

فعالية بروتين الهاربين في تحفيز مقاومة القمح تجاه بكتيريا تخطط الأوراق البكتيري *Xanthomonas translucens*

إسماعيل الصالح^{*}، محمود أبو غرة^٢، عروب المصري^٣

^{*} طالب دكتوراة في كلية الزراعة في قسم وقاية النبات- كلية الزراعة- جامعة دمشق.

^٢ أستاذ دكتور في قسم وقاية النبات- كلية الزراعة- جامعة دمشق.

^٣ باحث في الهيئة العامة للقناة الحيوية دمشق.

الملخص:

قُيم في هذه المقالة فعالية بروتين الهاربين في الحد من إمراضية بكتيريا تخطط الأوراق البكتيري على القمح *Xanthomonas translucens*، استخدم في الدراسة عزلتين للمرض Xt10 و Xt4.2 والصنف شام ٦ القابل للإصابة. أظهرت معاملة الهاربين انخفاض في نسبة شدة الإصابة بالعزلتين إلى (١٤.٨، ١٣.٢) % على التوالي مقارنة بالشاهد؛ حيث بلغت نسبة شدة الإصابة بالعزلة Xt10 ٦٠.٤ % في بادرات القمح المعاملة بالهاربين مقارنة بالشاهد الذي بلغت فيه نسبة شدة الإصابة ٤٣.٢ %، بينما بلغت في البادرات المعدية بالعزلة Xt4.2 (٣٩.٢) % بالنسبة للبادرات المعاملة بالهاربين والماء على التوالي، اقترن انخفاض شدة الإصابة بالعزلتين بانخفاض في النمو البكتيري في الأنسجة؛ حيث بدأ الانخفاض في التعداد البكتيري للعزلتين بعد ٧٢ ساعة من العدوى فكان التعداد أقل ب٥٠ مرة في النباتات المعاملة بالهاربين مقارنة بالشاهد للعزلة Xt10 و أقل ب١٢٠ مرة بالنسبة للعزلة Xt4.2 واستمر انخفاض التعداد البكتيري لبعد ٩٩ ساعة من العدوى بالعزلتين المرضتين Xt10 و Xt4.2، وبذلك يكون بروتين الهاربين قد أثبت فعالية في الحد من إمراضية وتخطط الأوراق البكتيري على القمح.

الكلمات المفتاحية: هاربين، تخطط الأوراق البكتيري، *Xanthomonas translucens* ، قمح، محرضات مقاومة.

تاريخ الإيداع: ٢٠٢٣/٣/١٥

تاريخ القبول: ٢٠٢٣/٥/٢٤



حقوق النشر: جامعة دمشق - سوريا،
يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب

الترخيص CC BY-NC-SA 04

Efficacy of Harpin protein in stimulating wheat resistance against bacterial leaf streak *Xanthomonas translucens*

Ismaeel Alsaleh^{1*}, Abu-Ghorrah Mahmoud², Aroub Almasri³

¹ Department of plant protection -faculty of agriculture – Damascus University

² Department of plant protection -faculty of agriculture – Damascus University

³ National commission for biotechnology(NCBT)

Abstract:

Received: 15/3/2023

Accepted: 24/5/2023



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

In this article, the activity of Harpin protein in reducing the pathogenicity of the Bacterium *Xanthomonas translucens* which caused Bacterial leaf streak (BLS) on wheat was evaluated. Two isolates of the pathogen Xt10 and Xt4.2 were used, and the wheat cultivar Sham 6 which is susceptible to disease. Harpin treatment showed decreasing in infection severity in both isolates (14.8, 13.2)% respectively compared to the control ; Whereas, the rate of infection severity with isolate Xt10 was 6.4% in wheat seedlings treated with Harpin compared to control which was 43.2%, while in seedlings infected with the isolate Xt4.2 it reached (5.2, 39.2)% for seedlings treated with Harpin and water, respectively, decrease infection severity of the two isolates was associated with a decrease in bacterial growth in the tissues. Where the decrease in the bacterial count of the two isolates began 72 hours after infection, and the count was 50 times less in the plants treated with Harpin compared to control for isolate Xt10 and 120 times lower for Xt4.2 isolate. As a result, harbin protein is effective in reducing the pathogenicity of BLS on wheat plant.

Key words: Harpin, Wheat, Resistance Inducer, Bacterial Leaf Streak, *Xanthomonas Translucens*.

الدراسة المرجعية: يعد نبات القمح المحصول الأول من حيث الأهمية في الجمهورية العربية السورية حيث يعتبر أساس الأمان الغذائي المحلي، يتعرض لعدد هائل من الاجهادات الإحيائية والإحيائية التي تؤثر سلباً في الإنتاج. بشكل متزامن أو مستقل يمكن أن تصيب الأضرار الناتجة عن الحشرات والفقد الناتج عن الأمراض إلى ٢٠٪ من الإنتاج وحتى التدمير الكامل للمحصول (Duveiller et al. 1989؛ Mehta et al. 1990؛ Maraite et al. 2007).

