مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (5) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (5) 2016

تأثير معاملة بذور البندورة بسلالات من PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار في الزراعة المحمية

د. عماد إسماعيل *
د. عمر حمودي**
د. أحمد أحمد***
حنان قواس****

(تاريخ الإيداع 3 / 5 / 2016. قبل للنشر في 27 / 10 / 2016)

ملخّص

أجريت هذه الدراسة لتقييم كفاءة أربع سلالات MA342 *Pseudomonas chlororaphis* و *Serratia .plymuthica* HRO-C48 و B2g *Bacillus subtillis* و FZB27 *B. subtillis* على تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة في الزراعة المحمية. عوملت البذور بالمعلق البكتيري لكل سلالة على حدا بتركيز 9×10^9 وحدة تكوين مستعمرة / مل ثم أعديت الشتول الناتجة عن هذه البذور بعد 10 أيام من التشتيل. سجل موعد تكشف الأعراض الظاهرية وحسبت نسبة الإصابة وشدة الإصابة والمساحة المحصورة تحت منحني تطور الإصابة وقدر تطور درجات الإصابة خلال فترة التجربة، بالاعتماد على الأعراض الظاهرية وقدر نشاط إنزيم البيروكسيداز. قدرت بعضاً من معايير النمو بعد 30 يوماً من العدوى مثل ارتفاع النبات والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والوزن الطري والجاف للمجموع الجذري. أظهرت النتائج ان معاملة البذور بالمعلقات البكتيرية أدت إلى خفض معنوي في نسبة وشدة الاصابة في النباتات المعاملة والمعداة مقارنة بالنباتات المعداة وغير المعاملة حيث تراوحت نسبة الاصابة مابين 40%، 66.6% مقارنة بالشاهد المعدى غير المعامل 93.33 % دون وجود فروق معنوية بين المعاملات البكتيرية. وتراوحت شدة الاصابة مابين 45.53%، 62.2% للمعاملات البكتيرية مقارنة بالشاهد المعدى غير المعامل 88.86%، ازدياد نشاط إنزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة المعاملة مقارنة بالنباتات المعداة غير المعاملة. أدت المعاملة بالبكتيريا إلى ازدياد معنوي في نمو النباتات حيث كان ارتفاع النباتات والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والوزن الطري والجاف للمجموع الجذري للنباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس أعلى منه في النباتات المعداة وغير المعاملة عند LSD5% حيث خفضت البكتيريا من معدل التقزم ومعدل الانخفاض بالوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والوزن الطري والجاف للمجموع الجذري الحاصلة بفعل الإصابة بفيروس موزاييك الخيار.

الكلمات المفتاحية: بندورة، MA342 *Pseudomonas chlororaphis* و HRO-C48 *Serratia .plymuthica* و B2g *Bacillus subtillis* و FZB27 *B. subtillis*، فيروس موزاييك الخيار (CMV)، تحفيز المقاومة.

* أستاذ – كلية الزراعة –جامعة تشرين– اللاذقية – سورية
** باحث – مركز البحوث الزراعية – اللاذقية – سورية.
*** باحث ـ مركز البحوث الزراعية ـ طرطوس ـ سورية.
**** طالبة دكتوراه – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة – جامعة تشرين– اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (5) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (5) 2016

Effect of treatment of the tomato seeds with strains of PGPR for inducing systemic resistance against *cucumber mosaic virus* in green house

Dr. Imad Ismail *
Dr. Omar Hamudi[**]
Dr. Ahmad Ahmad[***]
Hanan Kawas [****]

(Received 3 / 5 / 2016. Accepted 27 / 10 /2016)

□ ABSTRACT □

The study was conducted to evaluate the efficiency of *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia plymuthica* HRO-C48*K*, *Bacillus subtillis* B2g, *B. subtillis* FZB27 to induce systemic resistance in Tomato plants against *Cucumber mosaic virus* (CMV) under greenhouse conditions. Tomato seeds submerged in suspension of *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia plymuthica* HRO-C48, *Bacillus subtillis* B2g and *B. subtillis* FZB27 9×10^9cfu . plants emerged from these seed were inoculated with CMV after 10 days of planting. The time of beginning symptoms was recorded, Disease incidence, disease severity, area under disease progress curve AUDPC, progress of infection disease degrees during the study period were calculated using virtual symptoms . pyroxidas enzyme activity was determined, Some growth parameters such as Plant height, foliage fresh weight, root fresh weight , foliage dry weight, root dry weight were observed after 30 DAI. Results of this study showed that seed treatment with *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia .plymuthica* HRO-C48, *Bacillus subtillis* B2g, *B. subtillis* FZB27 significantly decreased the diseases incidence on treated and inculated plants which ranged between 40% - 66.66% ,compared with un treated and inculated control 93.33% Without the presence of significant differences between the bacterial treatments. significantly decreased the diseases severity on treated plants which ranged between 45.53 %- 62.2% compared with inculated and un treated control 88.86% .Without the presence of significant differences between the bacterial treatments. Peroxidas activity on treated plants increased by Compared with untreated plants. Seed treatments with bacteria significantly increased the plant growth. The plant height , fresh and dry weight of foliage, fresh and dry weight of root on treated plants were significantly higher than those of inculated and un-treated plants according to LSD 5%.where bacteria reduced the rate of stunting and the rate of decline mild and dry weight of foliage and mild and dry weight of the root occurring due to infection with the *Cucumber mosaic virus* (CMV).

Key words: Pseudomonas chlororaphis MA342 ,Serratia plymuthica HRO-C48, Bacillus subtillis B2g , B. subtillis FZB27, CMV, induced resistance, tomato

* **Prof, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia- Syria.**
** **Researcher, General Commission for Scientific Agriculture Research (GCSAR) Lattakia- Syria.**
*** **Researcher, General Commission for Scientific Agriculture Research (GCSAR) Tartous- Syria.**
**** **PhD Students, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia- SYRIA. Research in GCSAR.**

مقدمة:

تحتل زراعة البندورة . L *Solanum lycopersicum* مركزا مهماً بين محاصيل الخضار في جميع أنحاء العالم لما تتسم به من قيمة غذائية عالية، ففي سورية وصل عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة 67977 بيتاً عام 2012 (المجموعة الإحصائية الزراعية، 2012). ويُعد فيروس موزاييك الخيار *Cucumber mosaic virus* (CMV، جنس *Cucumovirus*، عائلة Bromoviridae) من الفيروسات الهامة اقتصادياً (Varveri and Boutsika, 1999) فهو يصيب أكثر من 1000 نوعاً نباتياً منها البندورة (Soleimani *et al*., 2011)، وهو لفيروس عالمي الانتشار ويسبب ضرراً شديداً في محاصيل الخضار (Palukaitis *et al*., 1992) . سجلت الخسائر الاقتصادية على البندورة بسبب الإصابة بفيروس موزاييك الخيار في بلدان عديدة. أدت الإصابة الوبائية بالفيروس في بعض المناطق الى الحد من زراعة البندورة فيها (Fuchs *et al*., 1996). سجل فيروس موزاييك الخيار لأول مرة في سورية على الخيار من قبل Makkouk و Katul (1987).

