النشاط الحيوي لنبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* في مكافحة بكتيريا *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria* المسببه لمرض تبقع الطماطم.

*أحمد أمراجع عبدالرازق **أماني أمراجع عبدالرازق *سامي محمد صالح

المستخلص: تعتبر منطقة الجبل الأخضر من أهم المناطق الليبية تنوعاً بالنباتات الطبية المستوطنة غير أنها لم تحظى بدراسات وافية من حيث أنشطتها الحيوية، لذلك أجريت هذه الدراسة في معمل كلية التربية/ قسم الأحياء، لأختبار النشاط الحيوي للمستخلص المائي والايثانولي لأوراق ودرنات نبات الرينش البرقاوي بتركيز (100، 200، 400) ملغم/مل في مكافحة بكتيريا *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria* المسببه لمرض تبقع الطماطم، وأختبار حساسيتها بطريقة الأقراص، ومقارنتها بالمضادات الحيوية النيومايسين والجنتامايسين. أظهرت النتائج ان مستخلصات أوراق نبات الرينش تمتلك أنشطة مضادة في تثبيط بكتيريا *X.campestris pv.vesicatoria*، كما أظهر المستخلص الايثانولي للأوراق بتركيز 400 ملغم / مل فاعلية تثبيطية فاقت جميع التراكيز المستخدمة للمستخلصات، والمضاد الحيوي الجنتامايسين بقطر تثبيط (8.5) ملم، في حين سجل المضاد الحيوي النيومايسين أفضل قدرة تثبيطية بلغت (16.1) ملم، وخلصت الدراسة إلى أنه يمكن الأعتماد على مستخلص أوراق نبات الرينش في مكافحة البكتيريا المسببة لمرض تبقع الطماطم.

الكلمات المفتاحية: الرينش البرقاوي، *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria*، مرض تبقع الطماطم.

المقدمة:

يعتبر الطماطم في ليبيا من أهم المحاصيل الزراعية حيث يحتل المرتبة الثالثة بعد القمح والشعير (El-Dayab and Gariani, 2019)، ولكنه يتعرض للعديد من المسببات المرضية وخاصة البكتيريا (Rashid *et al.*, 2016)، ومن أهم أنواعها بكتيريا *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria* المسببة لمرض التبقع البكتيري للطماطم، والمسؤولة عن خسائر كبيرة في إنتاجيته وجودة محصوله (Cecilia *et al.*, 2014 ; El-Meneisy *et al.*, 2005)، وتقتصر إجراءات مكافحتها على استخدام المضادات الحيوية والمبيدات الصناعية خاصة المكونة من مركبات النحاس، ونظراً لآثارها الجانبية الضارة وظهور سلالات مقاومة تم التوجه نحو استخدام بدائل طبيعية ذات تأثير بيئي منخفض متمثلة في النباتات الطبية (Gochez *et al.*, 2018 ; Puigvert *et al.*, 2019)، وعلى الرغم من أن ليبيا تعتبر واحدة من أكثر الدول تنوعاً من الناحية البيولوجية الإ أن الأنشطة الحيوية لكثير من النباتات الطبية المستوطنة تظل غير مستكشفة (Agiel and Mericli, 2017)، ومن ضمن هذه النباتات نبات الرينش البرقاوي *Arum cyreniacum* العائد للعائلة القلقاسية

* قسم الاحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا
** قسم الصحة العامة، المعهد العالي للمهن الطبية، المرج، ليبيا
* قسم الاحياء، كلية التربية، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

Araceae، موطنه الأصلي منطقة الجبل الأخضر ليبيا (Ben-Ramadan *et al.*, 2012)، يستخدم طبياً لعلاج الصدفية والتهابات الجلد والمفاصل (El-Mokasabi, 2014).

