

بقاء البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* في التربة والبذور والبقايا النباتية

عز الدين محمد يونس العوامي، فتحي سعد المسماري وعوض محمد عبد الرحيم

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا؛ البريد الإلكتروني: Azzawami2002@yahoo.com

الملخص

Xanthomonas campestris pv. 2004. بقاء البكتيريا. العوامي، عز الدين محمد يونس، فتحي سعد المسماري وعوض محمد عبد الرحيم. مجلة وقاية النبات العربية. 22: 147-150.

أجري بحث على البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Dodge) Dye المسئية لمرض التبغ البكتيري على الطماطم/البندورة لمعرفة مدى بقائها في التربة والبذور والبقايا النباتية. أظهرت النتائج انخفاض التعداد البكتيري في البقايا النباتية سريعاً خلال الشهرين الأولين ثم أخذ التعداد يقل تدريجياً حتى فقدت البكتيريا حيويتها في الشهر التاسع. من ناحية أخرى فقد زاد التعداد البكتيري في البذور خلال الأشهر الثلاث الأولى ثم انخفض بعد ذلك لتفقد البكتيريا حيويتها بعد 7 أشهر. أما في التربة فقد احتفظت البكتيريا بحيويتها لمدة 8 أسابيع في التربة المعقمة بينما لم تستطع المتاثرة في التربة غير المعقمة أكثر من 5 أسابيع فقط.

كلمات مفتاحية: بقاء البكتيريا، *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*، طماطم/بندورة

مواد البحث وطرائقه

1. بقاء البكتيريا في التربة

لتحت التربة بالإضافة معلق من البكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* (Dodge) Dye يحمل 10^8 خلية /مل إلى 15 غ تربة غير معقمة وأخرى معقمة في أطباق بتري وبقدر كاف حتى تصل التربة إلى مرحلة قريبة من التشبّع وذلك باستخدام مرشة يدوية. وحفظت الأطباق تحت ظروف رطوبة مرتفعة تعادل 99.9% تقريباً (17) عند درجة حرارة 25 س، وجرى العزل أسبوعياً على بيئة الأجار المغذي باستخدام طريقة التخفيفات.

2. بقاء البكتيريا في البذور

أخذت 10 غ من بذور الطماطم/البندورة (صنف Rio - Grande) وغمرت في معلق للبكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* يحمل حوالي 10^8 خلية /مل. ولكي يتم تشعّب البذور بالمعلق البكتيري استخدمت طريقة التفريج (12). جفت البذور المعاملة هوانياً (2) ثم حفظت عند درجة حرارة الغرفة داخل علب بلاستيكية مغلقة. وإجراء الكشف عن بقاء البكتيريا في هذه البذور تم غسيل 1 غ من البذور في 99 مل من محلول 0.1% كربونات كالسيوم (وزن/حجم) (13)، ثم أجريت سلسلة من التخفيفات لعزل البكتيريا على بيئة الأجار المغذي.

3. بقاء البكتيريا في البقايا النباتية

حققت مجموعة من شتلات الطماطم/البندورة بعمر مناسب (4-5 أسابيع) بمعلق للبكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* تركيزه 10^8 خلية /مل (12). بعد ذلك تم تجفيف الأوراق المحقونة قبل تخزينها عند درجة حرارة الغرفة. ولمعرفة مقدرة البكتيريا على البقاء في أنسجة النبات تم أخذ عينة (0.1 غ) من النباتات المحقونة والمجففة

المقدمة

يستوجب وجود أي كائن ممرض في منطقة جغرافية معينة قدرته على البقاء حياً ليس فقط أثناء فترة تطفله على عائلة ولكن خلال الفترات التي لا تنمو فيها هذه العوائل. وذكر Leben (15) أن طول فترة بقاء اللقاح الذي تحتفظ فيه الكائنات الممرضة بقدرتها الإمبرا晞ية يعتمد على مقدرتها في تجنب أو تحمل الظروف البيئية غير الملائمة. وقد تبقى بعض الكائنات الممرضة حية بين مواسم زراعة المحصول على هيئة أجسام ساكنة أو متormمة في التربة، البذور أو على بقايا النبات (1، 11، 18). وتعتبر البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Dodge) Dye المسئية لمرض التبغ البكتيري من بين أهم الكائنات الممرضة المحمولة على بذور الطماطم/البندورة والفال (1، 7، 22)، وفي دراسة أخرى تم كشف هذه البكتيريا في بقايا المحصول المصابة بعد فترة 6 أشهر (13). وأشارت بعض الدراسات إلى أن بقاء هذه البكتيريا يظهر بشكل أكبر على البقايا الموجودة على سطح التربة أكثر مما هي عليه في البقايا المدفونة تحتها (17)، ويتفق مع ذلك Jones ومشاركه (13) حيث لاحظوا حدوث تدهور سريع لهذه البكتيريا في التربة غير المعقمة، وأوضح Schuster و Coyne (20) أن بقاء كمية قليلة من اللقاح البكتيري قد يؤدي وبسرعة إلى حدوث إصابة وبائية للمرض. وبناءً على ما ذكر عن أهمية بقاء البكتيريا في حدوث المرض وتكرار ظهوره، فقد هدف هذا البحث دراسة مصادر العدو بالتبغ البكتيري على الطماطم/البندورة التي قد تعمل على حفظ اللقاح الأولى لأحداث الإصابة الأولية وإمكانية تحديد الفترة الزمنية التي تحتفظ فيها البكتيريا بحيويتها على هذه المصادر.