أشارت دراسات عديدة إلى وجود أنواع بكتيرية ترافق الجذور والمحيط الجذري لمعظم الأنواع النباتية في بيئات مختلفة لها القدرة على تحسين نمو النباتات تسمى بكتيريا الجذور المحسنة لنمو النبات plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) (Saharan and Nehra, 2011), ولهذه البكتيريا دوراً في تحفيز الوسائل الدفاعية في النباتات ضد المسببات المرضية ومنها الأمراض الفيروسية (Van Peer *et al*,1991) وذلك من خلال تفعيل بعض جينات الدفاع النباتية (PR-Ps) مثل الأنزيمات المضادة للأكسدة كالبيروكسيداز (Shoman *et al*., 2003؛Shehata and El-Borollosy, 2007). تضم هذه البكتيريا أجناساً مختلفة منها *Azotobacter*، *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Rhizobium*، *Azospirillum* و*Serratia* (Compant *et al*., 2005). اثبت تأثير PGPR في تخفيض الإصابة بفيروسات عديدة منها فيروس موزاييك الخيار حيث أشارت الدراسات إلى أن معاملة البندورة الحقلية بسلالات معينة من PGPR أدى إلى انخفاض في حدوث وتطور الإصابة بفيروس موزاييك الخيار والى زيادة في الغلة (Zehnder *et al*., 2000). كما أدت معاملة البندورة ببكتيريا *P. fluorescens* إلى تثبيط تضاعف فيروس موزاييك البندورة *Tomato Mosaic Virus* (عبد الجبار ،2012). كما أمكن تحفيز مقاومة جهازية في نباتات الخيار ضد فيروس موزاييك الخيار بمعاملة البذور بمزيج من ثلاث سلالات *Bacillus pumilus* strain INR7, *Curtobacterium flaccumfaciens* strain ME1, *Bacillus subtilis* strain *GB03* (Raupach *et al*., 2000)، وأشار Choong-Min Ryu وآخرون (2007) إلى دور *Pseudomonas chlororaphis* في تحسين نمو النبات وتحفيز المقاومة ضد فيروس موزاييك الخيار في التبغ. وأثبت Sudhakar وآخرون (2007) أن استخدام سلالة *Bacillus subtilis* 3A25 قد خفض من أعراض الإصابة بفيروس موزاييك الخيار على البندورة حيث بلغت في النباتات المعاملة بالبكتيريا 17% مقارنة بالشاهد المعدى 81.5 %. وأكد Zehnder وآخرون (2000) فعالية ثلاث سلالات *B. subtilis IN937b* و *B. Pumilus* SE34 و *B. amyloliquefaciens* IN937a في تحفيز Induced Systemic Resistance (ISR) ضد فيروس موزاييك الخيار على البندورة في الظروف الحقلية لموسمين متعاقبين. وأشارت دراسات أخرى إلى أن معاملة بذور الخيار بالسلالة البكتيرية *Serrati amarcescens* strain 90-166 قد حفز ISR ضد فيروس موزاييك الخيار (Kloepper *et al*., 1993; Liu *et al*., 1995a, b). يعد تحفيز المقاومة الجهازية ISR من الآليات التي تحمي فيها PGPR النبات من الإصابة بالممرضات وهي مقاومة غير متخصصة ضد مسبب مرضي وتستمر لفترة طويلة

بعد عملية تحفيزها (Van Loon *et al*., 1998). ونظراً لكون الأمراض الفيروسية من الأمراض التي من الصعب السيطرة عليها وعلى نواقلها الحيوية بالمبيدات الكيميائية إضافة إلى الآثار السلبية لهذه المبيدات وكلفتها المرتفعة، وحاجة المستهلك لغذاء خالي من المبيدات (Gerhardson, 2002، Shehata and El-Borollosy, 2008)، كان لا بد من اللجوء إلى طرق بديلة أكثر أمانًا للسيطرة والحد من الإصابة بالأمراض الفيروسية (Gerhardson ,2002; Postma *et al*, 2003) منها المقاومة الجهازية المستحثة ISR (Van Loon *et al*., 1998).

أهمية البحث وأهدافه:

يعد هذا البحث خطوة أولى في دراسة تأثير PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية المستحثة ISR لمقاومة الأمراض الفيروسية في سورية، لذلك فقد هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير معاملة نباتات البندورة بأربع سلالات من PGPR: *Pseudomonas chlororaphis* MA342 ، *Serratia plymuthica* HRO-C48، *Bacillus subtillis* B2g، *B. subtillis* FZB27 في كبح الإصابة فيروس موزاييك الخيار من خلال دراسة تأثيرها في نسبة وشدة الإصابة بالفيروس وتأثيرها في تنشيط إفراز أنزيم البيروكسيداز الذي يُعد من أهم الإنزيمات المضادة للأكسدة، إضافة إلى تأثيرها في تحسين نمو النبات.

طرائق البحث ومواده:

موقع تنفيذ البحث:

نفذ البحث في مركز البحوث الزراعية في اللاذقية ضمن بيت بلاستيكي في تجربة نصف حقلية. زرعت النباتات ضمن أكياس بلاستيكية سوداء سعة 5 ليتر تحوي خلطة من التربة و التورب الزراعي المعقم بنسبة (1:3) موزعة في ثلاثة خطوط فردية على مسافة ا م بين الخط والآخر وعلى مسافة 40 سم بين الكيس والآخر على نفس الخط.

هجين البندورة المستخدم والعزلة الفيروسية والسلالات البكتيرية المستخدمة:

استخدم هجين البندورة ميريل (Tomato Merel F1) ومصدره الصين والهجين معروف بإنتاجيته العالية وحساسيته لفيروس موزاييك الخيار. وتم الحصول على عزلة لفيروس موزاييك الخيار معرفة سابقاً في مركز ICARDA من مخبر الأمراض الفيروسية في كلية الزراعة بجامعة تشرين ولم تحدد شراستها. حفظت عزلة الفيروس على نباتات التبغ وأعديت بها عدد من نباتات البندورة لتامين حاجة الدراسة من اللقاح الفيروسي. استخدمت 4 سلالات بكتيرية محفوظة في البراد ضمن غليسرين 2% في مخبر الأمراض البكتيرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية والتي تم الحصول عليها من المصادر المذكورة في الجدول (1):

جدول 1. السلالات البكترية الداخلة بالدراسة

رمز السلالة	السلالة البكتيرية	المصدر
MA	*Pseudomonas chlororaphis* MA342	Sweeden
C48	*Serratia .plymuthica* HRO-C48	University of Gras, Austria
B2g	*Bacillus subtillis* B2g	University of Rostock Germany
B27	*Bacillus subtillis* FZB27	Berlin, Germany

