Study of the effect of different concentrations of salicylic acid against *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causal agent of olive knot disease *in vitro*

Dr. Moussa Al samara*
Dr. Ibrahim Alabid**
Dr. Eyad Mohammed***
Rawad Ahmad****

(Received 30 / 4 / 2023. Accepted 30 / 8 /2023)

□ ABSTRACT □

This research aimed to study the efficiency of salicylic acid at different concentrations against the bacteria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* that causes olive knot disease *in vitro*. Pathogenic bacteria were isolated from galls on infected olive trees in kadmous area (Tartous Governorate, Syria).

They were grown on Nutrient agar (NA) medium, and the inhibitory effect of salicylic acid was tested by diffusion method, that depends on placing paper discs with limited concentrations of salicylic acid on the surface of the medium cultured by the isolate and incubating at 28 °C for 48 hours, then measuring the diameter of the Inhibition distance around the paper disc treated with salicylic acid in its different concentrations.

The results showed that salicylic acid at different concentrations approved (0.5,0.75,1,2) mmol an inhibitory effect on the growth of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* and the values were (0,14.4,24.4,28)%, respectively. The results of this research showed that salicylic acid is an important natural source that can be used to control of the bacteria that cause olive knot disease in the future.

Key words: salicylic acid, *Bacteria*, olive Knot disease, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* .Inhibition percentage

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **Professor, Department of Environmental Prevention, Higher Institute for Environmental Research, Tishreen University, Syria. moussa1957@gmail.com.**

****Assistant professor, Department of plant protection, Faculty of griculture, Tishreen University, Syria. ibrahim.alabid@gmail.com.**

*****Doctor- Plant Protection Department - Ministry of Agriculture– Syria. eyadm2009@gmail.com.**

******Postgraduate student(Phd)Rawad Ahmad, Department of Environmental Prevention, Higher Institute for Environmental Research, Tishreen University, Syria. rawad.ali.ahmad@tishreen.edu.com**

دراسة تأثير تراكيز مختلفة من حمض السالسيليك تجاه البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* المسببة لمرض سل الزيتون مخبرياً

د. موسى السمارة*

د. ابراهيم العبيد**

د. إياد محمد***

رواد احمد ****

(تاريخ الإيداع 30 / 4 / 2023. قبل للنشر في 30 / 8 / 2023)

□ ملخّص □

هدف هذا البحث إلى دراسة كفاءة حمض السالسيليك بتراكيز مختلفة ضد البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* المسببة لمرض سل الزيتون مخبرياً. بعد عزل وتنمية البكتيريا الممرضة من التدرنات الموجودة على أشجار الزيتون المصابة في منطقة القدموس من (محافظة طرطوس، سورية).

وتمت تنمية العزلات البكتيرية الممرضة المعزولة على الوسط الغذائي Nutrient agar (NA)، وحيث تم اختبار التأثير التثبيطي لحمض السالسيليك بطريقة الانتشار التي تعتمد على وضع أقراص ورقية بتراكيز مختلفة من حمض السالسيليك على سطح الوسط المغذي المزروع بالعزلة وتحضينها على حرارة 28 درجة مئوية لمدة 48 ساعة، بعدها تم قياس قطر مسافة التثبيط حول القرص الورقي المعامل بحمض السالسيليك بتراكيزه المختلفة.

وأظهرت النتائج أن حمض السالسيليك بالتراكيز المختلفة المعتمدة Mmol (0.5،0.75،1،2) له تأثيراً تثبيطياً على نمو البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* حيث كانت نسبة التثبيط (28،24.4،14.4،0)% على التوالي، كما أظهرت نتائج هذا البحث أن حمض السالسيليك يعتبر مصدراً طبيعياً هاماً ويمكن استخدامه في المستقبل في مكافحة البكتيريا المسببة لمرض سل الزيتون.

