مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (39) العدد (3) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (39) No. (3) 2017

The Effect of Some Spices of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Disease Severity and Reduction of Virus Infection of *Cucumber mosaic virus* (CMV) on Tomato Plant under Greenhouse Conditions

Dr. Imad D. Ismail*
Dr. Yaser Hammad**
Ramez M. Al Shami***

(Received 21 / 11 / 2016. Accepted 1 / 6 /2017)

□ ABSTRACT □

This research aimed to study the effect of three species of bacteria *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* and *Frateuria aurantia* with three inoculation manner (seeds, shoots and seed, shoots) on suppressed the effect of *Cucumber mosaic virus* on tomato plants (pots), by measuring the disease severity and reduction of virus infection. The experiment carried out in a greenhouse in Tartus in 2016.

The results showed, that treatment with bacteria in single or mixed causing to reduction of disease severity and increase reduction of virus infection. In addition, the effect of bacteria was different according to the manner inoculation and the date of readings. The highest reduction of disease severity was observed in treatings A+B+F+CMVs+sh (after 14 and 28 days) 5%, 8.33% respectively. Consequently, the largest reduction of virus infection was viewed in A+B+F+CMVs+sh (after 14 and 28 days) %54.54, %54.54, respectively compared with the control was 0%.

Keywords: Plant Growth Promoting Rhizobacteria, CMV, Tomato, Disease severity, Reduction of virus infection.

[1] *** Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, SYRIA. Ismail.l@scs-net.org**
**** Associated Professor, , Department of soil and water sciences, , Faculty of Agriculture, Tishreen University, Yaser.hammad@tishreen.edu.sy.**
***** Post graduate Student, Plant Protection Dept., Faculty of Agriculture, University of Tishreen, Lattakia, Syria. Ramezalshami924@gemail.com.**

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (39) العدد (3) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (39) No. (3) 2017

تأثير بعض أنواع بكتريا الرايزوسفير في الشدة الإمراضية ونسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار على نبات البندورة في ظروف الزراعة المحمية

د. عماد داؤد اسماعيل *
د. ياسر علي حماد **
رامز محمد الشامي ***

(تاريخ الإيداع 21 / 11 / 2016. قبل للنشر في 1 / 6 / 2017)

□ ملخّص □

هدف البحث لدراسة تأثير استخدام ثلاثة أنواع من بكتريا *Azotobacter chroococcum* ، *Bacillus megaterium* و *Frateuria aurantia* بثلاث طرائق مختلفة (تلقيح بذور، تلقيح شتول، تلقيح بذور وشتول) في الحد من تأثير الإصابة بفيروس موزاييك الخيار *Cucumber mosaic virus* (CMV) على نباتات البندورة المزروعة في أصص عن طريق تقدير الشدة الإمراضية ونسبة تخفيض الإصابة الفيروسية. نفذ البحث في موسم 2016 ضمن نفق بلاستيكي في محافظة طرطوس.

أظهرت النتائج أن المعاملة بالبكتريا بشكل مفرد أو مختلط أدت إلى انخفاض الشدة الإمراضية وزيادة نسبة تخفيض الإصابة بفيروس موزاييك الخيار، كما اختلف تأثير التلقيح بأنواع البكتريا المدروسة حسب طريقة المعاملة وتاريخ أخذ القراءات وكان أكبر تخفيض للشدة الإمراضية للفيروس هي لمعاملة تلقيح بذور وشتول البندورة بالأنواع البكتيرية الثلاثة معاً، إذ بلغت (بعد 14 و28 يوماً من العدوى الفيروسية) 5، 8.33% على التوالي، بالمقارنة مع الشاهد 48.33 و61.66 %على التوالي. كما كان أكبر تخفيض لنسبة الإصابة هو للمعاملة السابقة إذ بلغت بعد 14 و 28 يوماً من العدوى الفيروسية 54.54%، 54.54% على التوالي بالمقارنة مع الشاهد 0%.

الكلمات المفتاحية: بكتريا الرايزوسفير، فيروس موزاييك الخيار. البندورة، الشدة الإمراضية. نسبة الإصابة.

* أستاذ، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
** أستاذ مساعد، قسم علوم التربة والمياه، كلية الزراعة جامعة تشرين اللاذقية، سورية.
*** طالب دراسات عليا (دكتوراه)، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين اللاذقية،سورية.

مقدمة:

تُعدّ البندورة .*Lycopersicon esculentum* Mill من محاصيل الخضار الرئيسة في سورية لقيمتها الغذائية، والاستهلاكية، والتصنيعية إذ وصل عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة 67977 بيتاً عام 2012 (المجموعة الإحصائية الزراعية، 2012). سجل عالمياً إصابة البندورة بأكثر من 30 فيروساً تتبع 16 فصيلة مختلفة (Martelli and Quacquarelli, 1983)، ومنها فيروس موزاييك الخيار *Cucumber mosaic virus*(CMV، جنس Cucumovirus فصيلة Bromoviridae) الذي يصيب أكثر من 1000 نوعاً نباتياً منها البندورة (Soleimani *et al.*, 2011). ينتقل الفيروس بالعصارة النباتية وبواسطة بذور أجناس نباتية مختلفة كالعائلة القرعية ونباتات التبغ، كما ينتقل بواسطة التطعيم والحامول وحبوب الطلع وينتقل من نبات إلى آخر بواسطة أكثر من (60) نوعاً من فصيلة المن *Aphidae* بالطريقة غير المثابرة Non persistent Manner (Francki, 1985, : Sutic *et al.,* 1999 ؛ Franki *et al., 1979, Brunt et al.,* 1996). تؤدي الإصابة إلى ظهور أعراض تتمثل بتشوه الأوراق الحديثة لتأخذ شكل رباط الحذاء وتضيق لتصبح الوريقات على شكل محاليق، كما تأخذ شكل الأوراق السرخسية وبهذا ينخفض الإنتاج بشدة، وتظهر أعراض الموزاييك على الأوراق مع تبقع شديد بالتناوب بين الأخضر الخفيف والأخضر الغامق ويتقزم النبات وتموت القمم(Brunt *et al.*,1996; Sutic *et al.*, 1999 ; Agrios, 2005; Cerkauskas,2004). ويُعد فيروس موزاييك الخيار من الفيروسات الأكثر خطورة على البندورة وقد سجل في سورية على البندورة في المنطقة الوسطى والساحلية (خليل، 2007).