أجريت العديد من الدراسات في محاولة لمكافحة الأمراض المختلفة الناجمة عن بكتيريا *Xanthomonas sp.* باستخدام المستخلصات النباتية، حيث أكدت نتائج دراسة أجريت في الهند الى فاعلية المستخلصات الكحولية لست أنواع من النباتات الطبية في القضاء على مرض التعفن الأسود لنبات القرنبيط الذي تسببه *Xanthomonas campestris pv. Campestris* (Didwania *et al.*, 2013)، وأشارت دراسة أجريت في تايلندا الى إمكانية استخدام المستخلص المائي لنبات التمر الهندي في تقليل حدوث آفة تقرح الحمضيات الذي تسببه *Xanthomonas axonopodis pv. Citri* (Leksomboon *et al.*, 2001)، وخلصت نتائج دراسة أجريت في كوريا إلى أن المستخلص الميثانولي لبذور نبات *Pharbitis nil* يمتلك قدرة تثبيطية عالية ضد *Xanthomonas aboricola pv. pruni* المسببة لمرض التبقع البكتيري للخوخ (Nguyen *et al.*, 2017)، كما بينت نتائج (Abo-Elyousr *et al.*, 2020) بأنه يمكن الإعتماد على مستخلصات نباتات الدفلة واليوكاليبتوس والحنظل كمضاد حيوي ضد *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* المسببة لمرض التبقع البكتيري للطماطم.

لذلك هدفت الدراسة الحالية الى أختبار النشاط المضاد للمستخلص المائي والايثانولي لأوراق ودرنات نبات الرينش البرقاوي بتركيز (100، 200، 400) ملغم/مل في مكافحة بكتيريا *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria* المسببه لمرض تبقع الطماطم.

المواد وطرق البحث:

جمع العينات النباتية: جمعت عينات (أوراق ودرنات) نبات الرينش البرقاوي من منطقة شحات شرق مدينة البيضاء/ ليبيا، وغسلت العينات بالماء المقطر، وجففت داخل المختبر تحت درجة حرارة الغرفة، ثم طحنت بواسطة مطحنة كهربائية وتم حفظها لحين الاستعمال.

تحضير المستخلصات:

- **الاستخلاص المائي:** أذيب 200 جرام من المسحوق النباتي في 1000مل من الماء المقطر المعقم البارد وترك لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة، ثم رشح بواسطة الشاش للتخلص من الأجزاء الكبيرة من النبات، ثم رشح المحلول بواسطة أوراق

ترشيح (0.22 um)، بعدها بخر الراشح في الفرن بدرجة حرارة 40م°، للحصول على المسحوق الجاف للمستخلص، وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال (Sani *et al.*, 2014).

- **الاستخلاص الايثانولي**: وزن 20 جرام من المسحوق النباتي ووضع في دورق زجاجي أضيف له 200 مل من الإيثانول (95%)، ووضع على هزاز لمدة 72 ساعة وبدرجة حرارة 25م°، ثم رشح المزيج بواسطة الشاش، ونبذت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق ورشح الرائق بواسطة أوراق ترشيح Wattman No.1، بعدها بخر باستخدام المبخر الدوار للحصول على المسحوق الجاف للمستخلص (De Zoysa *et al.*, 2019)، ووضع في أنبوبة محكمة ومعتمة وحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4م° لحين الاستعمال.

وتم تحضير المحلول الأساسي بإذابة 4جم في 10 مل ماء مقطر بتركيز 400 ملغم/مل، ومنه حضرت التراكيز الأخرى.

البكتيريا المختبرة: تم الحصول على بكتيريا *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria* المسببة لمرض التبقع البكتيري المعزولة من نبات الطماطم مشخصة ومعرفة من قسم وقاية النبات /كلية الزراعة/ جامعة عمر المختار.

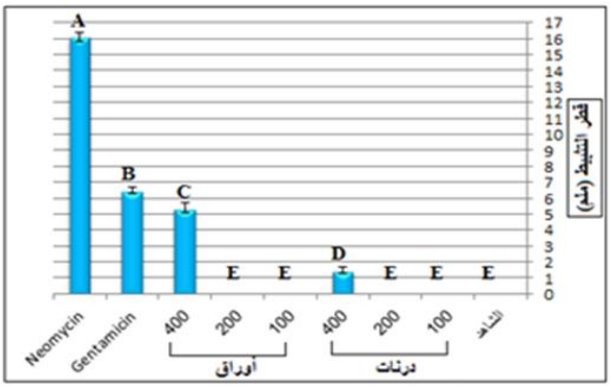
اختبار الحساسية: تـم أجراء الاختبار بطريقة الأقراص Disk diffusion method، حيث زرعت البكتيريا على وسط Mueller-Hinton agar، ثم وضعت أقراص مشبعة بمستخلصات نبات الرينش البرقاوي بقطر 6ملم وبمسافات متساوية، وحضنت الأطباق لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37م° بثلاث مكررات لكل طبق، ومقارنتها بالمضاد الحيوي Neomycin بتركيز 30ug و Gentamicin بتركيز30ug (Daoud *et al.*, 2015)، وتم قياس أقطار مناطق التثبيط الخالية من النمو البكتيري مطروحاً منها قطر القرص للمستخلصات والمضاد الحيوي.