أظهرت أبحاث عديدة أنَّ مرض التخطط الشفاف على القمح يعد المرض البكتيري الرئيسي على القمح في العديد من البلدان (Silva et al. 2009) وهو المرض البكتيري الأكثر انتشاراً في أغلب مناطق زراعة القمح في سوريا، حيث وجد أنَّ النسبة الوسطية لعزلات هذا المرض كانت ٨٣.٣٪ من مجموع العزلات المعزولة من القمح على مستوى القطر (مندو ٢٠٠٧)، وأظهرت الدراسات الأخيرة في سوريا وجود ٦ طرز وراثية مختلفة لعزلات البكتيريا المدروسة (الصالح ، ٢٠١٧)، سُجل المرض لأول مرة في سوريا على شكل انتشار وبائي على صنف القمح القاسي المحلي جزيرة ١٧ (أسعد، ١٩٨٧)، حيث أخرج هذا الصنف من الخطة الزراعية برغم صفاته الإنتاجية العالية. تسبب الإصابة فقد في الغلة قد تصل إلى ما يزيد عن ٤٠٪ (Mehta et al. 1990؛ Maraite et al. 2007)، يعود هذا فقد لتأثيره على نوعية الحبوب حيث ينخفض وزن الألف حبة بما يعادل ١٠ - ٣٠٪، ينتج المرض عن بكتيريا *Xanthomonas translucens*. وهي هوائية، سالبة الغرام، عصوية الشكل، تعطي مستعمرات دائرة لمعادة مخاطية وصفاء على وسط الزرع (Sands et al. 1986) وتظهر فرط حساسية على التبغ (Phutt Akhtar and 2002)، سالبة أوكسیداز، موجبة كاتلаз (Adhikari et al. 2012). كما تمتاز هذه البكتيريا بأنها تمتلك القدرة على تشكيل نوى تشجع تجمد الماء (ice nucleation activity) عند درجات حرارة ١٠ - ٠ (Kim et al. 1987).

تعتمد مكافحة الأمراض البكتيرية على الأساليب التقليدية من اتباع لدورة زراعية وزراعة أصناف مقاومة، إضافةً إلى زراعة بذار خالي من الإصابة (Duveiller et al. 1997). والمكافحة الكيميائية تتحصر على شكل تطهير الحبوب بالفورمالين أو مواد أخرى (Sands et al. 1981)، وهي مادة ذات خطورة متفاوتة على صحة الإنسان، لذلك تتجه الأبحاث لإيجاد بدائل غير ضارة بالصحة العامة ومن أهم بدائل المبيدات محفزات المقاومة عند النبات؛ التي تحفز الاستجابات الدفاعية مؤدية إلى المقاومة الجهازية المكتسبة SAR التي تعطي النبات مقاومة لمجموعة واسعة من مسببات الأمراض (McDowell and Woffenden 2003).

يعد بروتين الهاربين من أشهر الجزيئات البروتينية التي تؤدي لتحريض المقاومة الجهازية المكتسبة (McDowell and Woffenden 2003)، تنتج بروتين الهاربين عدة أنواع من البكتيريا الممرضة للنبات أهمها البكتيريا *Erwinia amylovora* المسببة لمرض اللفة النارية على التفاحيات (Reboutier et al. 2007) حيث تتميز هذه البكتيريا بأنها تحتوي على المورثة *Hrp N* المرمزة للبروتين هاربين (Perino et al. 1999). وصنفت وكالة حماية البيئة منتج MessengerTM (مادة تجارية لبروتين الهاربين) على أنه مبيد منخفض الخطورة low risk pesticide وهو يقع في التصنيف "محرض مقاومة للنبات plant defense booster (PDB)" (Kothari and Patel 2004).

بيّنت الدراسات العديدة التي أجريت في العقود الماضيين عن أهمية هذا الجزيء في تحريض مقاومة النباتات تجاه مجال واسع من الآفات سواء الحشرية أو الفطرية أو البكتيرية أو الفيروسية، وكذلك تعزيز نمو النباتات (Choi et al. 2013)، فحرّض رش نبات *Arabidopsis* ببروتين الهاربين إلى التعبير عن مورثات PR1 المرتبطة بالإمراضية وفعّل المقاومة الجهازية المكتسبة مانحاً إياها مقاومة لعدة ممرضات منها *P.syringae* pv. *tomato* و *Peronospora parasitica* و *X. oryzae* pv. *oryzae* ضد المرض PR1a و PR1b (Peng et al. 2004)، وحرّض تطبيق الهاربين على الرز مقاومة قوية ضد المرض *Magnaporthe grisea* والممرض في ظروف البيت الزجاجي والحقن (Chen et al. 2008)، وأدى استخدام الهاربين بتركيز ٦٠

