تأثير سلالات من البكتريا المحسنة لنمو النبات في نشاط إنزيم البيروكسيداز ونمو نباتات البندورة/الطماطم في ظروف الزراعة المحمية

حنان قواس[1]، أحمد أحمد[2]، عمر حمودي[1] وعماد سماعيل[3]

(1) مركز البحوث العلمية الزراعية، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: hanankawas1@gmail.com؛

(2) مركز البحوث العلمية الزراعية، طرطوس، سورية؛ (3) كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

الملخص

قواس، حنان، أحمد أحمد، عمر حمودي وعماد سماعيل. 2017. تأثير سلالات من البكتريا المحسنة لنمو النبات في نشاط إنزيم البيروكسيداز ونمو باتات البندورة/الطماطم في ظروف الزراعة المحمية. مجلة وقاية النبات العربية، 35(2): 58–66.

هدف هذا البحث إلى تقويم فعالية أربع سلالات من البكتريا المحسنة لنمو النبات (PGPR) وهي *Pseudomonas chlororaphis* MA342، *Serratia plymuthica* HRO-C48، *Bacillus subtillis* B2g و*B. subtillis* FZB27 في نشاط إنزيم البيروكسيداز ونمو نباتات البندورة/الطماطم في الزراعة المحمية. تمت معاملة البذور بالمعلق البكتيري بتركيز 10^{10}cfu (تركيز المعلق البكتيري)/مل لكل سلالة على حدة، ثم أضيف 10 مل من المعلق البكتيري (10^9/مل) الى كل شتلة بعد 10 أيام من التشتيل. أشارت نتائج تقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز في العينات الورقية المأخوذة من نباتات التجربة بعد 78 يوماً من زراعة البذور الى وجود تفوق معنوياً للسلالتين B27 و MA (0.156 و 0.126 نانومول، على التوالي)، مقارنة بالشاهد (0.002 نانومول)، وبعد 94 يوماً من زراعة البذور كان هناك تفوق معنوي للسلالة B27 (0.393 نانومول) على الشاهد (0.056 نانومول)، وعلى السلالتين MA و C48 (0.087 و 0.056 نانومول، على التوالي)، من حيث النشاط الانزيمي. كما بينت النتائج وجود زيادة غير معنوية في ارتفاع نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا مقارنة بالشاهد، وإلى تفوق معنوي للسلالة B27 (581.66 غ) على الشاهد (317 غ) وعلى بقية السلالات من حيث الوزن الطري للمجموع الخضري، بينما كان هناك تفوق معنوي للسلالتين B27 و C48 (191.33 و 169.5 غ، على التوالي)، مقارنة بالشاهد (111.33 غ) من حيث الوزن الجاف للمجموع الخضري. وبالنسبة للوزن الطري للمجموع الجذري فقد تفوقت السلالتين B27 و B2g (142 و 75.33 غ) معنوياً على الشاهد (22.33 غ) وعلى بقية السلالات. بينما لم يكن هناك فروقات معنوية بين السلالات البكتيرية والشاهد من حيث الوزن الجاف للمجموع الجذري. وأشارت النتائج إلى عدم وجود فروقات معنوية بين النباتات المعاملة بالبكتيريا والشاهد من حيث عدد ووزن الثمار.

كلمات مفتاحية: *Pseudomonas chlororaphis* MA342، *Serratia plymuthica* HRO-C48، *Bacillus subtillis* B2g، *B. subtillis* FZB27، معاملة بذور، ري، جذور.