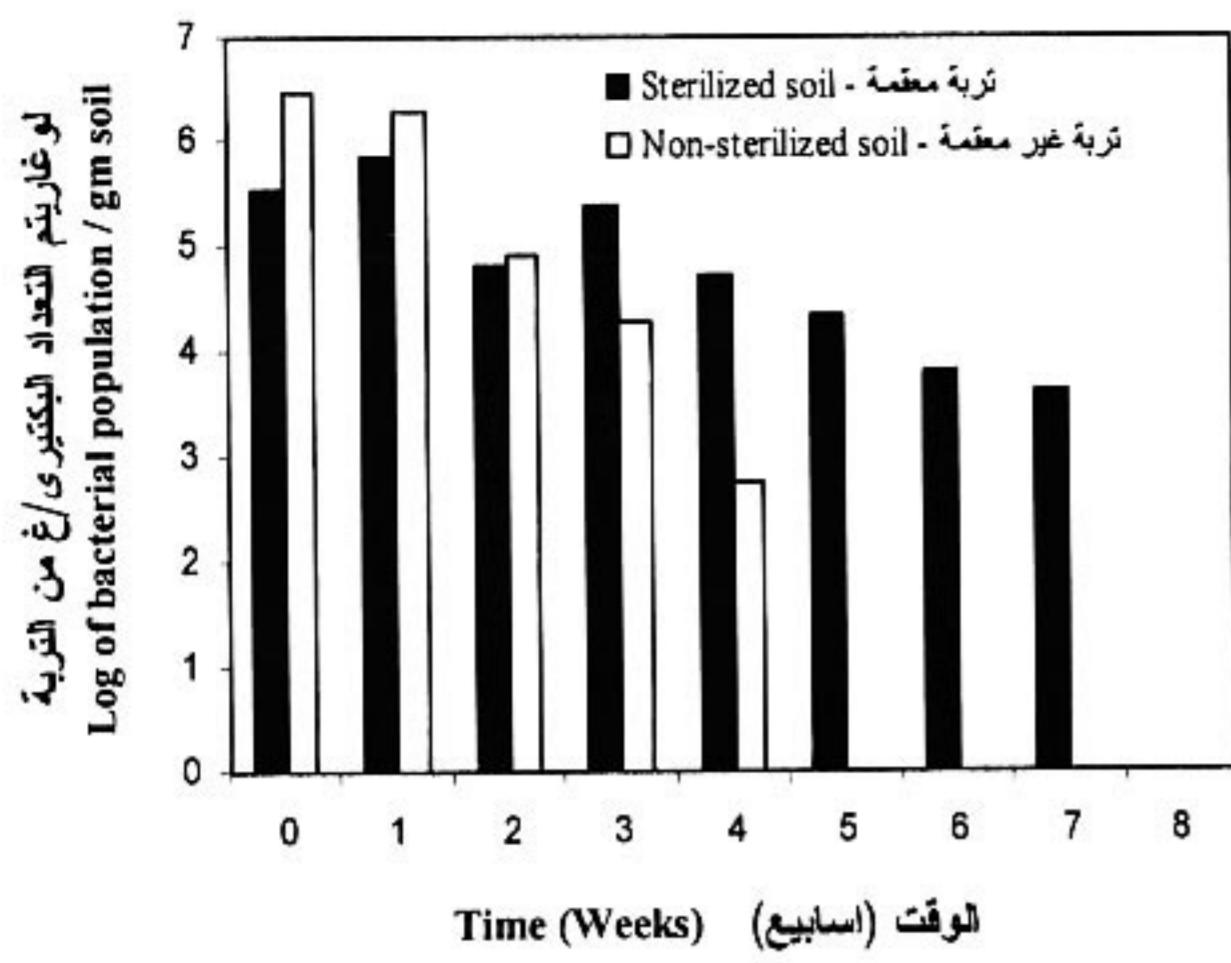
وتحت في هاون يحتوي 0.9 مل ماء مقطر معقم، ثم أجريت سلسلة من التخفيفات لعزل البكتيريا على بيئة الآجار المغذي.

