

تأثير السلالة البكتيرية *Bacillus subtilis* FZB27 في تحسين نمو نباتات الفليفلة تحت ظروف الإصابة بفيروس موزايك الخيار في الزراعة المحمية

مي معلا¹، أحمد أحمد²، عمر حمودي³ وعماد داود اسماعيل¹

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: maimoalla92@gmail.com

(2) مركز البحوث الزراعية، طرطوس، سورية؛ (3) مركز البحوث الزراعية، اللاذقية، سورية.

الملخص

معلا، مي، أحمد أحمد، عمر حمودي وعماد داود اسماعيل. 2020. تأثير السلالة البكتيرية *Bacillus subtilis* FZB27 في تحسين نمو نباتات الفليفلة تحت ظروف الإصابة بفيروس موزايك الخيار في الزراعة المحمية. مجلة وقاية النبات العربية، 38(2): 130-136.

هدف هذا البحث إلى تقويم كفاءة السلالة 27FZB للبكتيريا *Bacillus subtilis* في تحسين نمو وانتاجية نباتات فليفلة تحت ظروف العدوى بفيروس موزايك الخيار باستخدام ثلاث طرائق من المعاملة (معاملة البذور، ري الشتول، معاملة البذور + ري الشتول)، حيث نعتت بذور الفليفلة لمدة 12 ساعة في المعلق البكتيري تركيز 10⁹ وحدة مكونة للمستعمرات (cfu)/مل، كما تم ري الشتول بإضافة 20 مل من المعلق البكتيري السابق ثم أجريت العدوى الميكانيكية بفيروس موزايك الخيار بعد أسبوع من المعاملة بالبكتيريا. بينت النتائج وجود زيادة معنوية في ارتفاع النبات وطول الجذر في نباتات الفليفلة المعاملة بالبكتيريا قياساً بالشاهد السليم، ونباتات الفليفلة المعاملة بالبكتيريا والملقحة بالفيروس مقارنة بالشاهد المعدى بالفيروس فقط. وجاءت أكبر زيادة في طريقة "معاملة البذور + ري الشتول" ودون وجود فروق معنوية بين طرائق المعاملة. كما أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية في وزن الثمار، والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري وللمجموع الجذري في النباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالشاهد السليم، وكذلك في نباتات الفليفلة المعاملة بالبكتيريا والملقحة بالفيروس مقارنة بالشاهد المعدى. وكان أكبر وزن في طريقة "معاملة البذور + ري الشتول" ودون وجود فروق معنوية بين طرائق المعاملة.

كلمات مفتاحية: فيروس موزايك الخيار، بكتيريا *Bacillus subtilis* FZB27، معايير النمو، الفليفلة.

المقدمة

يتعرض محصول الفليفلة كغيره من محاصيل العائلة الباذنجانية للإصابة بعدد من الأمراض الفيروسية، ومن أهمها فيروس موزايك الخيار (*Cucumber mosaic virus*, CMV)، جنس *Cucumovirus*، فصيلة (*Bromoviridae*) (Laemmlen, 2004) جسيمات الفيروس كروية متناظرة غير مغلفة، قطرها 29 نانومتراً (Fegla, 1971)، وللفيروس عدة سلالات تختلف فيما بينها من حيث العوائل النباتية وأعراض الإصابة وطرائق الانتقال (Agrios, 2005). لفيروس موزايك الخيار مدى عوائل واسع يصيب عدة محاصيل من بينها الخيار والفليفلة والقرعيات والبندورة/الطماطم (Chabbouh & Cherif, 1990). وتسبب الإصابة بهذا الفيروس خسارة إقتصادية تبعاً للسلالة والصنف ووقت حدوث الإصابة والظروف البيئية المحيطة (Sutic et al., 1999) وقد تشبه الأوراق والأزهار والثمار المتشكلة على النباتات المصابة (Laemmlen, 2004). وتسبب بعض سلالات الفيروس استتالة غير طبيعية لكأس الزهرة، كما قد تسبب إصابة بعض الأصناف الحساسة

تعد الفليفلة من المحاصيل الأساسية في سورية ذات القيمة الغذائية العالية. تُزرع الفليفلة في دول عديدة من العالم كمحصول خضري، بالإضافة لاستخدامها كنبات طبي أو نبات زينة. تجفف الثمار الحمراء وتطحن لتصبح مسحوقاً ناعماً يمكن إضافته للوجبات الغذائية لتحسين نكهتها وزيادة قابليتها للغذاء. وقد تستعمل الثمار الحمراء كتوابل، وفي إنتاج الزيوت العطرية والصبغات الملونة، كما يستخدم النبات طبيًا لعلاج أمراض المفاصل والجهاز العصبي (Govindarajan & Salzer, 1985). تُعد الفليفلة ثالث أهم محاصيل العائلة الباذنجانية في العالم بعد كل من البندورة/الطماطم والبطاطا/البطاطس (حسن، 2001) كما تطورت زراعة الفليفلة تطوراً كبيراً في بلدان حوض المتوسط ومنها سورية، حيث بلغت المساحة المزروعة بالفليفلة 4603 هكتار بإنتاج 52280 طناً (المجموعة الإحصائية الزراعية، 2017).