تضم البكتريا المحفزة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) مجموعة متعددة من البكتريا المتواجدة في منطقة رايزوسفير النبات، والتي تعمل على تحفيز نوعي وكمي لنموه بشكل مباشر عن طريق تزويد النبات بمواد محفزة لنموه منتجة من قبل هذه البكتريا أو تسهيل امتصاص النبات للمواد الموجودة في التربة عن طريق إنتاج أو تغيير تركيز منظمات النمو مثل حمض الأندول الخلي وحمض الجبرلين والسايتوكينينات والاثيلين وتثبيت غاز الآزوت وإذابة الفوسفات المعدني والبوتاسيوم والعناصر المغذية الأخرى ,Abdel ghany *et al.*, 2013) (Singh, 2013 ; Saharan and Nehra, 2011، أما التحفيز غير المباشر للنمو فيظهر من خلال منعها لتأثير الممرضات المؤذية للنبات من التأثير عليه وذلك بالتضاد مع الممرضات (Bouizgarne, 2013).

تلعب بكتريا .PGPR دوراً أساسياً في المكافحة الحيوية إذ تستخدم ضد طيف واسع من الممرضات النباتية كالبكتيريا (Velusamy *et al.*,2013) والفطريات (عبد الله وعبيس، 2015 ;2014 Sivasakthi *et al.*) والنيماتودا (Anwar-nl-Haq *et al.*, 2011)، كما تقدم حماية للنبات من الأمراض الفيروسية .Zehnder *et al*,) 2000., 2001 ; Murphy *et al.*, 2003 ; Jee, 2007 ; El-Borollosy*et al.*, 2012 ; Jacobsen., 2013 ; Mishra *et al.*, 2014)

وجد من خلال دراسة قام بها Jetiyanon وآخرون (2002) على نباتات الخيار بعد 14 يوماً من العدوى بفيروس موزاييك الخيار بقاء الأوراق خضراء اللون وأعطت مظهرا طبيعيا لدى النباتات الملقحة بمزيج من 11 سلالة من بكتريا PGPR، مع حدوث منع لتطور الفيروس بشكل معنوي بالمقارنة مع الشاهد. وكان تأثير مزيج السلالات البكتيرية في الحد من الإصابة الفيروسية أكبر من تأثير كل سلالة لوحدها. كما أشارت دراسة قام بها Murphy وآخرون (2003) على نباتات البندورة لتحديد تأثير 5 عزلات من بكتريا .*Bacillus* spp في الحماية من فيروس موزاييك الخيار إلى انخفاض معنوي في شدة الإصابة والنسبة المئوية للإصابة بالمقارنة مع الشاهد.

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً للمساحات الكبيرة التي تزرع بمحصول البندورة من جهة وتعرضه للإصابة بفيروس موزاييك الخيار في الزراعات الحقلية والمحمية من جهة أخرى ونظراً لعدم وجود دراسات حول تأثير البكتريا المحفزة لنمو النبات على نباتات البندورة في سوريا، لذلك هدف البحث لدراسة تأثير بكتريا PGPR في الحد من تأثير فيروس موزاييك الخيارعلى نبات البندورة بقياس الشدة الإمراضية للفيروس (DS) Disease severity والنسبة المئوية الإصابة الفيروسية (RI) Reduction of virus infection.، في ظروف الزراعة المحمية.

طرائق البحث ومواده:

1-المادة النباتية ومكان تنفيذ البحث:

تم زراعة هجين البندورة سويتي Sweety F1 غير محدود النمو (نسبة الانبات 85%. النقاوة 99%. المنشأ الصين. البذور معاملة بـ TMTD. سنة الانتاج 2013. والثمار كروية ذات لون أحمر متعدد الحجرات). نُفذ البحث في الموسم الزراعي لعام 2016م(عروة ربيعية) في محافظة طرطوس في الساحل السوري في (قرية كاف الحمام) على ارتفاع 560 م عن سطح البحر داخل بيت بلاستيكي مساحته 165 م$_2$ (27.5 ×6 م) وارتفاعه 3 أمتار. كما تم تغطية الأبواب والنوافذ بقماش شبكي ناعم لمنع دخول الحشرات.

2-إنتاج الشتول:

زرعت بذور هجين البندورة في صواني إنبات من الستريبور ذات 220 حفرة. تم تعبئة الحفر بالتورف الزراعي المعقم (البيتموس) من شركة Clasmann الألمانية. قدمت للبادرات الخدمات الزراعية المطلوبة كما تم تغطيتها بشبك ناعم لمنع دخول الحشرات.

3- الزراعة وعمليات الخدمة:

استخدمت تربة زراعية جيدة الخواص متوسطة القوام، وخلط معها سماد عضوي متخمر بنسبة 4/1 حجماً وجمعت على شكل كومة وغطيت بشريحة من البلاستيك الشفاف سماكته 200 ميكرون، لمدة 5 أشهر، وذلك للقضاء على الأطوار الساكنة من الحشرات والنيماتودا والفطريات وبذور الأعشاب الضارة، بعد ذلك تم تعبئة الخلطة الزراعية ضمن أكياس بلاستيكية أبعادها 30×40 سم (قطر 30سم) سعتها 25 لتر، ثم وضعت ضمن البيت البلاستيكي،. زرعت الشتول ضمن الأكياس الزراعية داخل البيت البلاستيكي عندما وصلت لمرحلة الورقة الحقيقية الرابعة والخامسة (30 يوماً)، تم توزيعها حسب المعاملات والمكررات على 4 خطوط مزدوجة بحيث كان البعد بين الخط المفرد والآخر 40 سم وبين الخطين المزدوجين 100سم، وبلغ عدد نباتات التجربة 264 نباتاً ووزعت على مسافة 40 سم بين النبات والآخر ضمن نفس الصف، في حين كانت المسافة بين مكرر وآخر 100 سم وذلك لمنع تلامس النباتات بين معاملتين مختلفتين. قدمت لنباتات التجربة كافة العمليات الزراعية اللازمة من ري بالتنقيط، ورش دوري كل أسبوع بالمبيدات الحشرية (أسيتا ميبرايد 25% لمكافحة الحشرات الثاقبة الماصة الناقلة للأمراض الفيروسية، وإمامكتين بنزوات 5% لمكافحة الحشرات القارضة)، و المبيدات الفطرية (كبريتات النحاس، بينوميل، ميثيل ثيوفانات، ميتالاكسيل 8%و مانكوزيب 64%، كربندازيم) والأكاروسية(أبامكتين، بروبارجيت).

ربيت النباتات تربية عمودية قصيرة على ساق واحدة ثم أزيلت الفروع الجانبية النامية في آباط الأوراق على الساق الرئيسية كافة بشكل دوري.