الكلمات المفتاحية: حمض السالسيليك، البكتيريا، مرض سل الزيتون، *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*، نسبة التثبيط.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

*أستاذ، قسم الوقاية البيئية – المعهد العالي لبحوث البيئة – جامعة تشرين – سورية.moussa1957@gmail.com

**مدرس، قسم وقاية النبات – كلية الزراعة، جامعة تشرين – سورية.ibrahim.alabid@gmail.com

***دكتور، قسم وقاية النبات- وزارة الزراعة- سورية.eyadm2009@gmail.com

****طالب دكتوراه، قسم الوقاية البيئية – المعهد العالي لبحوث البيئة – جامعة تشرين – سورية.rawad.ali.ahmad@tishreen.edu.com

مقدمة:

يساعد حمض السالسيليك النبات على تجديد خلاياه، وله دور فعال في نمو النبات وتطوره حيث يحفز عملية الإزهار، وامتصاص الأيونات، ويعمل على تنظيم النمو، وزيادة عملية التمثيل الضوئي، حيث يوصف بأنه محفز طبيعي لتوليد الحرارة، ومقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية في النبات كما يلعب دوراً هاماً في تنظيم الوظائف الفزيولوجية ضمن النبات (Popova *et al*., 1997).

يعتبر حمض السالسيليك من الهرمونات النباتية في مجال قطاع الزراعة ويساعد النبات على تحمل الإجهادات البيئية والحيوية، حيث استخدم في مكافحة الأمراض البكتيرية، وإن مجموعة المستقبلات المعبر عنها بين أو داخل الخلايا تلعب دوراً حاسماً في التفاعل، وتحديد مدى سرعة الاستجابة في أنواع الأنسجة، وإن تراكيز ميكرومترية كافية لإحداث تغييرات فيزيولوجية وجزيئية ملحوظة (Hayat *et al*., 2012).

ينتمي حمض الساليسيليك (SA) أو حمض أورثو هيدروكسي بنزويك والمركبات ذات الصلة لمجموعة متنوعة من الفينولات النباتية. تعرف الفينولات على أنها مواد لها حلقة عطرية، ومجموعة هيدروكسيل، ولها مشتقات وظيفية، ولقد تم استخدام الساليسيلات من المصادر النباتية في الأدوية منذ العصور القديمة. تم عزل السالسيليك من قبل ميونيخ لأول مرة عام 1828م بكمية صغيرة من الصفصاف، وفي السنوات العشرة الأخيرة أطلق عليها الباحث Raffaele Piria اسم SA، من الكلمة اللاتينية Salix التي تعني شجرة الصفصاف.

الأسبرين: هو الاسم التجاري لحمض أسيتيل الساليسيليك (ASA)، حيث يتحول تلقائياً بالتحلل المائي إلى حمض السالسيليك ولم يتم تحديد الأسبرين كمنتج طبيعي بالرغم من استخدامه على نطاق واسع (Popova *et al*., 1997).

ينتقل حمض السالسيليك بسرعة من نقطة التطبيق الأولية إلى أنسجة النبات المختلفة، الرقم الهيدروجيني لحمض السالسيليك pH=2.4 وباستخدام تقنيات التحليل الحديثة وجد أن الساليسيلات تتواجد في العديد من الأنواع النباتية مثل الرز، الشعير، وفول الصويا، وقد وجد حمض السالسيليك في كافة الأجزاء النباتية. ويتركز بشكل كبير في الأجزاء الزهرية (Raskin *et al*., 1990). حيث وجدت أعلى مستوياته في الأزهار إذ ترافق مع وجود مسببات مرضية (Raskin *et al*., 1992).

يساعد حمض السالسيليك على تحريض المقاومة الجهازية داخل النبات وزيادة تحمل الإجهادات البيئية والحيوية التي يتعرض لها النبات، كإجهاد الملوحة، وزيادة مقاومة النبات للأمراض الفطرية والبكتيرية، ويزيد من نمو النبات طولياً، ويزداد نشاط جذور النبات في التربة المعاملة رياً بحمض السالسيليك (Rahman *et al*., 2016). وكذلك تم تعزيز صحة النبات عن طريق إحداث المقاومة عن طريق الرش الورقي لمحفزات المقاومة (Tamm *et al*., 2011).

يمكن أن ترتبط استجابة النبات لمؤشرات محرضات المقاومة (حمض السالسيليك) بتغيرات في تكوين جدار الخلية، وإنتاج الفيتوالكسينات والبروتينات المضادة للممرضات النباتية بالإضافة إلى الاستجابة لفرط الحساسية(Hypersensitivity (HR والتي ترتبط بدورها بإنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية Reactive Oxygen (Species) (ROS) وأكسيد النيتريك (Walters *et al*., 2008). غالباً ما يرتبط تنشيط أنظمة الدفاع عند النبات على بيئة النمو فكلما زادت مقاومة النبات المضيف كلما قل تأثير المسبب المرضي، يمكن أن تشكل هذه المؤشرات جزءاً مهماً في المستقبل في الإدارة المتكاملة للآفات (Integrated pest mangement) (IPM)، من أجل زيادة فترة المقاومة للمورثات (Alexandersson *et al*., 2016) والتي بدورها تقلل من احتمالية تطور مقاومة الآفات المسببة

للأمراض للمبيدات (Oostendorp *et al*., 2001) والتي تكون أكثر استدامة من الناحية البيئية مع أقل ضرر وتأثير على صحة الإنسان (Kromann *et al*., 2012).

