تأثير بكتيريا (PGPR) في بعض الصفات الشكلية والنوعية لنبات الفليفلة ومقاومته لفيروس موزاييك الخيار (CMV)

محمد سلمان ابراهيم [*(1)] ياسر علي حماد[(1)] سليم راعي[(2)]

(1). قسم علوم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

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

(*للمراسلة: محمد سلمان ابراهيم. البريد الإلكتروني: mohammad.ibrahim@tishreen.edu.sy)

تاريخ الاستلام: 2019/07/24 تاريخ القبول: 2019/08/25

الملخص

هدف البحث لدراسة تأثير أربعة أنواع من بكتريا (PGPR) *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus megaterium*، *Frateuria aurantia*، *Rhizobium leguminosarum* في نمو الفليفلة، والحد من الإصابة بفيروس موزاييك الخيار في نباتات الفليفلة المزروعة ضمن البيت بلاستيكي، اعتماداً على معايير (مساحة المسطح الورقي ودليله، وتركيز فيتامين C في الثمار وتركيز حمض الساليسليك في أوراق نباتات الفليفلة). نفذ البحث في موسم 2017/2016 ضمن بيت بلاستيكي في محافظة طرطوس. أظهرت النتائج أن التلقيح بالبكتريا بشكل مفرد أو مختلط أدى إلى زيادة معنوية في جميع المؤشرات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد غير الملقح بالبكتريا، وانخفض تأثير العدوى بفيروس موزاييك الخيار في النباتات الملقحة بالبكتريا فضلاً عن الزيادة في المعايير المستخدمة بالمقارنة مع الشاهد المعدى والسليم غير الملقح بالبكتريا. كما تفوق التلقيح المفرد بالنوع *Frateuria aurantia* بشكل معنوي على الأنواع البكتيرية *Bacillus megaterium* و*Rhizobium leguminosaru* و *Azotobacter chroococcum*، وكانت معاملة خليط الأنواع البكتيرية الأربعة معاً هي الأفضل وبفروق معنوية إذ بلغت مساحة المسطح الورقي9843سم^2/نبات، ودليله 1.96، وتركيز فيتامين C في ثمار الفليفلة 228مغ/100غ، وبلغ تركيز حمض الساليسليك في أوراق نباتات الفليفلة المعداة 82.87 ميكروغرام/غ طازج.

الكلمات المفتاحية: بكتريا محفزة لنمو النبات، فيروس موزاييك الخيار، الفليفلة، تلقيح.

المقدمة:

يتبع نبات الفليفلة *pepper* الجنس *capsicum* وهو من الفصيلة الباذنجانية *solanaceae*، يزرع محصول الفليفلة في مختلف أنحاء العالم ويعتبر ثالث أهم محاصيل هذه الفصيلة بعد البندورة والبطاطا في سورية (حسن، 2001)، بلغت المساحة الإجمالية المزروعة بالفليفلة (4603) هكتار لموسم 2017 أعطت (52280) طناً في سورية (المجموعة الإحصائية السنوية لعام 2017).

تعد الأمراض الفيروسية إحدى أهم المشاكل التي تؤثر في إنتاج الفليفلة في العديد من البلدان، وقد أشار Nienhaus (1981) إلى إصابة محصول الفليفلة بـ 13 فيروساً، ومن ضمنها فيروس موزاييك الخيار (CMV)*Cucumber mosaic virus*، الذي ينتمي للجنس *Cucumovirus*، والفصيلة *Bromoviridae*. ينتقل فيروس موزاييك الخيار بوساطة العصارة النباتية وبذور أجناس نباتية مختلفة والتطعيم ونبات الحامول وحبوب الطلع وأكثر من 60 نوعاً من حشرات المن بالطريقة غير المثابرة (Brunt *et al* .,1996; EL-borollosy and ORABY.2012; Martelli and Quacquarelli.1983; Sivasakthi *et al*.,2014)

ويمكن للأمراض الفيروسية أن تخفض إنتاج المحصول بمقدار 90% إضافة إلى صعوبة مقاومتها (Reddick and Habera.1999)

تظهر أعراض الإصابة بالفيروس على شكل تبرقش خفيف مخضر، ثم تتطور فيما بعد مع تقدم الإصابة لتصبح السلاميات قصيرة والأوراق منضغطة مع تشوه في الثمار (Sutic *et al*.,1999). سجل فيروس موزاييك الخيار في سورية على البندورة في المنطقتين الوسطى والساحلية (خليل، 2007)، وفي البيوت المحمية في الساحل السوري، والفليفلة في المنطقتين الوسطى والساحلية (إسماعيل وآخرون، 2007).

تضم البكتريا المحفزة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) مجموعة متعددة من البكتريا التي تنتشر في المنطقة المحيطة بالمجموع الجذري للنبات Rhizosphere (Saharan and Nehra, 2011)، وتبين في العقود الأخيرة وجود أنواع بكتيرية متعددة محفزة لنمو النبات مثل الأجناس: *Pseudomonas ,Azospirillum, Azotobacter, Klebsiella, Enterobacter, Alcanes, Arthrobacter, Burkholderia, Bacillus, Rhizobium and,Serratia* والتي تعمل على تحفيز نوعي وكمي للنبات 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 الآزوت الجوي وإذابة الفوسفات المعدني والبوتاسيوم والعناصر المغذية الأخرى (Singh, 2013 ; Saharan and Nehra, 2011)، ويظهر التحفيز غير المباشر لنمو النباتات من خلال قدرة هذه البكتريا على الحد من تأثير ممرضات النبات وذلك بالتضاد وإنتاج بعض المركبات مثل Siderophores والأجسام المضادة وغاز السيانيد (Bouizgarne, 2013).