مخ / ل انخفاض أعراض مرض التبعع البكتيري للحمضيات المسبب من المرض (*X. axonopodis* pv. *citrumelo*) حتى الـ ٥٥% في الـ Boro et al. (2011) ، وبدراسة أخرى عمّلت جذور الفجل بالهاربين وبعد ٧ أيام لقحت الأوراق بـ *Xanthomonas campestris* pv. *amoraciae* strain 704b الممرضة لنباتات الفجل، ثم قيمت شدة الأعراض (البعع البكتيرية) بعد ٦-٨ أيام، حيث أدت معاملة الهاربين إلى انخفاض الأعراض بنسبة ٤١٪ مقارنة بالشاهد (Ahmad et al. 2001).
هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم فعالية بروتين هاربين محلي في إمراضية بكتيريا التخطط الشفاف على القمح

المواد والطرائق:

المادة النباتية: صنف القمح شام ٦ وذلك لقابليته بالإصابة بمرض التخطط الشفاف على القمح حسب ما ورد في (حجازي، ٢٠٠٧).

المحفز: استخدم بروتين هاربين منتج محلياً في هيئة الطاقة الذرية بعد تنسيل مورثة *Hrp N* من بكتيريا *Erwinia amylovora* وقورتنت النتائج بشاهد ماء، حضرت تراكيز نصفية من البروتين ورشت على أوراق قمح بعمر ٢٠ يوم واعتمد أعلى تركيز لم يؤد لفرط حساسية.

العزلة البكتيرية المختبرية: استخدم في هذه الدراسة عزلتين محليتين معرفتين من بكتيريا *Xanthomonas translucens* (Xt10) (Xt4.2)، أخذت من مخبر الأمراض البكتيرية في قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة دمشق. حيث عزلت من عينات قمح مصابة بعد تعقيم الأنسجة النباتية سطحياً بمحلول هيبيوكلوريت الصوديوم ٣٪ لمدة ثلاثة دقائق، ثم غسلت بماء مقطر معقم لإزالة آثار هيبيوكلوريت الصوديوم ٣ مرات، ثم طحت العينات بماء مقطر معقم، وترك لفترة ٣٠ دقيقة حتى تحرر البكتيريا من الأنسجة ونشرت على وسط مغذي عام YPGA (7 g/l Glucose and 1.5 g/l Agar) (Peptone 7 g/l, Yeast extract 7 g/l) مضافاً له Cyclohexemide ٥ mg / لتر كمضاد فطري وحضنت الأطباق على درجة حرارة ٢٨ ٠ ملمدة ٧٢ ساعة.

اختبار القراءة الإمبراطورية للعزلات: أجريت عدوى اصطناعية للعزلات البكتيرية التي حصل عليها بحقن معلق بكتيري بتركيز ١٠^{١٠} cfu / مل بطريقة الترشيح باستخدام سيرننغ معقم بدون إبرة وذلك ضمن نسيج أوراق بادرات قمح بعمر ١٥ يوم ممزروعة في كفوس بلاستيكية تحتوي على التربوب تحت ظروف حرارة ٣٠-٢٥ ٠ م وضاءة (١٦ ضوء / ٨ ظلام)، غطيت البادرات المحقونة بأكياس نايلون خلال الساعات الأولى من العدوى لتأمين الرطوبة العالية لتطور المرض. وفحصت البادرات يومياً لمدة أسبوع حيث اعتبرت العزلة ممرضة في حال ظهور أعراض التشبع بالماء و/أو الاصفار على الأوراق مكان وحول منطقة العدوى، وغير ممرضة عند عدم ظهور تلك الأعراض (DUVEILLER et al. 1997)

نميت كلا العزلتين على وسط مغذي YPGA السابق، وجهز معلق بكتيري بتركيز ١٠^٧ cfu / مل من مستعمرات بعمر ٤٠ ساعة.
الحد من الشدة المرضية لـ *Xt* في القمح: زرعت بذار القمح صنف شام ٦ في أصص صغيرة قطر ١٠ سم مملوئة بالتورب إلى الثلثين تقريباً ومتقدمة من الأسفل، وضع في كل أصيص ٥ بذار، عمّلت البادرات بعمر ٢٠ يوم بطريقة الرش بالهاربين بأعلى تركيز لم يحدث فرط حساسية وبالشاهد الماء المقطر (١٠٠ بذرة لكل معاملة)، بعد ٤٨ ساعة رشت أوراق نصف البادرات (١٠٠ بذرة) بالمعلق البكتيري للعزلة Xt10 والقسم الثاني بمعلق بكتيري للعزلة Xt4.2، حضر المعلقين بتركيز ١٠^٨*٢٪، وقيمت شدة الضرر ضمن الأنسجة النباتية بعد ظهور الإصابة بـ ١٠ أيام، وذلك اعتماداً على المساحة المصابة من الورقة المعدة حسب عن طريق سلم لشدة الإصابة (Duveiller et al. 1994) :