كما بينت بعض الدراسات أن رش حمض السالسيليك على أشجار الحمضيات أدى إلى إبطاء تقدم مرض إخضرار الحمضيات Huanglongbing المتسبب عن البكتيريا *Candidatus Liberibacter asiaticus*، كما أدت المعاملة به إلى تحريض البروتينات المرتبطة بالإمراضية (PR1 وPR2) التي لها دور في مقاومة المرض، و زيادة الإنتاج والحصول على ثمار أكثر جودة (Hu *et al*., 2018).

يعتبر مرض سل الزيتون المتسبب عن البكتيريا الممرضة *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* من أخطر الأمراض على محصول الزيتون بسبب تأثيراته السلبية على النمو الخضري وعلى إنتاج الزيتون ونوعيه الزيت (Quesada *et al*., 2010). حيث يسبب هذا المرض أضرار كبيرة في أفرع الزيتون وخاصة عندما تكون الظروف البيئية مناسبة لإنتقال العدوى البكتيرية (Bouaichi *et al*., 2015).

أهمية البحث وأهدافه:

تشكل شجرة الزيتون المرتبة الأولى من حيث العدد والمساحة بالنسبة للأشجار المثمرة الموجودة في سورية، ويعتبر زيت وثمار الزيتون مصدر دخل لعديد من الأُسر.

ونظراً لأهمية مرض سل الزيتون وانتشاره بشكل خاص في الساحل السوري حيث يعد من أهم الأمراض البكتيرية التي تسبب ضرراً كبيراً للأشجار المصابة وخسائر كمية ونوعية في الإنتاج.

وبسبب قلة الدراسات العلمية حول هذا المرض في سورية والحاجة الملحة للتقليل من أضرار المرض والخسائر الناجمة في الإنتاج بإتباع أفضل أساليب المكافحة المتكاملة التي تحافظ على سلامة البيئة، وتحقيق الزراعة المستدامة والانتاج الأمثل، ونظراً الى أن تأثير السالسيليك على نمو العديد من البكتيريا الممرضة للنبات يبقى غير معروف ولم يتم التحقق منه كثيراً مما دفعنا للقيام بهذا البحث

ولقد هدف هذا البحث إلى:

1- الحصول على عزلات البكتيريا وتحديد خصائصها.

2- اختبار فعالية تراكيز مختلفة من حمض السالسيليك مخبرياً ضد البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* والمعزولة من تدرنات مرض سل الزيتون.

3- اختيار التركيز الأمثل من حمض السالسيليك المثبطة لنمو البكتيريا المسببة لمرض لسل الزيتون.

طرائق البحث ومواده:

1- جمع العينات: جمعت عينات الدراسة من أشجار الزيتون المصابة في منطقة القدموس بمحافظة طرطوس في سورية (الشكل 1)، وأجريت الدراسة المخبرية اللازمة عليها في مخابر المعهد العالي لبحوث البيئة، ومخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية في كلية الزراعة في جامعة تشرين أيضاً.

الشكل (1): أعراض الإصابة (التدرنات) بمرض سل الزيتون.

2-عزل البكتيريا: تم عزل البكتيريا الممرضة من أشجار الزيتون المصابة، بنزع الأورام أو الثآليل من الأشجار المصابة وتقطيعها الى قطع صغيرة أبعادها (0.5×0.3) سم بعد إجراء التعقيم السطحي بمادة هيبوكلوريد الصوديوم التجاري تركيز (5%) لمدة (3-5) دقائق، ثم بالكحول (75 %) لمدة دقيقة واحدة، بعدها غسلت بالماء المقطر والمعقم، ووضعت على أوراق ترشيح معقمة حتى جفت ثم هرس(1.7غرام) من النسيج المقتطع في (5 ميليلتر) من الماء المقطر والمعقم وبعد (15 دقيقة) نشرت قطرة من المعلق على سطح الآجار المغذي ثم حُضنت الأطباق على درجة حرارة (26±2) سيليسيوس لمدة (48) ساعة (Abu-ghorrah, 2004).