4- تنشيط العزلة الفيروسية المستخدمة في الدراسة:

استخدمت عزلة محلية من فيروس موزاييك الخيار معرفة في المركز الدولي لبحوث المناطق الجافة ICARDA ومحفوظة كعينات مجففة ومبردة في مخبر الأمراض الفيروسية- كلية الزراعة-جامعة تشرين. تم تنشيط عزلة الفيروس على هجين البندورة دلولة، ثم أخذت من نباتات البندورة أوراق ظهرت عليها أعراض الإصابة النموذجية بالفيروس وتم التأكد من ذلك مصلياً باختبار عينة في منظمة ICARDA في حلب. وتم تحضير اللقاح الفيروسي بسحق حوالي 20 غ عينة نباتية مصابة من نباتات مختبرة ضمن جفنة بورسلان بعد إضافة مادة كربيد السيليكون و40 مل من محلول فوسفاتي منظم درجة حموضته PH=7 حسب طريقة Jefferies (1998).

5-تنشيط السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة وتحضير اللقاح البكتيري:

استخدمت ثلاث عزلات بكتيرية تعود لأنواع مختلفة كالآتي:

5-1- عزلة من *Azotobacter chroococcum*:

عزلة بكتيرية محلية(طرطوس، كاف الحمام) مثبتة للآزوت الجوي معزولة من تربة مزروعة بنبات البندورة (حماد والشامي، 2017)، تم تنميتها على البيئة المتخصصة Ashby,s Mannitol Agar، ضمن أطباق بتري وحضنت عند درجة حرارة 28مْ لمدة ثلاثة أيام.

5-2- عزلة من *Bacillus megaterium*:

عزلة بكتيرية ميسرة للفوسفور معزولة من المستحضر التجاري (BIOPHOS/GET-PHOS) (حماد والشامي، 2017)، قمنا بتنميتها على البيئة المتخصصة بالبكتيريا المحلة للفوسفور Pikoviskaya,s Agar، ضمن أطباق بتري، ثم حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 33 مْ لمدة ثلاثة أيام.

5-3- عزلة من *Frateuria aurantia*:

عزلة بكتيرية ميسرة للبوتاس معزولة من المستحضر التجاري (BIO-NPK/BHARPUR) (حماد والشامي، 2017)، قمنا بتنميتها على البيئة المتخصصة بالبكتيريا المحلة للبوتاس – Glocuse- Yeast extract $CaCO_3$، ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28 مْ لمدة ثلاثة أيام.

تحضير اللقاح البكتيري:

باستخدام بيئة غذائية سائلة Tryptic Soy Broth (TSB) ، حضرت في زجاجات خاصة بتنمية البكتريا BIOGEN/ سعة 2 ل تسمح بالتحريك وتأمين التهوية الملائمة للنمو/، استخدمت وحدة تنمية لكل عزلة بكتيرية، لقحت البيئة السائلة بالعزلات بعد تنشيطها والحصول على مزارع حديثة، وضعت على هزاز بسرعة 100 دورة بالدقيقة وحضنت على درجة حرارة 28 درجة مئوية، لمدة 48 ساعة، تم استخدام شريحة العد Bürker لتقدير كثافة البكتريا وضبطها في المعلق وفق التركيز المطلوب 10^9 خلية/مل.

6- طريقة تلقيح نباتات البندورة بالبكتريا والعدوى بفيروس موزاييك الخيار:

6-1- التلقيح بالبكتريا:

. لقحت بذور البندورة المختبرة بالمعلق البكتيري 10^9 خلية/مل بنقعها لمدة 4 ساعات، وزرعت في صواني الإنبات، التاريخ يجب ذكره. وبعد 30 يوماً من الزراعة نقلت شتول البندورة إلى الأكياس البلاستيكية ضمن البيت المحمي ثم أضيف لكل نبات مزروع مباشرة 15مل من المعلق البكتيري تركيزه 10^9 خلية/ مل حسب كل معاملة، وأضيف 15 مل ماء مقطر للشاهد.

6-2- العدوى بفيروس موزاييك الخيار CMV:

أعديت النباتات وفق معاملات البحث بلقاح فيروس موزاييك الخيار على الورقتين الحقيقيتين الأولى والثانية بعد أسبوع من نقلها إلى الأكياس البلاستيكية _ بعد أسبوع من التلقيح بالبكتريا_ حسب كل معاملة، بما فيها معاملة الشاهد المعدى بالفيروس فقط.

7- تصميم البحث والتحليل الإحصائي:

اتبع في تصميم البحث نظام العشوائية الكاملة حيث تضمن البحث 22 معاملة بأربع مكررات لكل معاملة و3 نباتات لكل مكرر (جدول 1). بلغ عدد النباتات الكلي 264 نباتاً. المسافة بين نبات وأخر ضمن نفس الصف 40 سم وبين المكرر وآخر 100 سم.

جدول (1): تصميم ومعاملات البحث

طريقة المعاملة بالبكتريا	معاملات البحث						
تلقيح بذور	A+CMV s	B+CMV s	F+CMV s	A+B+CMV s	A+F+CMV s	B+F+CMV s	A+B+F+CMV s
تلقيح شتول	A+CMV sh	B+CMV sh	F+CMV sh	A+B+CMV sh	A+F+CMV sh	B+F+CMV sh	A+B+F+CMV Sh
تلقيح بذور وشتول	A+CMV s+sh	B+CMV s+sh	F+CMV s+sh	A+B+CMV s+sh	A+F+CMV s+sh	B+F+CMV s+sh	A+B+F+CMV s+sh
	معاملة الشاهد المصاب المعدى بفيروس موزاييك الخيار فقط CMV						

***Azotobacter chroococcum*(A), *Bacillus megaterium*(B),**

.،*Fraturia aurantia*(F) تلقيح بذور:s، تلقيح شتول :sh، تلقيح شتول وبذور :s+sh

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstat-12، واختبار One-way ANOVA (no Bloking)، ومقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD 5% واختبار Duncan's.

8- القراءات:

تم أثناء الدراسة تسجيل القراءات التالية:

8-1- الشدة الإمراضية Disease severity (DS):

تم حسابها من المعادلة التالية:

$$\text{الشدة الإمراضية (DS)} = \frac{\sum \text{عدد النباتات المصابة في كل درجة} * \text{درجة المرض}}{\text{عدد النباتات الكلي} * \text{على درجة للمرض}} * 100$$

قدرت درجات المرض باستخدام السلم التالي (Murphy *et al*., 2003):

0: لا توجد أعراض. 2: أعراض موزاييك معتدل على الأوراق. 4: أعراض موزاييك شديد على الأوراق. 6: موزاييك وتشوه أوراق. 8: موزاييك وتشوه شديد في الأوراق. 10: موزاييك وتشوه أوراق شديد وتقزم.

تم القياس بعد 14 و28 يوماً من الإعداء الاصطناعي بالفيروس لكل المعاملات المدروسة.