تؤدي البكتريا المحفزة لنمو النبات دوراً هاماً في المكافحة الحيوية ضد طيف واسع من الممرضات النباتية كالبكتريا(Velusamy *et al*.,2013) والفطريات (عبد الله وعبيس، Sivasakthi *et al*., 2015) والنيماتودا (Anwar-nl-Haq *et al*., 2011)، والفيروسات التي تصيب النباتات، (Zehnder *et al*.,2000., 2001; Murphy *et al*.,2003; El-Borollosy and ORABY, 2012; Jacobsen *et al*., 2013; Mishra *et al*., 2014)

كما تعمل بكتريا PGPR على تحريض كل من المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance(SAR) والمقاومة الجهازية المستحثة داخل النبات(Induced Systemic Resistance(ISR (Van Loon et al.,1998)

ذكرت دراسات (Garcı´a-Fraile *et al*., 2012;Chatterjee *et al*.,2016) بأن تلقيح نباتات الفليفلة بـ *Rhizobium leguminosarum* و *Azotobacter chroococcum* زاد بشكل معنوي كل من الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري، عدد

الأزهار والثمار، الوزن الطازج للثمار، مساحة الورقة، والمحتوى من فيتامينc، وكانت وزن الشتلات الملقحة (المجموع الخضري والجذري) أكبر بمرتين مقارنة بالشاهد غير الملقح.

أشارت عدة دراسات (Damayanti *et al.*, 2007; Montasser *et al.*, 2017) بأن تلقيح جذور نباتات الفليفلة بأنواع مختلفة من بكتريا (PGPR) بالرغم من إجراء العدوى بالفيروس أدت إلى زيادة معنوية في طول النبات والوزن الطازج للنبات وخفضت من شدة أعراض الإصابة بنسبة 70–85% مقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس غير الملقحة بالبكتريا.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من الأهمية الاقتصادية والغذائية لنبات الفليفلة في سورية، ومن انتشار فيروس موزاييك الخيار على الفليفلة في الزراعتين الحقلية والمحمية، والتأثير الواعد لبكتريا PGPR كبديل آمن في تسميد الفليفلة حيوياً وتشجيع نموها وبالتالي زيادة في إنتاجية الفليفلة، إضافة لدور هذه البكتريا في تحفيز المقاومة الجهازية لدى النبات للحد أو الحماية من الإصابة الفيروسية، ما ينعكس إيجاباً على الناحية الاقتصادية للمزارع من خلال تخفيض كلفة الإنتاج وزيادته كماً ونوعاً. لذلك هدف البحث لاختبار فعالية الأنواع البكتيرية *Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium, Fraturia aurantia, Rhizobium leguminosarum* في تحسين نمو نبات الفليفلة والحد من الإصابة بفيروس موزاييك الخيار ضمن ظروف الزراعة المحمية.

مواد البحث وطرائقه:

المادة النباتية ومكان تنفيذ البحث:

استخدم في الدراسة الجيل الأول من الهجين سيرا نيفادا Sierra Nevada F1 غير محدود النمو تم الحصول عليه من الصيدلية الزراعية (نسبة الإنبات 75% والنقاوة 98% منشأ اسبانيا، وسنة الإنتاج 2014، صنف حساس لفيروس موزاييك الخيار). نُفذ البحث في الموسم الزراعي لعام 2017/2016 م في الساحل السوري في محافظة طرطوس في قرية برج ميعار التي تبعد 20 كم شمال جنوب طرطوس، داخل بيت بلاستيكي خاص مساحته 96 م^2(12×8 م)، ارتفاعه 4 أمتار، كما تم تغطية الأبواب بقماش شبكي ناعم (قطر الثقوب1 مم) مخصص لمنع دخول الحشرات الناقلة للفيروس.

إنتاج الشتول:

زرعت بذور هجين الفليفلة في صواني إنبات من الستريبور ذات 220 حفرة. تم تعبئة الحفر بالتورب الزراعي المعقم (البيتموس) من شركة Clasmann الألمانية قدمت للبادرات الخدمات الزراعية المطلوبة (ري، مكافحة للوقاية من الأمراض الفطرية، .... الخ) كما تم تغطيتها بشبك ناعم مخصص لمنع دخول الحشرات الناقلة لفيروس موزاييك الخيار.

طريقة الزراعة وعمليات الخدمة:

حرثت التربة وخلط معها سماد عضوي متخمر (1:4حجماً) حيث حققت هذه النسبة بإضافة اربع احجام تربة مقابل حجم واحد سماد عضوي متخمر، بعد ذلك استخدم التعقيم الشمسي بتغطيتها بشريحة من البلاستيك الشفاف سماكته 200 ميكرون، لمدة 60 يوم، وذلك للقضاء على الأطوار الساكنة من الحشرات والنيماتودا والفطريات وبذور الأعشاب الضارة، ونقلت إليها الشتول عندما وصلت لمرحلة الورقة الحقيقية الرابعة والخامسة (30 يوماً)،

وزعت وفق مخطط التجربة على 6 خطوط منفردة، طول الخط 12 م بحيث كان البعد بين النبات والأخر ضمن نفس الخط 50 سم وبين الخط والأخر 100سم، وكانت مساحة القطعة التجريبية 1.5م مع وجود مسافة بين الوحدة التجريبية والاخرى 0.5 م، وبلغ عدد نباتات التجربة 108 نباتا. قدمت لنباتات التجربة كافة العمليات الزراعية اللازمة من ري بالتنقيط، ورش دوري بالمبيدات الحشرية، والمبيدات الفطرية، والأكاروسية منعا لدخول نواقل فيروسية تنقل امراض فيروسية اخرى.