3- تنميط البكتيريا الممرضة:

نُمطت العزلات البكتيرية اعتماداً على الخصائص المزرعية (صفات المستعمرات)، الاختبارات الكيميائية الحيوية (صبغة غرام، واختبار التنفس)، والفحص المجهري.

4 اختبار القدرة الإمراضية:

تم التأكد من العزلات التي حققت مواصفات البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* بالاختبارات البيوكيميائية (صبغة غرام، اختبار التنفس)، وأجري لها اختبار القدرة الإمراضية وذلك بوضع 20 ميكروليتر من معلق بكتيري تركيزة 10^7 cfu أُخذ من مزرعة بكتيرية عمرها 24 ساعة على جروح أجريت بواسطة مشرط معقم على أفرع بعمر سنة، وبالنسبة للشاهد تم حقن 20 ميكروليتر بالماء المقطر والمعقم وذلك خلال شهر آذار من عام 2022م، تم مراقبة العزلات التي أدت لتشكل الدرنات بعد ثلاث أشهر الشكل(2)، والشكل (3).

شكل(2) غرسة سليمة (شاهد)

شكل(3) الدرنات المتشكلة بعد 3 أشهر من العدوى

5- تحضير اللقاح البكتيري:

تم مكاثرة العزلة البكتيرية قبل إجراء اختبار تأثير حمض السالسيليك التثبيطي على الوسط الغذائي (Nutrient Agar) عند درجة حرارة 28 درجة مئوية لمدة 48 ساعة، ثم أخذت عدة قطرات من البكتيريا المكاثرة على الوسط المغذي (NA) وأجريت التخفيفات اللازمة لها وذلك بمزجها مع الماء المقطر المعقم وقياس التركيز بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer بحيث يكون تركيز الجراثيم في المعلق تقريباً بحدود 10^7 وحدة مشكلة للمستعمرة البكتيرية (Cfu)عن طريق قياس الكثافة البكتيرية.

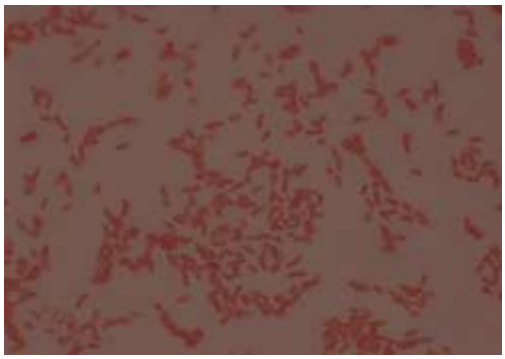
6- طريقة إنتشار القرص: أُخذ جزء بواسطة رأس أبرة معقمة من مستعمرة بكتيرية حديثة النمو(24) ساعة بوساطة أبرة التلقيح البكتيري، ومزجت مع (5) مل الماء، ثم أخذ 100 ميكروليتر من المعلق البكتيري وفرشت في طبق يحتوي المستنبت الغذائي(Nutrient Agar) ثم شربت أقراص ورقية قطرها 5 ملم بالتراكيز الآتية Mmol(2،1،0.75،0.5) لحمض السالسيليك، وطبقت ثلاثة مكررات لكل تركيز، بينما شربت أقراص الشاهد بالماء المقطر المعقم، وكذلك تم استخدام المضاد الحيوي Tetracycline للمقارنة لثبات فعاليته ضد البكتيريا *pseudomonas svastanoi* pv. *svastanoi* (Fernandes & Marcelo, 2008)، تركت الأطباق مدة ساعة في درجة حرارة الغرفة لتهيئة حمض السالسيليك وانتشاره على سطح المستنبت، ثم حضنت الأطباق مدة (24-48) ساعة على الدرجة 28 سيليسيوس، ثم قيس قطر تثبيط النمو البكتيري بمسطرة ميليمترية، وحسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة الآتية: (Bouaichi *et al*., 2015).

