationship of lesion on resistant and susceptible tomatoes to internal populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *In: Tomato and Pepper Production in the Tropics. Proceedings of the international symposium on integrated management practices*. Tainan, Taiwan, pp. 21 – 26.

Somodi, GC, Jones, JB, and **Scott, JW** (1991) Populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in lesions of susceptible and resistant tomato genotypes. *Plant Dis*. **75:** 357 – 360.

Thangavelu, R, Palaniswami, A, Doraiswamy, S, and **Velazhahan, R** (2003) The effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* on induction of defense enzymes and phenolics in banana. *Biol. Plant*. **46:** 107 – 112.

Timmer, LW, Marois, JJ, and **Achor, D** (1987) Growth and survival of xanthomonads

من البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Nagai and Sugimori, (1986) . وجدا أن سلالة البكتيريا المعزولة من *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* البرازيل أظهرت قدرتها الامراضية على الصنف المقاوم Hawaii 7998.

المراجع باللغة العربية

عبد الله ناشر وشوقي ناشر العريقي (2009) **وقاية النبات (أساسيات ومفاهيم). دار جامعة صنعاء للطباعة والنشر. اليمن. ص.** 48 – 49.

المراجع باللغة الإنجليزية

Abdel- Rahim, AM (1984) Bacterial leaf spot of sesame caused by *Xanthomonas sesame* (Sabet & Dowson) in Sudan. *Proceeding 6th Congeress Union Phytopatho. Mediterr*. Cairo, Egypt, pp. 261 – 264.

Agrios, GN (2005) *Plant Pathology*. 5th Elsevier Academic Press, Amsterdam, pp. 633 – 634. Boston , Heidelberg , London , New York , Oxford , Paris ,San Diego , San Francisco , Singapore , Sydney , Tokyo.

Araujo, JSP, Robbs, CF, and **Ribeiro, RLD** (2003). Menejo integrado de fitobacterioses de economica no Brasil. Parte 1.*Rev. Annual. Patol*. **1:** 107 – 131.

Balaji, V, Gibly, A, Debbie, P, and **Sessa, G** (2007). Transcriptional analysis of the tomato resistance response triggered by recognition of the *Xanthomonas* type I I I effector AvrXv3. Functional & Integrative. *Genomics* **7(4):** 305 – 316.

Bergey, DH (1977). *Bergey's Mannual of Systematic Bacteriology* 8thed. Pp.82 – 83, 1104 – 1139 **Noel, Krieg, R.** and **John, G, Holt.Williams** and **Wilkins** (**eds.**) Boltimore, London .

Bonas, U, and **Lahaye, T** (2002) Plant disease resistance triggered by pathogen-derived molecules: refined models of specific recognition. *Curr. Opin. Microbiol*. **5:** 44 – 50.

Bouzar, H, Jones, JB, Stall, RE, Louws, FJ, Schneider, M, Rademaker, JLW, de Bruijn, FJ, and **Jackson, LE** (1999). Multiphasic analysis of xanthomonads causing bacterial spot disease on tomato and pepper in the Caribbean and Central America: evidence for common lineages within and between countries. *Phytopatho*. **89:** 328 – 335.

Cao, J, Jiang, W, and **He, H** (2005). Induced resistance in yali pear (*Pyrus bretschneideri* Rebd.) fruit against infection by *Penicillium expansum* by postharvest infiltration of acibenzolar-S-methyl. *J. Phytopatho*. **153:** 640 – 646.

Cavalcanti, FR, Resende, MLV, Carvalho, CPS, Silveira, JAG, and **Oliveira, JTA** (2007) An aqueous suspension of *Crinipellis perniciosa* mycelium activates tomato defence responses against *Xanthomonas vesicatoria*. *Crop Protection*. **26:** 729 – 738.

Fay, PC, and Persley, GJ (1983) *Plant Bacterial Diseases, A Diagnostic Guide*. Academic Press, London, pp. 189 - 228.

Jones, JB, and **Scott, JW** (1986). Hypersensitive response in tomato to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Dis*. **70:** 337 – 339.

Kavitha, R, and **Umesha, S** (2008). Regulation of defense-related enzymes associated with bacterial spot resistance in tomato. *Phytoparasitica*. **36(2):** 144 – 159.

Klement, Z, Rudolph, K, and **Sands, DC** (1990). *Methods in phytobacteriology*. Akademiai Kiado, Budapest, pp. 59 – 61.

