تأثير معاملة بذور صنف البندورة ميريل بأربع سلالات من بكتيريا PGPR في تحفيز نشاط أنزيم البيروكسيداز وتحسين نمو النباتات

حنان قواس*[(1)] وعمر حمودي[(2)] وأحمد أحمد[(3)] وعماد اسماعيل[(4)]

(1). قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

(2). مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

(3). مركز البحوث العلمية الزراعية في طرطوس، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

(4). قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

(*للمراسلة: م. حنان قواس. البريد الإلكتروني: hanankawas1@gmail.com).

تاريخ الاستلام: 2016/12/18 تاريخ القبول: 2017/02/14

الملخص

أجري هذا البحث لدراسة تأثير معاملة بذور البندورة بأربع سلالات من البكتريا المحسّنة لنمو النباتات (PGPR): *Bacillus subtillis* ، *Serratia plymuthica* HRO-C48، *Pseudomonas chlororaphis* MA342 B2g، *B. subtillis* FZB27 لزيادة نشاط إنزيم البيروكسيداز وتحسين نمو نباتات البندورة في الزراعة المحمية، حيث خلطت البذور مع المعلق البكتيري، للسلالات البكتيرية، المحضّر بتركيز (10^{10} cfu /مل) لكل سلالة على حدة. أشارت النتائج إلى أن المعاملة بالبكتريا قد حسّنت من نشاط إنزيم البيروكسيداز بعد 78 يوماً بنسب تراوحت بين (2.15-6.35)% قياساً بالشاهد غير المعامل (0.002) نانومول، وبعد 94 يوماً من المعاملة بنسب تراوحت مابين (60.71- 232.14)% قياساً بالشاهد غير المعامل (0.056) نانومول، وحسّنت من ارتفاع نباتات البندورة المعاملة بنسب تراوحت مابين (1- 21.37) % قياساً بالشاهد غير المعامل (57.83) سم، وحسنت من الوزن الطري للمجموع الخضري بنسبة تراوحت مابين (9.25- 122.56) % قياساً بالشاهد غير المعامل (317) غ, وحسنت من الوزن الجاف للمجموع الخضري بنسبة تراوحت مابين (3.89- 61.98) % قياساً بالشاهد غير المعامل (111.33)غ، وحسنت من الوزن الطري للمجموع الجذري بنسب تراوحت مابين (22.39-310.48) قياساً بالشاهد غير المعامل (22.33)غ، وزادت من الوزن الجاف للمجموع الجذري بنسب تراوحت مابين (9.09-33.27) قياساً بالشاهد غير المعامل (5.5)غ، وزادت من عدد الثمار بنسب تراوحت مابين (7.73-54.73) % قياساً بالشاهد غير المعامل (8.66) ثمرة، وزادت من وزن الثمار بنسب تراوحت مابين (5.69-60.33)% قياساً بالشاهد غير المعامل (105.33) غ.. وتميزت السلالة B27 بأعلى نسبة زيادة في كافة المعايير المدروسة.

الكلمات المفتاحية: PGPR، *Pseudomonas chlororaphis* MA342، *Serratia plymuthica*. HRO-C48، *Bacillus subtillis* B2g، *B. subtillis* FZB27، البندورة.

المقدمة:

تعّد البندورة *Solanum lycopersicum* L. من أهم المحاصيل الخضرية وأكثرها انتشاراً واستعمالاً في العالم. تحتل زراعة البندورة مرتبة متقدمة بين المحاصيل الخضرية المزروعة في البيوت المحمية للمنطقة الساحلية في سورية، حيث تشكل حوالي 89.4% منها. أدّت ملاءمة الظروف المناخية في منطقة الساحل خلال فصل الشتاء لانتشار زراعة البندورة المغطاة بصورة

رئيسية في محافظتي طرطوس واللاذقية، حيث تنتج المحافظتان ما يعادل 98.6% من البندورة المنتجة في البيوت المحمية في سورية. تأتي محافظة طرطوس في المقدمة من حيث عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة، حيث بلغ عددها 25715 بيتاً عام 2013 والمساحة المزروعة 1029 هكتاراً ووصل الإنتاج إلى 154290 طناً، تليها محافظة اللاذقية التي بلغ عدد البيوت فيها 10946 بيتاً والمساحة المزروعة 439 هكتاراً والإنتاج 65784 طناً (وزراة الزراعة والإصلاح الزراعي، 2013). أشارت دراسات إلى وجود كائنات حية دقيقة تدعى البكتريا المحسّنة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacter (PGPR) حيث تستعمر جذور النبات وتحسّن من نموه وإنتاجيته بشكل مباشر من خلال تحسين نمو الجذور عن طريق إنتاج الهرمونات النباتية، وزيادة سطح امتصاص الجذور وبالتالي تحسين امتصاص الماء والعناصر الغذائية من قبل النبات؛ أو بشكل غير مباشر بتغيير التوازن الحيوي في المحيط الجذري من خلال تحفيز الميكروبات المفيدة في التربة. وقد أصبح استخدامها شائعاً في مناطق عديدة من العالم (Siddiqui , 2006; Pieterse and Van Loon, 2007; Saharan and Nehra, 2011). ناقشت إحدى الدراسات أفضل الآليات البكتيرية في تحسين نمو النباتK وبشكل خاص التثبيت الحيوي للنتروجين، والتخليق الحيوي للهرمونات النباتية، إضافة إلى الآليات الأخرى، مثل منع التخليق الحيوي للايتلين النباتي، وتفكك مركبات الفوسفور العضوي. إن تحسّن نمو النبات وبشكل أدق تحسّن إنتاجيته هو التأثير النهائي للآليات المختلفة التي تملكها PGPR (Fuentes and Caballero, 2006) وأصبح استخدام PGPR لخدمة الزراعة ذو أهمية عالمية؛ وباتت تُعرف بشكل جيد كأسمدة حيوية وكميكروبات تربة فعالة من أجل زراعة مستدامة، كما تعد بتحسين الغلات الزراعية (Singh, 2013).