مواد البحث وطرائقه

موقع تنفيذ البحث - نفذ البحث في مركز البحوث العلمية الزراعية في طرطوس في منطقة عمريت على الساحل السوري ضمن بيت زجاجي في تجارب نصف حقلية ضمن أصص بلاستيكية سعة 2 كغ.

المادة النباتية - تم استخدام هجين الفليفلة روبر (Robur F1) مصدره هولندا نسبة نقاوته 98%. هذا الهجين من أصناف الفليفلة الحلوة المعروف بإنتاجيته وقيمته التسويقية العالية.

العزلة الفيروسيّة - تم الحصول على عزلة محلية لفيروس موزاييك الخيار معرفة مسبقاً من قبل مختبر الأمراض الفيروسيّة لدى المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا). حفظت العزلة الفيروسيّة على نباتات التبغ، ومن ثم نقلت إلى عدد من نباتات البندورة/الطماطم والفليفلة وذلك لتأمين حاجة التجربة من اللقاح الفيروسي، وتم الحفاظ عليها ضمن تغطية شبكية بعيداً عن الحشرات.

السلالة البكتيرية - استخدمت السلالة البكتيرية *Bacillus subtilis* FZB27 والتي حفظت في المجمدة عند حرارة -80°س ضمن غليسرين 15% في مختبر الأمراض البكتيرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية لحين استخدامها.

حضر المستنبت السائل (Tryptic soy broth (TSB)) بإضافة 30 غ بودرة TSB إلى 1 لتر ماء معقم وخلطت بشكل جيد في جو معقم، ومن ثم عقت بالأتوكلاف لمدة 20 دقيقة عند حرارة 121°س. حضر المستنبت الصلب (Tryptic soy agar (TSA)) بإضافة 20 غ بودرة TSA إلى 1 لتر ماء معقم وخلطت بشكل جيد في جو معقم، ثم عقت بالأتوكلاف لمدة 20 دقيقة عند حرارة 121°س، ثم سكبت في أطباق بتري وتركت لتبرد عند حرارة الغرفة. نُشطت السلالة البكتيرية *B. subtilis* FZB27 المستخدمة في الدراسة على المستنبت الصلب آغار تريبتون الصويا (TSA) وحضنت عند حرارة 28°س لمدة 24 ساعة، ثم لفتت بها بيئة سائلة TSB معقمة بالأتوكلاف (حضرت بإضافة 1.5 غ بودرة TSB إلى 50 مل ماء معقم ورجت بشكل جيد ثم وضع كل 20 مل منها في دورق سعة 100 مل). حضنت البكتيريا عند حرارة المختبر (27-30°س) ضمن المستنبت السائل السابق على هزاز ديجيتال 180 دورة/دقيقة لمدة 24 ساعة. أخذ 2 مل من المستنبت السابق ولقح بها 200 مل من مستنبت سائل من TSB بالشروط السابقة أعلاه، ثم عُرضت لطرود مركزي 4000 دورة/دقيقة وتم استبعاد الجزء الطافي وخلطت البذور مع الراسب البكتيري بمعدل 30 بذرة في كل انبوب أبنودورف، ولضمان التصاق البكتيريا على البذور أخضعت لهزاز

بالفيروس تماوتاً جزئياً على شكل خطوط بنية على طول الساق والفروع (Zitter & Floroni, 1984).