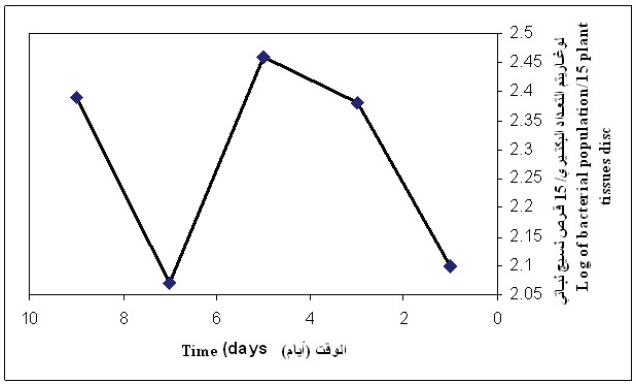
Lvanova, B, and **Bogatzevska,N** (2006). Rrsistance to race T1 and T3 of *Xanthomonas vesicatoria* in tomato lines. *Rasteniev'dni Nauki*. **43(5):** 435 – 438.

McGuire, RG, Jones, JB, and **Scott, JW** (1991). Epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on tomato cultigens resistant and susceptible to bacterial spot. *Plant Dis*. **75:** 606 – 609.

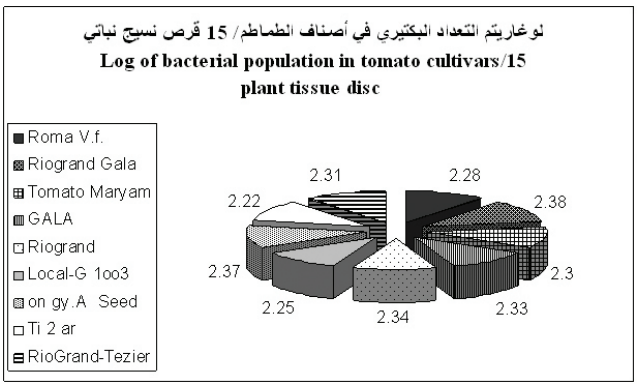
Mew, TW, and **Natural, MP** (1993). Management of *Xanthomonas* diseases. *In:* **Swings, JG, Civerolo, EL** (**eds**.), *Xanthomonas*. Chapman Hall, London, pp. 341 – 362.

Nagai, H, and **Sugimori, MH** (1986). Suscetibilidade dos tomateiros'H 7998' e'C-28' a pustule bacteriana (X*anthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*) em Sao Paulo. (Abstr) *Hortic. Bras*. **4:** 62.

النتائج ارتفاع التعداد البكتيري في القراءتين الثالثة والرابعة بدون أي فارق معنوي بين القراءتين ثم عاود التعداد البكتيري إلى الانخفاض في القراءة الخامسة.



شكل 3. تأثير ارتفاع درجة الحرارة على تكاثر البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

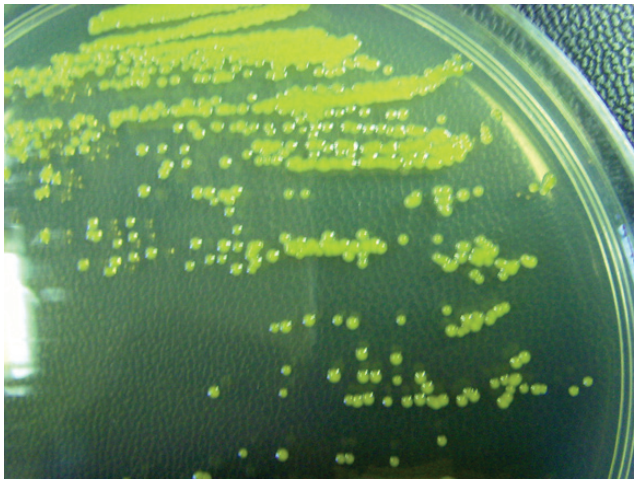


شكل 4. حساسية بعض أصناف الطماطم للإصابة بالبكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