النتائج والمناقشة

1. بقاء البكتيريا في التربة

عند اختبار مقدرة البكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* على البقاء في التربة، لوحظ انخفاض تعدادها تدريجياً منذ الأسبوع الأول في التربة المعقمة واستمر ذلك بين الزيادة والنقصان خلال فترة سبعة أسابيع حتى اختفت البكتيريا الممرضة نهائياً في الأسبوع الثامن. وفي المقابل، انخفض تعدادها بسرعة في التربة غير المعقمة ولم تتعذر فترة بقاءها شهراً واحداً (شكل 1). تتفق هذه النتائج مع ما وجد Peterson (17) الذي أوضح بأن هذه البكتيريا قد تختفي خلال أسبوعين فقط في التربة غير المعقمة، في حين استمر بقاءها فترة ثمانية أسابيع عند تعقيم التربة، ويتفق ذلك أيضاً مع ما وجده Jones وآخرون (13) حيث لوحظ حدوث تدهور سريع لهذه البكتيريا في التربة غير المعقمة. كما تم الحصول على نتائج مماثلة في علاقات *P. syringae* pv. *tomato* (Okabe) فالبكتيريا *P. syringae* Young, Dye and Wilkie المسيبة للطخة الطماطم/البندوره تستطيع البقاء في التربة المعقمة لفترة 6 أشهر (9) ولكنها تتدحر سريعاً في التربة الطبيعية أو غير المعقمة (4، 16)، كما أن تعداد البكتيريا *X. campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye التابع الزاوي على القطن ينخفض سريعاً في التربة غير المعقمة مقارنة بالتربيه المعقمه (6). وعموماً قد يرجع عدم بقاء البكتيريا في التربة غير المعقمة لفترة طويلة إلى حساسيتها للعوامل البيئية وجود الكائنات المضادة في التربة (16).

ووجد في هذه التجربة أيضاً أن تعداد البكتيريا تحت الدراسة في التربة المعقمة لم يمثل إلا 6.82% من التعداد الكلي خلال الأسبوع الرابع، في حين كانت النسبة المئوية الأكبر من التعداد للبكتيريا المترمرة التي قد تؤثر إفرازاتها على بقاء البكتيريا الممرضة، بالإضافة إلى تأثير الإفرازات السامة التي تتجهها جذور بعض النباتات. وعلاوة على هذه العوامل فقد يكون بعض الظروف البيئية الأخرى مثل ارتفاع درجة حرارة التربة (13) أو رطوبة التربة (2، 7) تأثير واضح في بقاء البكتيريا الممرضة في التربة، غير أن الظروف الجافة ليست دائماً مناسبة لبقاء البكتيريا، ففي بعض العلاقات المرضية الأخرى وجد أن البكتيريا *P. solancearum* (Smith) Smith والبكتيريا *A. tumefaciens* (Smith and Townend) Conn البقاء بشكل أفضل تحت الظروف الرطبة للتربة. ويعتبر هذا النوعان من الكائنات الممرضة التي تتنفس لقاطنات التربة الحقيقة (20).



شكل 1. بقاء البكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* في التربة المعقمة وغير المعقمة.