تنشيط وتحضير العزلة الفيروسية المستخدمة في الدراسة:

استخدمت عزلة محلية من فيروس موزاييك الخيار معرفة مصلياً في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافةICARDA في حلب ومحفوظة كعينات مجففة ومبردة في مخبر الأمراض الفيروسية– كلية الزراعة–جامعة تشرين، نشطت هذه العزلة بنقلها إلى هجين الفليفلة نيفادا سيرا F1 حساسة لفيروس موزاييك الخيار بالعدوى الاصطناعية، بوضع عدة أوراق من نباتات التبغ المحفوظة عليها العزلة الفيروسية في جفنة بورسلان نظيفة ومعقمة، وأضيف محلول فوسفاتي منظم درجة حموضته pH=7 بنسبة 1غ/1مل وكمية من مادة كربيد السيليكون، وتم سحق الأوراق حتى الحصول على مستخلص متجانس/اللقاح، نثرت كمية من المادة المخرشة (كربيد السيليكون) على السطح العلوي لعدة أوراق حديثة لخمسة نباتات من الفليفلة تم تعليمها بواسطة ورق البارافلم، وذلك باستخدام قطعة من الشاش المعقم والنظيف، أشبعت باللقاح الفيروسي ووضعت راحة اليد اليسرى أسفل الأوراق التي تم تعليمها ودهنت الأوراق المعلمة باللقاح الفيروسي باتجاه واحد فقط، وتركت النباتات الملقحة ضمن قفص شبكي حتى ظهور أعراض الإصابة ثم أخذت من نباتات الفليفلة أوراقاً ظهرت عليها أعراض الإصابة النموذجية بالفيروس، وحضر اللقاح الفيروسي حسب طريقة (Jefferies, 1998).

تنشيط الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة وتحضير اللقاح البكتيري:

استخدمت أربعة أنواع بكتيرية الثلاثة الأولى منها وصفت من قبل الباحثين (حماد والشامي، 2017) وهي:

النوع *Azotobacter chroococcum:* بكتيريا مثبتة للآزوت الجوي

النوع *Bacillus megaterium*: بكتيريا ميسرة للفوسفور

النوع *Frateuria aurantia:* بكتيريا ميسرة للبوتاسيوم

أما النوع *Rhizobium leguminosarum:* فهي بكتريا منشطة لنمو النبات (المغربي وآخرون، 2016).

تحضير اللقاح البكتيري:

نشطت الأنواع البكتيرية السابقة، وحضر المعلق في زجاجات خاصة بتنمية البكتريا (BIOGEN) سعة 2 ل على بيئة غذائية سائلة Tryptic Soy Broth (TSB) تسمح الزجاجات المستخدمة بالتحريك وتؤمن التهوية الملائمة للنمو، استخدمت وحدة تنمية لكل نوع بكتيري، لقحت البيئة السائلة بالأنواع البكتيرية بعد تنشيطها والحصول على مزارع حديثة، ثم وضعت على هزاز بسرعة 100 – 150 دورة بالدقيقة، وحضنت على درجة حرارة 28 مْ، لمدة 48 ساعة، واستخدمت شريحة العد Bürker لتقدير كثافة البكتريا ميكروسكوبياً وضبطها في المعلق ليكون التركيز النهائي 10^9 خلية/مل.

تلقيح نباتات الفليفلة بالبكتريا والعدوى بفيروس موزاييك الخيار:

التلقيح بالبكتريا:

أضيفت اللقاحات البكتيرية المحضرة من الأنواع البكتيرية المختلفة (معلقات بتركيز 10^9 خلية/مل) وفق المعاملات المدروسة، إذ نقعت البذور في المعلق البكتيري لمدة 3 ساعات بينما نقعت بذور الشاهد بالماء المقطر والمعقم وزرعت في الصواني. وبعد 30 يوماً من الزراعة وعند وصول البادرات إلى طور الورقة الحقيقية الرابعة ،الخامسة نقلت الشتول إلى البيت المحمي، ثم أضيف اللقاح البكتيري إلى التربة بالقرب من الجذر بعد نقلها إلى البيت المحمي بمعدل 25 مل من المعلق البكتيري تركيزه 10^9 خلية/ مل، وجزئت كمية اللقاح عند مزج الأنواع البكتيرية الأربعة بحيث تبقى الكمية ذاتها 25 مل حسب كل معاملة.

العدوى بفيروس موزاييك الخيار CMV:

أعديت نباتات التجربة عدوى ميكانيكية بلقاح فيروس موزاييك الخيار على الورقتين الحقيقيتين الأولى والثانية بعد أسبوع من نقلها إلى البيت المحمي (بعد أسبوع من التلقيح البكتيري) وذلك بسحق أوراق فليفلة ظهرت عليها اعراض الإصابة حتى الحصول على مستخلص متجانس/اللقاح، نثرت كمية من المادة المخرشة (كربيد السيليكون) على السطح العلوي لعدة أوراق حديثة لنباتات من الفليفلة تم تعليمها بواسطة ورق البارافلم، وذلك باستخدام قطعة من الشاش المعقم والنظيف، أشبعت باللقاح الفيروسي ووضعت راحة اليد اليسرى أسفل الأوراق التي تم تعليمها ودهنت الأوراق المعلمة باللقاح الفيروسي باتجاه واحد فقط وترك شاهد سليم أجريت عليه عدوى عادية من عصارة نباتات فليفلة سليمة من أجل توحيد المعاملات ويبقى المتغير هو العدوى الفيروسية فقط (Jefferies,1998).