لحماية نباتات الفليفلة من الأمراض الفيروسيّة المختلفة استخدمت أساليب مكافحة مختلفة متضمنة طرائق مكافحة الكيمائية لنواقل الفيروس وممارسات زراعية مختلفة إضافة لتطبيق عوامل مكافحة الحيوية (Lee et al., 2005؛ Chung et al., 2006). درس العديد من الباحثين عوامل مكافحة الحيوية باستخدام البكتيريا المحفزة لنمو النبات (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (PGPR) مع مسببات أمراض مختلفة على العديد من المحاصيل مثل البندورة/الطماطم والخيار والفليفلة والقمح وغيرها (Jetyanon & Klopper, 2002؛ Raupach & Klopper, 2000؛ Mathre & Johnston, 1995؛ Ryo et al., 2006؛ Wei et al., 1996). والبكتيريا المحسنة لنمو النبات عبارة عن كائنات حية دقيقة موجودة في منطقة جذور النبات، تعمل على تحفيز كمي ونوعي لنمو النبات وتسهل امتصاص النبات للعناصر الغذائية الموجودة في التربة (Abdel Ghany et al., 2013؛ Singh, 2013؛ Saharan & Nehra, 2011؛ Bouizagarne, 2013). وهي بكتيريا حرة المعيشة أو مرتبطة بالجذور والتي تقلل من شدة أمراض النبات كما تعمل على زيادة نمو النبات (Arora et al., 2001؛ Park et al., 1988؛ Ryo et al., 2006). هذه البكتيريا يمكن أن تثير دفاعات ذاتية في النبات والتي يشار إليها كمقاومة جهازية مستحثة (ISR) (Induced systematic resistance) ضد مجموعة واسعة من مسببات الأمراض تتضمن الفيروسات والفطور والنيماطودا والحشرات (Murphy et al., 2003؛ Jetyanon & Klopper, 2002؛ Ramamoorthy et al., 2003؛ Ryo et al., 2003). يوجد أجناس متنوعة من البكتيريا المستحثة للمقاومة تتضمن *Pseudomonas*، *Azospirillum*، *Bacillus*، *Azobacter*، *Enterobacter*، *Klebsiella*، *Arthrobacter*، *Burkholderia* و *Serratia* (Saharan & Nehra, 2011).

أكد Ryu et al. (2007) أن تحفيز المقاومة في نبات التبغ باستخدام البكتيريا المحسنة للنمو ليس له أي تأثير سلبي في النمو على خلاف المحرضات الكيمائية التي لا تسهم في زيادة نمو النبات لعدم توفيرها للمواد الغذائية والأملاح المعدنية اللازمة لنمو النبات بالإضافة لارتفاع تكاليفها.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم كفاءة السلالة البكتيرية *Bacillus subtilis* FZB27 في تحسين معايير النمو وتحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار في نباتات الفليفلة.

ميكانكي على سرعة 180 دورة/دقيقة لمدة 4 ساعات عند حرارة 25-30 °س (Hammoudi, 2007).

حضرت عدة تخفيفات من المزرعة البكتيرية السائلة وزرع 10 ميكروليتر من كل تخفيف على مستنبت غذائي (TSA) صلب في أطباق بتري قطرها 9 سم، ثم حضنت عند حرارة 28 ± 2 °س لمدة 48 ساعة. تم حساب كثافة البكتيريا ((Colony forming units (CFU) وهو عدد المستعمرات المتشكلة مضروباً بمقلوب التخفيف مع التحويل من ميكروليتر إلى مل وقد بلغ 10×9 في المحلول الأم. ولحساب CFU في البذرة تم سحق 10 بذور من كل من البذور المعاملة بالسلسلة البكتيرية في جفنة بورسلان مع 1 مل من محلول كلوريد الصوديوم 0.085%، ومن ثم زرعت على مستنبت صلب، وقدر تركيز البكتيريا في هذا المحلول من خلال عد المستعمرات البكتيرية عند التخفيف الممكن عد المستعمرات عنده وضربه بمقلوب التخفيف والتحويل من ميكروليتر إلى مل، والتقسيم على 10 لحساب التركيز في البذرة الواحدة وقد بلغ 10^6 في البذرة الواحدة (Hammoudi, 2007).

زراعة البذور والشتول - زرعت البذور المعاملة والبذور غير المعاملة كلا على حدة ضمن صواني فلينية ووضعت ضمن البيت الزجاجي وقدمت لها عمليات الخدمة الزراعية اللازمة لحين التشثيل في الأصص. نقلت النباتات بعد 30 يوماً من زراعة البذور إلى الأصص البلاستيكية التي تحوي الخلطة الترابية المعقمة شمسياً لمدة شهرين مع التورب المعقم بنسبة 2 تربة معقمة: 1 تورب.

تحضير اللقاح الفيروسي وإجراء العدوى الميكانيكية - تم سحق أوراق البندورة والفليفلة المصابة بفيروس موزايك الخيار في جفنة بورسلان بعد إضافة الماء المقطر بنسبة 1:5. أجريت العدوى الميكانيكية بعد اسبوع من معاملة ري الشتول بالبكتيريا، وتمت العدوى من خلال نثر مادة كربيد السيليكون (مادة مخرشة) على الأوراق العلوية ومن ثم مسح الأوراق بقطعة شاش مبللة باللقاح الفيروسي وباتجاه واحد. ومن ثم غسلت الأوراق بالماء للتخلص من الكمية الزائدة من اللقاح الفيروسي وكربيد السيليكون.