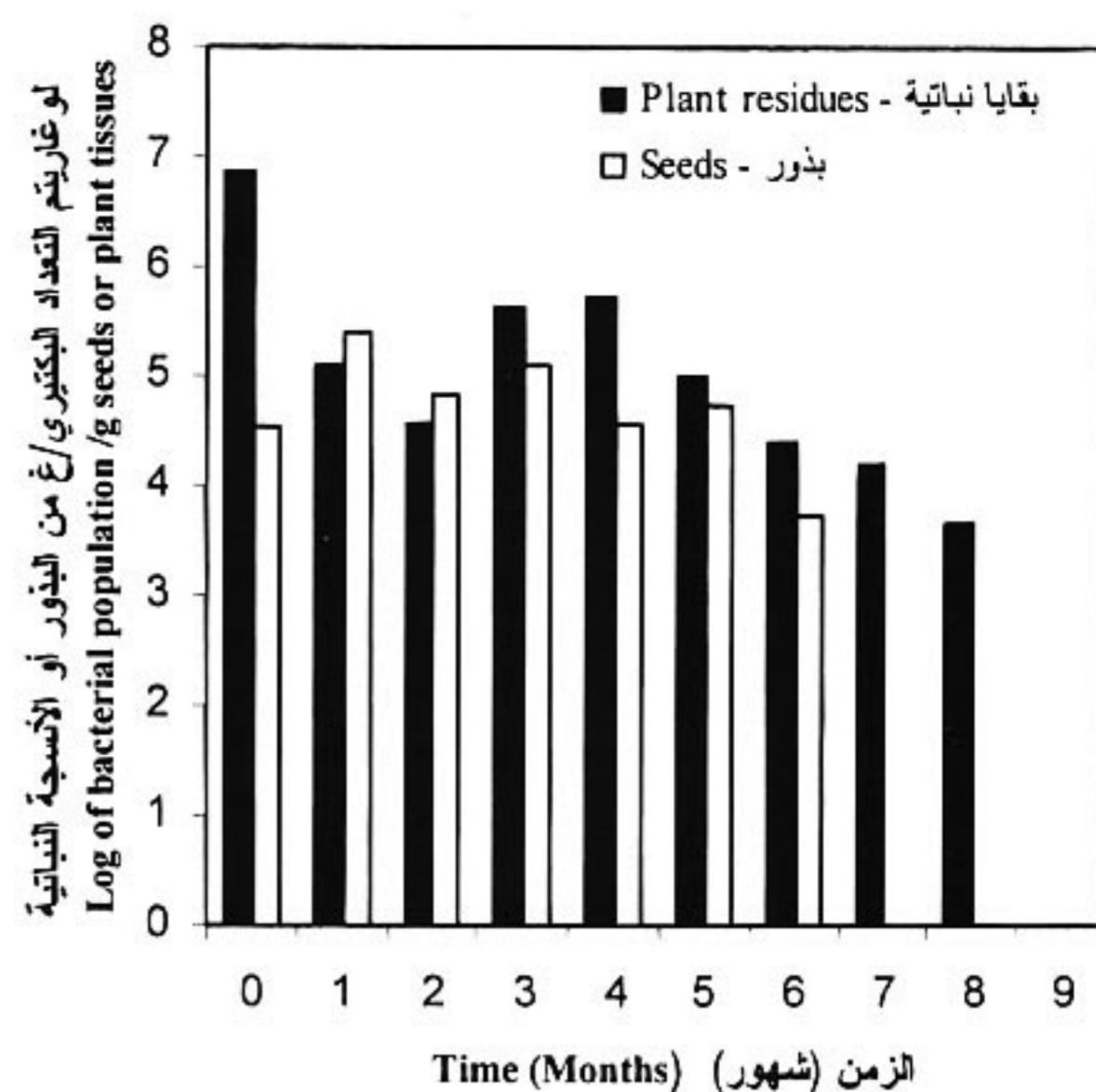
Figure 1. Survival of *X. campestris* pv. *vesicatoria* in sterilized and non-sterilized soil

أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى معنوي 5% كان 0.9202 و 1.4519 على التوالي، لكل من التربة المعقمة وغير المعقمة. LSD at P= 5% was 0.9202 and 1.4519, respectively, for sterilized and non-sterilized soil.