النسبة المئوية لتثبيط % = (متوسط قطر النمو البكتيري للشاهد – متوسط قطر النمو البكتيري للمعاملة) / متوسط قطر النمو البكتيري للشاهد x100

التحليل الإحصائي: تم إجراء التحليل الإحصائي للنتائج بإستخدام اختبار(Tukey) (Anova-one way) عند أقل فرق معنوي 1% كون التجارب مخبرية.

النتائج والمناقشة:

1- نتائج العزل البكتيري: بينت نتائج صبغة غرام والفحص المجهري أنها بكتيريا عصوية الشكل سالبة لغرام، تتوضع بشكل مستعمرات بيضاء كريمية مسطحة لماعة كاملة الحواف أو متعرجة، الدرجة المثلى لنموها هي 23-26 درجة مئوية وأظهرت نتائج اختبار التنفس الاوكسيداز أنها بكتيريا هوائية إجبارية الشكل(4).



الشكل (4): شكل البكتيريا تحت المجهر الضوئي بعد عملية صبغة غرام.

2- تأثير حمض السالسيليك: أظهر حمض السالسيليك بتراكيزه المختلفة تأثيراً على نمو البكتيريا ما عدا التركيز 0.5 Mmol حيث كان نمو البكتيريا نفس النمو في طبق الشاهد من حمض السالسيليك أما التركيز 0.75 Mmol فقد كانت نسبة تثبيطه 14.4%، أما عند التركيز 1 mmol فقد كانت نسبة تثبيطه 24.4%، وبلغت النسبة المئوية للتثبيط 28% عند التركيز 2 mmol. كما في الجدول رقم (1).

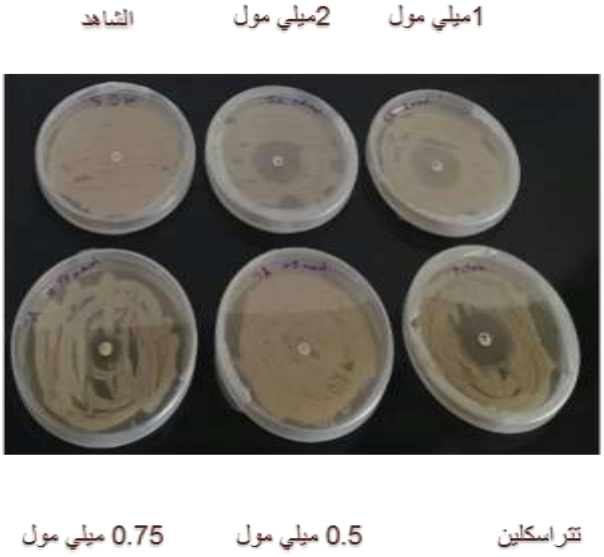
الجدول رقم (1) حساسية البكتيريا الممرضة *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* لتراكيز مختلفة من حمض السالسيليك مقارنةً مع الشاهد (ماء مقطر ومعقم) والمضاد الحيوي Tetracycline خلال 48 ساعة.

التركيز *m mol*	متوسط قطر النمو البكتيري(سم)	نسبة التثبيط %
الشاهد	9^{a}	0
Tetra cycline	7^{c}	22.2
0.5	9^{a}	0
0.75	7.7^{b}	14.4
1	6.8^{c}	24.4
2	6.4^{c}	28

الأحرف المختلفة (a,b,c) تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية $P<0.01$ حسب اختبار Anova-one way (Tukey).

تشير نتائج هذا البحث إلى تأثير حمض السالسيليك على نمو البكتيريا بالتراكيز المرتفعة حيث أظهرت النتائج أن التراكيز 0.5 Mmol ليس له أي تأثير على نمو البكتيريا وتتفق نتائجنا مع (Ntushelo, 2017) الذي بينت نتائج أبحاثة إن التراكيز المنخفضة لحمض السالسيليك لم تؤثر على نمو البكتيريا الممرضة المسببة لمرض العفن الطري *Pectobacterium carotovorum* نتيجة استخدام حمض السالسيليك من قبل البكتيريا كمصدر للكربون. بينما أظهرت نتائج البحث أن التراكيز العالية Mmol (0.75 ،1، 2) قد ثبطت نمو البكتيريا (الجدول 1، والشكل 5). وهي تتوافق مع دراسة حديثة (Ntushelo, 2017) وجدت أنَّ التراكيز المرتفعة قد ثبطت نمو البكتيريا المسببة للعفن الطري ويعزى ذلك الى تشكل الميثانول في البيئة السائلة، حيث وُجد أن التركيز mg/L800 قد ثبتت نمو البكتيريا العفن الطري بشكل كامل،