تصميم البحث والتحليل الإحصائي:

اتبع في تصميم البحث نظام القطاعات العشوائية الكاملة بترتيب القطع المنشقة لمرة واحدة. توضعت العدوى بالفيروس في القطع الرئيسية وتوضعت المعاملات البكتيرية في القطع الثانوية، حيث تضمن البحث 12 معاملة بثلاثة مكررات و3 نباتات لكل مكرر، بلغ عدد النباتات الكلي 108 نباتاً الجدول (1).

الجدول (1): تصميم ومعاملات البحث

المعاملات	ملقح غير معدى						ملقح ومعدى بـ CMV					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
المكررات	C	R	F	A	B	mix	C	R	F	A	B	mix

Control(C), *Azotobacter chroococcum*(A), *Bacillus megaterium*(B), *Fraturia aurantia*(F), *Rhizobium leguminosarum* (R), Mix (B+A+F+R)

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstat-12، واختبار Two-way ANOVA (Blocking)، ومقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD5% وعند مستوى معنوية 0.05 و0.01.

القراءات:

سجلت بعد 30 يوماً من العدوى الفيروسية القراءات التالية:

1. متوسط مساحة المسطح الورقي للنبات مقدراً (سم^2/نبات)

وذلك بوزن المجموع الخضري لنبات الفليفلة، وأخذت جميع الأوراق من النبات وحساب وزنها ومن ثم حساب مساحتها عن طريق تصوير العينة وحسابها باستخدام برنامج Digimizer على الحاسب وفق(Glozer, 2008)، وحسبت مساحة المسطح الورقي للنبات من العلاقة التالية:

مساحة المسطح الورقي =(وزن المجموع الخضري x مساحة العينة الخضرية)/ وزن العينة الخضرية.

2. دليل المسطح الورقي للنباتات:

ويساوي مساحة المسطح الورقي (سم^2/نبات) / المساحة التي يشغلها النبات (Beadle *et la*., 1989)

3. تقدير فيتامين C في ثمار الفليفلة (مغ/100غ مادة طازجة) وفق طريقة (حيدر، 2004).

4. حمض الساليسيليك الحر في أوراق الفليفلة (ميكروغرام/غرام أوراق طازجة): وفق طريقة (Maria and Martinez, 2007).

النتائج والمناقشة:

تأثير بكتيريا (PGPR) في بعض الصفات الشكلية والنوعية لنبات الفليفلة ومقاومته لفيروس موزاييك الخيار (CMV) في:

تركيز حمض الساليسيليك(ميكروغرام/غ) في أوراق الفليفلة:

تبين النتائج في الجدول(2) زيادة محتوى حمض الساليسليك في أوراق نباتات الفليفلة الملقحة بالبكتريا في كافة المعاملات المدروسة(بوجود وغياب العدوى) وبفروق معنوية بالمقارنة مع الشاهد السليم والمعدى.

الجدول(2): تركيز حمض الساليسيليك الحر في نباتات الفليفلة الملقحة بالأنواع البكتيرية المدروسة بوجود وغياب العدوى بالفيروس (ميكروغرام/غ طازج)

المعاملات	غير معدى	CMVمعدى بـ
(C)Control	14.49^{a}	23.36^{b}
(R)*Rhizobium leguminosarum*	27.61^{c}	36.06^{f}
(F)*Fraturia aurantia*	33.48^{e}	78.41^{i}
(A)*Azotobacter chroococcum*	28.73^{cd}	67.25^{h}
(B)*Bacillus megaterium*	29.90^{d}	44.05^{g}
(ABFR) MIX	35.63^{f}	82.87^{j}
LSD 5%	**1.74**	

وكانت الزيادة الأكبر في معاملة التلقيح البكتيري المختلط ABFR (بغياب وبوجود العدوى) إذ بلغ محتوى حمض الساليسليك في الأوراق (35.63 و82.87 ميكروغرام/غ طازج) على التوالي، في حين بلغ محتوى حمض الساليسليك في الشاهد السليم والمعدى

(14.49 و23.36 ميكروغرام/غ طازج) على التوالي، كما تفوقت المعاملات التي استخدمت فيها بكتريا *Fraturia aurantia* مفردة أو مختلطة معنوياً على المعاملات الأخرى.

ويمكن أن تعزى زيادة حمض الساليسليك داخل النبات إلى زيادة المقاومة الجهازية للنبات ضد الممرضات ومن ضمنها الفيروسية (Murphy *et al.*,1999/2004)

كما بين (Naylor *et al.*,1998) أن حمض الساليسليك قادر على تحفيز المقاومة الجهازية للنباتات ضد فيروس موزاييك الخيار عن طريق إبطاء الحركة الانتقالية الجهازية للفيروس ضمن النبات والتي تتأثر بحمض ساليسيل هيدروكساميك. وبين (Hondo *et al.*, 2007) أن حمض الساليسيليك يحفز الجينات المسؤولة عن تشكيل بروتينات المقاومة (PR1 وPR2) المضادة للإمراضية لدى نباتات البندورة. أشار (Choudhary *et al.*, 2007) إلى أن بعض أنواع بكتريا PGPR حفزت مسار المقاومة الجهازية المكتسبة عن طريق انتاج حمض الساليسليك على سطح جذر النبات.