2. بقاء البكتيريا في البذور

يتضح من النتائج (شكل 2) أن التعداد البكتيري زاد قليلاً خلال الأشهر الثلاث الأولى من التحضين، غير أنه لم يتعذر أربعة أضعاف التعداد الابتدائي، ثم أخذ التعداد بعد ذلك في الانخفاض واستقر خلال الشهر الخامس عند مستوى لم يتجاوز 6.26×10^4 خلية/غ بذور. وواصل التعداد البكتيري انخفاضه ببطء خلال الشهر السادس إلى أن تتعذر عزل البكتيريا تماماً بعد الشهر السابع من التخزين. تتفق النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة مع ما وجده Devash وآخرون (9) في علاقة مرضية أخرى، حيث أوضحوا أن بقاء البكتيريا *P. syringae* pv. *tomato* في البذور المحقونة اصطناعياً استمر لفترة 6 أشهر فقط عند التخزين عند درجة حرارة الغرفة. وفي الدراسة التي قام بها Jones وآخرون (13) تم الكشف عن البكتيريا تحت الدراسة عندما وضعت بذرة واحدة مصادبة مع 999 بذرة سليمة، مما يؤكد أهمية البذور في بقاء البكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* ونقل العدوى حتى عندما تكون ملوثة بمستويات منخفضة جداً. إلا أن طول فترة بقاء البكتيريا داخل البذور أو على سطحها يعتمد أيضاً على مقدرتها على تحمل الظروف البيئية غير الملائمة؛ فقد وجد أن درجة الحرارة تؤثر بدرجة كبيرة على بقاء البكتيريا في البذور، وقدتمكن *P. syringae* pv. *Sayre* و *Schuster* (21) من عزل البكتيريا *phaseolicola* (Burkholder) Young, Dye and Wilkie للفحة العاديه على الفاصولياء من بذور فاصولياء عمرها 8 سنوات كانت مخزنة عند درجة حرارة 10 س. وفي دراسة أخرى ظلت البكتيريا نفسها محتفظة بحيويتها لمدة ثلاثة سنوات فقط داخل بذور الفاصولياء التي تم تخزينها عند درجة حرارة 20-35 س (3).

في الأجزاء النباتية لمدة تسعة أشهر (شكل 2)، الفترة التي تعد كافية لاحتفاظ البكتيريا بحيويتها ما بين مواسم زراعة الطماطم/البندورة Jones وإحداث العدوى بعد ذلك. تتفق هذه النتائج مع ما وجده آخرون (13)، حيث ذكروا أن هذه البكتيريا ظلت في بقايا المحصول المصاب لفترة 6 أشهر في ولاية فلوريدا بأمريكا. وسبق أن أكد Peterson (17) أهمية بقايا النباتات المصابة فيبقاء هذه البكتيريا في الهند وأمريكا. ولقد أشير إلى أن النموات البكتيرية على السطح الخارجي لأوراق النبات تنشأ من وجود البكتيريا في الأنسجة المريضة *X. campestris* pv. *vesicatoria* (23)، مما يؤكد أن البكتيريا تستطيع البقاء خارجياً على النبات لفترة قصيرة ولكن ليس ضرورياً أن يكون بإمكانها النمو على أسطح النباتات السليمة. وسجلبقاء البكتيريا على الأجزاء النباتية خلال المواسم الحرجية في عدة علاقات مرضية منها اللفة العادبة على الفاصولياء المتسببة عن البكتيريا *X. campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye (19) ولatha الأرز *X. campestris* pv. *orzae* (Ishiyama) Dye (20، 24) واللatha الهالية على الفاصولياء المتسببة عن البكتيريا *X. campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye (5، 20) وتقرح الحمضيات المتسبب عن البكتيريا *X. campestris* pv. *citri* (Hasse) (10). إلا أن طول فترة حيوية اللقاح تعتمد على مقدرة البكتيريا على تحمل الظروف البيئية غير الملائمة حيث تعتبر الظروف الجافة أكثر ملاءمة لبقاء البكتيريا على الأجزاء النباتية المصابة (14، 15).



شكل 2. بقاء البكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* في البذور وبقايا نباتات الطماطم/البندورة المصابة.

Figure 2. Survival of *X. campestris* pv. *vesicatoria* in seeds and diseased tomato plant residues

أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى معنوية 5% كان 0.9215 و 0.7091 على التوالي، لكل من البذور والبقايا النباتية.
LSD at P= 5% was 0.9215 and 0.7091 respectively, for seeds and plant residues

3. بقاء البكتيريا في البقايا النباتية
أظهرت نتائج هذه الدراسة أن البكتيريا *X. campestris* pv. *vesicatoria* المعزولة من منطقة الجبل الأخضر قد احتفظت بحيويتها

Abstract

Alawami, A.M.Y., F.S. El-Mismary and A.M. Abdel-Rahim. 2004. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in soil, seeds and plant residues. Arab J. Pl. Prot. 22: 147-150.

A study of the survival of the bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye, the causal organism of tomato spot disease, in plant debris, seeds and soil indicated that the bacterial population decreased quickly in inoculated plant debris within the first 2 months, then decreased gradually until complete disappearance after 9 months. In seeds, the population increased within the first 3 months then decreased and disappeared after 7 months. The bacterium remained viable in the sterile soil for 8 weeks but disappeared in non-sterile soil after 5 weeks.

Key words: Bacterial survival, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, tomato.