8-2- النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية Reduction of virus infection (RI):

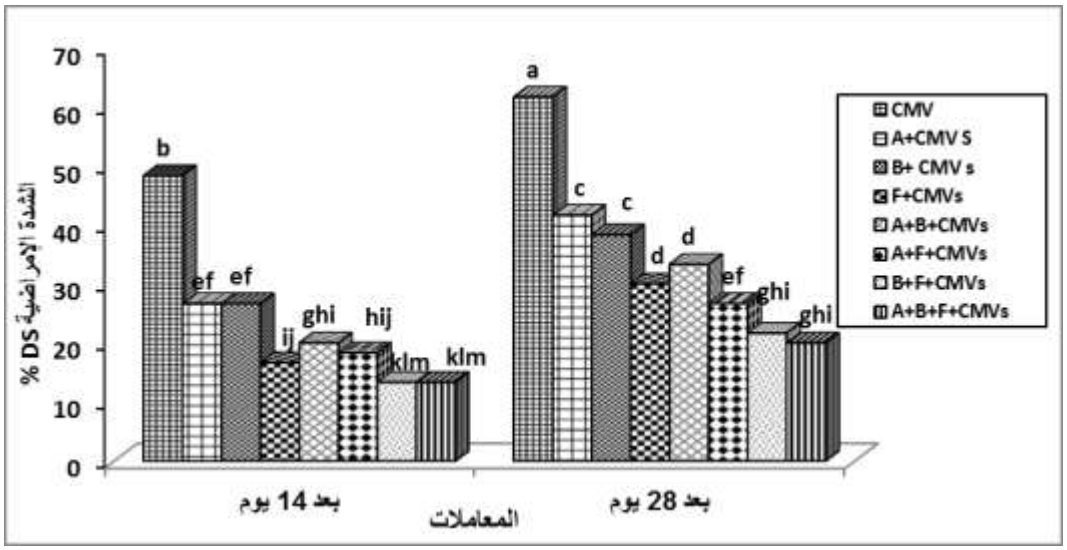
حسبت النسبة المئوية لتخفيض الإصابة من المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية (RI)} = \frac{\text{المعاملة} - \text{الشاهد}}{\text{الشاهد}} * 100$$

النتائج والمناقشة:

1- الشدة الإمراضية (DS) لفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة:

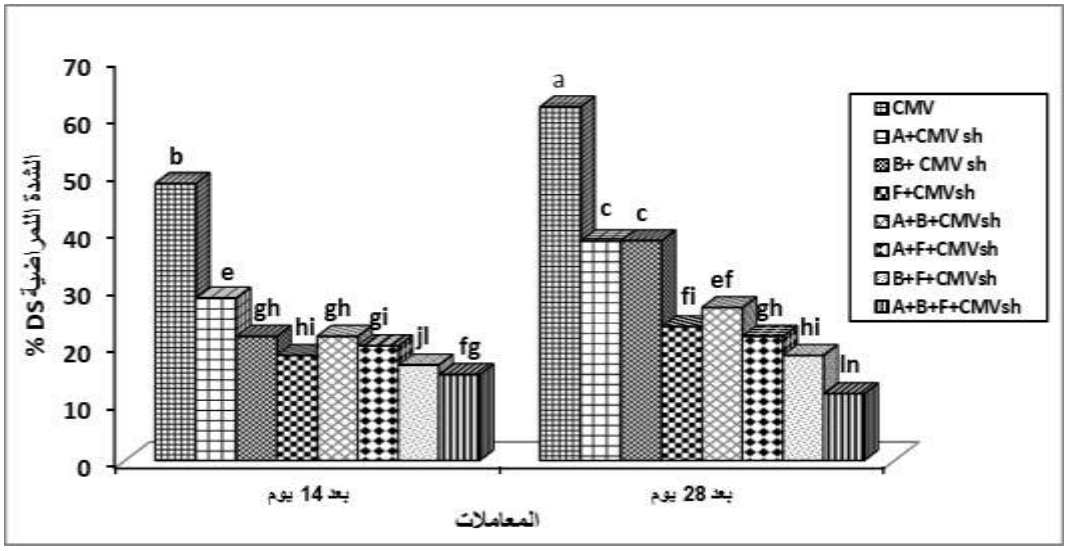
يتبين من الشكل (1) أنّ معاملات تلقيح بذور البندورة بالأنواع البكتيرية المدروسة (A) *Azotobacter chroococcum* و (B) *Bacillus megaterium* و (F) *Frateuria aurantia* خفضت الشدة الإمراضية للفيروس في جميع المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى بالفيروس فقط وبفروق معنوية. وكان أكبر خفض للشدة الإمراضية هي للمعاملات F+CMVs و B+F+CMVs و A+B+F+CMVs إذ بلغت بعد 14 يوماً من العدوى الفيروسية 16.66% ،13.33%,13.33% وبعد 28 يوماً من العدوى الفيروسية 30%، 21.66%، 20% على التوالي، بالمقارنة مع الشاهد 48.33 و61.66، مع الزمن ازداد خفض الشدة الإمراضية في جميع المعاملات المدروسة.



شكل (1) الشدة الإمراضية DS% لفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة الملقحة ببكتريا (PGPR) (معاملة بذور S) ضمن الأصص بعد 14 و28 يوماً من العدوى الفيروسية. LSD 5% = 3.36

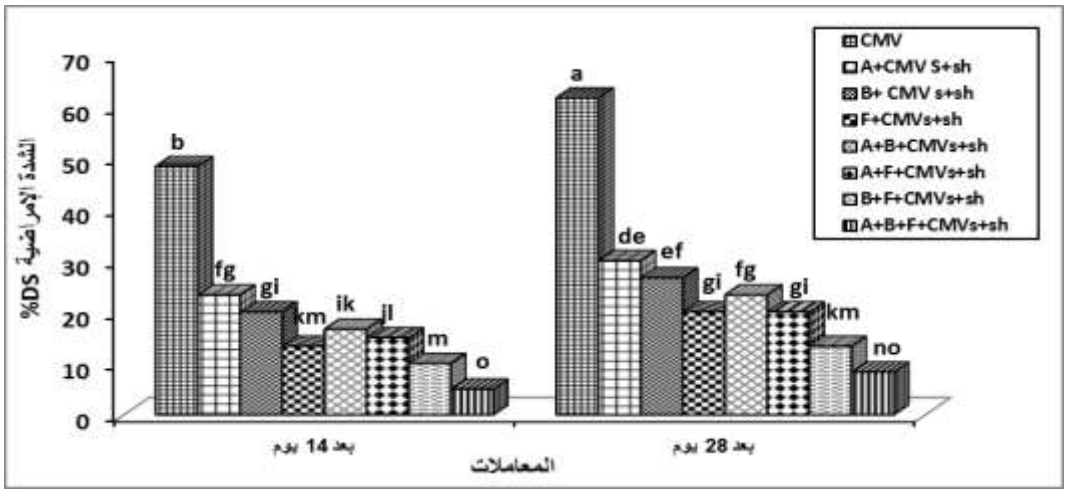
كما وجد من خلال النتائج الموضحة في الشكل (2) أنه بالنسبة لمعاملات تلقيح شتول البندورة على حدة بالأنواع البكتيرية المدروسة بعد التشتيل مباشرةً في الأصص ومن ثم العدوى بفيروس موزاييك الخيار،أدت لتخفيض الشدة الإمراضية للفيروس في كل المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى بالفيروس فقط، واختلفت حسب تاريخ أخذ القراءات مع وجود فروقاً معنوية بين كافة المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى، وكان أكبر

