

## تحديد البكتيريا المسببة لتبقع الشماري (*Arbutus pavarii* Pampanini) وانتشارها بمنطقة الجبل الأخضر في ليبيا

عبد الناصر محمد بو بكر، عز الدين محمد يونس العوامي وعمر موسى السنوسي  
قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا، البريد الإلكتروني: Azzawami2002@yahoo.com

### الملخص

بو بكر، عبد الناصر محمد، عز الدين محمد يونس العوامي وعمر موسى السنوسي. 2009. تحديد البكتيريا المسببة لتبقع الشماري (*Arbutus pavarii* Pampanini) وانتشارها بمنطقة الجبل الأخضر في ليبيا. مجلة وقاية النبات العربية، 27: 179-187.  
أجري مسح خلال الفترة من 2004 إلى 2005 بمنطقة الجبل الأخضر في ليبيا، وظهر انتشاراً واسعاً لمرض التبقع على أوراق نبات الشماري *Arbutus pavarii* Pampanini الذي يعتبر فريد نوعه في أنحاء العالم والمنتشر في منطقة الجبل الأخضر بصورة طبيعية. أظهرت النتائج الأولية انتشار هذا المرض في عدة مواقع وينسب إصابة مختلفة. وبعد إجراء عمليات العزل أتضح من نتائج دراسة الصفات العامة والشكلية والمزرعية وكذلك الخواص الفسيولوجية والكيموحيوية أن العزلات التي تم الحصول عليها من الأجزاء المصابة تتبع البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* وهذا ما أكدت عليه اختبارات القدرة الامراضية.  
كلمات مفتاحية: *Arbutus pavarii*، *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*، تبقع بكتيري، ليبيا.

### المقدمة

*syringae* حيث ينتشر هذا المسبب في عدد كبير من دول العالم على عدد واسع من العوائل النباتية (9). وبالإضافة إلى مرض تبقع الأوراق، فإن هذه البكتيريا تسبب عديداً من الأمراض الأخرى مثل تقرحات الفروع والبراعم، والموت الرجعي للأغصان، وموت البراعم، ومرض لفحة الأزهار (16).

لوحظ حديثاً انتشار مرض التبقع على أوراق نبات الشماري في منطقة الجبل الأخضر حيث تظهر الأعراض في البداية على هيئة بقع بنية محاطة بهالة ذات لون أحمر إلى بنفسجي محمر، وقد تتحد هذه البقع لتغطي مساحة أوسع من سطح الورقة، وقد تتركز الإصابة في بعض الأحيان على حواف الأوراق. وتؤدي هذه الأعراض غالباً إلى اصفرار الأوراق وتساقطها. ونظراً لما قد يسببه تطور هذه الظاهرة المرضية وانتشارها في منطقة الدراسة من خسارة كبيرة في الغطاء النباتي والذي له تأثير مباشر في البيئة الطبيعية المميزة لمنطقة الجبل الأخضر، فقد أهدف هذا البحث دراسة مرض التبقع على نبات الشماري من خلال النقاط التالية: (1) تقدير انتشار المرض في مواقع مختلفة بمنطقة الجبل الأخضر ودراسة علاقة ذلك ببعض الظروف البيئية السائدة في كل موقع؛ (2) عزل المسبب المرضي وإثبات علاقته بالأعراض المصاحبة للحالة المرضية؛ (3) تعريف العزلات المختلفة من خلال دراسة خصائصها الشكلية والمزرعية والفسيولوجية والكيموحيوية؛ (4) دراسة المدى العوائلي للمسبب المرضي على بعض النباتات المنتشرة ضمن الفلورا النباتية بالجبل الأخضر.

يعد الغطاء النباتي ذا أهمية بالغة في حياة الإنسان فهو القاعدة الأساسية للمادة العضوية اللازمة لتغذية الكائنات الحية كافة. ومن ضمن أشجار الغابات المهمة في منطقة الجبل الأخضر نبات الشماري *Arbutus pavarii* Pampanini الدائم الخضرة. ولهذا النبات فوائد عديدة، فقد أشار الفرغاني وسالم (4) إلى احتواء ثماره على كميات مقبولة غذائياً من العناصر الغذائية والفيتامينات. وكبقية أشجار الغابات وشجيرات الأخرى، لنبات الشماري فوائد بيئية متعددة كحفظ التربة من الانجراف وتحسين الخواص الكيميائية والفيزيائية للتربة بما تضيفه هذه الشجيرات من مواد عضوية إلى التربة من جراء تساقط الأوراق والأغصان على سطح التربة وتحللها، كما توجد أهمية كبيرة لأزهار هذا النبات وثماره حيث يستفيد منتجو العسل في الحصول على إنتاج وفير من أفضل وأعلى أنواع العسل في منطقة الجبل الأخضر (2). يتعرض نبات الشماري كغيره من النباتات إلى الإصابة بعدد من الأمراض والافات حيث ذكر Janice (13) إصابة أوراق الشماري بالفطر *Phytophthora ramorum* المسبب لتبقع الأوراق الارجواني وتقرح الساق الذي يؤدي إلى الموت التراجمي للفروع. وأشار الزني (2) بأن جذور هذا النبات تصاب بعدد من الفطور والتي قد تؤدي إلى ظهور تقرحات على السوق والأفرع أيضاً. ويصاب نبات الشماري أيضاً بالتبقع البكتيري المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv.