كما تتوافق نتائج الدراسة مع دراسة أخرى مشابهه قام بها (El-Douggoug *et al.*,2013) حيث زاد مستوى حمض الساليسليك الحر داخل نباتات الخيار المعاملة بأنواع من البكتريا المحفزة لنمو النبات والمعداة بفيروس موزاييك الخيار وحفزت المقاومة الجهازية المكتسبة للنبات وخفضت من الشدة الإمراضية للفيروس. كما وجد (Mahdy *et al.*,2010) أن راشح الكمبوشا قد خفض من الشدة الإمراضية لفيروس موزاييك الخيار وترافق مع زيادة في كمية حمض الساليسيليك وبالتالي وجود مقاومة جهازية مكتسبة SAR لدى نباتات البندورة.

مساحة المسطح الورقي للنبات (سم^2/نبات) ودليله:

تشير نتائج حساب المسطح الورقي ودليله في الجدول (3) تفوق واضح في مساحة المسطح الورقي ودليله لجميع المعاملات الملقحة بالبكتريا (بوجود وغياب العدوى الفيروسية) وبفروق معنوية على معاملتي الشاهد المعدى والسليم، وبلغت أعلى قيمة للمسطح الورقي في معاملة التلقيح المختلط ABFR بغياب ووجود العدوى بالفيروس (9843 و7161 سم^2/نبات) على التوالي، مقارنة مع الشاهد السليم والمعدى (3624 و1515 سم^2/نبات) على التوالي، أي بزيادة (170% و372%) على التوالي، وبلغ دليل المسطح الورقي لمعاملة التلقيح المختلط (1.96 و 1.43) مقارنة مع الشاهد السليم والمعدى (0.72 و0.3) على التوالي.

اما بالنسبة لمعاملات التلقيح المفرد فقد تفوقت المعاملة *Fraturia aurantia* على باقي المعاملات المدروسة في مساحة المسطح الورقي في غياب العدوى الفيروسية (7996 سم^2/نبات)، في حين تفوقت المعاملة المفردة *Azotobacter chroococcum*. بوجود العدوى الفيروسية (6948 سم^2/نبات)، كما تفوقت معاملة التلقيح المفرد بالبكتريا *Fraturia aurantia* و*Bacillus megaterium* في دليل المسطح الورقي بغياب العدوى الفيروسية (1.59 و1.59)، في حين تفوقت المعاملة المفردة *Azotobacter chroococcum*. بوجود العدوى الفيروسية (1.38) مقارنة مع الشاهد السليم والمعدى.

الجدول(3):متوسط مساحة المسطح الورقي سم^2/نبات ودليله لنباتات الفليفلة الملقحة بالأنواع البكتيرية المدروسة بوجود وغياب العدوى بالفيروس مقدرة (سم^2 /النبات):

المعاملات	غير معدى		معدى بـCMV	
	المساحة	الدليل	المساحة	الدليل

0.3[a]	1515[a]	0.72[b]	3624[b]	**(C)Control**
1.08[c]	5419[c]	1.46[h]	7324[h]	**(R)*Rhizobium leguminosarum***
1.22[e]	6169[e]	1.59[j]	7996[k]	**(F)*Fraturiaaurantia***
1.38[f]	6948[f]	1.49[i]	7469[i]	**(A)*Azotobacterchroococcum***
1.12[d]	5635[d]	1.59[j]	7962[j]	**(B)*Bacillus megaterium***
1.43[g]	7161[g]	1.96[k]	9843[l]	**(ABFR) MIX**
0.0107	36.4	**0.0107**	36.4	**LSD 5%**

وقد توافقت النتائج المتحصل عليها مع دراسات أخرى أثبتت زيادة المسطح الورقي في نباتات الفليفلة الملقحة بالبكتريا مقارنة مع الشاهد بنسبة 35% (Supanjani *et al*., 2006) وزيادة عدد الأوراق ومساحتها عند استخدام خليط من البكتريا والميكوريزا Dawa *et al*., 2012)، كما زاد المسطح الورقي في الذرة عند استخدام 6 سلالات من بكتيريا PGPR (Gholami *et al*., 2009). وقد تعزى زيادة المسطح الورقي ودليله للنباتات الملقحة بالبكتريا PGPR الى دورها في تحسين خصوبة التربة وزيادة امتصاص العناصر الغذائية من قبل النبات(Yang *et al*., 2008) وإنتاج حمض الأندول الخلي وبعض المركبات الأخرى مثل الـ Siderophore التي تسهم في زيادة النمو الخضري للنبات (Dastager *et al*., 2011)، كما تنتج البكتريا هرمونات نباتية ومضادات أكسدة تذيب العناصر الغذائية وبالتالي تصبح تغذية النبات أفضل ما ينعكس على نمو النبات، كما تنشط البكتريا تطورات التمثيل الضوئي الذي يزيد محتوى الكلوروفيل2 (Mishra *et al*.,2014) والبروتين الكلي والفينول (Dashti *et al*., 2014) وتنشط عدد من الأنزيمات، وخاصة البيروكسيداز و b−1,3− glucanase في النبات (El-Borollosy *et al*., 2012).