نظراً لزيادة الطلب على البندورة كخضار تسويقية طازجة أو كمادة تدخل في الصناعات الغذائية، تظهر حاجة ملحة لزيادة إنتاج هذا المحصول ويمكن تحقيق ذلك من خلال استخدام أصناف جيدة وطرق حديثة للتسميد الكيميائي تلائم العصر الحديث، ولايخف عنا مساوىء التسميد الكيميائي والاستخدام المتكرر للأسمدة الكيميائية وأثرها على البيئة والتربة، وعلى نوعية المنتج الزراعي خصوصاً أنه قد ثبت أن التسميد الكيميائي له آثار ضارة على صحة الإنسان، من جانب آخر أدى ظهور مفاهيم الزراعة النظيفة الخالية من المواد الكيميائية، والزراعة العضوية شجعت على إيجاد بدائل تسميدية أو استخدام عوامل منها العوامل الإحيائية في التربة من بكتريا وفطريات مفيدة يمكن لها أن تؤمن العناصر الغذائية للنبات، ومن هذه الكائنات *Bacillus*، *Azospirillum*، *Pseudomonas* التي يمكن أن تتواجد طبيعياً في التربة؛ لذا يهدف هذا البحث إلى تقييم فعالية أربع سلالات من PGPR لتحسين نمو نبات البندورة في الزراعة المحمية، من خلال تقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز وتقدير بعض معايير النمو (متوسط ارتفاع النبات، متوسط الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري)، وبعض المعايير الإنتاجية (متوسط عدد الثمار/النبات، ومتوسط وزن الثمرة).

مواد البحث وطرائقه:

موقع تنفيذ البحث:

نفذ البحث في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، ضمن بيت بلاستيكي في تجربة نصف حقلية (في أكياس بلاستيكية) خلال ربيع 2016 (آذار، ونيسان، وأيار). زرعت بذور البندورة في صواني فلينية، ثم نقلت الشتول بعمر 45 يوماً إلى أكياس بلاستيكية سوداء سعة 2 ليتر تحوي خلطة معقمة من التربة مع التورب الزراعي بنسبة (1:3)، وقدّمت لها عمليات الخدمة اللازمة. وزّعت الأكياس داخل البيت البلاستيكي في ثلاثة خطوط على مسافة 40 سم بين الكيس والآخر، وعلى مسافة 50 سم بين الخطوط.

هجين البندورة المستخدم والسلالات البكتيرية المستخدمة:

استخدم هجين البندورة ميريل (الاسم الأجنبي: Tomato Merel F1 ومصدره الصين). الهجين معروف بإنتاجيته العالية. واستخدمت 4 سلالات بكتيرية محفوظة في حرارة – 85 °م في البراد في مخبر الأمراض البكتيرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية والتي تم الحصول عليها من المصادر المذكورة في الجدول (1).

الجدول 1. السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة.

رمز السلالة	اسم السلالة البكتيرية	المصدر
MA	*Pseudomonas chlororaphis* MA342	Dr.M.Hokeberg ,Bioagri, Upsalla, Sweeden
C48	*Serratia plymuthica* HRO-C48	Prof. Gabriele Berg, University of Gras, Austria
B2g	*Bacillus subtillis* B2g	Institute of microbiology, University of Rostock Germany
B27	*Bacillus subtillis* FZB27	Research Center, Berlin, Germany

تحضير المعلقات البكتيرية وتطبيق البكتريا:

نميّت سلالات PGPR المستخدمة في الدراسة على مستنبت غذائي صلب Tryptic soy agar (TSA) وحضنت على حرارة 28 °م لمدة 24 ساعة. نقلت بعدها إلى بيئة سائلة Tryptic soy broth (TSB) (حضرت بإضافة 1.5 غ بيئة TSB إلى 50 مل ماء معقم ورجّت بشكل جيد ثم وضع كل 20 مل منها في دورق). حضنت البكتريا 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 ولقّح بها 200 مل من البيئة السائلة TSB ووضعت بالشروط السابقة أعلاه. ثم عُرضّت لطرد مركزي 4000 دورة/دقيقة وتم استبعاد الجزء الطافي وجمع الراسب البكتيري. طبقت البكتريا بطريقة معاملة بذور (s) Seed Treatment حيث خلطت البذور مع المعلّق البكتيري المحضّر بتركيز (10^{10} cfu / مل)، ولضمان التصاق البكتريا على البذور وضعت على هزاز ديجيتال بسرعة 180 دورة/دقيقة لمدة 4 ساعات عند درجة حرارة 25–30 °م حيث تراوح تعداد البكتريا لكل بذرة مابين (10^6 إلى 10^7cfu/ بذرة)، نقعت بذور الشاهد في ماء معقم لمدة 4 ساعات ثم جففت هوائياً (Zehnder *et al.*, 2000).

تصميم التجربة:

تضمنت التجربة 5 معاملات بما فيها معاملة الشاهد غير المعامل بالبكتريا، وزرعت وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بثلاثة مكررات، بحيث يحتوي كل مكرر على 5 نباتات. حلّلت النتائج إحصائيا باستخدام برنامج CO-STAT 4.6 وتمت المقارنة بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD 5%.

المعايير المدروسة:

1. **نشاط إنزيم البيروكسيداز في أنسجة اوراق نباتات البندورة:**

قدر نشاط إنزيم البيروكسيداز بواسطة جهاز المطياف الضوئي في موعدين بعد (78 و94) يوماً من المعاملة، بسلالات PGPR، وذلك بعد استخلاصه وفق طريقة (2011) Altunkaya and Gokmen, وبعد تحضير المستخلص الإنزيمي من أوراق البندورة تم تجهيز العينات في أنابيب خاصة وذلك بإضافة (3 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم تركيز 0.1 مولار pH = 6) و(200

ميكروليتر من المستخلص الإنزيمي) و(6.2 ميكروليتر Guaiacol عيارية 124.14 غ/مول). وضعت الأنابيب في حمام مائي على درجة حرارة 28–30 °م لمدة 5 دقائق. قبل وضع العينات بالجهاز مباشرة تم إضافة (12 ميكروليتر من الماء الأوكسجيني H_2O_2 عيارية 34.01 غ/مول) إلى كل أنبوب من أنابيب الاختبار الحاوية على المستخلص الإنزيمي، ثم أضيف 3 مل من مزيج المستحضر الإنزيمي في خلية المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجة 430 نانومتر. أخذت قراءة الجهاز مرة كل 30 ثانية لمدة 3 دقائق، وقدّر نشاط إنزيم البيروكسيداز بعدد ميكرومولات الماء الأوكسجيني التي تتفكك بواسطة 100 ملغ من النسيج النباتي الداخل في تشكيل المستخلص الإنزيمي في الدقيقة الواحدة عند حرارة 25 °م.

- حسب نشاط إنزيم البيروكسيداز وفق معادلة الشركة المصنعة للمادة القياسية للإنزيم كما يلي:

نشاط البيروكسيداز= كمية الماء الأوكسجيني $H2O_2$ المختزلة بين الزمن الأولي والزمن النهائي (نانومول) × معامل تخفيف العينة/حجم العينة المضافة إلى الكيوفت (مل) × مدة التفاعل (دقيقة).

- حسب معدل الزيادة في نشاط إنزيم البيروكسيداز بفعل البكتريا وفق المعادلة التالية:

معدل الزيادة في النشاط % = (النشاط الإنزيمي في المعاملة – النشاط الإنزيمي في الشاهد غير المعامل)/ النشاط الإنزيمي في الشاهد غير المعامل × 100

2. معايير النمو والإنتاجية:

قدّرت معايير النمو: متوسط ارتفاع النبات (سم)، ومتوسط الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري (غ)، ومتوسط الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري (غ)، إضافة إلى المعايير الإنتاجية (عدد ووزن الثمار) في نهاية التجربة.

حسب معدل الزيادة بفعل البكتريا في كل معيار من معايير النمو والإنتاجية وفق المعادلة التالية:

معدل الزيادة في المعيار %= (معيار المعاملة – معيار الشاهد غير المعامل)/معيار الشاهد غير المعامل × 100

النتائج والمناقشة:

1- نشاط إنزيم البيروكسيداز:

أشارت النتائج إلى ارتفاع نشاط إنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا (0.045- 0.147) نانومول مقارنة مع الشاهد غير المعامل (0.002 نانومول) وذلك بعد 78 يوماً من المعاملة بالبكتريا. وبعد 94 يوماً من المعاملة أيضا أظهرت النباتات المعاملة ارتفاعاً في نشاط إنزيم البيروكسيداز في أنسجة الأوراق وصل إلى (0.09–0.186) نانومول مقارنة مع الشاهد غير المعامل (0.056) نانومول، أي زاد نشاط الأنزيم مع مرور الوقت. وقد تفوقت السلالة B27 على بقية السلالات والشاهد غير المعامل في كلا الموعدين، حيث كان التفوق معنوياً في الموعد الأول فقط أي بعد (78 يوماً) (الجدول 2). حسّنت المعاملة بالبكتريا من نشاط إنزيم البيروكسيداز بنسبة تراوحت مابين (2.15- 6.35) بعد 78 يوماً من المعاملة، وبنسبة تراوحت مابين (60.71- 232.14) % بعد 94 يوماً من المعاملة.