معاملات التجربة - شملت التجربة المعاملات التالية: (1) شاهد سليم (غير معدى بالفيروس/غير معاملة بالبكتيريا)، (2) نباتات معدة بالفيروس فقط، (3) نباتات معاملة بالبكتيريا بطريقة معاملة البذور، (4) نباتات معاملة بالبكتيريا بطريقة ري الشتول، (5) نباتات معاملة بالبكتيريا بطريقة "معاملة بذور + ري الشتول"، (6) نباتات معاملة بالبكتيريا بطريقة "معاملة البذور المعدة بالفيروس"، (7) نباتات معاملة بالبكتيريا بطريقة "ري الشتول المعدة بالفيروس"، (8) نباتات معاملة بالبكتيريا بطريقة "معاملة بذور + ري الشتول" معدة بالفيروس. بالنسبة لمعاملات "بذور +

ري"، تم إضافة 20 مل من المعلق البكتيري تركيز البكتيريا فيه 10^9 إلى كل نبات وذلك بعد أسبوع من زراعة الشتول في الأصص البلاستيكية.

معايير النمو - قدرت معايير النمو (ارتفاع النبات، طول الجذر، الوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري، ووزن الثمار) في نهاية التجربة بعد أربعة أشهر من الزراعة وفق التالي: تم قياس ارتفاع النبات في نهاية الموسم، ومن ثم قلعنا الشتول وتم قياس طول الجذر وحسبت نسب التقزم وفق المعادلة التالية:

$$\text{نسبة التقزم} = \frac{\text{طول الشاهد السليم} - \text{طول المعاملة}}{\text{طول الشاهد السليم}} \times 100$$

كما تم جمع الثمار ووضعت ضمن أكياس بلاستيكية، وتم كتابة نوع المعاملات ورقم المكرر على كل كيس ومن ثم وزنها وتسجيل البيانات. فصل المجموع الخضري عن المجموع الجذري، وغسلت الجذور ووضعت ضمن أكياس ورقية وتم وزنها. تم تخفيف معاملات المجموع الخضري في الفرن عند درجة حرارة 68 °س لمدة 48 ساعة، وتم أخذ الوزن الجاف للمجموع الخضري. تم تخفيف معاملات المجموع الجذري عند درجة حرارة 68 °س لمدة 24 ساعة، وتم أخذ الوزن الجاف للمجموع الجذري وحسبت نسب الإنخفاض في الوزن وفق المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الانخفاض بالوزن} = \frac{\text{وزن الشاهد السليم} - \text{وزن المعاملة}}{\text{وزن الشاهد السليم}} \times 100$$

تصميم التجربة - نفذت التجربة خلال خريف وشتاء 2018/2019. صممت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة متضمنة 8 معاملات في كل معاملة ثلاثة مكررات وكل مكرر يحوي 5 نباتات. وضعت الأصص ضمن البيت الزجاجي ضمن ثلاثة قطاعات (مكررات)، يحوي كل مكرر كل معاملات التجربة والتي وزعت بشكل عشوائي، وقدمت لها عمليات الخدمة الزراعية اللازمة وعمليات الرش المنتظمة بالمبيدات الحشرية المناسبة.

التحليل الإحصائي - نفذت كافة تجارب البحث وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (Randomized complete blocks design). حللت نتائج التجارب إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي CO-STAT 6.4، واختبرت الفروق بين المتوسطات حسب اختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمال 0.05، حيث ميزت المتوسطات المختلفة فيما بينها معنوياً بحروف هجائية مختلفة.

النتائج والمناقشة

وكذلك وجود ارتفاع معنوي في طول الجذر في النباتات المعاملة بالبكتيريا والملقحة بالفيروس (26.2، 27.93 و 28.13 سم)، مقارنة مع الشاهد الملقح بالفيروس (19.38 سم). كما تفوقت "معاملة بذور + ري" معنوياً على معاملة الشاهد السليم والشاهد المعدى بالفيروس وبشكل غير معنوي على باقي المعاملات وذلك في تأثيرها على طول جذر النبات. أظهر الوزن الرطب للمجموع الخضري ارتفاعاً واضحاً في النباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة مع غير المعاملة وكان هذا الارتفاع متفوقاً معنوياً على الوزن الرطب لنباتات الشاهد السليم والشاهد المعدى بالفيروس، وبالاجتهاد نفسه كانت نتائج الوزن الجاف للمجموع الخضري. كما أشارت النتائج إلى أن الوزن الرطب للمجموع الجذري للنباتات المعاملة بالبكتيريا كان أعلى بشكل معنوي مما هو في نباتات الشاهد السليم والشاهد المعدى بالفيروس، وأعلى بشكل غير معنوي بالمقارنة مع النباتات المعاملة بالبكتيريا والملقحة بالفيروس. تفوقت جميع المعاملات بالبكتيريا على الشاهد الملقح بالفيروس في قدرتها على تحسين وزن الثمار كما تفوقت معاملات البكتيريا فقط على الشاهد السليم دون وجود فروق معنوية. ويشير جدول 2 إلى تأثير المعاملات المختلفة في معدلات معايير النمو.