Corresponding author: Azzeddin M. Y. Alawami, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, El-Beida, Libya; e-mail: Azzawami2002@yahoo.com

References

- Agrios, G.N. 1997. plant pathology. Academic Press. Pages 416-417.
- Bashan, Y., Y. Okon and Y. Henis. 1982. Long – term survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato and pepper seeds. Phytopathology, 72: 1142-1144.
- Basu, P.K. and V.R. Wallen. 1966. Influence of temperature on the viability, virulence and physiological characteristics of *Xanthomonas phaseoli*. Canadian Journal of Botany, 44: 1239-1245.
- Bosshard-Heer, E. and J. Vogelsanger. 1977. Überlebensfähigkeit von *Pseudomonas tomato* (Okabe) Alstatt in Verschiedenen Boden. Phytopathologische Zeitschrift, 90: 193 – 202.
- Brinkerhoff, L.A. 1970. Variation in *Xanthomonas malvacearum* and relation to control. Annual Review of Phytopathology, 8: 85-110.
- Brinkerhoff, L.A. and G.B. Fink. 1964. Survival and infectivity of *Xanthomonas malvacearum* and its relation to control. Phytopathology, 54: 1198-1201.
- Chen, M. and M. Alexander. 1973. Survival of soil bacteria during prolonged desiccation. Soil Biology Biochemistry, 5: 213-321.
- Crossan, D.F. and A.L. Morehart. 1964. Isolation of *Xanthomonas vesicatoria* from tissues of Capsicum annum. Phytopathology, 54: 358-359.
- Devash, Y., Y. Okan and Y. Henis. 1980. Survival of *Pseudomonas tomato* in soil and seeds. Phytopathologische Zeitschrift, 99: 175-185.

المراجع

10. Goto, M. 1972. The significance of the vegetation for the survival of plant pathogenic bacteria. Pages 39 – 53. In: Proceeding of Third International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. H. P. Geesteranus (Editor). Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands.
11. Goto, M. 1992. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press , INC. 342 pp.
12. Jones, J.B., S.M. McGarter and D.R. Smithly. 1981. A Vacuum infiltration inoculation technique for Detecting *Pseudomonas tomato* in soil and plant tissue. *Phytopathology*, 71: 1187-1190.
13. Jones, J.B., K.L. Pohronezny, R.E. Stall and J.P. Jones. 1986. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residues , weeds, seeds, and volunteer tomato plants. *Phytopathology*, 76 : 430-434.
14. Leben, C. 1973. Survival of plant pathogenic bacteria. The Second International Congress of Plant Pathology. Minneapolis. Abstract 326.
15. Leben, C. 1981. How plant pathogenic bacteria survive. *Plant Disease Report*, 51: 659-661.
16. McCarter, S.M., J.B. Jones, R.D. Gitaitis and D.R. Smithkey. 1983. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in association with tomato seed. Soil host tissue and epiphytic weed hosts in Georgia. *Phytopathology*, 74: 1393-1398.
17. Peterson, G.H. 1963. Survival of *Xanthomonas vesicatoria* in soil and diseased tomato plants. *Phytopathology*, 53: 765-767.
18. Roberts, A.R. and C.W. Bothroyd. 1984. Fundamental of plant pathology. W. H. Freeman and Company U.S.A.
19. Schuster, M. L. 1955. A method for testing resistance of bean to bacterial blights. *Phytopathology*, 45: 519- 520.
20. Schuster, M.L. and D.P. Coyne. 1974. Survival mechanisms of phytopathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 12: 199-221.
21. Schuster, M.L. and R.M. Sayre. 1967. A Coryneform bacterium induces purple – colored seed and leaf hypertrophy of *Phaseolus vulgaris* and other Leguminosae. *Phytopathology*, 57: 1064-1066.
22. Shekhawat, P.S. and B.P. Chakravarti. 1976. Factors affecting development of bacterial leaf spot of chillies caused by *Xanthomonas vesicatoria*. *Indian Phytopathology*, 29: 392-397.
23. Timmer, L.W., J.J. Marois and D. Achor. 1987. Growth and survival of Xanthomonads under conditions nonconducive to disease development. *Phytopathology*, 77: 1341-1345.
24. Wakimoto, S. 1955. Overwintering of *Xanthomonas oryzae* on unhulled grains of rice. *Agriculture Hortscience*, 30: 1501.

Received: October 16, 2003; Accepted: September 20, 2004

تاریخ الاستلام: 2003/10/16؛ تاریخ الموافقة على النشر: 2004/9/20