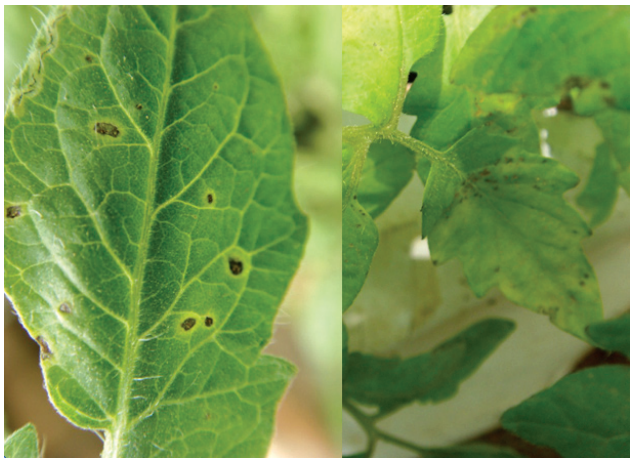
أظهرت النتائج (جدول 2) و (شكل 3) إلى انخفاض التعداد البكتيري عند القراءة الرابعة (بعد سبعة أيام من التلقيح) تدهوراً كبيراً في كل الأصناف المختبرة ماعدا الصنف on gy.A Seed ولم يلاحظ وجود فارق معنوي في التعداد البكتيري بين الأصناف التي حصل فيها انخفاض للبكتيريا عدا وجود فارق معنوي في التعداد البكتيري بين الصنف GALA وباقي الأصناف عند احتمالية (0.05). يعزى انخفاض التعداد البكتيري في القراءة الرابعة إلى العامل الحراري، حيث ارتفعت درجة حرارة البيت الزجاجي درجه ونصف الدرجة عن المعدل الحراري لبداية تنفيذ التجربة نتيجة لارتفاع درجة حرارة الجو، ثم عادت درجة الحرارة إلى معدلها المسجل في بداية تنفيذ التجربة بعد أخذ القراءة الرابعة وهذا ما يفسر عودة التعداد البكتيري إلى الارتفاع من جديد في القراءة الخامسة (بعد تسعة أيام من التلقيح). تأثير العامل الحراري على تكاثر البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ذكره Timmer, *et al*. (1987) حيث لاحظوا تضاعف البكتيريا مائة ضعف عندما كانت نباتات الطماطم الملقحة ببكتيريا تبقع الأوراق وعزلة أخرى مترممة (*Xanthomonas campestris*) متواجدة داخل المعمل خلال 48 ساعة من التلقيح وعندما أخرجت النباتات من المعمل وتعرضت لدرجة حرارة قدرها (17 – 22 س°) ورطوبة شبه مرتفعة (70 – 85%) حصل تدهور كبير في تكاثر البكتيريا المسببة لتبقع أوراق الطماطم والمترممة. هذا يعني أن التغيرات الحرارية سواءً بالانخفاض أو الارتفاع تؤثر تأثيراً كبيراً على معدل تكاثر البكتيريا علماً بأن درجة الحرارة المثلى لبكتيريا تبقع أوراق الطماطم هي 27 س° (Timmer, *et al*. 1987).

بينت النتائج (شكل 4) إلى وجود فارق معنوي في لوغاريتم التعداد البكتيري بين صنف الطماطم Riogrand Gala الذي أحتوى على أكبر تعداد للبكتيريا وبين الصنف Ti 2 ar والذي كان تعداد البكتيريا فيه منخفضاً، بينما لم تظهر أي فروقات معنوية بين الصنف Riogrand Gala وباقي الأصناف المختبرة ولا بين الصنف Ti 2 ar وباقي الأصناف رغم وجود اختلاف في لوغاريتم التعداد البكتيري بين الأصناف من الأعلى إلى الأدنى، ولقد احتوت الأصناف Ti 2 ar و Local-G 1oo3 و Roma V.f. على التعداد البكتيري الأدنى من بين الأصناف المختبرة، تتفق هذه النتيجة مع ما ذكره بعض الباحثين من أن هناك أصناف مقاومة لمرض تبقع أوراق الطماطم مثل الصنف Hawaii 7998 (Jones and Scott, 1986) والصنف Hawaii 7981 (Balaji, *et al*. 2007). وذكر العديد من الباحثين (Van Loon, 1997, Bonas and Lahaye, 2002, Thangavelu, *et al*. 2003, Cavalcanti, *et al*. 2007, Kavitha and Umesha, 2008) إلي أن مقاومة بعض الأصناف للبكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* يرجع إلى زيادة محتواها من المواد الفينولية والإنزيمات المؤكسدة (التي تؤكسد المواد الفينولية إلي كينونات) والكيتينات النباتية والمواد المغلظة لجدر الخلايا مثل اللجنين. وأفاد (Balaji, *et al*. 2007) إلى أن صفة المقاومة هذه ترجع لجينات مثل الجين AvrXv3. ولوحظ أيضاً أن التعداد البكتيري كان مرتفعاً في الأصناف Riogrand Gala و on gy.A Seed و Riogrand وقد أشار Lvanova and Bogatzevska، (2006) إلى أن مقاومة أصناف الطماطم قد انخفض بحسب ضراوة سلالات البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* حيث وجدا أن نباتات الطماطم المختبرة كانت أقل مقاومة للسلالة (T1)

عند درجة حرارة البيت الزجاجي (26 – 29س) وبفارق معنوي بين الأصناف. تميز تكاثر البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* في أنسجة الأصناف Roma V.f.، Tomato Maryam، GALA، Riogrand، Local-G 1oo3، Ti 2 ar و RioGrand-Tezier بالتكاثر السريع عند القراءات الثلاث الأولى (بعد يوم و ثلاثة أيام و خمسة أيام من التلقيح). تتفق هذه النتيجة مع تلك التي تحصل عليها مجموعة من الباحثين (Somodi، *et al*. 1989 and 1991) من أن بكتيريا تبقع الأوراق تتكاثر في أنسجة الصنف المقاوم Hawaii 7998 والصنف القابل للإصابة Walter، كما تتفق أيضاً مع ما أشار إليه Abdel- Rahim، (1984) عن تكاثر البكتيريا *Xanthomonas sesame* في أنسجة نباتات السمسم القابلة للإصابة والمقاومة. هذا وقد أشار McGuire، *et al*. (1991) إلى إمكانية استخدام التعداد البكتيري الكلي داخل الأنسجة المتضررة كمؤشر لتوضيح مدى المقاومة للبكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.