يفسّر هذا التحسن في نشاط إنزيم البيروكسيداز إلى مساهمة البكتيريا في التحفيز على زيادة نشاطه حسب ما أشار إليه العديد من الباحثين بان استخدام PGPR يترافق مع ازدياد نشاط عدد كبير من الإنزيمات منها إنزيم البيروكسيداز، وإنزيم بولي فينيل اوكسيداز، وفينيل الانين امونيلياز، وليبو اوكسيجيناز، 3.1 β غلوغوناز، كيتيناز (Van Loon, 1997;Abo El-Nasr *et al.* 2004; Silva *et al.*, 2004; Trebbi *et al.*, 2007; Megahed, 2008 ;Taha, 2010).

الجدول 2. نشاط إنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة بعد 78 و 94 يوماً من المعاملة بالبكتريا

المعاملة	نشاط إنزيم البيروكسيداز(نانومول) بعد 78 يوماً من المعاملة بالبكتريا	نسبة الزيادة في نشاط إنزيم البيروكسيداز مقارنة مع الشاهد غير المعامل %	نشاط إنزيم البيروكسيداز (نانومول) بعد 94 يوماً من المعاملة بالبكتريا	نسبة الزيادة في نشاط إنزيم البيروكسيداز مقارنة مع الشاهد غير المعامل %
شاهد	0.002[b]	0	0.056 [a]	0
B27	0.147[a]	6.35	0.186 [a]	232.14
B2g	0.046 [b]	2.20	0.09 [a]	60.71
MA	0.045[b]	2.15	0.122 [a]	117.85
C48	0.048[b]	2.30	0.151 [a]	169.64
$LSD_{0.05}$	0.062		0.22	

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى معنوية 5%.

MA= *Pseudomonas chlororaphis* MA342, C4=*Serratia plymuthica* HRO-C48, B27= *Bacillus subtillis* FZB27, B2g= *B. subtillis* B2g.

توافقت النتائج مع ماأشار إليه (Harish *et al.*, 2009) بأن نشاط إنزيم البيروكسيداز يكون أعلى في النباتات المعاملة ببكتريا PGPR مقارنة بالشاهد غير المعامل، كما توافقت مع دراسة أخرى أشارت إلى ارتفاع نشاط انزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة المعاملة بذورها بالسلالات البكتيرية الأربعة المشمولة في هذه الدراسة مقارنة بالشاهد غير المعامل (اسماعيل وآخرون، 2016)، كما أن معاملة بذور البندورة ببكتريا *P. fluorescens* أدى إلى ازدياد نشاط إنزيمي البولي فينيل اوكسيداز و1.3 بيتاً غلوكوناز والكيتيناز (Kandan *et al.*, 2007).

2- معايير النمو والإنتاجية:

أ- ارتفاع النبات:

أشارت النتائج إلى ازدياد ارتفاع نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا (57.91-70.19) سم مقارنة مع الشاهد غير المعامل (57.83) سم. وقد تفوقت السلالةB27 (70.19) بشكلٍ معنويٍ على الشاهد غير المعامل وعلى السلالة B2g (57.91) سم وبشكل غير معنوي على بقية السلالات (الجدول 3). حسنت المعاملة بالبكتريا من ارتفاع نباتات البندورة بنسبة تراوحت ما بين (1- 21.37)%. ربما تعود هذه الزيادة الى ارتفاع نشاط إنزيم البيروكسيداز الذي له دور في تنظيم استطالة الخلايا وأكسدة المركبات الفينولية وأكسدة حمض الأندول الخلي، إضافة إلى دوره في إتمام المرحلة الأخيرة من التخليق الحيوي للجنين والمركبات القابلة للأكسدة حسب ما أشار إليه Harish *et al.*, (2009).

الجدول 3. تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على ارتفاع نباتات البندورة المعاملة بذورها بالبكتريا

المعاملة	متوسط ارتفاع النبات/ سم	معدل الزيادة في ارتفاع النبات مقارنة مع الشاهد غير المعامل %
شاهد	57.83 [b]	0
B27	70.19 [a]	21.37
MA	63.08 [ab]	9.08
C48	61.25 [ab]	5.91
B2g	57.91 [b]	1
$LSD_{0.05}$	9.871	-

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى معنوية 5%.