جدول 1. المتوسط الشهري لدرجات الحرارة والرطوبة النسبية وهطل الأمطار في موقع شحات خلال الفترة من 2003/10/1 إلى 2004/7/30.

Table 1. Monthly average temperature, relative humidity and rainfall inShahhat region from 1/10/2003 to 30/7/2004.

| الهطل المطري (مل)<br>Rainfall (ml) | الرطوبة النسبية (%)<br>Relative humidity (%) | درجة الحرارة Temperature |                |                | الشهر<br>Month |
|------------------------------------|--|--------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                    |  | المتوسط<br>Averg.        | الصغرى<br>Min. | العظمى<br>Max. |                |
| -                                  | 65.1   | 21.2                     | 11             | 34.2           | 10             |
| 49.6                               | 77.0   | 14.8                     | 6.5            | 31.2           | 11             |
| 115.2                              | 81.3   | 10.3                     | 3.0            | 20.0           | 12             |
| 227.4                              | 79.8   | 8.7                      | 2.8            | 16.0           | 1              |
| 58.4                               | 74.0   | 10.3                     | 4.0            | 26.5           | 2              |
| 6.2                                | 52.0   | 12.7                     | 3.5            | 27.0           | 3              |
| 20.0                               | 65.9   | 14.6                     | 6.0            | 30.0           | 4              |
| -                                  | 60.7   | 18.0                     | 7.5            | 32.0           | 5              |
| -                                  | 60.2   | 21.1                     | 11.5           | 34.0           | 6              |
| 10.4                               | 67.2   | 22.9                     | 16.5           | 36.0           | 7              |

جدول 2. المتوسط الشهري لدرجات الحرارة والرطوبة النسبية وهطل الأمطار في موقع البلنج خلال الفترة من 2003/10/1 إلى 2004/7/30.

Table 2. Monthly average temperature, relative humidity and rainfall in Blanj region from 1/10/2003 to 30/7/2004.

| الهطول المطري (مل)<br>Rainfall (ml) | الرطوبة النسبية (%)<br>Relative humidity (%) | درجة الحرارة Temperature |                |                | الشهر<br>Month |
|-------------------------------------|--|--------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                     |  | المتوسط<br>Averg.        | الصغرى<br>Min. | العظمى<br>Max. |                |
| -                                   | 50.6   | 22.86                    | 16.6           | 28.5           | 10             |
| 58.6                                | 69.8   | 17.78                    | 11.6           | 20.2           | 11             |
| 112.4                               | 78.2   | 12.48                    | 8.3            | 14.9           | 12             |
| 266.9                               | 76.8   | 11.06                    | 7.5            | 13.3           | 1              |
| 55.7                                | 69.8   | 12.66                    | 7.6            | 15.3           | 2              |
| 15.0                                | 63.8   | 15.84                    | 9.7            | 19.1           | 3              |
| 23.9                                | 55.0   | 17.20                    | 11.7           | 21.5           | 4              |
| -                                   | 47.8   | 22.38                    | 13.6           | 25.5           | 5              |
| -                                   | 52.2   | 25.14                    | 15.0           | 28.4           | 6              |
| 6.0                                 | 57.6   | 26.82                    | 19.0           | 29.2           | 7              |

#### اختبار القدرة الامراضية

أجري اختبار القدرة الامراضية على العزلات التي أحدثت تفاعل فرط الحساسية على أوراق نبات التبغ. تم إختيار أفرع وأوراق حديثة على شجيرات سليمة وغطيت قبل الحقن بيوم واحد بواسطة أكياس بلاستيكية ثم أزيلت الاكياس ورشت الأوراق بمعلق بكتيري يحتوي على  $10^8$  وحدة تكوين مستعمرة/مل وذلك باستخدام مرشحة يدوية

#### المسح الميداني للمرض

أجري مسح شامل لمرض التبغ البكتيري على الشماري في عشرة مواقع بمنطقة الجبل الأخضر ابتداءً من رأس الهلال شرقاً إلى قفنة غرباً وحددت أربع وحدات تجريبية مربعة في كل موقع ( $20 \times 20$  م) وقدرت نسبة الاصابة داخل كل وحدة تجريبية، واجري التحليل الاحصائي بالتصميم التام العشوائية باستخدام برنامج SAS. جمعت عينات من الأوراق المصابة ووضعت في أكياس بلاستيكية ونقلت إلى المختبر/المعمل ثم أجريت تجارب العزل عليها. أعتمد في هذه الدراسة على البيانات المناخية المتحصل عليها من محطة أرصاد شحات والتي تمثل مواقع حيون، سطية، رأس التراب ومحطة البلنج التي تمثل مواقع البلنج، قفنة و الغريفة كل حسب قربها من محطة الارصاد ويبين الجدولان 1 و 2 البيانات المناخية المتحصل عليها خلال فترة الدراسة في كل محطة أرصاد.

#### عزل المسبب المرضي

جمعت عينات مصابة من الأوراق التي ظهرت عليها اعراض المرض، من مواقع مختلفة بمنطقة الجبل الأخضر، وتم عزل المسبب المرضي بعد أن غسلت الأجزاء المصابة بالماء وطهرت سطحياً بغمرها في محلول الكلوروكس التجاري المخفف (9:1). سحقت أجزاء منها بإضافة 5 مل من الماء المعقم في هاون ثم تركت لفترة من الوقت (نصف ساعة). تم تخطيط ماء رأس ملقحة بكتيرية من المحلول على أسطح ثلاث اطباق بتري تحتوي على مستنبت الأجار المغذي وحضنت الأطباق عند درجة حرارة تتراوح بين 28-30 °س لمدة 2-3 أيام ثم نقلت مستعمرات منفردة على المستنبت نفسه للحصول على مزارع نقية من كل عزلة (15).