معايير تحفيز النمو - قدرت معايير النمو (ارتفاع النبات، طول الجذر، الوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري، ووزن الثمار) في نهاية الموسم وذلك بعد 4 أشهر من الزراعة، وبين الجدول 1 تأثير السلالة البكتيرية *B. subtilis* FZB27 في معايير نمو وإنتاجية نباتات الفليفلة. أشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي في طول النبات في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط (33.53، 34.66 و 36.66 سم) مقارنة مع الشاهد السليم (30.46 سم). وكان هناك ارتفاع معنوي في طول النبات في النباتات المعاملة بالبكتيريا والملقحة بالفيروس (30.4، 32.6 و 32.93 سم) مقارنة مع الشاهد الملقح بالفيروس (26.2 سم). لم تظهر فروقات معنوية بين طرائق تطبيق البكتيريا (معاملة بذور، ري الشتول، معاملة بذور + ري الشتول) في النباتات المعاملة الملقحة بالفيروس، بينما تفوقت طريقة "معاملة البذور + ري" على باقي المعاملات في النباتات المعاملة بالبكتيريا دون التلقيح بالفيروس. كما أشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي في طول الجذر في النباتات المعاملة بالبكتيريا (26.4، 27.67 و 30.06 سم) مقارنة مع الشاهد السليم (26.2 سم)،

جدول 1. تأثير السلالة البكتيرية *Bacillus subtilis* FZB27 في معايير نمو وإنتاجية نباتات الفليفلة الملقحة بفيروس موزاييك الخيار.

Table 1. The effect of bacterial strain *Bacillus subtilis* FZB27 on growth parameters and productivity of pepper plants infected with *Cucumber mosaic virus*.

المعاملة* Treatment*	ارتفاع النبات (سم) Plant height (cm)	طول الجذر (سم) Root length (cm)	الوزن الرطب للمجموع الخضري (غ) Vegetative fresh weight (g)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ) Vegetative dry weight (g)	الوزن الرطب للمجموع الجذري (غ) Root system fresh weight (g)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ) Root system dry weight (g)	وزن الثمار (غ) Fruits weight (g)
سليم Healthy	30.46 d	26.20 c	201.66 b	36.33 c	76.00 bc	14.33 bc	833.33 ab
CMV	26.20 e	19.38 d	145.00 c	25.66 d	51.00 c	10.00 c	550.00 d
B27(S+Ir)	36.66 a	30.06 a	254.33 a	48.66 a	113.33 a	23.33 a	1000.00 a
B27(Ir)	34.86 ab	27.67 ab	226.66 ab	43.66 ab	90.00 ab	18.33 ab	900.00 ab
B27(S)	33.53 bc	26.40 bc	204.00 b	39.33 bc	80.66 b	15.33 bc	850.00 ab
B27(S+Ir) + CMV	32.93 bc	28.13 ab	213.33 b	41.00 bc	92.33 ab	16.66 b	716.66 bd
B27(Ir) + CMV	32.60 c	27.93 ab	206.66 b	38.66 bc	84.00 b	14.66 bc	753.33 bc
B27(S) + CMV	30.40 cd	26.20 bc	196.66 b	36.66 bc	80.00 b	14.33 bc	626.66 cd
LSD _{0.05}	2.12	3.73	30.77	5.4	25.32	6.16	183.41

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في العمود نفسه لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%. * CMV = ملقح بفيروس موزاييك الخيار، B27 = البكتيريا *Bacillus subtilis* FZB27، S = استخدام بذور معاملة بالبكتيريا، Ir = مريوة بمعلق البكتيريا، S+Ir = استخدام بذور معاملة بالبكتيريا + ري بمعلق البكتيريا.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

* CMV= Inoculated with *Cucumber mosaic virus*, B27= *Bacillus subtilis* FZB27, S= Seed treated with the bacterium, Ir= Irrigated with bacterial suspension, S+Ir= Treated seed + irrigated with bacterial suspension.

جدول 2. معدل الزيادة في عوامل النمو الناتجة عن معاملة نباتات الفليفلة بالبكتيريا المحسنة للنمو *Bacillus subtilis* FZB27 باستخدام طرائق مختلفة. **Table 2.** Rate of increase in growth parameters resulted from treating pepper plants with the bacterial strain *Bacillus subtilis* FZB27 using three different methods.