تركيز فيتامين C (مغ/100 غ) في ثمار الفليفلة:

عند حساب تركيز فيتامين C في ثمار الفليفلة لجميع المعاملات لوحظ زيادة محتوى ثمار الفليفلة من فيتامين C في جميع المعاملات الملقحة بالبكتريا المعداة وغير المعداة بفيروس وتفوقت معنوياً على الشاهد السليم والشاهد المعدى، وبلغت أعلى قيمة في معاملة التلقيح المختلط(228 و168 مغ/100غ) بغياب وبوجود العدوى بالـ CMV على التوالي مقارنة بالشاهد السليم والمعدى بالـ CMV (132 و72 مغ/100 غ) وبزيادة قدرها (72.72% و133.33%). كما تفوقت معاملة التلقيح المختلط معنوياً على معاملات التلقيح المفرد بالبكتريا، ولم تظهر فروق معنوية بمحتوى الثمار من فيتامين C بين معاملات التلقيح المفرد بالبكتيريا عند غياب العدوى الفيروسية، في حين تفوقت معاملة التلقيح المفرد بالبكتيريا *Fraturia aurantia* بمحتوى الثمار من فيتامين C بوجود العدوى بالـ CMV وبفروق معنوية على باقي المعاملات جدول (4) هذا يشير الى كفاءة هذه البكتيريا في خفض تأثير العدوى بالفيروس(CMV) على محتوى الثمار من فيتامين C .

جدول(4) تركيز فيتامين C في ثمار الفليفلة الملقحة بالأنواع البكتيرية المدروسة بوجود وغياب العدوى بالفيروس مقدرة (مغ/100غ):

المعاملات	**غير معدى**	**معدى بـ**CMV
(C)Control	132[b]	72[a]
(R)*Rhizobium leguminosarum*	180[f]	144[c]
(F)*Fraturia aurantia*	192[g]	168[e]
(A)*Azotobacter chroococcum*	192[g]	156[d]
(B)*Bacillus megaterium*	180[f]	156[d]
(ABFR) MIX	228[h]	168[e]
LSD 5%	9.77	

وقد يعود ذلك إلى قدرة البكتيريا (PGPR) على إذابة وتيسير الفوسفور في التربة وتحسين امتصاصه من قبل النبات وزيادة مستواه الذي يعزز من محتوى الثمار من حمض الأسكوربيك، حيث يساعد الفوسفور بعض الأنزيمات على تركيب فيتامين C (Gurgul and Herman, 1994)

وهذه النتائج تتوافق مع دراسة قام بها Chatterjee وآخرون عام (2016) أثناء دراسته تأثير بكتيريا مثبتة للآزوت وبكتريا مذيبة للفوسفور في نمو وإنتاجية أربعة أصناف من الفليفلة، إذ أكدت النتائج أن تلقيح الشتول بالبكتريا عزز من نمو النباتات وزاد في عدد ووزن الثمار والمحتوى من فيتامين C، وكان تركيز فيتامين C في المعاملة الملقحة بالبكتريا (136.73 مغ /100غ) بالمقارنة مع الشاهد (125.21مغ /100غ) .

الاستنتاجات:

- زيادة نمو نباتات الفليفلة بزيادة المسطح الورقي ودليله وتركيز فيتامين C في الثمار الطازجة وتركيز حمض الساليسيليك في الاوراق بالمقارنة مع الشاهد السليم والمعدى بالفيروس غير المعاملين بالبكتريا.
- أظهرت المعاملة ببكتريا *Frateuria aurantia* قدرة أكبر مقارنة بالأنواع الأخرى في زيادة المؤشرات المدروسة والحد من تأثير الفيروس في نباتات الفليفلة.
- أعطى التلقيح المختلط من الأنواع البكترية الاربعة (ABFR) أفضل النتائج في زيادة المسطح الورقي ودليله وتركيز فيتامين C في الثمار الطازجة وتركيز حمض الساليسيليك في الاورق، وخفضت من تأثير فيروس موزاييك الخيار في نباتات الفليفلة.

التوصيات:

- إمكانية استخدام التلقيح البكتيري بمزيج من الأنواع *Frateuria aurantia* و *Bacillus megaterium* و *Rhizobium leguminosarum* و *Azotobacter chroococcum* بإضافتها إلى بذور وشتول النباتات لتحسين نموها وإنتاجيتها.

إمكانية استخدام الانواع البكتيرية المدروسة في تحفيز المقاومة لدى النباتات ضد فيروس موزاييك الخيار.

المراجع:

إسماعيل، عماد دأود، باسل فهمي القاعي وريم نوفل يوسف،. (2007) التحري عن بعض الأمراض الفيروسية على محصول الفليفلة في المنطقتين الوسطى والساحلية. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم الزراعية. المجلد (29)، العدد (2)، 97- 105.

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية (2017). جدول 76، مساحة وإنتاج وغلة الفليفلة حسب المحافظات لعام 2017 وتطورها على مستوى القطر خلال الفترة (2008- 2017) مديرية التخطيط والتعاون الدولي، قسم الإحصاء ، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي،

الجمهورية العربية السورية.

المغربي، صباح وياسر حماد وبشرى رزق (2016). دراسة تأثير بكتيريا Rhizobium leguminosarum في نمو الفطر Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici مخبرياً. مجلة وقاية النبات العربية. عدد2.المجلد34(2).

حماد، ياسر و رامز الشامي (2017). توصيف بعض أنواع بكتريا الرايزوسفير المحفزة لنمو النبات من بعض الأسمدة الحيوية والتربة. مجلة جامعة البعث. سورية. المجلد 39. ص25.

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

حيدر، محمد.(2004). دراسة فيتامين C والمواد الصلبة الذائبة والحموضة في ثمار أهم الحمضيات في الساحل السوري. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم الزراعية، المجلد 26، العدد 1، 9-25.