#### اختبار فرط الحساسية

تم اجراء هذا الاختبار للعزلات التي تم تنقيتها وذلك بحقن معلق بكتيري تركيزه  $10^8$  وحدة مكونة للمستعمرة/مل (cfu/ml) من كل عزلة في العرق الوسطي لأوراق شتلات تبغ (*Nicotina glutinosa*) بعمر شهر واحد وذلك باستخدام ابرة الحقن الطبية (15) ووضعت النباتات المحقونة تحت ظروف المختبر/المعمل ثم فحصت الأوراق المحقونة لملاحظة ظهور المناطق الميتة (Necrosis) والتي تدل على حدوث تفاعل فرط الحساسية.

### اختبار المدى العوائلي

استخدمت في هذا الاختبار شتلات بأعمار أكثر من سنة من نباتات الخروب *Ceratonia siliqua* والزيتون *Olea sp* واللوز *Prunus amygdalus* وأفرع نبات البطم *Pistacia lentiscus* حديثة النمو. تم تغطية الشتلات المستخدمة بأكياس بلاستيكية لمدة 24 ساعة قبل إجراء التلقيح ثم رشت بمعلق بكتيري يحتوي على تركيز  $10^8$  وحدة تكوين مستعمرة/مل (15) وأعيد تغطيتها بالاكياس البلاستيكية لمدة 24 ساعة أخرى لتوفير درجات الرطوبة المناسبة (10). نفذ الاختبار بمعدل أربعة مكررات لكل معاملة وتم تسجيل الملاحظات عن تطور أية أعراض مرضية لمدة 25 يوماً.

### النتائج والمناقشة

#### المسح الميداني للمرض

يوضح الشكل 1 المناطق التي ينتشر بها مرض التبقع في منطقة الجبل الأخضر على شجيرات نبات الشماري والتي شملت عشرة مواقع ابتداءً من رأس الهلال شرقاً وحتى منطقة قفنة غرباً. كما يبين الجدول 3 مواقع جمع العينات ورمز كل منطقة وأرقام العينات. تتميز أعراض المرض بظهور بقع بنية دائرية محاطة بهالة حمراء على أوراق هذا النبات، صغيرة الحجم تزداد اتساعاً مع مرور الوقت وقد تتحد هذه البقع الصغيرة مع بعضها مكونة بقعاً كبيرة حسب شدة الإصابة (شكل 2). ولوحظ أن هذه البقع لا تظهر على الثمار والافرع والسوق والازهار كما لوحظ أيضاً في الحالات المرضية الشديدة تغطية الورقة بالبقع ثم اصفرارها وسقوطها. ويوضح الجدول 3 أيضاً نسبة الإصابة في كل منطقة حيث كانت أعلى نسبة أصابه في منطقتي الغريقة والعرقوب الابيض والتي بلغت أكثر من 35% و 24% على التوالي، بينما كانت أقل نسبة إصابة في منطقتي لملوده والزرده حيث لم تتجاوز 4.29% و 3.14%، على التوالي.

لوحظت أعلى نسبة إصابة بالمرض في منطقة الغريقة (35.29%) وأقل نسبة إصابة بمنطقة الزردة (3.14%) وعند ملاحظة مدى وجود أي علاقة بين الكثافة النباتية للشماري ونسبة الإصابة في كل موقع وجد أن نسبة الإصابة لا تتأثر بالكثافة النباتية حيث كانت أعلى كثافة نباتية في ست مناطق هي سطية (0.290)، الزردة (0.271)، العرقوب الابيض (0.248)، لملوده (0.235)، رأس الهلال (0.215)، الغريقة (0.214) وكانت نسبة الإصابة 22.86%، 3.14%، 24.94%، 4.29%، 6.01%، 35.29%، على التوالي.