MA: *Pseudomonas chlororaphis* MA342 , C4:*Serratia .plymuthica* HRO-C48, B27: *Bacillus subtillis* FZB27 , B2g: *B. subtillis* B2g

توافقت هذه النتائج مع ما أشار إليه (اسماعيل وآخرون، 2016) حيث أدت معاملة بذور البندورة بالمعلقات البكتيرية إلى زيادة في ارتفاع نباتات البندورة مقارنة بالشاهد بمقدار (23.75%)، وأشار Lee *et al.*, (2014) إلى فعالية السلالة *Bacillus subtilis* (BS21-1) 21-1 في تحسين نمو نبات القرنبيط الصيني والخس في ظروف نوعين مختلفين من الترب، وذلك بقياس ارتفاع النبات، وعرض الورقة، ومعدل إنبات البذور، حيث حسنت المعاملة بالسلالة (BS21-1) بشكلٍ معنويٍ من نمو النبات في الترب العضوية Organic Soil (OS) بالمقارنة مع تربة مرقد البذور Seed Bed Soil (SBS).

ب- الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري:

أشارت النتائج إلى ازدياد الوزن الطري للمجموع الخضري لنباتات البندورة المعاملة بالبكتريا (346.33- 705.5)غ مقارنة بالشاهد غير المعامل (317)غ، مع تفوق معنوي للسلالة B27 (705.5) غ على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات. وازداد الوزن الجاف للمجموع الخضري لنباتات البندورة المعاملة بالبكتريا (115.66- 180.33)غ مقارنة بالشاهد غير المعامل (111.33) غ، وقد تفوقت السلالة B27 بشكلٍ معنويٍ على الشاهد غير المعامل وعلى السلالة MA (115.66) غ وبشكل غير معنوي على السلالتين B2g و C48 (الجدول 4).

حسنت البكتريا من الوزن الطري للمجموع الخضري بنسب تراوحت مابين (9.25-122.56)%، وحسنت من الوزن الجاف للمجموع الخضري بنسب تراوحت مابين (3.89-61.98)%. قد يعود التحسن في النمو الخضري إلى نمو كبير في الجذور وبالتالي زيادة امتصاص الماء والعناصر الغذائية، أو قد يكون نتيجة تأثير بكتريا الجذور التي تحفز من نمو النبات، إما بشكل مباشر عن طريق إنتاج منظمات النمو، وبالتالي تحسين امتصاص العناصر الغذائية، أو بشكل غير مباشر عن طريق تغيير التوازن الحيوي في المحيط الجذري، من خلال تحفيز الميكروبات المفيدة في التربة وهذا ينسجم مع ما أشار إليه Siddiqui (2006). من الهرمونات النباتية التي تحفز إنتاجها البكتريا، حمض السالسليك الذي يساهم في نقل الإشارة ضمن أجزاء النبات، ويتحكم بمقاومة النبات للضغوط البيئية وله تأثير واضح على عملية التمثيل الضوئي والنتح، وامتصاص ونقل الأيونات، وبالتالي له تأثير في نمو وتطور النبات وذلك حسب ما أشار إليه Hayat and Ahmad (2007) .

الجدول 4. تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري لنباتات البندورة المعاملة بذورها بالبكتريا

المعاملة	متوسط الوزن الطري للمجموع الخضري/ غ	معدل الزيادة في الوزن الطري للمجموع الخضري مقارنة مع الشاهد غير المعامل %	متوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري/ غ	معدل الزيادة في الوزن الجاف للمجموع الخضري مقارنة مع الشاهد غير المعامل %
شاهد	317 e	0	111.33 b	0
B27	705.5 a	122.56	180.33 a	61.98
B2g	406.66 b	27.97	143.66 ab	29.04
C48	376.66 c	18.82	142.66 ab	28.14
MA	346.33 d	9.25	115.66 b	3.89
$LSD_{0.05}$	27.08	-	48.76	-

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى معنوية 5%.

MA: *Pseudomonas chlororaphis* MA342 ,C4:*Serratia .plymuthica* HRO-C48 ,B27: *Bacillus subtillis* FZB27 ,B2g: *B. subtillis* B2g

توافقت النتائج مع ما توصل إليه (اسماعيل وآخرون، 2016) حيث أدت معاملة بذور البندورة بالمعلّقات البكتيرية لنفس السلالات المدروسة إلى تحسين الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري لنباتات البندورة، كما أشار إلى ذلك Ryu *et al.*, (2007) في دراسة خلصت إلى أن وضع خليط من سلالتين *Bacillus* يمكن أن يستخدم كمحفز حيوي من أجل حماية النبات من الأمراض البكتيرية والفيروسية من جهة، وتحسين نمو النبات من جهة أخرى.

د- الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري:

تبين النتائج ارتفاع متوسط الوزن الطري للمجموع الجذري لنباتات البندورة المعاملة بالسلالات البكتيرية الأربعة (27.33–91.66)غ مقارنة بالشاهد غير المعامل (22.33)غ، مع وجود تفوق معنوي للسلالة B27 على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات (الجدول 5). ازداد الوزن الطري للمجموع الجذري بفعل البكتريا بنسب تراوحت ما بين(22.39–310.48)%. وازداد متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري في النباتات المعاملة بذورها بالبكتريا (6– 7.33) غ مقارنة بالشاهد غير المعامل (5.5)غ مع تفوق غير معنوي للسلالة B27 على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات. وتراوحت نسبة الزيادة بفعل البكتريا مابين (9.09–33.27)%. تفسّر الزيادة في المجموع الجذري بمساهمة البكتريا في العديد من نشاطات النبات المباشرة وغير المباشرة، تتميز هذه البكتريا بتثبيت النتروجين لوجود إنزيم النتروجيناز وبالتالي توفر قدراً من احتياجات النبات النتروجينية ويستطيع بعضها إذابة وتيسير بعض العناصر الضرورية كالفوسفور والحديد وغيرها، بالاضافة إلى تحسين تحمل النبات لبعض العناصر الثقيلة، تقوم بعض السلالات من بكتيريا الجذور المنشطة ببناء بعض منظمات النمو النباتية مثل الاوكسين والجبريلين والايتيلين، أو بإنتاج مركبات متطايرة التي تساهم بدورها في تنشيط النمو حسب ما أشار إليه الوهيبي (2008).

الجدول 5. تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري لنباتات البندورة المعاملة بذورها بالبكتريا

المعاملة	متوسط الوزن الطري للمجموع الجذري /غ	نسبة الزيادة في الوزن الطري للمجموع الجذري مقارنة مع الشاهد غير المعامل %	متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري/غ	نسبة الزيادة في الوزن الجاف للمجموع الجذري مقارنة مع الشاهد غير المعامل %
شاهد	22.33 [c]	0	5.50 [a]	0
B27	91.66 [a]	310.48	7.33 [a]	33.27
B2g	40.00 [b]	79.13	6.33 [a]	15.09
C48	27.33 [bc]	22.39	6.00 [a]	9.09
MA	32.66 [bc]	46.26	6.00 [a]	9.09
$LSD_{0.05}$	12.66	-	10.11	-

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى معنوية 5%.

MA: *Pseudomonas chlororaphis* MA342, C4:*Serratia .plymuthica* HRO-C48 , B27: *Bacillus subtillis* FZB27 , B2g: *B. subtillis* B2g

توافقت النتائج مع نتائج دراسة سابقة أجريت لتقييم كفاءة نفس السلالات البكتيرية المشمولة في الدراسة. فقد أظهرت النتائج أن معاملة بذور البندورة بالسلالات البكتيرية المشمولة في الدراسة أدت إلى تحسن الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري لنباتات البندورة المعاملة بالسلالات البكتيرية الأربعة (اسماعيل واخرون، 2016)، وتوافقت النتائج مع ما أشار إليه Ryu *et al.*, (2007) حيث أن استعمار جذور النبات ببكتريا محيط جذري معين يحسّن نمو النبات، وأن دور حمض الجاسمونيك في المحيط الجذري لنبات التبغ الحاوي على 06 Pseudomonas *chlororaphis* هو تحفيز نمو نبات التبغ. وأدى تغطيس بذور الفول بمعلق مكون من مزيج البكتريا (*Rhizobium. Leguminosarum*) و(*P. fluorescen*) إلى تحسين معايير النمو (طول النبات، والوزن الطري والوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري) في النباتات الناتجة من هذه البذور (المياحي والعاني، 2014). كما توافقت النتائج مع ما أشار إليه Murphy *et al.*, (2003) بأن معاملة بذور البندورة بسلالات من PGPR تحسن بشكل معنوي من نمو النبات، وتطبيق سلالات *Pseudomonas fluorescent* على البذور والتربة والمجموع الخضري أو تغطيس الشتول يؤدي إلى تحسن نمو نبات البندورة في الحقل والبيت الزجاجي (Kandan *et al.*, 2007).

ج- متوسط عدد ووزن الثمار:

تظهر النتائج ارتفاع عدد ثمار نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا فقد تراوحت مابين (9.33– 13.4) ثمرة بينما بلغت في الشاهد غير المعامل (8,66) ثمرة مع تفوق غير معنوي للسلالة B27 (13.4) ثمرة على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات. وتراوح متوسط وزن الثمرة في النباتات المعاملة بالبكتريا ما بين (111.33– 168.88)غ مقارنة بالشاهد غير المعامل (105.33) غ مع تفوق السلالة B27 بشكل غير معنوي على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات (الجدول 6). زادت البكتريا من عدد الثمار بفعل البكتريا بنسب تراوحت مابين (7.73–54.73)%، ووزن الثمار بنسب تراوحت مابين (5.69–

60.33)% مع تفوق السلالة B27 بشكل غير معنوي على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات. يعود تحسن الغلة الملحوظ إلى تحسن النمو الخضري والجذري لنباتات البندورة بفعل البكتريا وأي تحسن يطرأ على المجموعين الخضري والجذري يؤدي إلى تحسن في الغلة (عدد ووزن الثمار) لأن تحسن الإنتاجية هو انعكاس واضح لتحسن النمو الخضري والجذري.