معدل الزيادة (%) (Mean rate of increase (%))							المعاملة* Treatment*
وزن الثمار (مقارنة)	وزن الجذري (مقارنة)	وزن الرطب للمجموع (مقارنة)	وزن الجاف للمجموع (مقارنة)	الوزن الرطب للمجموع (مقارنة)	طول الجذر (مقارنة)	ارتفاع النبات (مقارنة)	
الشاهد السل (المعدى)	الشاهد السليم (المعدى)	الشاهد السليم (المعدى)	الشاهد السليم (المعدى)	الشاهد السليم (المعدى)	الشاهد السليم (المعدى)	الشاهد السليم (المعدى)	
Fruit weight (HC/I)	Root system dry weight (HC/I)	Root system fresh weight (HC/I)	Vegetative Dry weight (HC/I)	Vegetative fresh weight (HC/I)	Root length (HC/I)	Plant height (HC/I)	
20.0	62.8	49.11	32.70	26.11	14.7	20.35	B27(S+Ir)
30.3	66.6	81.00	59.70	47.12	45.0	25.57	B27(Ir+S) + CMV
8.0	27.9	18.42	19.00	12.39	5.6	14.44	B27(Ir)
36.9	46.6	64.70	7.28	42.52	44.0	24.42	B27(Ir) + CMV
2.0	7.0	6.13	50.66	1.16	1.0	10.00	B27(S)
13.9	43.3	56.86	42.86	35.62	35.0	16.00	B27(s) + CMV

*CMV= ملقح بفيروس موزايك الخيار، B27 = البكتيريا *Bacillus subtilis* FZB27، S = استخدام بذور معاملة بالبكتيريا، Ir = مروية بمعلق البكتيريا، S + Ir = استخدام بذور معاملة بالبكتيريا + ري بمعلق البكتيريا.

*CMV= Inoculated with *Cucumber mosaic virus*, B27= *Bacillus subtilis* FZB27, S= Seed treated with the bacterium, Ir= Irrigated with bacterial suspension, S+Ir= Treated seed + Irrigated with bacterial suspension.

Azotobacter chroococcum و *Bacillus megaterium*، *aurantia* بشكل مفرد أو مختلط قد أدى إلى زيادة معنوية في معايير الإنتاج بالمقارنة مع الشاهد المعدى والشاهد السليم. لوحظت أفضل نتائج التلقيح المفرد عند استخدام السلالة *F. aurantia* تليها السلالة *B. megaterium* ثم السلالة *A. chroococcum*، وأظهر التلقيح المختلط أكبر تحسين في معايير الإنتاج للمعاملة المختلطة ABF، كما تبين اختلاف تأثير بكتيريا الدراسة حسب طريقة المعاملة وكان أكبر تخفيض لتأثير الفيروس في معايير الإنتاج هو لمعاملة التلقيح المختلط لبذور وشتول البندورة بالأنواع البكتيرية الثلاثة معاً.

كما أشارت دراسة أخرى إلى أن نباتات البندورة التي اختبرت مع كل من المحضرات الحيوية الحاوية على البكتيريا *B. pumilus* E34، *B. subtilis* IN937b، *B. amyloliquefaciens* IN937a و *B. pumilus* T4 و *B. pumilus* INR7 كانت مشابهة من حيث الشكل والتطور لنباتات الشاهد، الأكبر بـ 10 أيام من نباتات التجربة، وعند التعرض للإصابة بفيروس موزايك الخيار كانت كل النباتات في معاملات المحضرات الحيوية ومعاملة الشاهد، الأكبر بـ 10 أيام من نباتات التجربة، أفضل بشكل واضح من حيث الإرتفاع والوزن الجاف وعدد الإزهار والثمار من تلك النباتات المعده بفيروس موزايك الخيار من العمر نفسه، مما يشير إلى أن معاملة البندورة بالمحضرات الحيوية يؤدي إلى تحسن ملحوظ في النمو وفي الوقاية من الإصابة بفيروس موزايك الخيار (Murphy et al., 2003).