شكل 1. مستعمرات لبكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* على الوسط الغذائي NAG.



شكل 2. أعراض نموذجية للمرض علي أوراق الطماطم.

كما بينت النتائج زدياد التعداد البكتيري في الصنف Riogrand Gala وخصوصاً عند القراءة الثانية (بعد ثلاثة أيام من التلقيح) وباللوغاريتم قدره 3.72 وحدة مستعمرة بكتيرية/ 15 قرص نسيج نباتي، مع ملاحظة وجود فارق معنوي بين هذه القراءة وباقي القراءات ولكل الأصناف عدا القراءة الخامسة (بعد تسعة أيام من التلقيح) للصنف Roma V.f. باللوغاريتم قدره 3.64 وحدة مستعمرة بكتيرية/ 15 قرص نسيج نباتي والقراءة الثالثة (بعد خمسة أيام من التلقيح) للصنف GALA باللوغاريتم قدره 3.66 وحدة مستعمرة بكتيرية/ 15 قرص نسيج نباتي وبدون فروقات معنوية بينهم عند احتمالية (0.05). تميز تكاثر البكتيريا في الصنف on gy.A Seed بين الانخفاض والارتفاع حيث بلغ التعداد البكتيري في القراءة الأولى 3.51 وحدة مستعمرة بكتيرية/ 15 قرص نسيج نباتي، ثم تدهور التعداد البكتيري في القراءة الثانية إلى 3.13 وحدة مستعمرة بكتيرية/ 15 قرص نسيج نباتي مع ملاحظة وجود فارق معنوي بين القراءتين عند احتمالية (0.05). كذلك بينت

جدول 2. لوغاريتم التعداد البكتيري/15 قرص من أنسجة وريقات بعض أصناف الطماطم عندما لقحت بتركيز 103 وحدة تكوين مستعمرة بكتيرية/ مل من البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*.

الأصناف المختبرة Test cultivars									الأيام بعد العدوى Days after infection
RioGrand-Tezier	Ti 2 ar	on gy.A Seed	Local-G 1oo3	Riogrand	GALA	Tomato Maryam	Riogrand Gala	Roma V.f.	
3.22 k-o	2.65 r	3.51 c-f	3.13 l-q	2.95 o-r	2.79 qr	2.95 o-r	3.16 l-q	2.93 o-r	**1**
3.26 i-n	3.23 j-o	3.13 l-q	3.13 l-q	3.53 cde	3.42 d-i	3.42 d-i	3.72 a	3.26 i-n	**3**
3.41 d-i	3.40 e-j	3.34 g-l	3.52 cde	3.60 bc	3.66 ab	3.45 d-h	3.38 f-k	3.26 i-n	**5**
2.87 p-r	2.84 qr	3.47 d-g	3.13 l-q	3.00 n-r	3.20 k-p	2.85 qr	3.02 n-r	2.79 qr	**7**
3.54 cd	3.47 d-g	3.30 h-m	3.20 k-p	3.25 i-n	3.11 m-r	3.46 d-g	3.25 i-n	3.64 ab	**9**

جيدا بالماء المقطر ثم غمست في كحول ايثايل 70% لمدة دقيقة وغسلت بعد ذلك بالماء المقطر المعقم. أخذ خمسة عشر قرصاً من المساحة الملقحة لوريقات الورقتين كل صنف على حده بالثاقب الفليني المعقم (قطره 6 مليمتر) وذلك بعد 1، 3، 5، 7 و 9 أيام من التلقيح. سحقت الأقراص النباتية المأخوذة جيداً (كل صنف على حده) في هاوون خزفي معقم مع إضافة 2 مل ماء مقطر ومعقم لكل 15 قرص، استخدمت طريقة التخفيف لناتج السحق. أخذ من كل عينه 0.1 مل ووضع على سطح الوسط الغذائي (GNA) الموزع في أطباق بتري وتم فرده جيداً بواسطة ساق زجاجية معقمة، بمعدل ثلاثة أطباق لكل عينة. تركت الأطباق على درجة 27 ± 1 س° مدة 48 ساعة، أخذت النتائج بعد المستعمرات البكتيرية لكل خمسة عشر قرصاً نباتياً ملقحاً (Shih-Tien and Robert, 1972) . استعمل في التجربة التصميم العشوائي الكامل (CRD)، وحللت البيانات وفق هذا التصميم وقورنت النتائج باستعمال اختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمال 0.05، واستعمل البرنامج الإحصائي SAS (SAS, 2001) في التحليل الإحصائي.