١ = البقعة تغطي ١٪ من مساحة الورقة

٢ = البقعة تغطي ٥٪ من مساحة الورقة

٣ = البقعة تغطي ١٠ % من مساحة الورقة

٤ = البقعة تغطي ٢٥ % من مساحة الورقة

٥ = البقعة تغطي ٥٠ % من مساحة الورقة

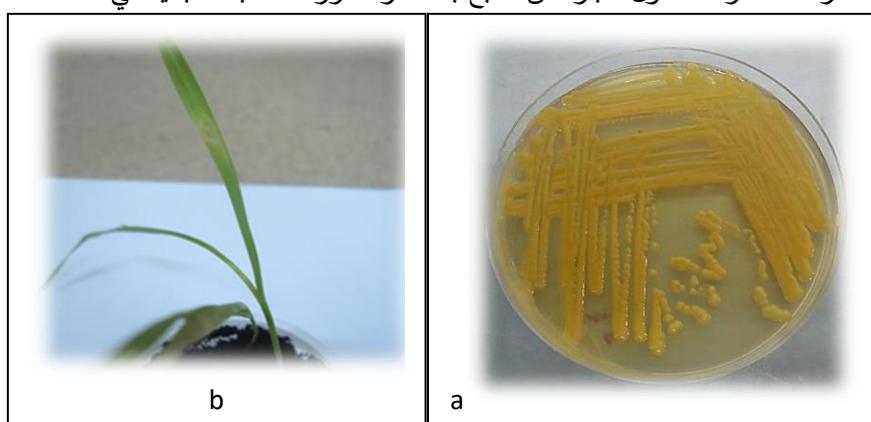
وحسبت الشدة المرضية لكل من الشاهد والنباتات المعاملة بالهاربين وفق المعادلة (Wheeler، ١٩٧٠)

النسبة المئوية لشدة الإصابة = مجموع (عدد النباتات المصابة في كل درجة * درجة الإصابة) / أعلى درجة إصابة * عدد النباتات الكلية

تقييم النمو البكتيري في الأوراق: باستخدام طريقة العد البكتيري وفق طريقة (Marmey et al, 2007) حيث بعد معاملة البادرات ببروتين الهاربين والشاهد الماء، أعدت الأوراق المعاملة بالعزلات البكتيرية بطريقة الترشيح بواسطة محقن بدون إبرة ومن ثم أخذت وعلى مدار أسبوع وبواسطة مسبر معدني ٣ أقراص من القمح المعدي بقطر ٥.٠ سم وكل قرص طحن في ١ مل ماء مقطر معقم وأخذنا عددة تمييدات ١٠٠ ، ٣١٠ ، ١٠ ، ١٠٠ ، ٣٠٠ وأخذ من كل تمييد ١٠ ميكروليتر وزرعت على طبق بيوري حاوي وسط مغذي عام YPGA وحضن ٧٢ ساعة وأخذت القراءات، ومن ثم حسبت تراكيز البكتيريا ضمن النسج الملقة بالبكتيريا المعاملة بالهاربين والشاهد وأخذ اللوغاريتم العشري لها. حللت النتائج عن طريق إجراء اختبار T لدراسة الفروق المعنوية بين التعداد البكتيري في النباتات المعاملة الهاربين والشاهد.

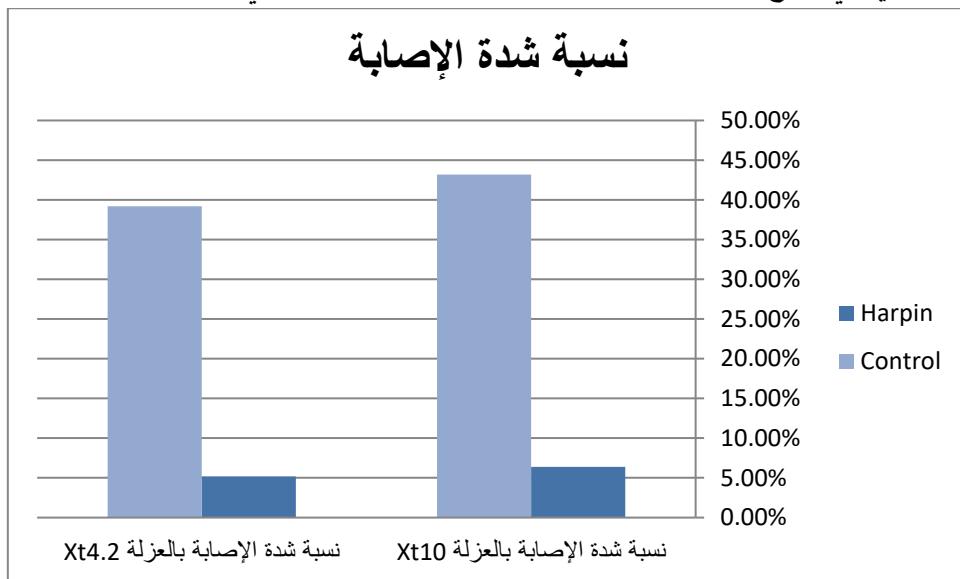
النتائج: تميزت العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة (Xt4.2، Xt10)، عند زراعتها على وسط زرع (YPGA) بتشكيلاهما مستعمرات صفراء لامعة دائيرية محدبة ملساء منتظمة الحواف بقطر (٤-٣) ملم الشكل (١a)، احتاجت إلى ٣ أيام لتتموا عند درجة ٢٧ م. سالبة لصبغة غرام، سالبة لاختبار الأوكسيداز، تفسها هوائي، لا تشكل سكر اللوفان، تسبب فرط الحساسية على التبغ، وهذا للمواصفات النموذجية لبكتيريا *Xanthomonas translucens* وفقاً لـ Adhikari et al. 1986، Sands et al. (1986) وفقاً لـ (2012)