حسن، أحمد عبد المنعم (2001). إنتاج الفلفل والباذنجان، الدار العربية للنشر والتوزيع 336 .صفحة.

عبدالله، علي حسين وعبيس، عبد علي عبيد (2015). 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): ص11

Anwar-Ul-Haq, M.; A.A. Safda r; S. Muhammad; J. Nazir; and A. SAJID (2011). Management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* by plant growth promoting rhizobacteria on tomato. Pakistan J. Zool., 43(6):1027-1031.

Beadle, L. C.; Bingham. M. J.; and Guerrero, M. G. (1989). Techniques in Bio-productivity and

Photosynthesis. Pergamon Press . Oxford New York. Toronto, pp115-116.

Bouizgarne.,Brahim. (2013). Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management. Springer 454p 40 illus. hardcover.

Brunt, A., K. Carbtree, M. Dallwitz, A. Gibbs And L. Watson (Editors).(1996). Viruses of plants

: descriptions and lists from the VIDE database. CAB. International. Printed and bound in the UK at the University press, Cambridge.1484pp.

Choudhary, D.K., Prakash, A. and Johri, B.N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. Indian Journal of Microbiology. 47 (4): 289-297

Chatterjee. R, S. Koner and S. Datta.(2016). Impact of Microbial Inoculants on the Performance

of Bell Pepper (Capsicum annuum L.) Varieties under Foot Hills of Eastern Himalayan Region.Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.India ,5(9): 131-138

Dashti.,Narges H, Magdy S. Montasser, Nedaa Y. A. Ali and Vineetha M. Cherian- (2014). Influence of plant growth promoting rhizobacteria on fruit yield, pomologicalcharateristics and chemical content in cucumber mosaic virus-infected tomato plants. Kuwait J . Sci. 41(2)P. 205-220.

Damayanti.,Damayanti, Henra Pardede, Nisa Rachmania Mubarik.(2007).Utilization of Root-Colonizing Bacteria to Protect Hot-PepperAgainstTobacco Mosaic Tobamovirus.HAYATI Journal of Biosciences, , Vol. 14 p 105-109, No. 3.

Dawa, K. K. ; H. M. E. Abd EL - Nabi and W. M. E. Swelam.(2012). perponse of sweet pepper plants (Vegetative growth and leaf chemical constituents) to organic, Biofertilizers and some
foliar application treatments. J. Plant Production, Mansoura Univ. Egypt. Vol. 3 (9): 2465 – 2478.

El-Douggoug, KH. A., A. A. Megahed, B.A. Othman, S.M. Lashin, M.A. Ibrahim and Idress Hamad Attitalla. (2013). Induction of Salicylic Acid in Cucumber Plants Against Cucumber
Mosaic Cucumovirus Using Biotic Inducers. American Journal of Biochemistry and Molecular Biology 3(2): 258-255.

EL-Borollosy, A. M. And M. M. Oraby.(2012). Induced systemic resistance against Cucumber mosaic cucumovirus and promotion of cucumber growth by some plant growth-promoting rhizobacteria. Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Annals of Agricultural Science
57(2). p 91–97

Garcia -Fraile Paula, Lorena Carro؛ Marta Robledo؛Martha-Helena Ramirez-Bahena؛ Jose David Flores-Felix؛and Maria Teresa Fernandez.(2012). Rhizobium Promotes Non-Legumes Growth and Quality in Several Production Steps: Towards a Biofertilization of Edible Raw Vegetables Healthy for Humans. PLoS ONE 7(5): e38122

GhoLlami .A, S. ShahsavaniS, and S. Nezarat.(2009). The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination,Seedling Growth and Yield of Maize. World Academy of Science, Engineering and Technology 49.

Glozer, K. (2008).Protocol for leaf image Analysis- surface Area. Dept. of plant Sciences, University of California, Davis. 95(6), 8-25

Gurgul E, and Herman B .(1994). Influence of nitrogen, phosphorus and potassium on chemical composition andactivity of some enzymes in celery during its growth. J. Biologia Plantarum.
36: 261-265.

Hondo D, Hase S, Kanayama Y, Yoshikawa N, Takenaka S, Takahashi H. (2007). The LeATL6
-associated ubiquitin/proteasome system may contribute to fungal elicitor-activated defense
response via the jasmonic acid-dependent signaling pathway in tomato. Mol Plant-Microbe Interact 20:72–81.

Jacobsen, B. J. (2013). Managing PVY in Potato. Montana State University, Bozeman, MT uplbj@montana.edu. Western Washington Potato Workshop. p47.

Jeffries C.J.(1998). Potato. FAO/IPGRI technical guidelines for the safe movement of germplasm. 19, p 62–63.

Mahdy., A.M.M.; Hafez, M.A.; EL-Dougdoug, Kh.A.; Fawzy, R.N. and Shahwan, Eman S.M. (2010). 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. Issue, 355-372.

MARIA J. GIL and VÍCTOR MARTÍNEZ-MERINO. (2007). Determination of The Free SalicylicAcid Concentration in Aspirin Byforming Fe+3 Complexes.www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/. P8.

Martelli G. P. &Quacquarelli A.,(1983).The present status of Tomato and pepper viruses. Acta Horticulturae. (ISHS). 127: 39-64.

Mishra.,Shefali, Kavi Shivanandappa Jagadeesh, Palliath Ulpiradath Krishnaraj, Sagar Prem. (2014). Biocontrol of tomato leaf curl virus (ToLCV) in tomato with chitosan supplementedformulations of Pseudomonas sp. under field conditions.Australian Journal of Crop Science AJCS 8(3):347-355.