تحضير المعلقات البكتيرية ومعاملة البذور:

تم عزل سلالات PGPR المستخدمة في الدراسة على بيئة صلبة أغار تريبتون الصويا (Tryptic (TSA soy agar وحضنت على حرارة 28 °C لمدة 24 ساعة. نقلت بعدها إلى بيئة سائلة (Tryptic soy broth (TSB معقمة الاوتوكلاف (حضرت بإضافة 1.5 غ بودرة بيئة TSB إلى 50 مل ماء معقم ورجت بشكل جيد ثم وضع كل 20 مل منها في دورق). حضنت البكتيريا على حرارة المخبر 27– 30 م° ضمن البيئة السائلة السابقة على هزاز ديجيتال 180 دورة/ دقيقة لمدة 24 ساعة. أخذ 2 مل من المستنبت السابق ولقح بها 200 مل من مستنبت سائل من TSB بالشروط السابقة أعلاه. ثم عُرضت لطرد مركزي 4000 دورة/ دقيقة وتم استبعاد الجزء الطافي وخلطت البذور مع الراسب البكتيري بمعدل 30 بذرة في كل أمبولة ولضمان التصاق البكتيريا على البذور أخضعت لهزاز ميكانيكي على سرعة 180 دورة/ دقيقة لمدة 4 ساعات عند درجة حرارة 25– 30 °C. نقعت البذور في معاملة الشاهد في ماء معقم لمدة 4 ساعات ثم جففت هوائياً (Zehnder *et al.*,2000).

تقدير تركيز البكتيريا في المعلق البكتيري الأم وفي البذور:

قدر تركيز البكتيريا في المعلق الأم حسب Hammudi (2007) حيث حضرت عدة تخفيفات من المزرعة البكتيرية السائلة وتم زرع 10 ميكروليتر من كل تخفيف على مستنبت غذائي (TSA) الصلب في أطباق بتري قطرها 9 سم. ثم حضنت عند درجة حرارة 28±2 س° مدة 48 ساعة. حُسب تركيز المعلق البكتيري Colony forming units (CFU) وقد بلغ 9×10^{10} في المحلول الأم.

ولحساب CFU في البذرة تم سحق 10 بذور من كل من البذور المعاملة بالسلالات البكتيرية الأربعة في جفنة بورسلان مع 1 مل من محلول NaCl 0.085% وقدر تركيز البكتيريا في هذا المحلول حسب Hammudi (2007) وقد بلغ 107 في البذرة الواحدة.

تحضير اللقاح الفيروسي والعدوى الميكانيكية:

حضر اللقاح الفيروسي بسحق أوراق البندورة المصابة بفيروس موزاييك الخيار مع الماء المقطر بنسبة (5:1) في جفنة بورسلان. وأجريت العدوى الميكانيكية بكمية 2 مل تقريباً من اللقاح الفيروسي على ثلاث أوراق حقيقية من نباتات البندورة بعد 10 يوم من التشتيل، بنثر بودرة كربيد السيليكون بشكل خفيف على أوراقها العلوية ومن ثم مسح الأوراق بقطعة قطن مبللة باللقاح الفيروسي باتجاه واحد. غسلت الأوراق المعاملة بلقاح الفيروس بالماء للتخلص من بقايا العصير الخلوي وكربيد السليكون.

تعقيم التربة وزراعة النباتات:

عقمت التربة بمحلول الفورم ألدهيد 20%. رشت التربة المفروشة بشكل أفقي بسماكة 25 سم ومساحة سطح 1م2 بالمحلول السابق ثم غطيت التربة برقائق من البولي ايثيلين لمدة 7 أيام. ثم هُويت التربة لمدة 14 يوماً مع التحريك المتكرر للتخلص من بقايا الفورم ألدهيد (المغربي وآخرون، 2013).

تصميم التجربة:

صممت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة مُتضمنة 10 معاملات في كل معاملة ثلاث مكررات وكل مكرر يحوي 5 نباتات. بما فيها نباتات سليمة (غير معاملة وغير معداة بالفيروس)، ونباتات معداة بالفيروس فقط ونباتات معاملة بالبكتيرية فقط. زرعت بذور البندورة في صواني ستريوبور تحوي تورب معقم. نقلت

شتول البندورة بعمر 45 يوماً إلى الأكياس البلاستيكية. وزعت الأكياس داخل البيت البلاستيكي في ثلاث خطوط على مسافة 40 سم بين الكيس والآخر وعلى مسافة 1 م بين الخط والآخر وقدمت لها عمليات الخدمة اللازمة. وتم حماية النباتات من الإصابة بفيروسات أخرى من خلال التغطية الشبكية واستخدام المبيدات الكيميائية الخاصة بمكافحة الحشرات الناقلة للفيروس وحللت النتائج إحصائيا باستخدام برنامج CO-STAT وتم المقارنة بين المتوسطات عن اقل فرق معنوي LSD 5%.

جدول 2. المعاملات التي تضمنتها التجربة

رقم المعاملة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
نوع المعاملة	CMV	B27+CMV	MA+CMV	C48+CMV	B2g+ CMV	B2g	C48	MA	B27	سليم

المعايير المعتمدة في تقييم المقاومة المحفزة بفعل PGPR:

نسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار وشدتها:

حسبت نسبة الإصابة في نهاية التجربة (بعد شهرين من العدوى) وفق المعادلة التالية:

نسبة الإصابة = عدد النباتات المصابة/ العدد الكلي للنباتات × 100

حسبت شدة الإصابة وفق معادلة (Yang *et al.*,1996):

$$\text{شدة الإصابة \%} = \frac{\text{مجموع (درجة الإصابة} \times \text{عدد النباتات في كل درجة)}}{\text{العدد الكلي للنباتات} \times \text{أعلى درجة إصابة}} \times 100$$

قدرت درجة الإصابة وفق سلم Murphy وآخرون (2003) حيث:

0: بدون أعراض. 2: موزاييك متوسط على الأوراق. 4: موزاييك شديد على الأوراق. 6: موزاييك وتشوه أوراق. 8: موزاييك شديد وتشوه شديد على الأوراق. 10: موزاييك شديد وتشوه أوراق مع تقزم.

– درس تطور درجات الإصابة بفيروس موزاييك الخيار خلال فترة التجربة بعد العدوى:

من خلال تسجيل متوسط درجات الإصابة لكل معاملة عبر فترات الفاصل الزمني بينها 4 أيام، اعتباراً من اليوم التالي للعدوى.