تصميم وتحليل البيانات: تم تصميم تجارب الدراسة المعملية وفق تصميم كامل العشوائية Completely Randomized Design (CRD)، وأجريت عملية التحليل الإحصائي باستخدام برنامج (Minitab 17) لتحليل تباين ANOVA، وتم إجراء مقارنة بين المتوسطات باستخدام أختبار (Tukeys) عند $P<0.05$.

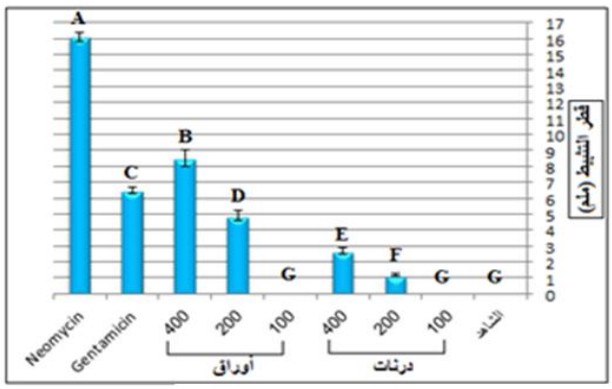
النتائج:

أختبرت فاعلية مستخلصات أوراق ودرنات نبات الرينش البرقاوي (المائية والايثانولية) وكذلك فاعلية المضادين Neomycin و Gentamicin ضد بكتيريا *X. campestris pv.vesicatoria* المسببة لمرض تبقع نبات الطماطم، وبعد قياس أقطار التثبيط، بينت النتائج من الشكل (1 و2) أن هناك تبايناً واضحاً في الفاعلية التثبيطية

للمستخلصات والمضادات الحيوية ضد هذه البكتيريا، حيث أظهرت البكتيريا حساسية عالية للمضاد الحيوي Neomycin بقطر تثبيط (16.1) ملم، في حين كانت حساسيتها ضعيفة تجاه المضاد الحيوي Gentamicin بقطر تثبيط (6.5) ملم، كما بينت النتائج أيضاً أن المستخلصات المائية للأوراق والدرنات المستخدمة لم يكن لها تأثيراً ايجابياً ضد البكتيريا المختبرة بإستثناء التركيز 400 ملغم/ مل الذي سجل أقطار تثبيط بلغت (5.4 و1.5) ملم لمستخلص الأوراق والدرنات على التوالي، وأظهرت المستخلصات الايثانولية للأوراق والدرنات فاعلية تثبيطية واضحة، حيث سجل التركيز 200 ملغم/ مل أقطار تثبيط بلغت (4.9 و1.2) ملم لمستخلص الأوراق والدرنات على التوالي، وأزدادت هذه الفاعلية بزيادة التركيز حيث أعطى التركيز 400 ملغم/ مل نشاطاً تثبيطياً بلغ (8.5 و2.7) ملم لمستخلص الأوراق والدرنات على التوالي، ولم يظهر للتركيز 100 ملغم/ مل آي تأثير تثبيطي ضد هذه البكتيريا.



شكل(1): تأثير المستخلصات المائية لنبات الرينش البرقاوي على بكتيريا *X. campestris pv.vesicatoria*