معدلات الزيادة في معايير النمو - تعود الزيادة في معايير النمو لنبات الفليفلة تحت تأثير المعاملة بالسلالة البكتيرية *B. subtilis* FZB27 إلى دور البكتيريا في تحسين نمو النبات، كون البكتيريا تعد مصدراً إضافياً للهرمونات والفيتامينات وعوامل النمو التي تساعد في تحسين نمو النبات وتحسين الإنتاجية (Babalola & Akindolire, 2011) إن تحسن النمو في النباتات المعاملة بالبكتيريا يسهم في تأخر ظهور أعراض الإصابة الفيروسية حسب Murphy et al. (2003)، وقد يكون بسبب تحفيز النبات على زيادة إنتاج الهرمونات النباتية وتزويد النبات بالعناصر الغذائية وإذابة بعض العناصر الغذائية في التربة وجعلها متاحة للنبات، أو بسبب تحفيز المقاومة بفعل البكتيريا ضد فيروس موزايك الخيار أو بفعل الالتهين معاً (Zehnder et al., 2001). تسهم البكتيريا المحفزة للنمو بدور في إنتاج منظمات النمو من أوكسين وسيتوكونين وحمض الجبريلين وحمض الأندول الخلي مما يسهم في زيادة نمو ونشاط المجموع الجذري. وقد أظهرت دراسات عديدة قدرة كلا أنواع الجنس *Pseudomonas* والنوع *Bacillus subtilis* على إنتاج حمض الأندول الخلي وإذابة الفوسفور (Yu et al., 2012؛ Zaidi et al., 2006) توافقت النتائج مع ما أشارت إليه قواس (2018) خلال عملها على فيروس موزايك الخيار على البندورة باستخدام أربع سلالات من البكتيريا المحفزة للنمو على أصناف من البندورة بطريقة "معاملة البذور + ري". كما توافقت النتائج مع ما أشار إليه الشامي وآخرون (2017) حيث أن التلقيح بالبكتيريا *Frateria*

Abstract

Moalla, M., A. Ahmed, O. Hammoudi and I.D. Ismail. 2020. Effect of the bacterial strain *Bacillus subtilis* FZB27 in controlling cucumber mosaic virus (CMV) in pepper plants grown under greenhouse conditions. Arab Journal of Plant Protection, 38(2): 130-136.

This study aimed to evaluate the effect of bacterial strain *Bacillus subtilis* FZB27 on growth and productivity improvement of pepper plants infected with cucumber mosaic virus (CMV) using three different applications (treated seeds, irrigated with bacterial suspension, treated seeds + irrigated with bacterial suspension). Pepper seeds were soaked for 12 hours in a suspension of *B. subtilis* FZB27 with concentration of 9×10^9 cfu/ml. Ten days later, the seedlings were irrigated with 20 ml of the same concentration suspension of *B. subtilis* FZB27, then inoculated with CMV one week after transplanting. The results showed that, there was a significant increase in: (i) Plants height and roots length of the bacterial treated plants compared to the healthy control, and significant increase in the height and roots length of the infected and bacterial treated plants compared to the infected control, with best results obtained from the treated seeds + irrigation with bacterial suspension treatment, with no significant differences among the different treatments, and (ii) Increased fruits weight and the root fresh and dry weight and vegetative growth of the bacterial treated plants compared to the healthy control, and significant increase of the CMV-infected and bacterial treated plants compared to the infected control, with best results obtained from the treated seeds + irrigation with bacterial suspension treatment, with no significant differences among the treatment methods.

Keywords: Induced systemic resistance, *Cucumber mosaic virus*, *Bacillus subtilis* FZB27, pepper.

Corresponding author: May Moalla, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria, Email: maimoalla92@gmail.com