الجدول 6. تأثير السلالات البكتيرية الأربعة على متوسط عدد الثمار ووزنها لنباتات البندورة المعاملة بذورها بالبكتريا

المعاملة	متوسط عدد الثمار / النبات	نسبة الزيادة في عدد الثمارمقارنة مع الشاهد غير المعامل %	متوسط وزن الثمرة/ غ	نسبة الزيادة في وزن الثمارمقارنة مع الشاهد غير المعامل %
شاهد	8.66 [a]	0	105.33 [a]	0
B27	13.4 [a]	54.73	168.88 [a]	60.33
B2g	9.66 [a]	11.54	111.66 [a]	6.009
C48	10.00 [a]	15.47	131.11 [a]	24.47
MA	9.33 [a]	7.73	111.33 [a]	5.69
$LSD_{0.05}$	6.64	-	75.08	-

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى معنوية 5%.

MA: *Pseudomonas chlororaphis* MA342 C4: *Serratia . plymuthica* HRO-C48 , B27: *Bacillus subtillis* FZB27 , B2g: *B. subtillis* B2g

توافقت النتائج مع ما أشار إليه (Zehnder *et al.*, 2000) بأن نباتات البندورة المعاملة بثلاث سلالات من PGPR حسنت بشكل معنوي من الغلة مقارنة بالنباتات غير المعاملة. وأشارت دراسة أخرى إلى ان نباتات البندورة التي اختبرت مع كل من المحضرات الحيوية الحاوية على البكتريا *B.pumilus* E34, *B. amyloliquefaciens* IN937a, *B. subtilis* IN937b, *B. pumilus* INR7, *B. pumilus* T4 كانت مشابهة من حيث الشكل والتطور لنباتات الشاهد الأكبر بنحو 10 أيام من نباتات التجربة، مما يشير إلى أن معاملة البندورة بالمحضرات الحيوية يؤدي إلى تحسن ملحوظ في النمو (Murphy *et al.*, 2003).

الاستنتاجات:

1- تفوق السلالة B27 معنوياً على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات من حيث الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري.

2- تفوقت السلالة B27 بشكل معنوي على الشاهد غير المعامل وعلى السلالة MA وبشكل غير معنوي على السلالتين B2g و C48 من حيث الوزن الجاف للمجموع الخضري.

3- تفوقت السلالة B27 بشكل غير معنوي على الشاهد غير المعامل وعلى بقية السلالات من حيث الوزن الجاف للمجموع الجذري ومن حيث عدد الثمار ووزن الثمار.

4- حسنت البكتريا من معايير النمو والإنتاجية بنسب مختلفة حسب السلالة البكتيرية.

الشكر: أتوجه بالشكر الجزيل لمشتل البيت الأخضر/ الاستاذ اميل فرح، ولمعهد البحوث البحرية/ الاستاذ لامك نبيعة على مساعدتهم في إتمام إنجاز هذا البحث.

المراجع:

اسماعيل، عماد داؤود وعمر حمودي واحمد احمد وحنان قواس (2016). تأثير معاملة بذور البندورة بسلالات من PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار في الزراعة المحمية. مجلة جامعة تشرين. 38(5).

وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي (2013). قسم الإحصاء، مديرية الإحصاء والتعاون الدولي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.

المياحي، سعد ورقيب العاني (2014). فعالية بكتريا *Pseudomonas fluorescens* و*Rhizobiumleguminosarum* ضد فيروس الموزاييك الأصفر للفاصولياء. مجلة العلوم الزراعية العراقية. 45 (6): 601-593.

الوهيبي، حمد محمد (2008). بكتيريا المحيط الجذري المنشطة لنمو النبات. المجلة السعودية للعلوم البيولوجية. 15 (3).

Abo EI-Nasr, M.A.; Kh.A. El-Dougdoug; M.H. El-Kattan; and E.A. Salem (2004). Induction of salicylic acid in cucumber against ZYMV potyvirus by some nutrient chemicals. Egyptian. J. Virol., 1:301-312.

Altunkaya, A.; and V. Gokmen (2011). V. Purification and characterization of polyphenol oxidase, peroxidase and lipoxygenase from freshly cut lettuce (l. sativa). biotechnol. 49: 249–256.

Fuentes, L.E. and J. Caballero-Mellado (2006). Bacterial Biofertilizers. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. pp 143-172.

Harish, S.; M. Kavino; N. Kumar; P. Balasubramanian; and R. Samiyappan (2009). Induction of defense-related proteins by mixtures of plant growth promoting endophytic bacteria against *Banana bunchy top virus*. Biological Control. 51:16 –25.

Hayat, S. and A. Ahmad (2007. Salicylic Acid: A Plant Hormone. 1st Ed. Published by Springer, Dordrecht, The Netherlands, 401pp.

Kandan, A.; M. Ramiah; V.J. Vasanthi; R. Radjacommare; R. Nandakumar; A. Ramanathan; and R. Samiyappan (2007). Use of *Pseudomonas fluorescens*-based formulations for management of *tomato spotted wilt virus* (TSWV) and enhanced yield in tomato. Biocontrol Science and Technology Journal. 15(6). 553-569.