تخفيض للشدة الإمراضية هي للمعاملات F+CMVsh و B+F+CMVsh و A+B+F+CMVsh إذ بلغت بعد 14 يوماً من العدوى الفيروسية 18.33% ،16.66%، 15% وبعد 28 يوماً من العدوى الفيروسية 23.33%، 18.33%، 11.66% على التوالي، بالمقارنة مع الشاهد 48.33% و61.66%.



شكل (2) الشدة الإمراضية DS% لفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة الملقحة ببكتريا (PGPR) (معاملة شتول sh) ضمن الأصص بعد 14 و28 يوماً من العدوى الفيروسية. LSD 5% = 3.36

بينما يظهر الشكل (3) أن معاملات تلقيح بذور البندورة ثم الشتول بالبكتريا ومن ثم العدوى بفيروس موزاييك الخيار خفضت الشدة الإمراضية للفيروس بشكل كبير، وأظهرت فروقاً معنوية كبيرة في تخفيض الشدة الإمراضية للفيروس في كل المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى بالفيروس فقط مع الاختلاف حسب تاريخ أخذ القراءات بحيث يزداد التأثير بالتقدم بالزمن، وكان أكبر تخفيض للشدة الإمراضية هي للمعاملات F+CMVs+sh و B+F+CMVs+sh و A+B+F+CMVs+sh إذ بلغت بعد 14 يوماً من العدوى الفيروسية 13.33% ،10%، 5% وبعد 28 يوماً من العدوى الفيروسية 20%، 13.33%، 8.33% على التوالي، بالمقارنة مع الشاهد 48.33% و61.66%.

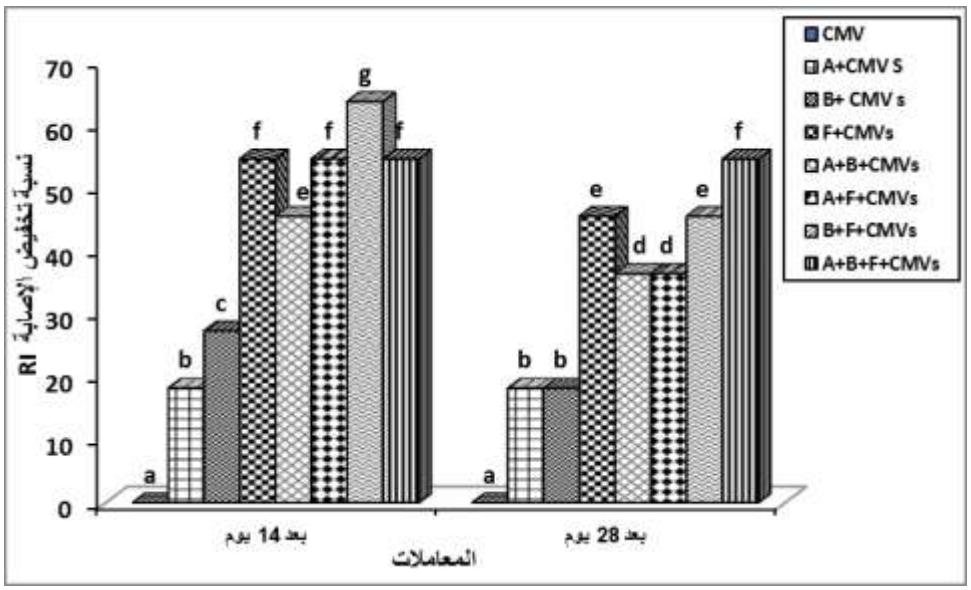


شكل (3) الشدة الإمراضية DS% لفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة الملقحة ببكتريا (PGPR) (معاملة بذور وشتول، s+sh) ضمن الأصص بعد 14 و28 يوماً من العدوى الفيروسية. LSD 5% = 3.36

من خلال النتائج السابقة وجد اختلاف في الشدة الإمراضية للفيروس حسب طريقة التلقيح بالبكتريا (بذور، شتول، شتول وبذور)، إذ تفوقت طريقة التلقيح بالبذور والشتول معاً معنوياً على طريقتي التلقيح البكتيري بالبذور والشتول كل على حدة في تحفيز المقاومة ضد فيروس موزاييك الخيار، وقد يعود ذلك لتحفيز نمو نبات البندورة بشكل أكبر نتيجة لزيادة واستمرار تكاثر البكتريا المحفزة للنمو بشكل أكبر عند تلقيح بذور وشتول البندورة معاً. كما تبين أن السلالات البكتيرية الثلاثة لها القدرة على تخفيض شدة الإصابة الفيروسية، وكانت السلالة البكتيرية *Frateuria aurantia* هي الأفضل في تخفيض الشدة المراضية بالمقارنة مع السلالتين الأخريين.

2- النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية Reduction of virus infection (RI):

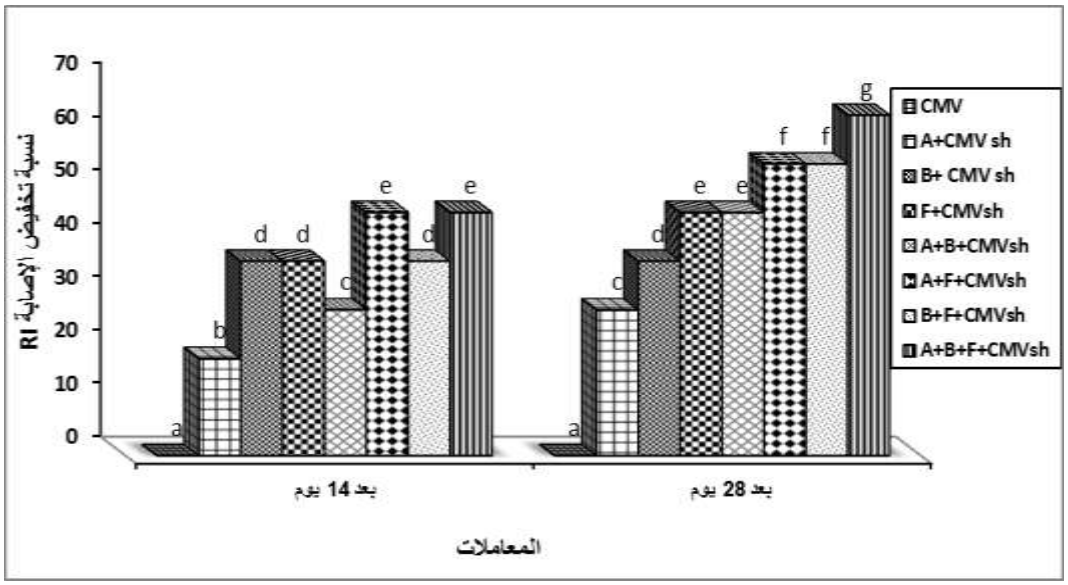
تبين النتائج الموضحة في الشكل (4) أنه بالنسبة لمعاملات تلقيح بذور البندورة بالأنواع البكتيرية المدروسة *Azotobacter chroococcum* (A) و *Bacillus megaterium* (B) و *Frateuria aurantia* (F) ومن ثم العدوى بفيروس موزاييك الخيار وجود زيادة في النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية في كل المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى بالفيروس فقط، ووجد هناك فروقاً معنوية بين الشاهد وكافة المعاملات المدروسة مع الاختلاف حسب تاريخ أخذ القراءات، وكان أكبر تأثير هو للمعاملات F+CMVs و A+F+CMVs و B+F+CMVs و A+B+F+CMVs إذ بلغت بعد 14 يوماً من العدوى الفيروسية 54.54%، 54.54%، 63.63%، 54.54% و وانخفضت بعد 28 يوماً من العدوى الفيروسية إلى 45.45%، 36.36%، 45.45%، 54.54%على التوالي، بالمقارنة مع الشاهد 0%.



شكل (4): النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية (RI) بفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة الملقحة ببكتريا (PGPR) (معاملة بذور s) ضمن الأصص بعد 14 و28 يوماً من العدوى الفيروسية.LSD 5% = 1.58

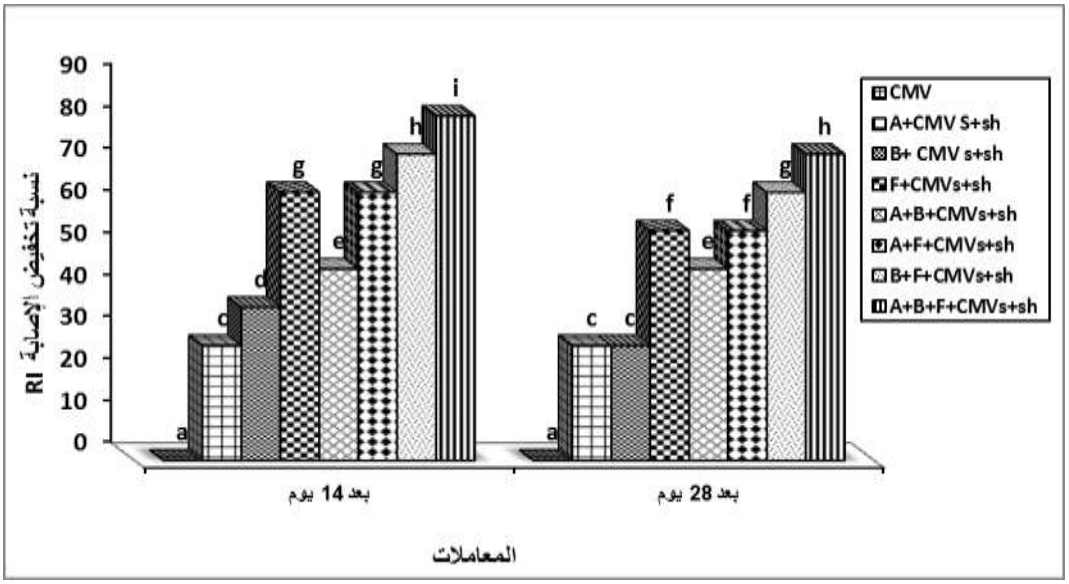
كما وجد من خلال النتائج الموضحة في الشكل (5) أن معاملات تلقيح شتول البندورة بالأنواع البكتيرية ومن ثم بفيروس موزاييك الخيار، زادت من النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية في كل المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى بالفيروس فقط، وأظهرت فروقاً معنوية كبيرة في زيادة النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية في كل المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى بالفيروس فقط مع الاختلاف حسب تاريخ أخذ القراءات بحيث

يزداد التأثير بالتقدم بالزمن، وكان أكبر تأثير هو للمعاملات F+CMVsh و A+F+CMVsh و A+B+F+CMVsh إذ بلغت بعد 14 يوماً من العدوى الفيروسية 45.45% للمعاملات الثلاث، في حين زادت النسبة المئوية لتخفيض الإصابة بعد 28 يوماً من العدوى الفيروسية وكان أكبر تأثير هو للمعاملة (A+B+F+CMVsh) إذ بلغت 63.63%، بالمقارنة مع الشاهد 0%، وقد يعود تخفيض شدة الأعراض الفيروسية للظروف البيئية المحيطة أثناء التجربة وارتفاع درجات الحرارة داخل البيت المحمي ضمن العروة الربيعية.



شكل (5): النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية (RI) بفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة الملقحة ببكتريا (PGPR) (معاملة شتول sh) ضمن الأصص بعد 14 و28 يوماً من العدوى الفيروسية. LSD 5% = 1.58

أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (6) أن معاملات تلقيح بذور وشتول البندورة بالأنواع البكتيرية المدروسة ومن ثم بفيروس موزاييك الخيار، زادت من النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية في كل المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد المعدى بالفيروس فقط، ووجد فروقاً معنوية بين الشاهد وكافة المعاملات المدروسة مع الاختلاف حسب تاريخ أخذ القراءات، وكان أكبر تأثير هو للمعاملات F+CMVs+sh و A+F+CMVs+sh و B+F+CMVs+sh و A+B+F+CMVs+sh إذ بلغت بعد 14 يوماً من العدوى الفيروسية 54.54%، 54.54%، 63.63%، 54.54% على التوالي، وانخفضت نسبة تخفيض الإصابة بعد 28 يوماً من العدوى الفيروسية إلى 45.45%، 36.36%، 45.45%، 54.54%على التوالي، بالمقارنة مع الشاهد 0%.