تم حساب المساحة المحصورة تحت منحني تطور الإصابة بفيروس موزاييك الخيار **Area Under Disease Progress Curve (AUDPC)** :

لتحديد الاختلافات في تطور الاصابة وفق معادلة (Chen and Line, 1995):

$$\mathbf{AUDPC} = \sum[(x_i + x_{i+1})/2]\,(T_{i+1}+T_i)$$

حيث: Xi: درجة الإصابة في الموعد الأول

X_{i+1}: درجة الإصابة في الموعد التالي

$T_{i+1}+T_i$: الفاصل الزمني بين القراءتين (3 ايام)

نشاط إنزيم البيروكسيداز في أنسجة نباتات البندورة:

قدر نشاط إنزيم البيروكسيداز في نهاية التجربة (بعد شهرين من العدوى)، استخلص إنزيم البيروكسيداز وفق طريقة Gokmen و Altunkaya (2011)، حيث حضر المستخلص الإنزيمي بسحق 1غ من الأوراق الطازجة المجموعة مع 3 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم تركيز 0.1 مولار و PH= 7. وعرضت العينات للطرد المركزي 5000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق على حرارة 4 س°. أخذت الرائق الناتج عن الطرد المركزي لقياس نشاط الإنزيم. ولقياس نشاط إنزيم البيروكسيداز حضر في أنابيب اختبار زجاجية مزيج تفاعل مكون من 3.5 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم تركيز 0.1 مولار PH= 6 و 200 ميكروليتر من المستخلص الإنزيمي و 100 ميكروليتر غواياكول (تركيز 0.25%). ثم وضعت الأنابيب في حمام مائي على حرارة 28–30 °C لمدة 5 دقائق. ميكرومولار) إلى كل أنبوب من أنابيب الاختبار الحاوية على المستخلص الإنزيمي. ثم أضيف 4 مل من مزيج التفاعل المحضر أعلاه في خلية المطياف الضوئي spectrophotometer عند طول موجة 430 نانومتر. أخذت قراءة الجهاز مرة كل 30 ثانية لمدة 3–5 دقائق، وقدر نشاط إنزيم البيروكسيداز بعدد ميكرومولات الماء الأوكسجيني التي تتفكك بواسطة 100مغ من النسيج النباتي الداخل في تشكيل المستخلص الإنزيمي في الدقيقة الواحدة عند 25 س° (Behera *et al.*,2012).

حسب نشاط إنزيم البيروكسيداز وفق معادلة الشركة المصنعة للمادة القياسية للإنزيم(Technical bulletin):

$$\text{Peroxidase activity} = B \times \text{Sample Dilution Factor} / \text{Reaction time} \times V$$

B: كمية الماء الأوكسجيني H_2O_2 المنخفضة بين الزمن الأولي و الزمن النهائي مقدرة بـ نانومول (nmol).

V: حجم العينة المضافة إلى حجرة المطياف الضوئي مقدرة بـ مل.

Reaction Time: $T_{final} - T_{initial}$ مقدرا بالدقيقة.

معايير تحفيز النمو بفعل PGPR:

قدرت معايير النمو (ارتفاع النبات. الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري. الوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الجذري) في نهاية التجربة بعد شهرين من العدوى بالفيروس بهدف تقييم تحفيز النمو وبالتالي تحفيز المقاومة الجهازية في نباتات البندورة، علما ان التجفيف تم في فرن على حرارة 70 م لمدة 24 ساعة.

حسب معدل التقزم وفق المعادلة التالية:

معدل التقزم = طول الشاهد السليم– طول المعاملة /طول الشاهد السليم × 100

حسب معدل الانخفاض في الوزن وفق المعادلة التالية:

معدل الانخفاض بالوزن = وزن الشاهد السليم – وزن المعاملة / وزن الشاهد السليم × 100

النتائج والمناقشة:

أولا: تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على معايير تحفيز المقاومة:

أ – نسبة الإصابة وشدة الإصابة ونشاط إنزيم البيروكسيداز:

يتضمن الجدول (3) النتائج المُتحصل عليها من تأثير السلالات البكتيرية على نسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار وشدتها و نشاط إنزيم البيروكسيداز قياساً بالشاهد المعدى بالفيروس والشاهد السليم.

جدول 3. تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على معايير تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار

المعاملة	موعد تكشف الأعراض بعد العدوى (**DAI**)/ يوم	نسب الإصابة%	شدة الإصابة%	نشاط إنزيم البيروكسيداز **n mol**
CMV	14	93.33 a	88.86 a	0.0041 a
B27+ CMV	25	66.66 ab	48.83 b	0.006 a
B2g+ CMV	30	40 b	57.77 b	0.005a
C48+ CMV	22	46.6 b	45.53 b	0.006a
MA+ CMV	17	60 b	62.2 b	0.0048 a
الشاهد/Health	---	---	---	0.0091a
LSD5%		28.18	24.34	0.005

Day After Inculation :DAI

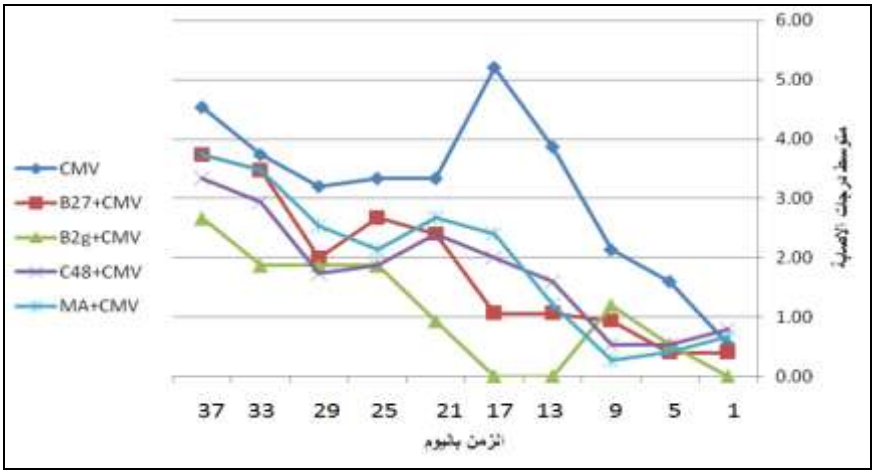
تشير النتائج الى تاخر موعد تكشف الاعراض في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا حيث تاخر ظهور الاعراض الى 30، 25، 22، 17 يوم بعد العدوى في المعاملات (B2g+ CMV) ، (B27+ CMV)،(C48+ CMV)، (MA+ CMV) على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى (CMV) 14 يوم بعد العدوى. كما انخفضت نسبة الاصابة بشكل معنوي في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالمعداة غير المعاملة حيث بلغت نسبة الاصابة % 66.66، % 60، % 46.6، % 40 للمعاملات (B27+CMV)، (MA+CMV)، (C48+CMV)، (B2g+CMV) على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى (CMV) 93.33%. وكانت اقل نسبة اصابة في النباتات المعداة المعاملة بالسلالة B2g. دون وجود فروق معنوية بين المعاملات البكتيرية. توافقت النتائج مع ماتوصل اليه Zehnder واخرون بان نسبة الاصابة بفيروس موزاييك الخيار على البندورة في تجارب ضمن بيوت محمية مابين 32- 50% في النباتات المعاملة بالسلالات البكتيرية *Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus pumilus,* ***Bacillus subtilus*** ، *Kluyvera cryocrescens* مقارنة بالنباتات غير المعاملة% 88- 98 (Zehnder *et al.,* 2000). وانخفضت شدة الاصابة بشكل معنوي في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالمعداة غير المعاملة وبلغت شدة الاصابة 62.2%، 57.77%، 48.83%، 45.53% للمعاملات (MA+CMV)، (B2g+CMV)، (B27+CMV)، (C48+CMV) على التوالي. مقارنة بالشاهد المعدى (CMV) 88.86%. وكانت اقل شدة اصابة في النباتات المعداة المعاملة بالسلالة C48 . دون وجود فروق معنوية بين المعاملات البكتيرية. توافقت هذه النتائج مع ما اشار اليه Zehnder واخرون (2000) بان معاملة نباتات البندورة بسلالات من نوع *Bacillus* ادى الى انخفاض واضح في شدة الإصابة اعتمادا على تطور الأعراض، واشار Roupach واخرون (1996) بانخفاض شدة الاصابة بفيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة المعاملة بالسلالتين البكتيريتين 89B27 *Pseuodomonas flourescence* و *Serratia marcescens* حيث بلغت % 42 و 21.3% على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى غير المعامل 66.7%، و توافقت مع ما أشار Murphy وآخرون (2003) إلى