References

المراجع

- Chung, E., C.M. Ryu, S.K. Oh, R.N. Kim, J.M. Park, H.S. Cho, S. Lee, J.S. Moon, S.H. Park and D.I. Choi. 2006. Suppression of pepper SGT1 and SKP1 causes severe retardation of plant growth and compromises basal resistance. *Physiologia Plantarum*, 126: 605-617. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00631.x>
- Fegla, G.I. 1971. Some virus diseases affecting cucurbits in Ukrain. Ph.D thesis. Institute of Microbiology and Virology. Ukrainian Academy of Science. Kiev. USSR (in Russian).
- Govindarajan, V.S. and U.J. Salzer. 1985. Capsicum-production, technology, chemistry, and quality part 1: History, botany, cultivation, and primary processing. *Food Science and Nutrition*, 22: 109-176. <https://doi.org/10.1080/10408398509527412>
- Hammoudi, O. 2007. Einfluss mikrobieller Antagonisten auf den Befall mit *Phoma lingam* und *Verticillium dahlia* var. *longisporum* an Raps (*Brassica napus* L. var. *napus*). Dissertation, University of Kiel. 123 pp.
- Jetiyanon, K. and J.W. Kloepper. 2002. Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control*, 24: 285-291. [https://doi.org/10.1016/s1049-9644\(02\)00022-1](https://doi.org/10.1016/s1049-9644(02)00022-1)
- Laemmlen, F. 2004. Viruses in Peppers. University of California, Davis. 604 pp.
- Lee, H.J., K.H. Park, J.H. Shim, R.D. Park, Y.W. Kim, J.Y. Cho, H. Hwangbo, Y.C. Kim, G.S. Cha, H.B. Krishnan and K.Y. Kim. 2005. Quantitative changes of plant defense enzymes in biocontrol of pepper (*Capsicum annuum* L.) late blight by antagonistic *Bacillus subtilis* HJ927. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15: 1073-1079.
- Mathre, D.E. and R.H. Johnston. 1995. Combined biological and chemical seed treatments for control of two seedling diseases of *Sh2* sweet corn. *Plant Disease*, 79: 1145-1148. <https://doi.org/10.1094/pd-79-1145>
- الشامي، رامز محمد، ياسر علي حماد و عماد داؤد اسماعيل. 2017. تقييم فعالية التلقيح بالبكتيريا المحفزة لنمو النبات في الحد من تأثير فيروس موزاييك الخيار في بعض معايير نمو نباتات البندورة. مجلة جامعة البعث، 39: 22 صفحة.
- المجموعة الإحصائية الزراعية. 2017. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية.
- حسن، أحمد عبد المنعم. 2001. إنتاج الفلفل والباذنجان، الدار العربية للنشر والتوزيع. 360 صفحة.
- قواس، حنان. 2018. دراسة تأثير بعض السلالات من بكتيريا الجذور المحسنة لنمو النبات PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار على نبات البندورة في الزراعة المحمية. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة تشرين، سورية. 103 صفحات.
- Abdel Ghany, T.M., M.M. Alawlaqi and M.A. Al Abboud. 2013. Role of biofertilizers in Agriculture: a brief review. *Mycopathology*, 11: 95-101.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant pathology*, 5th ed. Elsevier. 952 pp.
- Arora, N.K., S.C. Kang and D.K. Maheshwari. 2001. Isolation of siderophore-producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Current Science*, 81: 673-677.
- Babalola, O.O. and A.M. Akindolire. 2011. Identification of native rhizobacteria peculiar to selected food crops in Mmabatho municipality of South Africa. *Biological Agriculture and Horticulture*, 27: 294-309. <https://doi.org/10.1080/01448765.2011.647798>
- Bouizgarne, B. 2013. *Bacteria for Plant Growth Promotion and Disease Management*. Springer. Berlin. 454 pp. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3_2
- Chabbouh, N. and C. Cherif. 1990. Cucumber mosaic virus in artichoke. *FAO Plant Protection Bulletin*, 35: 52-53.

- Ryu, C.-M., J.W. Kim, O.H. Choi, S.H. Ki, and C.S. Park.** 2006. Improvement of biological control capacity of *Paenibacillus polymyxa* E681 by seed pelleting on sesame. *Biological Control*, 39: 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.04.014>
- Saharan, B.S. and V. Nehra.** 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, 21:1-30.
- Singh, J.S.** 2013. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Potential Microbes for Sustainable Agriculture. *Reson*, 18: 275–281. <https://doi.org/10.1007/s12045-013-0038-y>
- Sutic, D.D., R.E. Ford and M.T. Tasic.** 1999. Handbook of plant virus diseases. CRC press. 584 pp.
- Wei, G., J.W. Kloepper and S. Tuzun.** 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*, 86: 221-224. <https://doi.org/10.1094/Phyto-86-221>
- Yu, X., X. Liu, T.H. Zhu, G.H. Liu and C. Mao.** 2012. Co-inoculation with phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing bacteria on solubilization of rock phosphate and their effect on growth promotion and nutrient uptake by walnut. *European Journal of Soil Biology*, 50: 112-117. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.01.004>
- Zaidi, S., S. Usmani., B.R. Singh and J. Musarrat.** 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ 101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 64: 991-997. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.057>
- Zehnder, G.W, J.F. Murphy, E.J. Sikora and J.W. Kloepper.** 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 39-50. <https://doi.org/10.1023/A:1008732400383>
- Zitter, T.A. and D. Florini.** 1984. Virus diseases of pepper. Cornell University. Vegetable MD on line. Crops, Fact Sheet, Cornell University, New York State: 736 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. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.10.1301>
- Park, C.S., T.C. Paulitz and R. Baker.** 1988. Biocontrol of Fusarium wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 78: 190-194. <https://doi.org/10.1094/phyto-78-190>
- Ramamoorthy, V., T. Raguchander and R. Samiyappan.** 2002. Enhancing resistance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with fluorescent pseudomonads. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 429-441. <https://doi.org/10.1023/A:1016062702102>
- Raupach, G.S. and J.W. Kloepper.** 2000. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growth-promoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Disease*, 84: 1073–1075. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.10.1073>
- Ryu, C.-M., B.R. Kang, S.H. Han, S.M. Cho, J.W. Kloepper, A.J. Anderson, Y.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: 383-390. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9168-y>
- Ryu, C.-M., C.H. Hu, M.S. Reddy and J.W. Kloepper.** 2003. Different signaling pathways of induced resistance by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana* against two pathovars of *Pseudomonas syringae*. *New Phytologist*, 160: 413-420. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00883.x>

Received: December 2, 2019; Accepted: March 6, 2020

تاريخ الاستلام: 2019/12/2؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2020/3/6