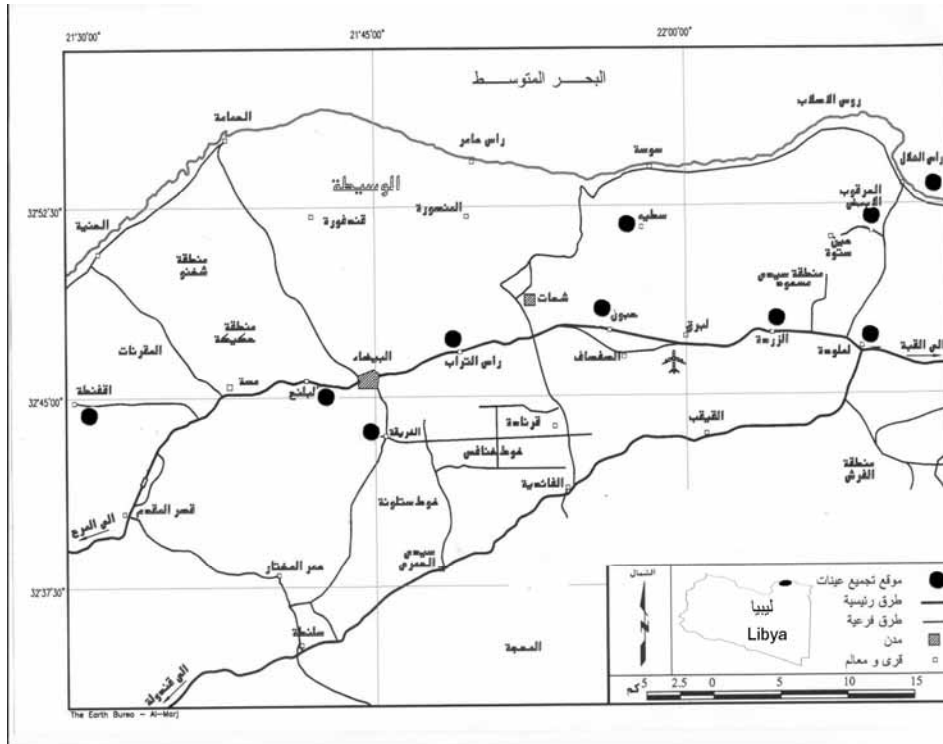
(15). وأعيد تغطيتها بالأكياس البلاستيكية لمدة يوم آخر وذلك لتوفير درجات رطوبة مناسبة (10) وتم متابعة ظهور الأعراض وتطورها لمدة 25 يوماً بعد إجراء العدوى. نفذ الاختبار في أربعة مكررات لكل عذلة بكتيرية مع وجود معاملة الشاهد التي تم فيها رش الافرع الحديثة بالماء المعقم فقط وتم تقدير شدة الإصابة لكل عذلة حسب المقياس الذي ذكره وصفي (6).

#### الاختبارات الروتينية لتعريف البكتيريا وتصنيفها

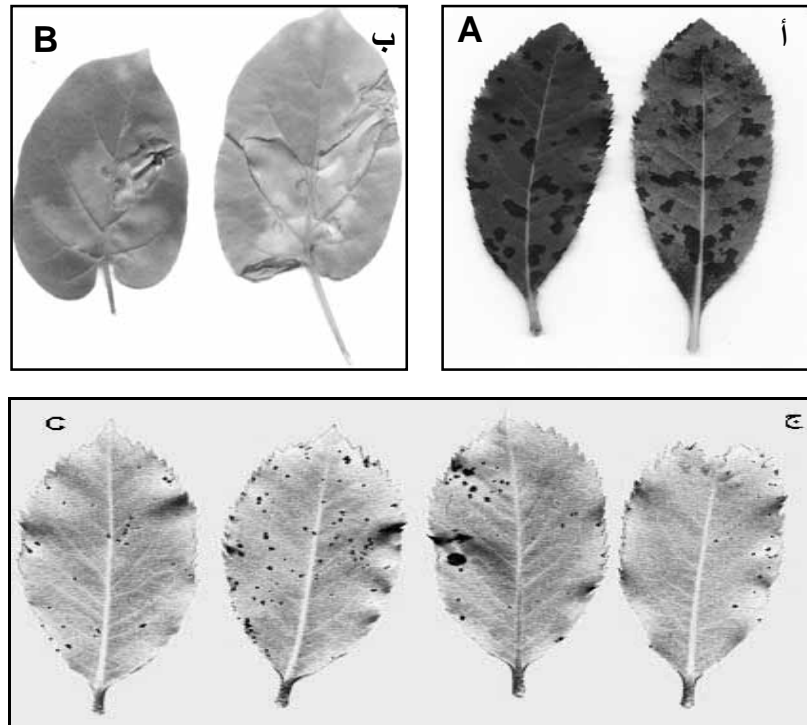
**الصفات العامة والشكلية** - تم اجراء تجارب لمعرفة الكائن المرض وتصنيفه بحيث اشتملت تلك التجارب على دراسة شكل الخلايا، اختبار صبغة جرام، اختبار الحركة، وذلك باستخدام الطرائق التي وصفها Kiraly وآخرون (15) و Schaad وآخرون (17).

**الصفات المزمرعية** - تم دراسة نمو العزلات البكتيرية المتحصل عليها على عدة مستنبتات شملت كل من مستنبت الاجار المغذي ومستنبت الاجار المغذي مضافاً إليه 5% سكروز (16،17) واستخدم وسط King's Medium B الذي طوره King وآخرون (14).

**الصفات الفسيولوجية والكيموأحيائية** - أشار الباحثان Lelliott و Stead (16) إلى إمكانية استخدام أشربة Api20E في إجراء بعض التحاليل الفسيولوجية والكيمو حيوية لعزلات البكتيريا الممرضة للنبات حيث اشتملت هذه الدراسة على إجراء عدة اختبارات باستخدام هذه الاشرطة وهي: مقدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم بيتا-جالاكتوزيديز وأرجنين ديهيدروليز وليسين ديكر بوكسيليز وأورنيثين ديكر بوكسيليزو واليوريز وترتوفان ديسمينيز والجيلاتينيز، وكذلك مقدرة البكتيريا على استخدام السترات وإنتاج كبريتيد الهيدروجين ( $H_2S$ ) والاسيتون acetoin والاندول، كما اختبرت مقدرة البكتيريا على استخدام بعض السكريات والمواد الكربوهيدراتية كمصدر وحيد للكربون مثل الجلوكوز، مانيتول، إنيوسيتول، سوربيتول، رامنوز، سكروز، ميليبوز، أميجالين والارابينوز. بينما تم تقدير النشاط الحال للبكتين على شرائح البطاطا/البطاطس وتقدير نشاط انزيم الاوكسيديز واختبار الاكسدة والاختزال (OF) وإنتاج الليغان واختزال النترات واختزال فوق اكسيد الهيدروجين طبقاً للطرائق التي وصفها Kiraly وآخرون (15) و Lelliott و Stead (17).