انخفاض معنوي في شدة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة المعاملة بالمستحضرات الحيوية الحاوية على *Bacillus subtillis* GB03 وذلك بعد 14 و 28 يوماً من العدوى.

اظهرت النتائج ارتفاع غير معنوي في نشاط انزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا حيث وصل هذا النشاط الى 0.006، 0.006، 0.005، 0.0048 نانومول للمعاملات (B27+CMV)، (C48+CMV)، (B2g+CMV)، (MA+CMV) على التوالي، مقارنة بالشاهد المعدى (CMV) 0.0041 نانومول والشاهد السليم 0.0091 نانو مول، هذا يتوافق مع ما اشار اليه Khamdan و Suprapta (2011) بان نشاط انزيم البيروكسيداز قد ارتفع في نباتات فول الصويا المعداة بفيروس تقزم فول الصويا المعاملة ببكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* مقارنة بالنباتات غير المعاملة، كما اشار Kishore واخرون(2005) في بحث اجري على نباتات الفول السوداني المزروع حقليا الى ان نشاط انزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة المعاملة بالسلالتين *Bacillus megaterium* GPS 55 *Pseudomonas aeruginosa* GPS 21, ارتفع 1.5–2 مرة بعد العدوى بـ 7ايام. ان ترافق انخفاض شدة الاصابة مع ارتفاع نشاط انزيم البيروكسيداز يتوافق مع ما اشار اليه Young واخرون (1995) بان تزايد نشاط إنزيم البيروكسيداز مرتبط بمقاومة النبات للمسببات المرضية وبالتالي انخفاض شدة الإصابة. ومعاملة نباتات البندورة ببكتيريا *P. fluorescens* أدى إلى ازدياد نشاط إنزيمي البولي فينيل اوكسيداز و1.3 بيتاّ غلوكوناز والكيتيناز (Kandan *et al.*, 2007). يفسر الارتباط بين الانخفاض في شدة الإصابة الفيروسية وازدياد النشاط الانزيمي بان انزيم البيروكسيداز مسؤول عن عمليات اللغننة وتشكل بيروكسيد الهيدروجين الذين يمنعان بشكل مباشر نمو المسبب المرضي أو لدور إنزيم البيروكسيداز في تشكل الجذور الحرة التي تلعب دور المضاد الحيوي (Silva *et al.*, 2004).

ب – **تطور درجات الاصابة بفيروس موزاييك الخيار خلال فترة التجربة:**

يبين الشكل (1) تطور درجات الاصابة خلال فترة التجربة بفاصل 4 ايام بين القراءة والاخرى اعتبارا من اليوم التالي للعدوى بفيروس موزاييك الخيار.



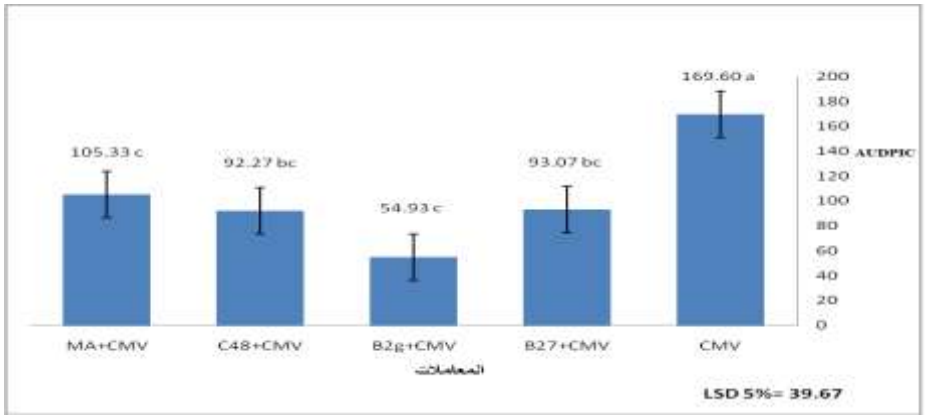
شكل 1. تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على تطور درجات الإصابة بفيروس موزاييك الخيار خلال فترة التجربة

تشير النتائج إلى انخفاض واضح في تطور الإصابة مع الزمن في النباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالنباتات غير المعاملة يتوافق ذلك مع ما أشار إليه Zehnder وآخرون (2000) بان تطور الإصابة بفيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة المعاملة بالسلالات البكتيرية *Bacillus pumilus* strain SE34, *Kluyvera cryocrescens*

كان strain IN114, *Bacillus amyloliquefaciens* strain IN937a, *Bacillus subtilus* strain IN937b منخفضا مقارنة بالنباتات غير المعاملة. ان الانحدارات الملاحظة في منحني تطور الإصابة قد تعود إلى اختفاء الأعراض الظاهرية بفعل التغذية النتروجينية التي تؤمنها البكتيريا من خلال تثبيت الازوت الجوي وهذا التأثير يكون أوضح في المراحل الأولى للإصابة بفيروس موزاييك الخيار حسب ما أشار إليه Murphy وآخرون (2003).

ج - المساحة المحصورة تحت منحني تطور الإصابة بفيروس موزاييك الخيار Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) :

يبين الشكل (2) قيم **AUDPC** للمعاملات البكتيرية الاربعة مقارنة بالشاهد المعدى.