القدرة الإمراضية للعزلات: للتأكد من إمراضية العزلات أجريت العدوى الاصطناعية على بادرات قمح صنف شام ٦ بتعليق بكتيري تركيزه 10^8 cfu / مل ومراقبة أعراض الإصابة خلال أسبوع من تاريخ العدوى حيث ظهرت أعراض الإصابة تشبع بالماء water soaking بعد ٤٨ ساعة من العدوى واصفار في الفترة اللاحقة الشكل (١b) وهذا موافق لما ذكره DUVEILLER et al. (1997) في أن أعراض العزلات الممرضة تكون عبارة عن تشبع بالماء واصفار للأنسجة النباتية في منطقة العدوى الاصطناعية.



الشكل (١) a: مستعمرات بكتيريا *Xanthomonas translucens* على وسط نمو YPGA، b: أعراض اصفار ناجحة عن العدوى الاصطناعية ببكتيريا *Xanthomonas translucens* على صنف القمح شام ٦ العزلة Xt10 على صنف القمح شام ٦

تأثير بروتين الهاربين في الحد من الشدة المرضية لـ *Xt* في القمح: بعد معاملة صنف القمح شام ٦ بالهاربين والماء المقطر، والعدوى بالملق البكتيري للعزلتين المدروستين، أخذت قراءة شدة الضرر ضمن الأنسجة النباتية اعتماداً على سلم تقدير (Duveiller *et al.*, 1994, 1970) و معايير Wheeler (1970)، وأظهرت النتائج أن قد بروتين الهاربين خفض من نسبة إصابة بادرات القمح صنف شام ٦ ومن الشدة المرضية لبكتيريا التخطيط الشفاف لكلا الععزلتين مقارنة بالبادرات المرشوشة بالشاهد الماء، حيث ظهرت الإصابة وأعراض المرض على النباتات المعاملة بالهاربين في ١٣ من أصل ٥٠ بادرة قمح (٢٦٪) عند العدوى بالملق البكتيري الأول وعلى ١١ بادرة من أصل ٥٠ (٢٢٪) بالنسبة للمعلق الثاني ، وبينما الوقت انخفضت الشدة حيث توزعت شدة الإصابة في البادرات المعاملة بالهاربين ومعداة بالملق الأول إلى الدرجة ١ (١٠ بادرات) والدرجة ٢ (٣ بادرات) من سلم التقدير أما المعداة بالملق الثاني فتوزعت إلى الدرجة ١ (٩ بادرات) والدرجة ٢ (بادرتين) ، بينما ارتفعت الشدة المرضية معنوياً في البادرات المعاملة في الماء حيث ظهرت الإصابة على كافة البذار المعداة بكل الععزلتين (نسبة الإصابة ١٠٠٪) وتوزعت على الدرجات ١ (١٥ بادرة) و ٢ (١٥ بادرة) و ٣ (١٧ بادرة) و ٤ (٣ بادرة) بالنسبة للمعلق الأول والدرجات ١ (١٧ بادرة) و ٢ (١٨ بادرة) و ٣ (١٥ بادرة) للمعلق الثاني، وبلغت نسبة شدة الإصابة عند تطبيق معايير Wheeler (1970) ٦.٤٪ في البادرات المعاملة بالهاربين مقارنة بالشاهد الذي بلغت فيه نسبة شدة الإصابة ٤٣.٢٪ للمعلق الأول ، وبلغت في البادرات المعاملة بالملق الثاني (٥.٢، ٣٩.٢٪) بالنسبة للبادرات المعاملة بالهاربين والماء على التوالي الشكل (٢)، أي معاملة الهاربين خفضت نسبة شدة الإصابة بالعزلتين إلى (١٤.٨، ١٣.٢٪) على التوالي مقارنة بالشاهد، وهذا يدل على أن بروتين الهاربين حفز الاستجابة الدفاعية والمقاومة الجهازية في القمح حدث من تطور المرض وازيداد ظهور الأعراض في البادرات مقارنة بالشاهد الماء.