شكل 1. مواقع انتشار مرض تبقع اوراق نبات الشماري وتجميع العينات بمنطقة الجبل الأخضر. **Figure 1.** Distribution and location of collected samples of *Arbutus pavarii* spot disease in El-Jebel Al-Akhdar area, Libya.



شكل 2. أعراض الإصابة الطبيعية بالتبقع البكتيري على أوراق نبات الشماري (أ)، وتفاعل فرط الحساسية على أوراق نبات التبغ (ب)، والأعراض على أوراق نبات الشماري بعد 25 يوم من الاعداء (ج).

**Figure 2.** Normal symptoms of bacterial spot disease on *Arbutus pavarii* leaves (A), hypersensitive reaction on tobacco leaves (B) and symptoms on *Arbutus pavarii* leaves, 25 days after artificial inoculation.

جدول 3. نسبة الإصابة بالمرض والكثافة النباتية في المواقع المختلفة التي جمعت منها عينات مصابة.

Table 3. Disease incidence and plant density in the different regions from which infected samples were collected.

| نسبة الإصابة (%)<br>Disease incidence (%) | الكثافة النباتية<br>(عدد الاشجار/م <sup>2</sup> )<br>plant density<br>(Number of tree/m <sup>2</sup> ) | الارتفاع عن سطح البحر (م)<br>Altitude above sea<br>level (m) | رمز الموقع<br>Region code | المواقع<br>Regions |
|---|--|--|---------------------------|--------------------|
| 6.01 bc                                   | 0.215  | 265  | RS                        | راس الهلال         |
| 24.94 ab                                  | 0.248  | 515  | AB                        | العرقوب الابيض     |
| 4.29 c                                    | 0.235  | 667  | LM                        | لملوده             |
| 3.14 c                                    | 0.271  | 673  | Z                         | الزردة             |
| 19.52 abc                                 | 0.159  | 630  | H                         | حبون               |
| 22.86 abc                                 | 0.290  | 460  | S                         | سطية               |
| 22.12 abc                                 | 0.175  | 648  | RT                        | راس التراب         |
| 35.29 a                                   | 0.214  | 670  | G                         | الغريقة            |
| 18.26 abc                                 | 0.180  | 563  | B                         | البلنج             |
| 19.12 abc                                 | 0.175  | 494  | GF                        | قفنطة              |

متوسطات نسبة الإصابة المتبوعة بأحرف متشابهة لا تختلف معنوياً حسب اختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى معنوي 0.05.

Means of disease incidence followed by the same letters are not significantly different according to LSD test at P= 0.05.

كما لم تتأثر نسبة الإصابة أيضاً بالارتفاع عن مستوى سطح البحر فأعلى منطقة هي الزردة (673 م) والتي سجلت بها أقل نسبة إصابة (3.14%) يليها في الارتفاع منقطة الغريقة (670 م) ومع هذا سجلت بها أعلى نسبة إصابة (35.29%) وبذلك فقد يكون ارتفاع وانخفاض نسبة الإصابة راجع إلى عوامل أخرى سائدة في كل منطقة. من ناحية أخرى يتضح أن مواقع البلنج وقفنطة والغريقة تتميز تقريباً بدرجات حرارة تتراوح بين 14-22 °س، بينما مواقع حبون و سطية ورأس التراب تتراوح فيها درجات الحرارة بين 15-25 °س وهذا يتفق مع ما ذكره العروسي وسالم (3) من أن الإصابة بهذه البكتيريا تشدد على درجات الحرارة التي تتراوح ما بين 21-24 °س. وتتميز منطقة الدراسة بمعدلات متوسطة لسقوط الأمطار حيث تراوح متوسط هطل الأمطار في منطقة الدراسة بين 487.2 مم في محطة أرصاد شحات و 538.5 مم في محطة أرصاد البلنج. هذا السقوط للأمطار يساعد كثيراً في حدوث الإصابة حيث أوضح العروسي وسالم (3) أن الإصابة بهذا المرض تبدأ عادةً في موسم الأمطار شتاءً من البكتيريا الساكنة في التفرحات والبراعم فتنشط مياه الأمطار البكتيريا حيث تتكاثر وتتناثر مع مياه الأمطار.

مما سبق يتضح أنه قد يكون للظروف المناخية تأثير مهم في حدوث الإصابة وتطور هذا المرض وقد أكد على ذلك Agrios (7) حيث أشار إلى أن المقدرة على الوقاية من الإصابة بهذه البكتيريا متعلقة بمناعة الصنف كما يتأثر ذلك أيضاً بعمر النبات وعصاريته وبدرجة الحرارة وسقوط الأمطار أثناء الموسم.