النتائج والمناقشة

عزل البكتيريا

عزلت البكتيريا المسببة لمرض تبقع الأوراق في الطماطم من جميع العينات (أوراق وثمار نباتات الطماطم) التي أظهرت أعراض تبقع من حقول منطقة كلائبة محافظة تعز. وظهر نمو بكتيري عند تخطيط معلق من مسحوق العينات المصابة على الأوساط الغذائية GNA، NDA، SPA و YPGA بعد 24 ساعة من التحضين عند درجة حرارة 27 ± 1 س°. وتم وصف المستعمرات الفردية بعد 48 ساعة، فظهرت صغيرة الحجم، دائرية ومحدبة، ملساء ومخاطية، ذات لون أصفر (شكل:1). وتتطابق هذه الصفات مع تلك التي أشارت إليها العديد من الدراسات فيما يتعلق بالجنس *Xanthomonas* (Bergey, 1977 . Fay and Persley, 1983. Schaad, 1988 و Klement, *et al*. 1990).

تعريف البكتيريا الممرضة

تميزت المستعمرات النامية على الأوساط الغذائية GNA، NDA، SPA و YPGA (شكل1) بأنها ذات لون أصفر ودائرية محدبة، ناعمة ولماعة. وأظهر الفحص المهجري للبكتيريا المصبوغة بصبغة جرام أن خلاياها عصوية، سالبة لصبغة جرام، وتتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات سابقة فيما يتعلق بصفات الجنس *Xanthomonas* (Bergey, 1977 ، Fay and Persley, 1983، Klement, *et al*. 1990 و Schaad, 1988). أظهرت النتائج أيضاً قابلية هذه البكتيريا على النمو عند درجة حرارة 35 س°، وقابلية النمو في الوسط الغذائي المضاف له ملح NaCl (3% و7%) (جدول1). أظهرت النتائج ايجابية كل الاختبارات كما هو بين في الجدول (1). ولدى مقارنة تلك النتائج سواء المتعلقة بالصفات المظهرية أو بالصفات الفسيولوجية والبيوكيميائية، مع ما سبق التوصل إليه في الدراسات السابقة أنفة الذكر يمكن الاستنتاج بأن البكتيريا المسببة لتبقع أوراق الطماطم والمعزولة تتبع النوع *Xanthomonas campestris* .

جدول 1. بعض الصفات الفسيولوجية والبيوكيميائية لست عزلات من البكتيريا *Xanthomonas campestris*.

الاختبار		النتيجة
النمو عند درجة حرارة 35 س	Growth at 35 C	+
النمو على 3% كلوريد صوديوم	Growth in 3% NaCl	+
النمو على7% كلوريد صوديوم	Growth in 7% Na Cl	+
النمو المخاطي على الوسط SPA	Mucoid growth on SPA	+
التحلل المائي للجيلاتين	Gelatine hydrolysis	+
التحلل البروتين للحليب	Milk proteolysis	+
انتاج H_2S	H_2S production	+
انتاج غاز من:	Acid production from:	
الجيلكوز	glucose	+
الرابينوز	arabinose	+
الجالاكتوز	galactose	+

القدرة الإمراضية للعزلات

وجد تباين في قدرة العزلات البكتيرية (عشرون عزله) على إحداث المرض على نباتات الطماطم صنف Riogrand Gala، إذ لم تظهر بعض العزلات أية أعراض (9 عزلات)، بينما أظهر البعض الأخر اصفرار فقط على الأوراق (5 عزلات)، وظهرت اختلافات معنوية بين بقية العزلات ثلاثة منها متوسطة القدرة المرضية والثلاثة الأخرى عالية القدرة المرضية، حيث شوهدت أعراض المرض بعد مرور أسبوعين من التلقيح بظهور بقع صغيرة غير منتظمة رمادية أو مسودة تحاط بهالة صفراء(شكل 2)، تماثلت فيها مع دراسات سابقة (Agrios2005، ، عبد الله و شوقي 2009).

حساسية بعض أصناف الطماطم للبكتيريا الممرضة

أظهرت النتائج (جدول 2) قدرت البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* المعزولة محلياً على إصابة تسعة أصناف من الطماطم بمرض تبقع الأوراق

البكتيريا *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* 1T و T3، وأن المقاومة للسلالة T3 كانت أعلى من المقاومة للسلالة T1 (Lvanova and Bogatzevska, 2006). ولاحظ Balaji, *et al*. (2007) أن صنف الطماطم هاوي 7981 مقاوم للإصابة بالبكتيريا *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* وأن صفة المقاومة في هذا الصنف ترجع للجين AvrXv3.

تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتعريف مسبب مرض تبقع الأوراق في الطماطم للصنف Riogrand Gala من منطقة كلائبة، محافظة تعز، اليمن ومقارنة بعض أصناف الطماطم الأخرى لمدى قابليتها للإصابة ببكتيريا تبقع الأوراق، ومعرفة أقل الأصناف حساسية بالبكتيريا وأكثرها مقاومة لتعميمها.

المواد والطرق

عزل البكتيريا

أخذت عينات من نباتات طماطم للصنف Riogrand Gala ذات أعراض مثالية للتبقع البكتيري على الأوراق والثمار والتي جمعت خلال الموسم الزراعي 2009/2008 من منطقة كلائبة في محافظة تعز في اليمن. غسلت الأوراق والثمار جيداً بماء الصنبور لإزالة الأتربة، ثم عقمت سطحياً بغمرها في كحول ايثايل 70% لمدة خمس دقائق ومن ثم غسلت بالماء المقطر المعقم. سحق جزء من القطع الورقية المحتوية على جزء مصاب وأخر سليم وجزء أخر من الأنسجة الثمرية كل على حدة في بضع قطرات من الماء المقطر المعقم في هاوون معقم وأخذ جزء من المعلق الناتج بواسطة إبرة التلقيح ذات العقدة ولقحت به أطباق بتري تحتوي أوساط غذائية مختلفة 1%Glucose nutrient agar (GNA)، Nutrient dextrose agar (NDA)، Yeast peptone glucose و Sucrose peptone agar (SPA) agar (YPGA)، ثم حضنت عند درجة حرارة 27 ± 1 س° لمدة 48 ساعة (Fay and Persley، 1983، Schaad، 1988 و Klement، *et al*. 1990). إنتخبت مستعمرات فردية ثم أعيدت زراعتها على الوسط الغذائي GNA بالطريقة ذاتها للتأكد من نقاوة العزلة. نقلت المستعمرات الفردية إلى أنابيب اختبار تحوي الوسط الغذائي GNA (مائل) وحفظت عند درجة حرارة المعمل.

تعريف البكتيريا الممرضة

أعتمد في تعريف البكتيريا على الخصائص المظهرية للمستعمرات النامية على الأوساط الغذائية (NDA)، (GNA)، (SPA) و (YPGA)، إضافة إلى شكل الخلايا تحت المجهر الضوئي. كما درست الصفات الفسيولوجية والبيوكيميائية وهي اختبار النمو عند درجة حرارة 35 س، اختبار تحمل النمو عند تركيزي 3% و 7% NaCl، اختبار تحلل الجيلاتين، اختبار تحلل بروتين الحليب، اختبار المخاطية على الوسط الغذائي SPA، اختبار أنتاج غاز H_2S، اختبار إنتاج حامض من نموها في وسط غذائي يحتوي سكريات مختلفة (الجلوكوز و الأرابينوز و الجالاكتوز) (Fay and Persley، 1983، Schaad، 1988 و Klement، *et al*. 1990).

اختبار القدرة الإمراضية للعزلات

استخدمت نباتات طماطم صنف Riogrand Gala بطول 25 – 30 سنتيمتر، كما استخدم معلق من عزلات البكتيريا *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* (عشرون عزلة) المنماة مدة 48 ساعة على الوسط الغذائي (GNA). لقحت أوراق النباتات بالمعلق البكتيري (10^3 وحدة تكوين مستعمرة/ مل)، حيث أحدثت جروح غير مرئية (بفرشة اسنان معقمة) على أسطح الأوراق ثم تلويثها مباشرةً باللقاح البكتيري (بواسطة فرشاة ألوان). وضعت النباتات الملقحة في البيت الزجاجي عند درجة 26 – 29 س وغطيت بأكياس نايلون مدة 48 ساعة للمحافظة على الرطوبة مع بقاء أرضية البيت الزجاجي مشبعة بالماء وخصوصاً في ساعات ارتفاع درجة الحرارة النهار (عند الظهر) للحفاظ على رطوبة جوية مناسبة لنمو البكتيريا (75 – 90%) حتى نهاية التجربة. استخدمت ثلاثة نباتات لكل عزلة، إضافة إلى نباتات الشاهد التي لقحت بماء مقطر معقم. نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبثلاثة مكررات. أخذت نتائج القدرة الامراضية بعد مرور أسبوعين من العدوى.