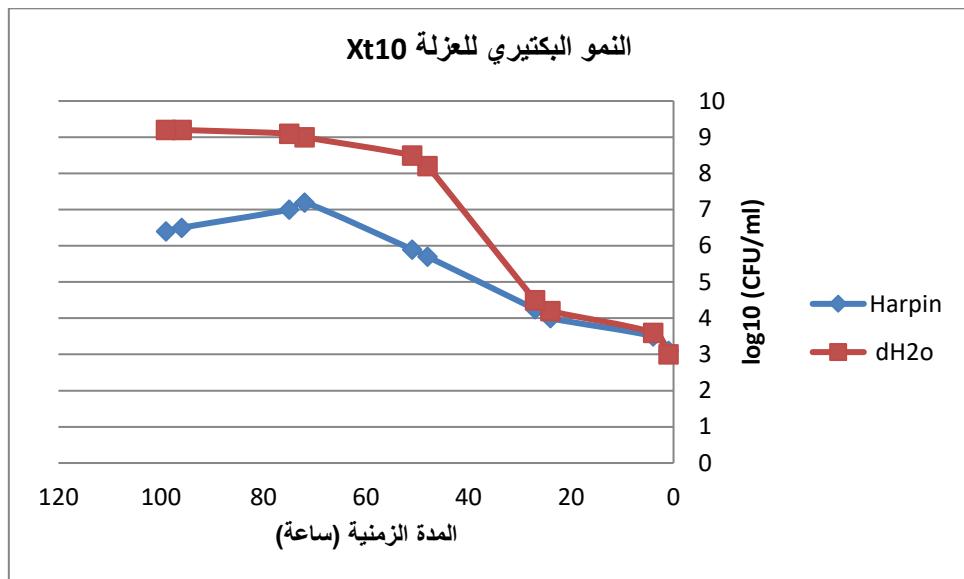


الشكل (٢) نسبة شدة الإصابة بعذلتين من بكتيريا التخطيط الشفاف على بادرات القمح صنف شام ٦ المعاملة بالهاربين والمعاملة بالشاهد (الماء).

هذه النتائج توافق العديد من الدراسات التي أظهرت فعالية لبروتين الهاربين في تحفيظه لإمراضية البكتيريا النباتية وتقليل أعراض الإصابة وشديتها مثل ما أظهرت نتائج Ahmad *et al.* 2001, Boro *et al.* 2001، حيث استخدام الهاربين على النباتات خفض من أعراض الإصابة بمرض التبعع البكتيري للحمضيات والتبعع البكتيري على الفجل على التوالي وللذين ينتميان لنفس الجنس

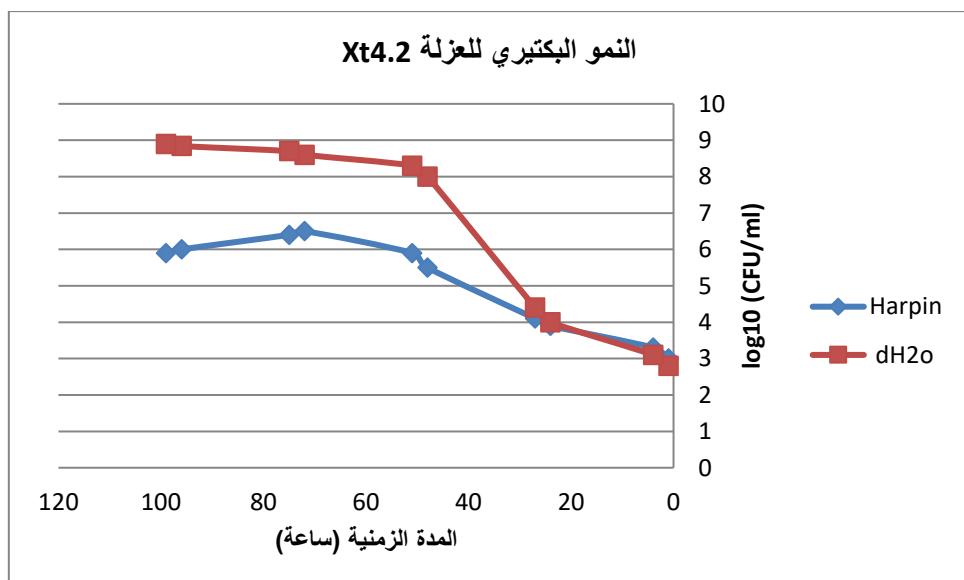
.*Xanthomonas*

تقييم النمو البكتيري بطريقة العد البكتيري: أخذت قراءات العد البكتيري في معاملة الهاربين والشاهد على فترات زمنية مختلفة (١، ٤، ٢٤، ٤٨، ٥١، ٧٢، ٧٥، ٩٦، ٩٩) ساعة للكلا العزلتين، وبينت النتائج أن الأوراق المرشوشة بالهاربين قد بدأ انخفاض النمو البكتيري للعزلة Xt10 مقارنة بالشاهد بعد ٧٢ ساعة من إجراء العدوى؛ حيث انخفض النمو البكتيري في الأوراق المرشوشة بالهاربين ٥٠ مرة مقارنة بالشاهد واستمر الانخفاض حتى وصل إلى ٥٠٠ مرة أقل من الشاهد بعد ٩٩ ساعة من العدوى الشكل (٣)