#### عزل المسبب المرضي وتعريفه

عندما أجريت عمليات العزل الأولية من أوراق نبات الشماري المصابة، تم الحصول على مستعمرات بكتيرية ذات لون أبيض كريمي، مرتفعة على سطح بيئة الاجار المغذي بالإضافة إلي وجود مستعمرات أخرى مصاحبة. وأوضح اختبار فرط الحساسية للعزلات البكتيرية ذات اللون الابيض الكريمي مقدرتها على إحداث أعراض تفاعل فرط الحساسية (الموت الموضعي) على أوراق نباتات التبغ خلال 24-48 ساعة تحت ظروف المختبر/المعمل (شكل 2 ب) على عكس العزلات المصاحبة الأخرى التي لم يكن لها القدرة على ذلك فلم تحدث موتاً موضعياً. وعند إجراء اختبار القدرة الامراضية للعزلات التي أعطت تفاعلاً إيجابياً لاختبار فرط الحساسية، لوحظ قدرتها على إحداث اعراض مرضية حيث تمثلت هذه الأعراض في ظهور بقع بنية دائرية محاطة بهالة حمراء تزداد في الحجم مع مرور الوقت لدرجة أنها قد تندمج مع بعضها في بعض الاحيان. ومع تقدم الإصابة، يجف النسيج النباتي ويموت ويتحول إلى لون بني باهت (شكل 2 ج) وهذا يماثل تطور الأعراض المرضية تحت ظروف العدوى الطبيعية بمنطقة الجبل الأخضر.

من ناحية أخرى لوحظ أن متوسط الرطوبة النسبية خلال موسم الدراسة في محطة أرصاد شحات كان 70.12% و في محطة أرصاد البلنج كان 62.16% مما يشير إلى توفر ظروف رطوبة قد تتاسب كثيراً ظهور الإصابة على الأوراق. وقد ذكر Agrios (7) أن حدوث الإصابة الورقية على الأوراق الحديثة والعصارية تتكرر كثيراً في المناطق ذات الربيع الرطب البارد وخلال الفترات ذات الرياح القوية والرطوبة المستمرة.

وتبين نتائج دراسة الخواص الفسيولوجية والكيموحيوية الأخرى للعزلات البكتيرية الممرضة (جدول 5) أن جميعها كانت موجبة لاختبار الكتاليز وإنتاج إنزيم بيتا-جالاكتوزيدز وإنزيم جيلاتينيز وإنزيم التربتوفان ديسمينيز والاستون والنترات، في حين كانت جميعها سالبة لإنتاج إنزيم ليسين ديكر بوكسيليز وكبريتيد الهيدروجين والأندول، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكر في بحوث سابقة (9، 12). وتباينت العزلات في اختبار إنتاج إنزيم أورنيثين ديكر بوكسيليز واليوريز والسترات حيث كانت عذلة رأس الهلال هي الوحيدة الموجبة لاختبار أورنيثين ديكر بوكسيليز وكانت عزلات الزرده، البلنج وقنطرة هي الموجبة لاختبار اليوريز والعذلة قنطرة هي الوحيدة السالبة لاختبار السترات. ويتفق هذا التباين في النتائج مع أبحاث منشورة (5، 8) أشارت إلى إمكانية ظهور بعض السلالات التي تعطي نتائج مخالفة، وهذا قد يرجع إلى الظروف الجوية السائدة بكل منطقة. وذكر فاهي وبيرسلي (5) أن بعض السلالات من النمط الممرض نفسه تعطي نتائج مغايرة لحدوث طفرات أو الانتخاب على بيئات صناعية.

يتضح من دراسة الصفات العامة و الشكلية للعزلات البكتيرية الممرضة أن خلاياها عصوية الشكل، متحركة، سالبة لصبغة جرام. ويتضح من نتائج دراسة الصفات المزرعية على بيئة الأجار المغذي أن هذه العزلات البكتيرية تعطي مستعمرات لونها أبيض كريمي، دائرية منتظمة، ذات حافة مكتملة، ناعمة السطح وبطيئة النمو. تعد جميع هذه الصفات مميزة للبكتيريا التي تتبع الجنس *Pseudomonas* (9، 11، 12، 17).

وعند اختبار نمو العزلات البكتيرية الممرضة على بيئة KMB والاختبارات المفتاحية الخمسة (LOPAT) (جدول 4) أتضح أن جميعها أنتجت صبغات مومضة، خضراء مصفرة (مشعة)، منتشرة في الوسط وكانت موجبة لإنتاج الليفان في بيئة آجار مغذي مضافاً إليها 5% سكروز حيث كان نموها سريع، شكلها مقبب، سطحها لماع وكبيرة الحجم وموجبة أيضاً لاختبار فرط الحساسية كما ذكر سابقاً. وكانت سالبة لاختبار الأوكسيديز وتعفن البطاطا/البطاطس وإنتاج إنزيم أرجينين ديهيدروليز وهذا ما يتفق مع ما ذكره عدد من الباحثين (5، 9، 12، 14، 16، 17) في وصفهم للنوع البكتيري *Pseudomonas syringae*.

جدول 4. الاختبارات المفتاحية الخمسة (LOPAT) لتعريف السلالات التي تتبع البكتيريا *Pseudomonas syringae*.