شكل 2. تأثير السلالات البكتيرية على المساحة المحصورة تحت منحني تطور الإصابة بفيروس موزاييك الخيار

اشارت النتائج الى انخفاض قيم AUDPIC بشكل معنوي في النباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بنباتات الشاهد المعدى وهذا يتفق مع ما توصل اليه Zehnder واخرون (2000) بان قيم AUDPIC كانت اخفض بشكل معنوي في نباتات البندورة المعاملة بالسلالات البكتيرية *Bacillus* strain IN114, *Kluyvera cryocrescens* SE34, *Bacillus subtilus* strain IN937b, *amyloliquefaciens* strain IN937a مقارنة بنباتات الشاهد المعداة غير المعاملة، كما اشار Raupach واخرون (1996) الى حدوث انخفاض معنوي في المساحة المحصورة تحت منحني تطور الاصابة في النباتات المعاملة بذورها بالسلالتين البكتيريتين *Pseudomonas fluorescens* 89B27 و *Serratia marcescens* 90-166.

ثانيا: تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على معايير نمو نباتات البندورة:

يتضمن الجدول (4) النتائج المُتحصل عليها عن تأثير السلالات البكتيرية على بعض معايير نمو النبات (ارتفاع النبات. الوزن الطري والوزن الجاف للمجموع الخضري. الوزن الطري والوزن الجاف للمجموع الجذري) قياساً بالشاهد المعدى بفيروس موزاييك الخيار فقط والشاهد غير المعدى.

جدول 4. تأثير المعاملة بالسلالات البكتيرية على معايير النمو لنباتات البندورة المعداة بفيروس موزاييك الخيار

المعاملة	ارتفاع النبات (سم)	معدل التقزم %	الوزن الطري للمجموع الخضري (غ)	معدل الانخفاض في الوزن الطري للمجموع الخضري %	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ)	معدل الانخفاض في الوزن الجاف للمجموع الخضري %	الوزن الطري للمجموع الجذري (غ)	معدل الانخفاض في الوزن الطري للمجموع الجذري %	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ)	معدل الانخفاض في الوزن الجاف للمجموع الجذري %
CMV	31 d	23.75	30.8 a	**27.78**	**6** d	**39.14**	**2.33** b	59.33	1.2 a	17.80
B27+ CMV	34.4 cd	15.3	39.46 a	7.47	8.3 cd	15.82	4.83 ab	15.7	1.32 a	9.5
B2g+ CMV	37.77 bc	7.10	38.52 a	9.68	9.36 bcd	5.07	5.24 ab	8.55	1.4 a	4.10
C48+ CMV	38.53 bc	5.2	41.73 a	2.15	9.13 bcd	7.40	5.03 ab	12.21	1.33 a	8.90
MA+ CMV	33.86 cd	16.72	41.06 a	3.72	6.7 cd	32.04	4.46 ab	22.16	1.26 a	13.69
الشاهد/Health	40.6 b 6	-	42.65 a	-	9.86 abcd	-	5.73 ab	-	1.46 a	-
B27	41.93b	-	49.93 a	-	14.33 a	-	7.46 a	-	1.86 a	-
B2g	42.4 ab 1	-	43.53 a	-	13.26 ab	-	6.16 **ab**	-	1.58 a	-
C48	47.9 a 3	-	44.8 a	-	11 abc	-	6.4 ab	-	1.66 a	-
MA	41.33 b	-	50.86 a	-	10.2 abcd	-	7.2 a	-	1.73	-
LSD5%	5.66	-	20.61	-	4.69	-	4.16	-	0.76	-

أشارت النتائج إلى ان ارتفاع النبات في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا أعلى مما هو عليه في نباتات الشاهد المعدى واقل مما هو عليه في نباتات الشاهد السليم وهذا دليل على ان المعاملة بالبكتيريا قد خففت من تأثير الإصابة بفيروس موزاييك الخيار على نمو النبات دون وجود فرق معنوي بين السلالات البكتيرية. حيث أدت المعاملة بالبكتيريا إلى انخفاض معدل تقزم النباتات نتيجة الإصابة الفيروسية فقد وصل معدل التقزم للنباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا إلى % 16.72 ،% 15.3 ،% 7.10 ،% 5.2 للمعاملات (MA+CMV)، (B27+CMV)، (B2g+CMV) ، (C48+CMV) على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى (CMV) 23.75%، وكان اقل معدل تقزم في النباتات المعاملة بالسلالة C48 .

وكان الوزن الطري للمجموع الخضري في المعاملات البكتيرية أعلى مما هو عليه في نباتات الشاهد المصاب واقل مما هو عليه في نبتات الشاهد السليم دون وجود فروقات معنوية بين السلالات البكتيرية. حيث أدت المعاملة بالبكتيريا إلى تقليل معدل الانخفاض في الوزن الطري للمجموع الخضري نتيجة الإصابة الفيروسية فقد وصل

في النباتات المعداة المعاملة إلى % 9.68، % 7.47،% 3.72، % 2.15 للمعاملات (B2g+CMV)، (B27+CMV)، (MA+CMV)، (C48+CMV) على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى % 27.78 وكان اقل معدل انخفاض في الوزن الطري للمجموع الخضري في النباتات المعاملة بالسلالة C48 دون وجود فروقات معنوية بين السلالات البكتيرية.

بالنسبة للوزن الجاف للمجموع الخضري فقد كان في المعاملات البكتيرية أعلى مما هو عليه في الشاهد المعدى و اقل مما هو عليه في الشاهد السليم، دون وجود فروق معنوية بين السلالات البكتيرية. حيث أدت المعاملة بالبكتيريا إلى تقليل معدل الانخفاض في الوزن الجاف للمجموع الخضري نتيجة الإصابة الفيروسية فقد وصل في النباتات المعداة المعاملة إلى % 32.04، % 15.82، % 7.40،% 5.07 للمعاملات MA+CMV، B27+CMV ، C48+CMV، B2g+CMV على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى % 39.14.، وكان اقل معدل انخفاض في الوزن الجاف للمجموع الخضري في النباتات المعاملة بالسلالة B2g دون وجود فروقات معنوية بين السلالات البكتيرية. كما أشارت النتائج إلى ان الوزن الطري للمجموع الجذري في المعاملات البكتيرية أعلى مما هو عليه في الشاهد المعدى و اقل مما هو عليه في الشاهد السليم حيث أدت المعاملة بالبكتيريا إلى تقليل معدل الانخفاض في الوزن الطري للمجموع الجذري نتيجة الإصابة الفيروسية فقد وصل في النباتات المعداة المعاملة إلى % 22.16، % 15.7، 12.21%، 8.55 % للمعاملات (MA+CMV)، (B27+CMV)، (C48+CMV)، (B2g+CMV) على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى 59.33%. وكان اقل معدل انخفاض في الوزن الطري للمجموع الجذري في النباتات المعاملة بالسلالة B27 دون وجود فروقات معنوية بين السلالات البكتيرية.