الشكل (٣) النمو البكتيري للعزلة الممرضة Xt10 على أوراق القمح المعاملة بالهاربين والشاهد الماء مع الزمن

لم تختلف النتائج كثيراً بالنسبة للعزلة الثانية حيث بدأ الانخفاض في التعداد البكتيري بعد ٧٢ ساعة من العدوى بالعزلة Xt4.2، فكان التعداد أقل بـ ١٢٠ مرة في النباتات المعاملة بالهاربين مقارنة بالشاهد واستمر انخفاض التعداد البكتيري وكان أقل بـ ١٠٠٠ مرة تقريباً من الشاهد بعد ٩٩ ساعة من العدوى بالعزلة الممرضة Xt4.2 الشكل (٤)



الشكل (٤) النمو البكتيري للعزلة الممرضة Xt4.2 على أوراق القمح المعاملة بالهاربين والشاهد الماء مع الزمن

يمكنا اعتبار أن التخفيض الحاصل في النمو البكتيري لكلا العزلتين في أوراق القمح المعاملة بالهاربين جيد وفعال حيث بينت عدة درسات أن انخفاض تركيز البكتيريا كافي لتقليل وبائية المرض كما ورد في (Maraite et al., 2007) أنه يمكن تخفيض من وبائية مرض التخطط الشفاف بتخفيض حجم المجتمع البكتيري الأولي المسبب للعدوى وكما بين كما بين Schaad (1987) أن البذور التي تكون حمولتها البكتيرية أقل من ١٠٠٠ خلية مكونة للمستعمرة (بكتيريا/غ) لا تحدث إصابة مرضية في الحقل. وكما أوضح (Schaad, 1988) بأنه ليس من الضروري الوصول إلى تركيز صفر بكتيريا/غ بذور معدة لزراعة الحقلية لكي نتفادى المرض.

بناءً على النتائج التي ظهرت في كلا التجاربتين تبين أن بروتين الهاربين المنتج محلياً ذو كفاءة في التقليل المعنوي من نسبة وشدة الإصابة وتخفيض النمو البكتيري لبكتيريا التخطط الشفاف في نبات القمح.

التوصيات: إجراء دراسات حقلية لتقدير كفاءة بروتين الهاربين في الحقل، ودراسات أخرى لتحديد الآلية التي يتبعها في تحريض مقاومة القمح للبكتيريا الممرضة، والقيام بدراسة فعاليته على أمراض ونباتات أخرى.

References:

١. أسعد، سهام. (١٩٨٧). مكافحة مرضي التغنم المغطى وتخطيط الأوراق البكتيري على القمح باستخدام كاسيات البذار. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة حلب، (قسم وقاية النبات). ١٤٩ صفحة.
٢. الصالح، إسماعيل. (٢٠١٧). توصيف عزلات *Xanthomonas translucens* المسببة لمرض التخطيط البكتيري على القمح وتحليل معلوماتي حيوي لمعطياتها الجزيئية. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة، جامعة دمشق، (قسم وقاية النبات). ٨٦ صفحة.
٣. مندو، حجازي. (٢٠٠٧). توصيف الأمراض البكتيرية على النجيليات في سوريا، وتقاعدها مع المصادر الوراثية للقمح. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة دمشق، (قسم وقاية النبات). ١٠٧. صفحة.
4. Adhikari, T.B., Gurung, S., Hansen, J. M., and Bonman, J. M and Bonman, M. (2012). Pathogenic and genetic diversity of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* in North Dakota. *Phytopathology* 102 (4):390-402.
5. Ahmad, M., Majerczak, D. R., Pike, S., Hoyos, M. E., Novacky, A., and Coplin, D. L. (2001). Biological activity of harpin produced by *Pantoeastewartiisubsp. stewartii*. *Molecularplant-microbeinteractions*, 14(10), 1223-1234.
6. Akhtar, M.A and Bhutta, M.R. (2002). Detection of bacterial pathogens in seeds of wheat, paddy and cotton in Pakistan. *Pakistan J. Agric. Res.* 17 (3):273-281.
7. Boro, M. C., Beriam, L. O. S., and Guzzo, S. D. (2011). Induced resistance against *Xanthomonas axonopodis*pv. *passiflorae* in passion fruit plants. *Tropical Plant Pathology*, 36(2), 74-80.
8. Chen, L., Qian, J., Qu, S., Long, J., Yin, Q., Zhang, C., Wu, X., Sun, F., Wu, T., Hayes, M. and Beer, S.V. (2008). Identification of specific fragments of HpaGXooc, a harpin from *Xanthomonas oryzicola*, that induce disease resistance and enhance growth in plants. *Phytopathology*, 98(7), 781-791.
9. Choi, M. S., Kim, W., Lee, C., and Oh, C. S. (2013). Harpins, multifunctional proteins secreted by Gram-negative plant-pathogenic bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26(10), 1115-1122.
10. Dong, H. P., Peng, J., Bao, Z., Meng, X., Bonasera, J. M., Chen, G., Dong, H.P., Peng, J., Bao, Z., Meng, X., Bonasera, J.M., Chen, G., Beer, S.V.and Dong, H. (2004). Downstream divergence of the ethylene signaling pathway for harpin-stimulated *Arabidopsis* growth and insect defense. *Plant Physiology*, 136(3), 3628-3638.
11. Duveiller, E. (1989). Research on '*Xanthomonas translucens*' of wheat and triticale at CIMMYT. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 19(1):97-103.
12. Duveiller, E. (1994). A pictorial series of disease assessment keys for bacterial leaf streak of cereals. *Plant Disease* 78(2):137-141.
13. Duveiller, E., Fucikovsky, L and Rudolph, K, eds. (1997). The bacterial diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.: CIMMYT. 78 pp.
14. Kothari, I. L., & Patel, M. (2004). Plant immunization. *Indian journal of Experimental biology*.42, 244-252.
15. Kim, H.K., Orser, C., Lindow, S.E., and Sands, D.C. (1987). *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* strains active in ice nucleation. *Plant Disease* 71(11):994-997.