Table 4. The five key tests (LOPAT) for identification of *Pseudomonas syringae* pathovars

| Different bacterial isolates |   |   |    |   |   |   |    |     |     | الاختبارات المفتاحية الخمسة  |
|------------------------------|---|---|----|---|---|---|----|-----|-----|--|
| ق                            | ب | غ | رت | س | ح | ز | لم | ع.ب | ر.ه | The five key tests (LOPAT)   |
| GF                           | B | G | RT | S | H | Z | LM | AB  | RS  |  |
| +                            | + | + | +  | + | + | + | +  | +   | +   | إنتاج الليفان<br>Levan Production  |
| -                            | - | - | -  | - | - | - | -  | -   | -   | تفاعل الأوكسيديز<br>Oxidase reaction   |
| -                            | - | - | -  | - | - | - | -  | -   | -   | النشاط الحال للبكتين على شرائح البطاطا/البطاطس<br>Pectolytic activity on potato slices |
| -                            | - | - | -  | - | - | - | -  | -   | -   | نشاط أنزيم أرجينين ديهيدروجليز<br>Arginine dihydrolase activity                        |
| +                            | + | + | +  | + | + | + | +  | +   | +   | تفاعل فرط الحساسية على أوراق التبغ<br>Tobacco leaves hypersensitivity reaction         |

+ = موجبة الاختبار Positive test - = سالبة الاختبار Negative test

Table 5. Physiological and biochemical characterization of the different bacterial isolates

| The different bacterial isolates العزلات البكتيرية المختلفة |   |   |     |   |   |   |    |     |     | الاختبارات الفسيولوجية والكيموحيوية                     |
|---|---|---|-----|---|---|---|----|-----|-----|---|
| ق   | ب | غ | ر.ت | س | ح | ز | لم | ع.ب | ر.ه | Physiological and biochemical tests                     |
| GF  | B | G | RT  | S | H | Z | LM | AB  | RS  |   |
| +   | + | + | +   | + | + | + | +  | +   | +   | أنزيم الكتاليز catalase                                 |
| ±   | ± | + | +   | + | + | ± | ±  | ±   | ±   | أنزيم بيتا-جالاكتوزيداز Beta-galactosidase              |
| -   | - | - | -   | - | - | - | -  | -   | -   | أنزيم ليسين ديكربوكسيلاز Lysine decarboxylase           |
| -   | - | - | -   | - | - | - | -  | +   | -   | أنزيم أورنيثين ديكربوكسيلاز Ornithine decarboxylase     |
| +   | + | + | +   | + | + | + | +  | +   | +   | إنتاج أنزيم جيلاتيناز Gelatinase                        |
| +   | + | - | -   | - | - | + | -  | -   | -   | إنتاج أنزيم اليوريز Urease                              |
| +   | + | + | +   | + | + | + | +  | +   | +   | إنتاج أنزيم التربتوفان ديزاميناز Tryptophane desaminase |
| -   | - | - | -   | - | - | - | -  | -   | -   | إنتاج كبريتيد الهيدروجين H <sub>2</sub> S production    |
| -   | - | - | -   | - | - | - | -  | -   | -   | إنتاج الاندول Indole production                         |
| +   | + | + | ±   | + | + | ± | +  | +   | +   | إنتاج الاستوين Acetoin production                       |
| -   | + | + | +   | + | + | + | +  | +   | +   | استخدام السترات Citrate utilization                     |

+ = موجبة الاختبار Positive test  
 ± = ضعيفة الاختبار Weak test  
 - = سالبة الاختبار Negative test

حيث يتماشى ذلك مع ما ذكره عدد من الباحثين (5، 9، 12، 14، 16، 17).

#### اختبار المدى العوائلي

أوضحت النتائج ظهور بعض الأعراض المرضية على نباتي الخروب والبطم عند رشهما بالبكتيريا *P. syringae* pv. *syringae*. وبمتابعة تطور هذه الأعراض المرضية خلال 25 يوماً من العدوى، لوحظ أن الأعراض على أوراق نبات الخروب تتمثل في ظهور بقع سوداء داكنة كبيرة الحجم وغير منتظمة تؤدي لاحقاً إلى موت النسيج الورقي المصاب، بينما تمثلت الأعراض على نبات البطم في ظهور بقع صغيرة الحجم محاطة بهالة بنية غامقة منتظمة اتسعت قليلاً مع مرور الوقت. انحصرت أعراض التبغ في كلتا الحالتين على الأوراق فقط، وتبين النتائج أيضاً عدم ظهور أي أعراض مرضية على نباتي الزيتون واللوز.

وأوضحت نتائج اختبار قدرة العزلات على تخمير السكر واستخدامها لبعض المواد كمصدر للكربون (جدول 6) أنها أنتجت الحامض بدون غاز من الجلوكوز واستخدمت الجلوكوز، المانيتول، إينوسيتول، السوربيتول والسكرور كمصدر للكربون وأخفقت عزلات راس الهلال، لملودة، الزرده، سطية، البلنج، قفنطة في استخدام الرامنوز والاميدالين ولم تستطع عزلات راس الهلال، الزرده، سطية، البلنج وقفنطة استخدام الميليبوز والارابينوز حيث تتفق هذه النتائج مع ما ذكره عدد من الباحثين (5، 9، 12) في إنه توجد اختلافات ضمن النمط الممرض نفسه للبكتريا *Pseudomonas syringae* عند استخدامها لبعض المركبات كمصدر للكربون. إن نتائج الصفات العامة والشكلية والمزرعية والنمو على بيئة KMB وكذلك نتائج الاختبارات المفتاحية الخمسة (LOPAT) وباقي نتائج الخواص الفسيولوجية والكيموحيوية تعزز كل منها الأخرى على أن العزلات التي تم الحصول عليها من أجزاء ورقية مصابة بالتبغ على نبات الشماري تتبع البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* وذلك ما أكدت عليه أيضاً اختبارات القدرة الامراضية

جدول 6. استخدام السكريات وبعض المركبات الكربونية الأخرى كمصدر للكربون وإنتاج الحامض منها بواسطة العزلات البكتيرية المختلفة.