شكل (6): النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية (RI) لفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة الملقحة ببكتريا (PGPR) (معاملة بذور وشتول s+sh) ضمن الأصص بعد 14 و28 يوماً من العدوى الفيروسية.LSD 5% = 1.58

أشارت النتائج السابقة لوجود اختلاف في النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية حسب طريقة التلقيح بالبكتريا (بذور، شتول، شتول وبذور)، إذ تفوقت طريقة التلقيح بالبذور والشتول معاً معنوياً على طريقتي التلقيح البكتيري بالبذور والشتول كل على حده في تحفيز المقاومة ضد فيروس موزاييك الخيار وحماية النبات في زيادة النسبة المئوية لتخفيض الإصابة. كما تبين أن السلالات البكتيرية الثلاثة لها القدرة على زيادة النسبة المئوية لتخفيض الإصابة الفيروسية مع تفوق السلالة البكتيرية *Frateuria aurantia* في جميع المعاملات المفردة والمختلطة التي توجد فيها على السلالتين الأخريين في زيادة النسبة المئوية لتخفيض الإصابة.

وجد في دراسات سابقة (Raupach *et al*., 1996; Murphy *et al*., 2003) أن سلالات مختلفة من PGPR أظهرت قدرتها على تحفيز المقاومة ضد فيروس موزاييك الخيار، وكانت شدة الإصابة أقل في النباتات المعاملة بالبكتريا بالمقارنة مع الشاهد المصاب بفيروس موزاييك الخيار. كما أشار Murphy عام 2003 أن سلالات من بالبكتريا المحسنة للنمو قدمت الحماية للنباتات المعاملة بها من فيروس *Tomato mottle virus* (ToMoV) إذ خفضت من الشدة الإمراضية للفيروس ضمن ظروف الزراعة المحمية. كما بين Kloeper وآخرون 2004 أن الترابط الموجود بين أكثر من سلالة بكتيرية يزيد من مقاومة النبات لمختلف الأمراض وضمن الظروف البيئية المختلفة. وجد أن تأثير مزيج السلالات البكتيرية المعاملة بها بذور نباتات الخيار (Jetiyanon *et al*., 2002) حدّت من الإصابة بفيروس موزاييك الخيار بدرجة أكبر من تأثير كل سلالة لوحدها، وتتوافق نتائج دراستنا مع الدراسات السابق ذكرها.

كما تبين من خلال تجربة أجريت ضمن البيوت المحمية أن بكتريا PGPR السلالة البكتيرية *Bacillus subtilus* IN937b قد حفزت المقاومة لدى نباتات البندورة ضدّ فيروس موزاييك الخيار إذ بلغت نسبة الإصابة 32% بالمقارنة مع النباتات الغير معاملة بالبكتريا إذ بلغت نسبة الإصابة 88% (Zehnder*et al.*2000., 2001). وفي دراسة أخرى وجد Mahdy وآخرون (2010) أن راشح الكمبوشا (خميرة وبكتريا نافعة) قد خفض من الشدة الإمراضية DS لفيروس موزاييك الخيار وزاد من نسبة تخفيض الإصابة. وفي دراسة أخرى مشابهه El-Doudoug وآخرون

(2012) حفزت 5 عزلات مصرية من بكتريا .*Streptomyces* spp على شتول نباتات الخيار المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ضد الإصابة بفيروس موزاييك الخيار CMV عن طريق تخفيض الشدة الإمراضية. وفي دراسة مشابهه وجد Jacobsen وآخرون (2013) أن بكتريا *Bacillus mycoides* السلالة (BmJ)J قد خفضت من نسبة الإصابة بفيروس واي البطاطا *Potato Y virus* (PVY) بنسبة 20-70% في نباتات البطاطا. كما أشار Murphy وآخرون عام 2003 إلى أن الشدة الإمراضية لفيروس موزاييك الخيار ونسبة تخفيض الإصابة على نباتات البندورة كانت أكبر بعد 14 يوماً من العدوى الفيروسية منها بعد 28 يوماً وهذا عائد لكون البكتريا المحفزة قد حسنت النمو دون أن تحرض على تشكيل المواد المضادة لتأثير وتضاعف الفيروس وهذا يتفق مع نتائج دراستنا. كما بين أنه في حال تغطية البذور أو تلقيح الشتول لا يوجد فرق بين المعاملتين، المهم هو توضع البكتريا المحفزة حول جذر النبات لتحفيز النمو وحمايته من الممرضات، وإن أعراض وشدة الإصابة الفيروسية للنباتات المعاملة بالبكتريا تشبه أعراض وشدة الإصابة عند النباتات البالغة إذ تكون ضعيفة ولا تؤثر على النبات لكونه طور وسائل دفاعية للحماية من الإصابة، وبالتالي تخفيض نسبة الإصابة بالمقارنة مع الإصابة للنباتات الفتية، وهذا يشير إلى أن البكتريا المحفزة لنمو النبات تحفز النبات الفتيّ على تشكيل وسائل دفاعية للحماية من الممرضات بشكل مبكر على غرار النباتات البالغة مما يسمح بمقاومة الممرض والتقليل من أضراره.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

-خفضت السلالات البكتيرية الثلاثة من شدة الإصابة، وزادت من نسبة تخفيض الإصابة بفيروس موزاييك الخيار على نباتات البندورة وكان أكبر تأثير للمعاملات F+CMV و F+B+CMV و A+B+F+CMV.

-لعبت طريقة التلقيح بالبكتريا دوراً هاما في تخفيض الإصابة وكانت الأفضل طريقة المعاملة المزدوجة للبذور والشتول عند التشتيل.

التوصيات:

-إمكانية استخدام بكتريا الدراسة في تحفيز المقاومة لدى النباتات ضد فيروس موزاييك الخيار.

المراجع:

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

2. حماد، ياسر و رامز الشامي. *توصيف بعض أنواعبكتريا الرايزوسفير المحفزة لنمو النبات من بعض الأسمدة الحيوية والترية*. مجلة جامعة البعث. سورية. 2017. المجلد 39. ص25.

3. خليل، حسن. *التحري عن الأمراض الفيروسية على البندورة في المنطقة الوسطى والساحلية*. مجلة جامعة البعث. *سورية*، 2007، المجلد 29 العدد 2، 231-246.