وكان الوزن الجاف للمجموع الجذري في المعاملات البكتيرية أعلى مما هو عليه في الشاهد المعدى و اقل مما هو عليه في الشاهد السليم، حيث أدت المعاملة بالبكتيريا إلى تقليل معدل الانخفاض في الوزن الجاف للمجموع الجذري نتيجة الإصابة الفيروسية حيث وصل في النباتات المعداة المعاملة إلى % 13.69، % 9.5، % 8.90، % 4.10 للمعاملات (MA+CMV)، (B27+CMV)، (C48+CMV)، (B2g+CMV) على التوالي مقارنة بالشاهد المعدى% 17.80. وكان اقل معدل انخفاض في الوزن الجاف للمجموع الجذري في النباتات المعاملة بالسلالة B27 دون وجود فروقات معنوية بين السلالات البكتيرية.

بينت الدراسة ان الإصابة بفيروس موزاييك الخيار قد ثبطت نمو نباتات البندورة بشكل معنوي ومعاملة نباتات البندورة بالسلالات البكتيرية الأربعة حسنت بشكل معنوي من نمو النبات متوافقا ذلك مع ما أشار إليه Kandan وآخرون (2007) بأن تطبيق سلالات *Pseudomonas fluorescens* على البذور والتربة والمجموع الخضري أو تغطيس للشتول قد أدى إلى انخفاض معنوي بتركيز فيروس الذبول المتبقع على البندورة *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) مصحوبا بزيادة في تحسين نمو النبات في الحقل والبيت المحمي . وأشار Khalimi و Suprapta (2011) إلى أن نباتات فول الصويا المعاملة ببكتيريا *Pseudomona aeruginos* كانت أكثر ارتفاعا بشكل معنوي من النباتات غير المعاملة. وبين Murphy وآخرون (2003) تحسن ارتفاع النبات في النباتات المعاملة بأربع مستحضرات حيوية تحوي كل منها على السلالة البكتيرية *Bacillus subtillis* GBO3 . وأشار EL-Borollosy و Oraby (2012) إلى أن النباتات المعاملة ببكتيريا *Azotobacter chrooccum*، *Bacillus subtellis* ، *Pseudomonas fluorescens* أعطت أعلى قيم في الوزن الجاف للنبات مع البكتيريا *Azotobacter chrooccum* تلتها البكتيريا*Pseudomonas fluorescens* 16.1، 13.8 غ على التوالي.

ان تحسن النمو في النباتات المعاملة بالبكتيريا قد يعود إلى مساهمة البكتيريا في تقليل الزمن الذي يمكن ان تؤدي إصابة النبات خلاله إلى تطور أعراض الفيروس بشكل شديد وهذا يتوافق مع ما أشار إليه Murphy وآخرون (2003)، قد يكون بسبب تحفيز النبات على انتاج الهرمونات النباتية وتزويد النبات بالعناصر الغذائية وإذابة بعض العناصر الغذائية في التربة وجعلها متاحة للنبات أو بسبب تحفيز المقاومة بفعل البكتيريا ضد فيروس موزاييك الخيار أو بفعل الاثنين معا حسب ما أشار إليه Zehnder وآخرون (2000).

الاستنتاجات والتوصيات:

ان معاملة بذور البندورة بالسلالات البكتيرية الأربعة الداخلة بالدراسة أدت إلى:

1. انخفاض نسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالنباتات غير المعاملة وتفوقت السلالة البكتيرية B27 (*B. subtillis* FZB27) على باقي السلالات البكتيرية في تخفيض نسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار دون وجود فروقات معنوية فيما بينها.
2. انخفاض شدة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالنباتات غير المعاملة وتفوق السلالة MA (*Pseudomonas chlororaphis* MA342) على باقي السلالات في تخفيض شدة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار دون وجود فروقات معنوية فيما بينها.
3. ازدياد نشاط إنزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة المعاملة مقارنة بالنباتات غير المعاملة وتفوق السلالة B27 على باقي السلالات البكتيرية في هذا المجال دون وجود فروقات معنوية فيما بينها.
4. تحسن معايير النمو بشكل عام في النباتات المعداة المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالنباتات غير المعاملة وتفوق السلالة MA (*Pseudomonas chlororaphis* MA342) على باقي السلالات البكتيرية تليها السلالة B27 (*B. subtillis* FZB27) تليها السلالة C48 (*Serratia .plymuthica* HRO-C48) والسلالة B2g (*Bacillus subtillis* B2g) من حيث تقليلها لمعدلات الانخفاض في ارتفاع النبات والوزن الجاف للمجموع الخضري و الوزن الطري للمجموع الجذري و الوزن الجاف للمجموع الجذري بفعل الإصابة بفيروس موزاييك الخيار.

نوصي بإعادة التجربة مع استكمالها حتى نهاية موسم نمو النبات وحساب كمية الإنتاج وبالتالي تقدير فعالية هذه المعاملات على الجانب التطبيقي والاقتصادي، عندها يمكن ان تصبح النتائج قابلة للتطبيق على مساحات كبيرة، وبالتالي يكون للبحث مستقبل تطبيقي.

المراجع

1. عبد الجبار، فرح. *استحثاث المقاومة في نباتات الطماطم ضد فيروس موزاييك الطماطم Tomato Mosaic Virus (ToMV) بواسطة بكتيريا Pseudomonas fluorescens*. مجلة الأنبار للعلوم الزراعية 10، 331-336، 2012.

2. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية. 2012

3. المغربي، صباح؛ طويل، محمد؛ رزق، بشرى، *دراسة تأثير فطور الميكوريزا على مرض ذبول البندورة المتسبب عن Fusarium oxysporum* . مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية 7، 2013، 279-289.

4. ALTUNKAYA, A.; GOKMEN, V. *Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase, Peroxidase and Lipoxygenase from Freshly Cut Lettuce (L. sativa). Biotechnol*. 49, 2011, 249–256.

5. BEHERA, S.; GHANTY, S.; AHMAD, F.; SANTRA, S.; BANERJEE, S. *UV-Visible Spectrophotometric method development and validation of assay of Paracetamol tablet formulation*, J. Anal Bioanal Techniques. 3, 2012, 1-6.

6. CHEN, X.; LINE, R.F.*Gene action in wheat cultivars for durable, high-temperature adult plant resistance and interaction with race – specific, seedling resistance to pucciniastrii formis.* Phytopathology, 85, 1995, 567-572.

7. CHOONG, M. R.; BEOM R. K,; SONG H. H.; SONG M.C,; JOSEPH, W. K,; ANNE, J.; ERSON,Y.C.K. *Tobacco cultivars vary in induction of systemic resistance against Cucumber mosaic virus and growth promotion by Pseudomonas chlororaphis O6 and its gacS mutant*. European Journal of Plant Pathology. 119, 2007, 383-390 .

8. COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLEMENT, C.; AIT BARKA, E. *Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects*. Appl. Envirom. Microbiol. 71, 2005, 4951–4959.

9. EL-BOROLLOSY, M. A.; MONA M.O. *Induced systemic resistance against Cucumber mosaic cucumovirus and promotion of cucumber growth by some plant growth-promoting rhizobacteria*. Annals of Agricultural Science, 57, 2012, 91–97.