اختبار حساسية أصناف الطماطم

زرعت تسعة أصناف طماطم (Roma V.f.، Riogrand Gala، Tomato Maryam، GALA، Riogrand، Local-G و 1oo3، on gy.A Seed، Ti 2 ar RioGrand-Tezier) في أصص 25 × 15 × 10 سنتيمتر تحتوي على مزيج من تربة، سماد عضوي متحلل و بيتموس (1:1:1) عقمت بالفورمالين. استخدمت أقوى عزلة ممرضة من البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* لتقيم حساسية أصناف الطماطم للإصابة بها، نميت البكتيريا على الوسط الغذائي (GNA) مدة 48 ساعة وتمت العدوى بمعلق بكتيري (10^3 وحدة تكوين مستعمرة/ مل) وبنفس طريقة اختبار القدرة الامراضية بعد بلوغ النباتات 8 – 9 أوراق. استخدمت طريقة اطباق التخفيف لمعرفة أعداد المستعمرات البكتيرية في الأوراق. نقلت الأوراق الملقحة إلى المعمل (ورقتين من كل صنف) وغسلت

four media ((1% Glucose nutrient agar (GNA), Nutrient dextrose agar (NDA), Sucrose peptone agar (SPA) and Yeast peptone glucose agar (YPGA)). Pathogenicity test results showed three isolates were highly virulent while three other isolates were moderately virulent. The pathovar *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* was identified according to visible characteristics of the colonies by (GNA, NDA, SPA and YPGA) media, cell shape, and physiological and biochemical characteristics (ability to grow at 35° C, production of H_2S and ability to assimilate certain carbohydrates). Results revealed the ability of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* to infect nine tomato cultivars (Roma V.f., Riogrand Gala, Tomato Maryam, Gala, Riogrand, Local-G 1oo3, on gy.A Seed, Ti 2 ar and RioGrand-Tezier) causing leaf spot at 26 – 29° C. Results also showed on Ti 2 ar, Local-G 1oo3 and Roma V.f. cultivars a decreased level of bacteria multiplication while Riogrand Gala**,** on gy. A Seed and Riogrand cultivars showed increased bacteria population.

Keywords: *Tomato, cultivars, Xanthomonas campestris pv. vesicatoria, Yemen*.

المقدمة

يتسبب مرض تبقع الأوراق البكتيري في الطماطم (*Lycopersicon esculentum*)عن البكتيريا *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*، وينتج عن تلك الإصابة انخفاض في المحصول من حيث الكم والجودة. من الصعوبة بمكان مكافحة هذا المرض ولا بد من إدارة متكاملة لمكافحته مثل استخدام تقاوي غير ملوثة بالبكتيريا والتعقيم والمكافحة الكيماوية (Araujo, *et al*. 2003). كما وتستخدم الأصناف المقاومة والمكافحة الحيوية للحد من المرض. تقاوم النباتات عن نفسها من مهاجمة المسببات المرضية من خلال ما تمتلكه من دفاعات طبيعية مثل الشموع الموجودة بالبشرة والمواد المضادة للميكروبات. بالإضافة لدفاعات العائل الاساسية، توجد عوامل أخرى يمكن للعائل أن يدافع عن نفسه من مهاجمة المسببات المرضية (Bonas and Lahaye, 2002)، كلها تعمل من أجل الحد من خطورة الأمراض والتي تتسبب عن مسببات مرضية (Nurnberger and Brunner, 2002). دلالات ظهور المقاومة في النباتات تكون من خلال انخفاض حجم او أعداد البقع والتي تنشأ بعد العدوى وهذا يعكس انخفاض خلايا المسبب المرضي. فالنباتات التي تظهر مقاومة للاصابة قد تكون هذه المقاومة غير متخصصة لمسبب مرضي بعينه مثل المقاومة الجهازية (Cao, *et al*. 2005). قد تكون المقاومة لمسبب مرضي موضعية أو جهازيه حيث يرجع ذلك لاحتواء صنف النبات لمركبات تحد من قدرة المسبب المرضي مثل الكيتينات chitinases، والـ β-1,3-glucanases، والبيروكسيداز peroxidases وبروتينات أخرى ذات علاقة بالحد من أضرار المسبب المرضي (Van Loon, 1997). كما وجد تجمع لمركبات الفيتوالاكسين phytoalexins ومركبات تقوية الجدر الخلوية مثل اللجنين (Thangavelu, *et al*. 2003). لا حظ Cavalcanti, *et al*. (2007) استجابة نباتات الطماطم لمقاومة بكتيريا تبقع الأوراق بعد رش تلك النباتات بالمركبات الطبيعية لاستحثاث المقاومة مثل acibenzolar-S-methyl, ASM (Bion 50 WG (0.2 gl-1)). وبمعلق كيتينات غير متجانسة مأخوذة من ميسليوم الفطر *Crinipellis perniciosa* وذلك في تجربة نفذت بالبيت الزجاجي. قدرت استجابة النباتات لمكافحة بكتيريا التبقع من خلال الزيادة في تخليق مركبات عملت على استحثاث المقاومة الطبيعية في تلك النباتات المعاملة مثل الفينولات والكيتينات النباتية والأنزيمات واللجنين. بينما وجد كل من Kavitha and Umesha (2008) أن صفة المقاومة في بعض أصناف الطماطم لبكتيريا تبقع الأوراق يرجع إلى زيادة محتوى تلك الأصناف من الإنزيمات مثل peroxidase والـ polyphenol oxidase والفينولات الكلية واللجنين.