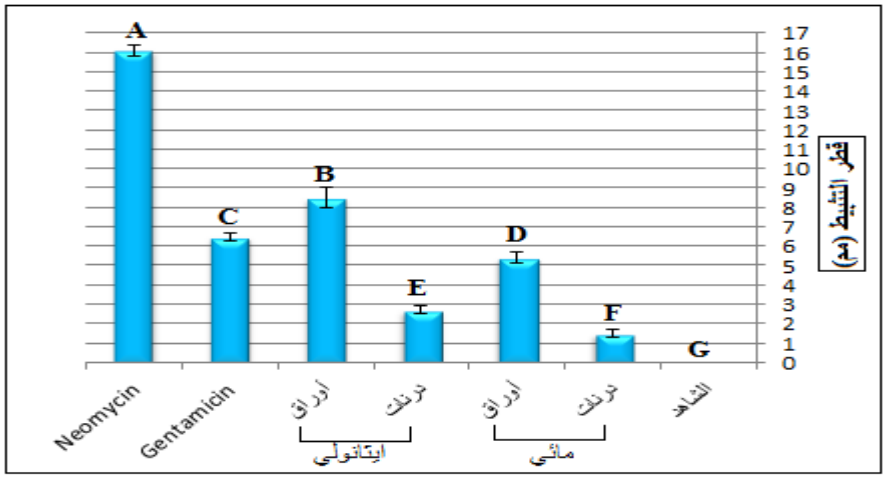


شكل(2): تأثير المستخلصات الايثانولية لنبات الرينش البرقاوي على بكتيريا *X. campestris pv.vesicatoria*

المناقشة:

تعد المضادات الحيوية هي الطريقة الشائعة المستخدمة في مكافحة مرض التبقع البكتيري للطماطم رغم ظهور سلالات بكتيرية مقاومة (Shenge *et al.*, 2007 ; Vallad *et al.*, 2010)، حيث أظهرت نتائج هذه الدراسة مدى أختلاف حساسية ومقاومة بكتيريا *X. campestris pv.vesicatoria* للمضادات الحيوية، وهذا يتفق مع ما وجده (Kebede *et al.*, 2013 ; Satish *et al.*, 1999)، كما أشارت النتائج إلى إمكانية استخدام مستخلصات نبات الرينش البرقاوي في مكافحة هذه البكتيريا، وأتفقت هذه النتائج مع ما أكده (Abdulrraziq and Salih, 2020) بأن نبات الرينش البرقاوي يمتلك فاعلية تثبيطية جيدة ضد البكتيريا الموجبة والسالبة، وتقاربت أيضاً مع ما وجده (Abo-Elyousr et al., 2020)، بفاعلية المستخلصات النباتية في قمع نمو بكتيريا *X. campestris pv.vesicatoria*.

وعند مقارنة الفاعلية التثبيطية لمستخلصات نبات الرينش والمضادات الحيوية من الشكل (3) يلاحظ تفوق المستخلص الايثانولي للأوراق بتركيز 400 ملغم/ مل على المضاد الحيوي Gentamicin بقطر تثبيط (8.5) ملم، في حين تفوق المضاد الحيوي Neomycin بقطر تثبيط (16.1) ملم على كافة المستخلصات المستخدمة بجميع تراكيزها، وقد يرجع ذلك إلى أن المضاد الحيوي Neomycin له القدرة على إتلاف الأغشية الخلوية لبكتيريا *Xanthomonas* مؤديا إلى موتها (Tao *et al.*, 2011)، كما لوحظ أن مستخلصات الأوراق أكثر كفاءة من مستخلصات الدرنات، وقد يرجع ذلك لاحتواء الأوراق على كميات عالية من مركبات جليكوسيدات السيانوجينيك السامة (Mansour *et al.*, 2015)، بينما كان المستخلص الايثانولي هو الأكثر فاعلية من المستخلص المائي في تثبيط البكتيريا المختبرة، وهذا يتفق مع ما أشار إليه (Abu-shanab *et al.*, 2004) بأن المذيبات العضوية أكثر كفاءة في استخراج المركبات الفعالة للنباتات الطبية، وكان التركيز 400 ملغم/ مل هو الأكثر فاعلية في تثبيط البكتيريا، وترجع الفاعلية التثبيطية لنبات الرينش لوجود Sterols، Alkaloids، Calcium oxalate، p-coumaric acid، Terpenes، Caffeic acid (; Ben-Ramadan *et al.*, 2012 Abdel-karim *et al.*, 2018).



شكل(3): تأثير المستخلصات المائية والايثانولية لنبات الرينش البرقاوي بتركيز 400ملغم/ مل على بكتيريا *X. campestris pv.vesicatoria*

الخلاصة:

نستنتج من هذه الدراسة أن أوراق نبات الرينش تمتلك فاعلية تثبيطية جيدة في مكافحة بكتيريا *X. campestris pv.vesicatoria* المسببة لمرض تبقع الطماطم، وأزدادت فاعليتها بزيادة التركيز، حيث أعطى المستخلص الايثانولي للأوراق بتركيز 400 ملغم/ مل فاعلية تثبيطية فاقت المستخلصات المائية والمضاد الحيوي Gentamicin، وتفوق المضاد الحيوي

Neomycin على جميع المستخلصات بكافة تراكيزها، لذا يوصي البحاث بأجراء دراسات مستقبلية للمستخلصات النباتية كطريقة بديلة للمضادات الحيوية والمبيدات في مكافحة الأمراض التي تصيب المحاصيل الزراعية.