Montasser .M. S.., N. H. Dashti., N. Y. Ali and V. M. Cherian.(2017). Biological Control of a severe viral strain of Cucumber Mosaic Virus (CMV) using a mild strain of CMVassociated with viral satRNA combined with a mixture of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs). Int J biotech & bioeng, Kuwait 3.5, 126-134

Murphy AM, Chivasa S, Singh DP, Carr JP . (1999). Salicylic acid-induced sistance to viruses and other pathogens: a parting of ways? Trends Plant Sci 4:155–160.

Murphy AM, Gilliland A, York CJ, Hyman B, Carr JP . (2004). High-level xpression of alternative oxidase protein sequences enhances the spread of viral vectors in esistant and susceptible plants. J Gen Virol 85:3777–3786.

Murphy., J. F.; M. S. Reddy; CH.-M. Ryu, J. W. Kloepper and R. Li. (2003). Rhizobacteria-Mediated Growth Promotion of Tomato Leads to Protection Against Cucumber mosaic virus. Phytopathology. 93. p1301-1307.

Naylor M, Murphy AM, Berry JO, Carr JP . (1998). Salicylic acid can induce resistance in plant virus movement. Mol Plant Microbe Interact 11:860–868.

Nienhaus, F. (1981). Virus and similar diseases in tropeical and subtropical areas.Published by German Agency for Technical Cooperation(GTZ).16-20p.

Reddick, B. B. and Habera, L. F. (1999). New Resistance to Plant Viruses in Pepper. The University of Tennessee, Knoxville,TN, USA.

Saharan., B. S. and Nehra, V.(2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. Life Sciences and Medicine Research, Volume: LSMR-21.

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

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

Supanjani, Hyo Shim HAN., Jae Sung Jung., and Kyung Dong Lee.(2006). Rock phosphate-potassium and rock-solubilising bacteria as alternative, sustainable fertilisers.Iran. Agron. Sustain. Dev. 26(4),PP 233–240

Subhashini.D. V. (2016). Effect of NPK Fertilizers and Co-inoculation with Phosphate-Solubilizing Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Potassium-Mobilizing Bacteria on

Growth, Yield, Nutrient Acquisition, and Quality of Tobacco (Nicotiana tabacum L.). Journal Communications in Soil Science and Plant Analysis ,VOL 47(3):328-337.

Sutic,P., D.D., For, R.E& Tosic, M.T.(1999) Hand book of plant virus diseases. CRC prees. 129pp.

Velusamy.,Palaniyandi., J. Ebenezar Immanuel., and Samuel S. GNANAMANICKAM. (2013).

Rhizosphere Bacteria for Biocontrol of Bacterial Blight and GrowthPromotion of Rice.Science, 20(5): 356−362.

Van Loon, L. C., P. A. H. M. Bakker, and C. M. J. Pieterse. (1998). Systemic Resistance Induced

by Rhizosphere Bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36:453–483.

Yang.,Jungwook,Joseph W. Kloepper and Choong-MIN RYU.(2008). Rhizosphere bacteria help

plants tolerate abiotic stress.Plant Science Conferences. Plant Abiotic Stress Tolerance,Vienna, Austria p4.

Zehnder., Geoffrey W., Changbin Yao, John F. Murphy, Edward R. Sikora and Joseph W. Klopper.(2000).Induction of Resistance in Tomato Against Cucumber mosaic virus by Plant

Growth- Promoting Rhizobacteria. Printed in the Netherlands Biocontrol 45: 127-137.

Zehnder., G. W.; Murphy, J F.; Edward, J. S. and Kloepper, J. W.(2001). Application of Rhizobacteria for Induced Resistance. European Journal of Plant Pathology 107: P 39-50.

Effect of (PGPR) Bacteria on Some Morphological and Qualitative Traits of Pepper and (CMV) Infection

Mohammad S .Ibrahim [*(1)] ,Yaser A. Hammad [(1)] and Salim Raahe[(2)]

(1). Soil and Water Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria.
(2). Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria
(*Corresponding author: Mohammad. S. Ibrahim. E-Mail: mohammad.ibrahim@tishreen.edu.sy).

Received: 24/07/2019 Accepted: 25/08/2019

Abstract

This study is aimed to study the effect of using four species of bacteria (PGPR) *Azotobacter chroococcum, Rhizobium leguminosarum, Bacillus megaterium* and *Frateuria aurantia* on growth, and reducing the effect of *Cucumber mosaic virus* (CMV) on pepper plants in a greenhouse experiment. The observed growth parameters were: (surface leaf area, its index, concentration of vitamin C, and concentration of salicylic acid) in a greenhouse expirment in Tartous in the season 2016/2017. The results revealed that the inoculation single or mixed led to significant increasing in the whole treatments compared with the non-inoculated healthy control, and the effect of CMV in the inoculated plants was reduced and increasing in growth parameters compared with the non-inoculated healthy control. However, the single inoculation with *Frateuria aurantia* gave the best significant increasing compared with the other strains *Bacillus megaterium, Rhizobium leguminosarum and Azotobacter chroococcum* and the treatment of the four bacterial species was the best and with significant differences The surface leaf area was 9843 cm^2/ plant, and its index was 1.96 m^2/m^2. The concentration of vitamin C in the peppers was 228 mg /100 g. The concentration of salicylic acid in the leaves of the peppers was 82.87 µg / g fresh.

Keyword: PGPR, CMV, Pepper, Inoculation.