10. FUCHS, M.; PROVVIDENTI, R.; SLIGHTOM, J.L.; GONSALVES, D. *Evaluation of transgenic tomato plants expressing the coat protein gene of cucumber mosaic virus strain WL under field condition*. Plant disease. 80, 1996, 270-275.

11. GERHARDSON, B. *Biological substitutes for pesticides*. Trends Biotechnol. 20, 2002, 338–343.

12. HAMMOUDI, O. *Einfluss milkrobieller Antagonisten auf den Befall mit Phoma lingam und Vereticillium dahlia var. longisporum an Raps (Brassica napus L.var. napus).* Dissertation Univ. Kiel. 2007, 123 pp.

13. JAY, S.S. *Plant Growth Promoting Rhizopacteria, Potential Microbes for Sustainable Agriculture* .Marth. 2013.

14. KANDAN, A.; RAMIAH, M.; VASANTHI, V. J.; RADJACOMMARE, R.; NANDAKUMAR, R.; RAMANATHAN, A.; SAMIYAPPAN, R. *Use of Pseudomonas fluorescens-based formulations for management of tomato spotted wilt virus (TSWV) and enhanced yield in tomato.* 2007.

15. KATUL, L.; MAKKOUK, K. M. *Occurrence and serological relatedness of five cucurbit potyviruses in Lebanon and Syria*. Gen. Virol. 85, 1987, 3757-3763.

16. KHAMDAN, K. D. N. SUPRAPTA. *Induction of plant resistance against Soybean stunt virus using some formulation of Pseudomonas aeruginosa*. International society for Southcast Asian Agricultureal Science journal, 1,2011,98-105.

17. KISHORE. G.K.; PANDE. S.; PODILE. A.R. 2005. *Phylloplane bacteria increase seedling emergence, growth and yield of field-grown groundnut (Arachis hypogaea L.)*. Letters in Applied Microbiology. 40, 2005,260–268.

18. KLOEPPER, J.W.; TUZUN, S.; LIU, L.; WEI, G. *Plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic disease resistance*. In: Lumsden, R.D., Waughn, J.L. (Eds.), Pest Management: Biologically Based Technologies. American Chemical Society Books,Washington, DC, 1993, 36-65.

19. LIU, L.; KLOEPPER J.W.; TUZUN, S. *Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria*. Phytopathology. 85, 1995a, 695-698.

20. LIU, L.; KLOEPPER. J.W.; TUZUN. S. *Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria*. Phytopathology 85, 1995b, 843-847.

21. MURPHY, J. F.; REDDY, M. S.; RYU, C. M.; KLOEPPER, J. W.; AND LI, R.. *Rhizobacteria-mediated growth promotion of tomato leads to protection against Cucumber mosaic virus*. Phytopathology 93, 2003,1301-1307.

22. PALUKAITIS, P.; ROOSINCK, M. J.; DIETZGEN, R.G.; FRANCKI, R. I. B. *Cucumber mosaic virus*. Adv. Virus Res. 41, 1992, 281-348.

23. POSTMA, J.; MONTANARI, M.; VAN DEN BOOGERT, P.H.J.F. *Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost*. Eur. J. Soil Biol. 39, 2003, 157–163.

24. RAUPACH, G.S.; KLOEPPER, J.W. *Biocontrol of cucumber disuases in the field by plant growth promoting rhizobacterial with and without methylbromide fumigation*. Plant Disease .84, 2000, 1073–1075.

25. RAUPACH, G. S.; LIU, L.; MURPHY, J. F.; TUZUN, S.; KLOEPPER, J. W. *Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR).* Plant Disease. 80, 1996, 891-894.

26. SAHARAN, B.S.; NEHRA, V. *Plant growth promoting rhizobacteria:a critical review*. Life Sci. Med. Res. 2011, LSMR-21.

27. SHEHATA, SAWSAN F.; EL-BOROLLOSY, A.M. *Induction of resistance against zucchini yellow mosaic Potyvirus and growth enhancement of squash plants using some plant growth-promoting rhizobacteria.Aust*. J. Basic Appl. Sci. 2 , 2008, 174–182.

28. SHEHATA, SAWSAN.F.; EL-BOROLLOSY, A.M. *Kombucha filtrate as an inhibitory factor for Cucumber mosaic cucumovirus and bacterial contamination in banana tissue cultures*. Annals Agric. Sci., Ain Shams Univ. Cairo 52, 2007, 75–83.

29. SHOMAN, SAHAR.A.; ABD-ALLAH, NAGWA.A.; EL-BAZ, A.F. *Induction of resistance to tobacco necrosis virus in bean plants by certain microbial isolates*. Egypt. J. Biol. 5, 2003, 10–18.

30. SILVA, H.S.A.; ROMEIRO, R.S.; CARRER- FILHO, R.; PREIRE, J.L.A.; MIZUBUTI, E.S.G.; MOUNTEER, A. *Induction of systemic resistance by Bcillus cereus against tomato foliar diseases under field conditions*. Journal of Phytopathology . 152, 2004, 371-375.

31. SOLEIMANI, P.; MOSAHEBI, G.; HABIBI, M.K. *Identification of some viruses causing mosaic on lettuce and characterization of Lettuce mosaic virus from Tehran Province in Iran*. Afr. J. Agric.Res. 6 , 2011, 3029–3035.

32. SUDHAKAR, N.; DINESH S.L.; SUDHA, S.; KUMARAN, S.; MURUGESAN, K. *Induction of systemic resistance in Lycopersicon esculentum cv.PKM1against Cucumber mosaic virus by using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR).* Plant virus epidemiology symposium, 15-19 Oct 2007, ICRISAT,India.

33. VAN LOON, L.C.; BAKKER P.; PIETERSE, C.M.J. *Biocontrol Science and Technology Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria*. Annu. Rev. Phytopathol. 36, 1998, 453-483.

34. VAN PEER, R.; NIEMANN ,G.J.; SCHIPPERS, B. *Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusaruim wilt of carnation by Pseudomonas sp strain WCS417r*,Phytopathology 81, 1991,728-734.

35. VARVERI, C.; BOUTSIKA, K. *Characterization of cucumber mosaic cucumovirus isolates in Greece.* Plant Pathology, 48, 1999, 95-100.

36. YANG, X.; LIANGYI,K.; TIEN, P. *Resistance of tomato infected with cumcumber mosaic virus satellite RNA to potato spindle tuber viroid*. Ann. Appl.Biol.129,1996, 543- 551.

37. YOUNG, S.A.; GUO, A.; GUIKEMA, J.A.; WHITE, F.; LEACH, L.E. *Rice cationic peroxidase accumulation in xylem vessels during incompatible interaction with Xanthomonas oryzae pv. Oryzae*. Plant Physiol. 107, 1995, 1333-1341.

38. ZEHNDER, G.W.; YAO, C.; MURPHY, J.F.; SIKORA, E.J.; KLOEPPER, J.W. *Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria*. Biol Control 45, 2000, 127–137.