Bio-activity of *Arum cyreniacum* in control of *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria* which causes tomato spot disease.

Ahmed amrajaa abdulrraziq*[1], Amani amrajaa abdulrraziq[2], Sami mohammed salih[1]
[1]Department of Biology, Faculty of Education, Omar Al-Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.
[2]Department of pupluc health, high institute of medical professions, El-Maraj, Libya.

Abstract: Al-Jabal Al-Akhdar is considered one of the most important Libyan regions in terms of its diversity of native medicinal plants, which it does not obtain a received of full studies Bio-activities. This study was conducted in the laboratories of the Faculty of Education/ Department of Biology to test activity of the aqueous and ethanol extracts of leaves and tubers of *Arum cyreniacum* at a concentration of (100, 200 and 400) mg/ml in a control of *Xanthomonas campestris pv.vesicatoria* which causes tomato spot disease, by a sensitivity test in form of Disk diffusion method. then compared with Gentamicin and Neomycin. The results showed that extracts of leaves of *Arum cyreniacum* possessed anti-activities in inhibiting *X.campestris pv.vesicatoria* and an ethanolic extract of leaves at a concentration of 400 mg/ml showed an inhibitory activity superior exceeded all a concentrations used for extracts, and gentamycin with a diameter of (8.5) mm, while recorded Neomycin has best inhibitory capacity with a diameter (16.1) mm. The study concluded the extract of leaves of *Arum cyreniacum* can be relied on to control of *X.campestris pv.vesicatoria* which cause tomato spots disease.

Key words: *Arum cyreniacum, Xanthomonas campestris pv.vesicatoria,* tomato spot disease.

References:

1- Abdel-karim, M. Abdelshafeek, A. Saada, F. A. Attafa, S. M. M. (2018). Isolation and characterization of some flavones from arum cyrenaicum (araceae). Wjpls, vol. 4(2), 27-33.

2- Abdulrraziq, A. A.,and Salih,S. M.,(2020). Effect of Aqueous Extracts of Arum cyreniacum on Some Negative and Positive Gram bacteria. Al-Mukhtar Journal of Sciences 35 (1): 60-68.

3- Abo-Elyousr, K. A. M., Almasoudi, N. M., Abdelmagid, A. W. M., Roberto, S. R.,and Youssef, K. (2020). Plant Extract Treatments Induce Resistance to Bacterial Spot by Tomato Plants for a Sustainable System. Horticulturae, 6(2), 36.

4- Abu-shanab, B., Adwan, G., Abu-safiya, D., Jarrar, N. and Adwan, K. (2004). Antibacterial activity of some plant extract unit izedinpopular medicine in plant. Turkish Journal of Biology, 28, 99- 105.

5- Agile, B., and Mericli, F. (2017). A survey on the aromatic plants of Libya. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research51(3), S304-S308.

6- Ben Ramadan, L., Zwawi, A., Almaghour, H., Saad, M., Alfalah, A., Ben Amer, L. and Auzi, A.(2012). Toxicity and antioxidant of Arum cyrenaicum hurby. Egypt J. Forensic Sci. Appl. Toxicol., vol 12(2): 1-17.

7- Cecilia, B., Gustavo, G., Galván, G. and Alejandra, B. (2014). Componentes de resistencia a Xanthomonas vesicatoria raza T2 en genotipos de tomate en condiciones de invernadero y cámara de crecimiento. Agrociencia Uruguay, 18(1), 86-96.

8- Daoud, A., Malika, D., Bakari, S., Hfaiedh, N., Mnafgui, K. and Kadri, A. (2015). Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of various extracts of date palm pollen (DPP) from two tunisian cultivars. *Arab. J. Chem.* (in press).

9- Dayab, K. M. and El-Gariani, N. K. (2019). Isolation and Identification of Tomato Wilt Pathogen under Green House Conditions in Tripoli Area. *Journal of Misurata Universin for Agricultural Sciences,1(1*): 327-337.

10- De Zoysa, M. H. N., Rathnayake, H. Hewawasam, R. P. and Wijayaratne, W. M. D. G. B. (2019). Determination of In Vitro Antimicrobial Activity of Five Sri Lankan Medicinal Plants against Selected Human Pathogenic Bacteria. International Journal of Microbiology, pp:1-8.