Lee, S.L.; S. Hyun; B.K. Park; K. Soo; N. Ki-Woong; P. Jin-Woo; and P. Kyungseok (2014). Growth promotion and induced disease suppression of four vegetable crops by a selected plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillussubtilis* 21-1 under two different soil conditions. Acta Physiologiae Plantarum. 36(6): 1353-1362.

Megahed, A.A. (2008). Effect of antiviral proteins produced by bacterial and fungal isolates on some viruses infecting vegetable crops. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Cairo, Egypt. 193 Pp.

Murphy, J.F.; M.S. Reddy; C.M. Ryu; J.W. Kloepper; and R. Li (2003). Rhizobacteria-mediated growth promotion of tomato leads to protection against *Cucumber mosaic virus*. Phytopathology. 93:1301-1307.

Pieterse, C.J.M.; and L.C. Van Loon (2007). Signaling cascades involved in induced resistance. In: D Walters, A Newton, G Lyon, eds. Induced resistance for plant disease control: a sustainable approach to crop protection. Oxford: Blackwell Publishing. Pp 229-249.

Ryu, C.M.; B.R. Kang; S.H. Han; S.M. Cho; J.W. Kloepper; J. Anne; and AY.C. Kim (2007). 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(4): 383-390.

Saharan, B.S.; and V. Nehra (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: A Critical Review. Life Sci. Med. Res., LSMR-21:1-30.

Siddiqui, A. Z. (2006). Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Pp 111-142

Silva, H.S.A.; R.S. Romeiro; D. Macagnon; B.A. Halfeld-Viera; M.C.B. Pereira; and A. Mounteer (2004). Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. Biological Control. 29: 288-295

Singh, J.S. (2013). Plant growth promoting rhizobacteria potential microbes for sustainable agriculture. General article resonance.

Taha, M.A.T. (2010). Biological control of *cucumber mosaic virus* (cucumovirus) by certain local streptomycetal isolates. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Cairo, Egypt. 217p.

Trebbi, G.; F. Borghini; L. Lazzarato; P. Torrigiani; G.L. Calzoni; and L. Betti (2007). Extremely low frequency weak magnetic fields enhance resistance of NN tobacco plants to *Tobacco mosaic virus* and elicit stress-related biochemical activities. Bioelectromagnetics. 28(3): 214-223.

Van Loon, L.C. (1997). Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. European Journal Plant Pathology. 103:753-765.

Zehnder, G.W.; Y.A.O. Changbin; J.F. Murphy; E.R. Sikora; and J.W. Kloepper (2000). Induced of resistance in tomato against *cucumber mosaic cucumovirus* by plant growth- promoting rhizobacteria. Biocontrol. 45: 127-137.

Effect of Seed Treatments of Tomato Variety Merel with Four PGPR Bacterial Strains on Promoting Peroxidase Enzyme Activity and Growth Improvement

Hanan Kawas *(1) Omar Hamudi(2) Ahmad Ahmad(3) Imad Ismail(4)

(1). Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

(2). Agricultural Research Center of Latakia, General Commission for Scientific Agriculture Research (GCSAR), Damascus, Syria.

(3). Agricultural Research Center of Tartous, (GCSAR), Damascus, Syria.

(4). Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

(*Corresponding author: Eng. Hanan Kawas. E-Mail: hanankawas1@gmail.com).

Received: 18/12/2016 Accepted: 14/02/2017

Abstract

This research was conducted to study the effect of four bacterial strains (PGPR): *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia* plymuthica HRO-C48, *Bacillussubtillis* B2g and *B. subtillis* FZB27 to improve the growth of tomato plants in the greenhouse. Bacterial strains were applied to the seeds in a concentration of (10^{10} cfu/ml), of each bacterial strain. The results showed the treatment with bacteria improved peroxidase enzyme activity at a rate of (2.15-6.35) % after 78 days of treatment compared with non-treated control (0.002) n mol, and a rate of (60.71- 232.14) % after 94 days compared with non-treated control (0.056) n mol. The treatment with bacteria increased the height of plant at a rate of (1-21.37)% compared with non-treated control (57.83) cm, and increased fresh weight of foliage at a rate of (9.25-122.56)% compared with non-treated control (317)g, while it increased dry weight of foliage at a rate of (3.89-61.98)% compared with non-treated control (111.33)g, and increased fresh root weight at a rate of (22.39-310.48)% compared with non-treated control (22.33)g, and increased root dry weight at a rate of (9.09- 33.27)% compared with non-treated control (5.5)g, and increased number of fruits at a rate of (7.73-54.73)% compared with non-treated control (8.66 fruit), and increased weight of fruits at a rate of (5.69-60.33)% compared with non-treated control (105.33)g . The strain B27 had the highest values of the studied traits.

Key words: PGPR, *Pseudomonas chlororaphis* MA342 , Serratia *plymuthica* HRO-C48 , *Bacillus subtillis* B2g , *B. subtillis* FZB27 , Tomato.