حيث يعمل حمض السالسيليك كجزيء إشارة وينشط دفاع النبات ضد الممرضات البكتيرية مثل البكتيريا المسببة لمرض العفن الطري *Pectobacterium carotovorum* (Ntushelo, 2017)، ويعد حمض السالسيليك أحد المركبات التي تنتج من قبل النبات في دفاعه ضد الممرضات (; Chen *et al*., 1993). Rasmussen *et al*., 1991 أظهرت العديد من الدراسات ان المركبات الفينولية المنتجة بواسطة النبات تستخدم كجزيء إشارة أساسي لتحفيز المقاومة، ويثبط الغشاء الحيوي والحركة للبكتيريا، وإنتاج مركبات الإشارة في البكتيريا(Homoserine lactone) *Pectobacterium cartovorum* ويثبط نمو البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *syringe* ويثبط حركة البكتيريا *Pseudomonas corrugate* (Lagoneko *et al*., 2013)، ويخفف من شراسة البكتيريا *Pseudomonas. aeruginosa* على النبات العشبي *Arabidopsis thaliana* وفي النهاية يمكن أن يلعب حمض السالسيليك دور كمبيد بكتيري في النبات (Prithiviraj *et al*., 2005).وجد (Wu *et al*., 2008) أن حمض السالسيليك يزيد من تعبير المورثات المرتبطة بالامراضية (PR genes)، حيث وجد أن الكتلة الحيوية وقطر المستعمرة ونسبة انبات الابواغ للفطر *Fusarium oxysporum* قد تناقص عند التركيز 800mg/L. كذلك كان لحمض السالسيليك تأثير تثبيطي ضد نمو الفطر *Penicillium expansum* نتيجة تأثيره على لبيدات الفطر وتسرب البروتين الفطري (Da Rocha Neto *et al*.,2015).



الشكل رقم (5): تأثير حمض السالسيليك بالتراكيز المختلفة على نمو البكتيريا *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* مقارنة مع الشاهد والمضاد الحيوي تتراسكلين Tetracycline.

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي بإستخدام اختبار Anova-one way (Tukey) وجود فروق معنوية ($p < 0.01$) بين التراكيز المختلفة لحمض السالسيليك Mmol (0.5،0.75،1،2) في تأثيرها على نمو البكتيريا مقارنةً مع الشاهد المعامل بالماء المقطر والمعقم، إضافةً إلى ذلك تم مقارنة تأثير حمض السالسيليك مع مركبات ذات فعالية في الحد من نمو البكتيريا مثل المضاد الحيوي تتراسكلين، فقد بينت التجارب أن نسبة التثبيط عند التركيز 0.02% للمضاد الحيوي تتراسكلين كانت 22%، وهذا ما يوضحه الشكل رقم (5) الذي يبين تأثير حمض السالسيليك بتراكيزه المختلفة على نمو البكتيريا مقارنة مع الشاهد والمضاد الحيوي تتراسكلين.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1-أظهرت النتائج هذا البحث أهمية حمض السالسيليك في تثبيط نمو البكتيريا المسببة لمرض سل الزيتون.

2-أثبت حمض السالسيليك بتراكيزه المختلفة فعاليته في منع نمو البكتيريا المسببة لمرض سل الزيتون مخبرياً، وكان التركيز 2 ميلي مول هو الأكثر فعالية.

التوصيات:

3-ينصح باختبار حمض السالسيليك في المشاتل لمكافحة مرض سل الزيتون.

4-استكمال الدراسات العلمية على حمض السالسيليك كمنتج آمن وفعال وصديق للبيئة

References:

1-ABU-GHORRAH, M. Identification of Pseudomonas savastanoi pv.savastanoi isolated from myrtle plant (Myrtus communis) in Syria. Journal of Agricultural Sciences. Damascus University, 20, 2004, 175-189.

2-ALEXANDERSSON, E; MULUGETA, T; LANKINEN, A; LILJEROTH,E and ANDREASSON, E. Plant Resistance Inducers against Pathogens in Solanaceae Species From Molecular Mechanisms to Field Application. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(10), 1673.

3-BOUAICHI, A; BENKIRANE,R; HABBADI, K; BENBOUAZZA, A; ACHBANI, E.H. Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi causal agent of olive knot. Journal of agriculture and Veterinary science, 2015, 8, 41-45.