11- Didwania, N., Sadana, D. and Trivedi, p. c. (2013). Antibacterial activity of a few medicinal plants against Xanthomonas cam-pestris pv. campestris. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 4(2), 177-182.

12- El-Meneisy, Z. A. A. Abd El-Ghafar, N. Y. Abd El-Sayd, W. M. Abo El-Yazeed, A. and Gamil, N. A. M. (2005). Susceptibility of some tomato cultivars to bacterial canker and spot diseases and the role of seeds in pathogen transmission. Arab Universities Journal of Agricultural Sciences, 13(3), 817-826.

13- El-Mokasabi, F. M. (2014). Floristic Composition and Traditional Uses of Plant Species at Wadi Alkuf, Al-Jabal Al-Akhder, Libya. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci, 14 (8): 685-697.

14- Gochez, A. M., Huguet-Tapia, J. C., Minsavage, G. V., Shantaraj, D., Jalan, N., Strauß, A., Lahaye, T., Wang, N., Canteros,B.,Jones, J.B., and Potnis, N. (2018). Pacbio sequencing of copper-tolerant Xanthomonas citri reveals presence of a chimeric plasmid structure and provides insights into reassortment and shuffling of transcription activator-like effectors among X. citri strains. BMC genomics, 19(1), 16.

15- Kebede, M., Ayalew, A., and Yesuf, M. (2013). Efficacy of plant extracts, traditional materials and antibacterial chemicals against Xanthomonas campestris pv. vesicatoria on tomato seed. African Journal of Microbiology Research, 7(20), 2395-2400.

16- Leksomboon, C., Thaveechai, N., and Kositratana, W. (2001). Potential of plant extracts for controlling citrus canker of lime. *Agriculture and Natural Resources*, *35*(4), 392-396.

17- Mansour, O. Salamma, R. and Abbas, L. (2015). Screening of antibacterial activity in vitro of arum maculatum l. leaves extracts. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 31(2): 231-234.

18- Nguyen, H. T., Yu, N. H., Park, A. R., Park, H. W., Kim, I. S., and Kim, J. C. (2017). Antibacterial activity of pharbitin, isolated from the seeds of Pharbitis nil, against various plant pathogenic bacteria. J Microbiol Biotechnol, 27(10), 1763-72.

19- Puigvert, M., Sole, M., Lopez-Garcia, B., Coll, N. S., Beatti e, K. D., Davis, R. A., Elofsson.M.,and Valls,A. M., (2019). Type III secretion inhibitors for the management of bacterial plant diseases. Molecular plant pathology, 20(1), 20-32.

20- Rashid, T. S., Sijam, K., Awla, H. K., Saud, H. M., and Kadir, J. (2016). Pathogenicity assay and molecular identification of fungi and bacteria associated with diseases of tomato in Malaysia. *American Journal of Plant Sciences*, *7*(6), 949-957.

21- Sani, I., Abdulhamid, A., and Bello, F. (2014). Eucalyptus camaldulensis: Phytochemical composition of ethanolic and aqueous extracts of the leaves, stembark, root, fruits and seeds. Journal of Scientific and Innovative Research, 3(5): 523-526.

22- Satish, S., Raveesha, K. A., and Janardhana, G. R. (1999). Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic Xanthomonas campestris pathovars. Letters in Applied Microbiology, 28(2), 145-147.

23- Shenge, K. C., Mabagala, R. B.,and Mortensen, C. N. (2007). Identification and characterization of strains of Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria from Tanzania by biolog system and sensitivity to antibiotics. African Journal of Biotechnology, 6(1),pp 015-022.

24- Tao, K., Fan, J., Shi, G., Zhang, X., Zhao, H., and Hou, T. (2011). In vivo and in vitro antibacterial activity of neomycin against plant pathogenic bacteria. Scientific Research and Essays, 6(34), 6829-6834.

25- Vallad, G. E., Pernezny, K. L., Balogh, B., Wen, A., Figueiredo, J. F. L., Jones, J. B., Momol, T. Muchovej, R. M. Havranek, N. Abdallah, N. Olson, S. and Roberts, P. D. (2010). Comparison of kasugamycin to traditional bactericides for the management of bacterial spot on tomato. HortScience, 45(12), 1834-1840.