4. عبد الله، علي حسين و عبد علي عبيد عبيس. *تقييم كفاءة عامل المقاومة الإحيائية Azotobacter chroococcum في مكافحة الفطر Rizoctonia solani مسبب مرض تعفن جذور الباذنجان (Solannum melongena L.)* تحت ظروف الظلة الخشبية. مجلة بابل/ العلوم الصرفة والتطبيقية/ العدد 1 المجلد 23:2015. ص11.

5. ABDEL GHANY, T. M.; ALAWLAQI, M. M.; AL ABBOUD, M. A. *Role Of Biofertilizers In Agriculture: A Brief Review.* Review Article. Mycopath 11, 2. 2013. p 95-101.

6. AGRIOS, G.N. *Plant pathology*. 5thED. Elsevier,.2005. 922p.

7. ANWAR-UL-HAQ., M.; SAFDAR A. A.; MUHAMMAD S., NAZIR J.; SAJID A.. *Management of Root Knot Nematode Meloidogyne incognita by Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Tomato.* Pakistan J. Zool., vol. 43. 6, 2011. pp. 1027-1031.

8. BOUIZGARNE., B.. *Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management.* Springer. 2013. 454p 40 illus. hardcover**.**

9. BRUNT, A., K. CARBTREE, M. DALLWITZ, A. GIBBS AND L. WATSON EDITORS. *Viruses of plants : descriptions and lists from the VIDE database. CAB*. International. Printed and bound in the UK at the University press, Cambridge 1996.1484pp

10. CERKAUSKAS, RAY,. *Cucumber mosaic virus* (CMV). Published by AVRDC- The World Vegetable Center, P.O. Box 42.2004. Shanhua, Taiwan 741,ROC.

11. EL-DOUGOUG., KH.A., M. F. GHALY and M. A. TAHA.. *Biological Control of Cucumber Mosaic Virus by Certain Local Streptomyces Isolates: Inhibitory Effects of Selected Five Egyptian Isolates*. International Journal of Virology 8 , vol 2.2012: 151-164.

12. FRANCKI, R.I. B., D. W. MOSSOP and T. HATTA. *Cucumber mosaic virus*. *Description of plant virus.* Common W. Mycol. Inst. Assoc. Appl., Kew, Surrey England.1979 ., *No. 213.*

13. FRANCKI, R.I.B. *The viruses and their taxonomy*. In: Polyhedron virions with tripartite genomes Plenum Press (R.I.B. Francki, Ed.), The plant viruses, New York, 1985. 1-18.

14. JACOBSEN, B. J.*Managing PVY in Potato*. Montana State University, Bozeman, MT uplbj@montana.edu. Western Washington Potato Workshop. .2013. p47

15. JEE.,HYEONG-JIN. *Current Status Of Bio-Fertilizers And Bio-Pesticides Development, Farmer's Acceptance And Their Utilization In Korea*. Rural Development Administration, Suwon. 2007. 441-707p, Korea.

16. JEFFRIES C.J. Potato. FAO/IPGRI technical guidelines forthe safe movement of germplasm. 1998.vol 19, 62–63.

17. JETIYANON.,KANCHALEE and JOSEPH W. KLOEPPER. *Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases.*Biological Control . 2002.vol 24. 285–291.

18. KLOEPER, J. W., REDDY, M. S., KENNEY, D. S., KOKALIS-BURELLE, N., MARTINEZ-OCHOA, N., and VAVRINA, C. S. *Theory and applications of rhizobacteria for transplant production and yield enhancement*. 2004. Acta Hortic. 631: 217-229.

19. MAHDY., A.M.M.; HAFEZ, M.A.; EL-DOUGDOUG, KH.A.; FAWZY, R.N. and SHAHWAN, EMAN S.M. *Effect Of Two Biotic Inducers on Salicylic Acid Induction in Tomato Infected with Cucumber Mosaic Cucumovirus.* 3rd Inter. Conf. Virol., Cairo Univ. Center, Nov. 24-25. Egyptian J. Virol, SP. 2010.Issue, 355-372.

20. MARTELLI G. P. and QUACQUARELLI A., *The present status of Tomato and pepper viruses*. *ActaHorticulturae*. ISHS, 1983. 127: 39-64.

21. MISHRA., SHEFALI, KAVI SHIVANANDAPPA JAGADEESH, PALLIATH ULPIRAATH KRISHNARAJ, SAGAR PREM. *Biocontrol of tomato leaf curl virus (ToLCV) in tomato with chitosan supplemented formulations of Pseudomonas sp. under field conditions*. AJCS 8, vol 3:347-355 2014 ISSN:1835-2707.

22. MURPHY., J. F.; M. S. REDDY; CH.-M. RYU, J. W. KLOEPPER and R. LI. *Rhizobacteria-Mediated Growth Promotion of Tomato Leads to Protection Against Cucumber mosaic virus*. Phytopathology. 93.2003. p1301-1307.

23. RAUPACH., GEORG S., LI LIU, JOHN F. MURPHY, SADIKTUZUN and JOSEPH W. KLOPPER. Induced Systemic Resistance in Cucumber and Tomato AgainstCcumber Mosaic CucumovirusUsing Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). 1996 Plant Dis. 80:891-894.

24. SAHARAN., B. S. and NEHRA, V. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*: A Critical Review. Life Sciences and Medicine Research, Volume 2011: LSMR-21.

25. SINGH., J. S. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria Potential Microbes for Sustainable Agriculture*. (Central) University, Raibarely Road, Lucknow 226025 Uttar Pradesh, India. 2013.pp7.

26. SIVASAKTHI., S.; G. USHARANI and P. SARANRAJ. *Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) Pseudomnas fluorescens and Bacillus sbtils*: A review. African Journal of Agriculture research. 9(16).8 pp. 2014 . 1265-1277.

27. 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 (13), 2011 3029–3035.

28. SUTIC,P., D.D., FOR, R.E and TOSIC, M.T. *Hand book of plant virus diseases.* CRC prees, 1999.553pp.

29. VELUSAMY., PALANIYANDI,. J. EBENEZAR IMMANUEL,. SAMUEL S. GNANAMANICKAM. *Rhizosphere Bacteria for Biocontrol of Bacterial Blight and Growth Promotion of Rice*. Rice Science,2013 20 vol 5: 356−362.

30. ZEHNDER., G. W.; MURPHY, J F.; EDWARD, J. S. and KLOEPPER, J. W. *Application of rhizobacteria for induced resistance.* European Journal of Plant Pathology 107: 2001. P 39-50.

31. ZEHNDER., GEOFFREY W., CHANGBIN YAO, JOHN F. MURPHY, EDWARD R. SIKORA and JOSEPH W. KLOPPER. *Inducttion of Resistance in Tomato Against Cucumber mosaic virus by Plant Growth- Promoting Rhizobacteria.* Printed in the Netherlands Biocontrol 2000. 45: 127-137p.