4-CHEN, Z; SILVA, H and KLESSIG, D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. Science, 1993, 262, 1883-1886.

5-DA ROCHA NETO, A. C; MARASCHIN, M and Di PIERO, R. M. Antifungal activity of salicylic acid against Penicillium expansum and its possible mechanisms of action. Int. J. Food Microbiol, 2015, 215, 64-70.

6-FERNANDES, A., MARCELO, M.. Evaluation of the sensitivity of pseudomonas savastanoi to seventeen antibiotics. International society for horticultural science, 2008, 791, 87.

7- HAYAT, S; IRFAN, M; WANI, A; NASSER, A and AHMAD, A. Salicylic acids. Plant Signal Behav, 2012, 1, 7(1), 93–102.

8-HU, J; JIANG, J and WANG, N. Control of Citrus Huanglongbing via Trunk Injection of Plant Defense Activators and Antibiotics. Phytopathology,2018, 108, 186-195.

9-KROMANN P; PEREZ W.G; TAIPE A; SCHULTE-GELDERMANN E; SHARMA B.P; ANDRADE-PIEDRA J.L; FORBES G.A. Use of phosphonate to manage foliar potato late blight in developing countries. Plant Dis, 2012, 96, 1008–1015.

10-LAGONENKO, L; LAGONENKO.A and EVTUSHENKOV. A. Impact of salicylic acid on biofilm formation by plant pathogenic bacteria. J. Biol. Earth Sci, 2013, 3, 176-181.

11-NTUSHELO, KH. Effect of Salicylic Acid on the Growth and Chemical Responses of Pectobacterium carotovorum subsp. Carotovorum, Pakistan Journal of Biological Sciences, 2017, 278-288, 1028-8880.

12-OOSTENDORP, M; KUNZ, W; DIETRICH, B; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. Eur. J. Plant Pathol, 2001, 107, 19–28.

13-POPOVA, L.P; UZUNOV, A; PANCHEVA, T. Salicylic acid: Properties, biosynthesis and physiological role. Bulg. J. Plant Physiol, 1997, 23(1–2),85–93.
14-PRITHIVIRAJ, B; BAIS, H.P WEIR.T; SURESH.B AND NAJARRO, E.H. Down regulation of virulence factors of Pseudomonas aeruginosa by salicylic acid attenuates its virulence on Arabidopsis thaliana and Caenorhabditis elegans, 2005, 73: 5319-5328.
15-QUESADA, J.M; PENYALVER, R; PERZ-PANADES, J; SALCEDO, C.I; CARBONELL, E.A. and LOPEZ, M.M. Dissemination of Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi populations and subsequent appearance of olive knot disease. Plant Pathology, 2010, 59, 262-269.
16-RAHMAN, A; SULTANA, V; ARA, J and EHTESHAMUL-HAQUE, S. Induction of systemic resistance in cotton by the neem cake and pseudomonas aeruginosa under salinity stress and macrophomina phaseolina infection. 2016. Pak. J. Bot., 48(4): 1681-1689.
17-RASKIN, I; SKUBATZ, H; TANG, W; MEEUSE, B. J. D. Salicylic acid levels in thermogenic and non-thermogenic plants. Ann. Bot, 1990, 66, 369–373.
18-RASKIN, I. Role of salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol, 1992, 43, 439–463.
19-RASMUSSEN, J.B; HAMMERSCHMIDT.R and ZOOK. M.N. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with Pseudomonas syringae pv syringae . Plant Physiol, 1991, 97, 1342-1347.
20-TAMM, L; THURIG, B; FLIESSBACH, A; GOLTLIEB, A.E; KARAVANI, S and COHEN, Y. Elicitors and soil management to induce resistance against fungal plant diseases. NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences, Vol, 58, Issues 3–4, 2011, 131-137.
21-WALTERS, D; NEWTON, A.C; LYON, G. Induced Resistance for Plant Defence: A Sustainable Approach to Crop Protection. Hoboken, NJ, USA, 2008.
22-WU, H.S; RAZA.W; FAN, J.Q; SUN Y.G and BAO, W. Antibiotic effect of exogenously applied salicylic acid on in vitro soil borne pathogen, Fusarium oxysporum f. sp. niveum. Chemosphere,2008, 74: 45-50.