استخدمت أصناف الطماطم المقاومة لبكتيريا تبقع الأوراق (Bouzar, *et al*. 1999 وMew and Natural,1993). لوحظ دلالات فرط الحساسية (موت الخلايا الملقحة بالبكتيريا دون ظهور أعراض تبقع الأوراق وتطور المرض) في صنف الطماطم هاوي (Hawaii) 7998 بعد تلقيحه ببكتيريا تبقع الأوراق *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* في فلوريدا (Jones and Scott, 1986) ، وعلى ضؤ ذلك شرع Scott, *et al*. (1989 and 1991) في عمل برنامج تربية لهذا الصنف حتى يتم تداوله تجاريا. إلا أن Nagai and Sugimori، 1986)) أشاروا إلى أن الصنف هاوي 7998 قابل للإصابة ببكتيريا تبقع الأوراق في البرازيل حيث ثبت فيما بعد أن قابلية الصنف هاوي 7998 للإصابة يرجع إلى سلالة جديدة من البكتيريا *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*. أظهرت نباتات الطماطم *Lycopersicon chilense*, *L. peruvianum var. humifusum*, *L. pimpinellifolium*, Hawaii, Ontario و Sugar مقاومة للإصابة بسلالتي

Research Paper Ref. No 2565

عزل وتعريف البكتيريا المسببة لمرض تبقع أوراق الطماطم في اليمن واختبار حساسية بعض الأصناف لها

Isolation and Identification of Bacteria Causing Tomato Leaf Spot in Yemen with Susceptibility of Certain Cultivars

شوقي ناشر سيف العريقي[1]، عبد الرحمن عبد الفتاح الشامي[2] وصالح حسين القانصي[3]

S. N. S. El-Ariqi, A. A. Abdel-Rahman and S. H. Al-Ganesi

[3,1] قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة صنعاء، اليمن، ص.ب 13035، بريد معين

[2] هيئة البحوث الزراعية، تعز، اليمن

E-mail: dr.ariqi@yahoo.com

المستخلص: هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتعريف البكتيريا المسببة لمرض تبقع الأوراق في الطماطم في منطقة كلائبة. تم الحصول على عشرون عزلة بكتيرية من أوراق وثمار نباتات مصابة جمعت من حقول منطقة كلائبة من محافظة تعز في اليمن. ظهرت مستعمرات البكتيريا الممرضة بلون أصفر على أربع أوساط غذائية مختلفة ,1% Glucose nutrient agar (GNA) Yeast peptone glucose agar (YPGA). Nutrient dextrose agar (NDA), Sucrose peptone agar (SPA) و وأوضحت نتائج القدرة الامراضية على الصنف Riogrand Gala أن ثلاث عزلات كانت عالية القدرة الامراضية وثلاث عزلات أخرى متوسطة القدرة الامراضية بينما بقية العزلات لم تظهر أعراض المرض. حدد طراز البكتيريا *Xanthomonas* campestris *pv. vesicatoria* من خلال دراسة الصفات المظهرية للمستعمرات البكتيرية النامية على الأوساط الغذائية (GNA, NDA, SPA و YPGA) وعلى شكل الخلايا تحت المجهر الضوئي، واعتماداً على الصفات الفسيولوجية والبيوكيميائية: النمو عند درجة حرارة 35 س°، تحمل النمو عند تركيزي 3% و 7% NaCl، تحلل الجيلاتين، تحلل بروتين الحليب، اختبار المخاطية على الوسط الغذائي SPA، أنتاج غاز H_2S وقابليتها على تمثيل بعض المواد الكربوهيدراتية. أظهرت النتائج قدرة البكتيريا *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* المدروسة على إصابة تسعة أصناف من الطماطم (Roma V.f.، Riogrand Gala، Tomato Maryam، GALA، RioGrand-Tezier و Riogrand، Local-G 1oo3، on gy.A Seed، Ti 2 ar) بمرض تبقع الأوراق عند درجة حرارة 26 – 29 س°. وكان التعداد البكتيري هو الأقل في الأصناف Ti 2 ar و Local-G 1oo3 و Roma V.f، بينما كان التعداد البكتيري في الأصناف Riogrand Gala و Seed on gy.A و Riogrand مرتفعاً.

كلمات مدخلية: *الطماطم، الأصناف، Xanthomonas campestris pv. vesicatoria، اليمن.*

Abstract: This study was conducted to isolate and identify the causal agent of bacterial leaf spot disease on tomato in district fields in Kla'abah, Taiz, Yemen. Twenty isolates were obtained from tometoes leaves and fruit of infected plants. Yellow, raised and shiny colonies were developed on