16. **Maraite, H., Bragard, C., and Duveiller, E. (2007).** The status of resistance to bacterial diseases of wheat. In wheat production in stressed environments. Springer, New York. 37-49
17. **Marmey P., Jalloul A., Alhamdia M., Assigbetse K., Cacas J., Voloudakis A., Champion A., Clerivet A., Montillet J., Nicole M. (2007).** The 9-lipoxygenase GhLOX1 gene is associated with the hypersensitive reaction of cotton *Gossypium hirsutum* to *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum*. Plant Physiol. Biochem. 45: 596-606.
18. **McDowell, J. M., and Woffenden, B. J. (2003).** Plant disease resistance genes: recent insights and potential applications. TRENDS in Biotechnology, 21(4), 178-183.
19. **Mehta, Y.R. (1990).** Management of *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* and hordei through cereal seed testing. Seed Science and Technology. 18(2):467-476.
20. Peng, J. L., Bao, Z. L., Ren, H. Y., Wang, J. S., and Dong, H. S. (2004). Expression of harpinXoo in transgenic tobacco induces pathogen defense in the absence of hypersensitive cell death. Phytopathology, 94(10), 1048-1055.
21. **Perino, C., Gaudriault, S., Vian, B., and Barny, M. A. (1999).** Visualization of harpin secretion in planta during infection of apple seedlings by *Erwinia amylovora*. Cellular microbiology, 1(2), 131-141.
22. **Reboutier, D., Frankart, C., Briand, J., Biligui, B., Rona, J. P., Haapalainen, M., Barny., M.A., and Bouteau, F. (2007).** Antagonistic action of harpin proteins: HrpWea from *Erwinia amylovora* suppresses HrpNea-induced cell death in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Cell Science, 120(18), 3271-3278.
23. **Sands, D.C., Kim, H.K., and Hall, V. (1981).** *Xanthomonas* leaf streak of barley. In: Proceedings of the Barley Diseases and Associated Breeding Methodology Workshop, Rabat, Morocco. 173-182.
24. **Sands, D.C., Mizrak, G., Hall, V.N., Kim, H.K., Bockelman, H.E., and Golden, M.J. (1986).** Seed transmitted bacterial diseases of cereals: Epidemiology and control. Arab Journal of Plant Protection 4:127-125.
25. **Schaad, N.W. (1987).** The use and limitations of methods to detect seed borne bacteria. In: Seed Pathology, International Advanced Course. Passo Fundo, RS, Brazil. 2:324-332.
26. **Schaad, N.W. (1988).** Bacteria. In: Symposium on Inoculum Thresholds of Seed-borne Pathogens. 76th Annual Meeting of the American Phytopathological Society. Phytopathology 78:872-875.
27. **Silva, I.T., Rodrigues ,F.A., Oliveira, J.R., Pereira ,S.C., Andrade, C.C.L., and Coneicao, M.M. (2009).** Wheat resistanse to bacterial leaf streak mediated by silicon. Journal of Phytopathology. 158(4):253-262.
28. **Wheeler, B.E.J.(1970).** An introduction to plant diseases. John Wiley and Sons. Ltd. London, New York, Sydney, Toronto.374p.