Table 7. Utilization of sugars and other carbon sources for acid production by different bacterial isolates

| The tested bacterial isolates العزلات البكتيرية المختبرة |        |        |           |        |        |        |          |           |           | السكريات والمركبات الكربونية الأخرى<br>Sugars and other carbon sources |
|--|--------|--------|-----------|--------|--------|--------|----------|-----------|-----------|--|
| ق<br>GF  | ب<br>B | غ<br>G | ر.ت<br>RT | س<br>S | ح<br>H | ز<br>Z | لم<br>LM | ع.ب<br>AB | ر.ه<br>RS |  |
| ±  | ±      | +      | +         | ±      | +      | ±      | ±        | +         | ±         | Glucose جلوكوز   |
| ±  | ±      | +      | +         | ±      | +      | ±      | ±        | ±         | ±         | Mannitol مانيتول   |
| ±  | ±      | ±      | +         | ±      | ±      | ±      | ±        | ±         | ±         | Inositol إينوزيتول   |
| ±  | ±      | ±      | ±         | ±      | ±      | ±      | ±        | +         | ±         | Sorbitol سوربيتول  |
| -  | -      | +      | +         | -      | +      | -      | -        | +         | -         | Rhamnose رامنوز  |
| ±  | ±      | +      | +         | ±      | +      | ±      | +        | +         | ±         | Sucrose سكروز  |
| -  | -      | +      | +         | -      | +      | -      | +        | +         | -         | Melibiose ميليببوز   |
| -  | -      | ±      | +         | -      | +      | -      | -        | +         | -         | Amygdalin أميجدالين  |
| -  | -      | +      | +         | -      | +      | -      | +        | +         | -         | Arabinose أرابينوز   |

Positive test = موجبة الاختبار

Weak test = ضعيفة الاختبار

Negative test = سالبة الاختبار

### Abstract

Boubaker, A.M., A.M.Y. Alawami and O.M. Al-Sanusi. 2009. Definition and Distribution of the Bacterium Causing Spot Disease on Cane-Apple (*Arbutus pavarii* Pampanini) in Jabel El-Akhdar Region, Libya. Arab Journal of Plant Protection, 27: 179-187.

A survey carried out from 2004 to 2005 in Jabel El-Akhdar region, Libya, revealed the wide spread of leaf spot disease on cane-apple (*Arbutus pavarii* Pampanini) that grow naturally in El-Jabal El-Akhdar region. The preliminary results showed the distribution and incidence of this disease in different regions. The general features of cultural, morphological, physiological and biochemical properties of the different isolates proved that the causal organism of the disease is the bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. These results were confirmed by pathogenicity tests.

**Keywords:** *Arbutus Pavarii*, *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*, Bacterial spot, Libya.

**Corresponding author:** A.M.Y. Alawami, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, El-Beida, Libya, Email: Azzawami2002@yahoo.com

### References

### المراجع

1. أبو الذهب، مصطفى كمال، حسين محمد الكثير، سيد احمد القزاز وعالية عبد الباقي شعيب. 1997. علم البكتيريات. الجزء الأول: دار المعارف، القاهرة، مصر. 750 صفحة.
2. الزني، السنوسي. 2002. تقرير علمي حول الشماري بمنطقة الجبل الأخضر، مركز البحوث الزراعية، الفتاح، ليبيا. 21 صفحة.
3. العروسي، حسين. م. وم.أ. سالم. 1997. أمراض أشجار الفاكهة. دار المعارف، القاهرة، مصر. 593 صفحة.
4. الفرجاتي، سالم عمر ومحمد شحاته سالم. 1995. التقييم الطبيعي والكيميائي لثمار الشماري في منطقة الجبل الأخضر، مجلة المختار للعلوم، 2: 20-35.
5. فاهي، ب.سي. وبيرسلي، ج.جي. 1983. أمراض النباتات البكتيرية دليل تشخيصي. ترجمة: فوزي سعد آدم. منشورات جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا. 392 صفحة.
6. وصفي، عماد الدين. 1994. أساسيات أمراض النبات والتقنية الحيوية، المكتبة الأكاديمية، القاهرة، مصر. 521 صفحة.
7. Agrios, G.N. 1997. Plant pathology. 4<sup>th</sup> ed. Academic press, New York. 658 pp.
8. Andersen, G.L., O. Menkissoglou and S.E. Lindow. 1991. Occurrence and properties of copper-



16. **Lelliott, R.A. and D.E. Stead.** 1987. Methods for the diagnosis of plant pathogenic bacteria. Black Well Scientific Publication, London. 216 pp.
17. **Schaad, N.W., J.B. Jones and W. Chun.** 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS PRESS. 373 pp.
- and fluorescein. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 44: 301-307.
15. **Kiraly, Z., Z. Klement, D. Solymosy and J. Voros.** 1974. Methods in plant pathology. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, London, New York. 509 pp.

Received: February 12, 2007; Accepted: January 6, 2009

تاريخ الاستلام: 2007/2/12؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2009/1/6