المقدمة

تعد البندورة/الطماطم (*Lycopersicom solanum* L.) من أهم محاصيل الخضار وأكثرها انتشاراً في المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية. تحتل البندورة المرتبة الثانية بين الخضار المحمية في سورية من حيث الأهمية (3). أشارت الدراسات لوجود بكتريا محسنة لنمو النبات (PGPR) Plant Growth Promoting Rhizobacter تستعمر الجذور وتحسن من نمو وغلة النبات بشكل مباشر من خلال تحسين تطور الجذور وبالتالي زيادة امتصاص الماء والعناصر الغذائية من قبل النبات، إضافة إلى إنتاج الهرمونات النباتية، 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 (20، 22، 24). تنتمي هذه البكتريا إلى عدة أجناس منها: *Azotobacter*، *Azospirillum*، *Bacillus*، *Rhizobium*، *Pseudomonas* و *Serratia*، بعضاً من هذه البكتريا يمكنها أن تدخل إلى داخل الجذر وتقيم مستعمرات داخلية، والعديد منها قادر على تجاوز الطبقة الداخلية والعبور من الغلاف الخارجي للجذر إلى النظام الوعائي وتنمو بقوة كبكتريا داخلية في الساق والأوراق والدرنات والأعضاء الأخرى (9). يعد استخدام البكتريا المحسنة لنمو النبات بديلاً للأسمدة والمبيدات الكيميائية، وبعضاً من هذه البكتريا ينتج تجارياً لاستخدامها

http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-035.2.058066
© 2016 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

في الزراعة لتحسين نمو النباتات من خلال تزويد النبات بالعناصر الغذائية، ويمكنها ان تحافظ على البيئة وتحسن من معدل انتاجية التربة (8، 19). ولبكتريا المحيط الجذري تطبيقات عدة في مجال التسميد الحيوي فقد أشارت دراسة في السعودية على زراعة محصولي الأرز والبرسيم الحجازي داخل أصص في البيوت المحمية، أن التسميد الحيوي أدى إلى زيادة معنوية في طول نبات الارز، ومساحة الورقة، وعدد الخلف في النبات، وعدد الحبوب في السنبلة (5). أثبتت دراسات على العائلة البقولية أن استخدام البكتريا المحسنة لنمو النبات قد حفز تشكيل العقد البكتيرية وتثبيت الآزوت في فول الصويا، العدس، البازلاء، الحمص والفاصولياء (10). وقد أصبح استخدام PGPR في الزراعة كمخصبات حيوية ذي أهمية عالمية نظراً لدورها المهم والواعد في تحسين الغلات الزراعية (25).

تعمل الخلايا النباتية لحماية نفسها من عمليات الأكسدة على إنتاج الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم البيروكسيداز والكاتالاز، ويعد مستوى نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة، وتراكيز مضادات الأكسدة من المؤشرات الدالة على ضغط عمليات الاكسدة في النبات (15). حيث يسهم أنزيم البيروكسيداز في تنظيم استطالة الخلايا وأكسدة المركبات الفينولية وأكسدة حمض الأندول الخلي، إضافة إلى دوره في إتمام المرحلة الأخيرة من التخليق الحيوي للغنين والمركبات القابلة للأكسدة (15).

نظراً للكلفة العالية للأسمدة الكيميائية وتأثيرها السلبي في البيئة، وحاجة المستهلك لغذاء خال من المواد الكيميائية، كان لابد من البحث عن بدائل حيوية تعمل على تحفيز النمو دون التأثير في البيئة. لذا هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير معاملة بذور وري جذور نباتات البندورة/الطماطم بأربع سلالات من PGPR في تحسين نمو نباتات البندورة في الزراعة المحمية، لاستخدامها في تخفيف الضغط الذي تسببه الأمراض الفيروسية في دراسات لاحقة.

مواد البحث وطرائقه

موقع تنفيذ البحث

نفذ البحث في مركز البحوث الزراعية في اللاذقية ضمن دفيئة بلاستيكية في تجربة نصف حقلية (ضمن أكياس بلاستيكية).

هجين البندورة/الطماطم والسلالات البكتيرية المستخدمة

استخدم هجين البندورة ميريل (Tomato Merel F1) مصدره الصين. استخدمت 4 سلالات بكتيرية محفوظة عند حرارة –85 ºس في مختبر الأمراض البكتيرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية والتي تم الحصول عليها من مصادر مختلفة (جدول 1).

تحضير المعلقات البكتيرية

حضرت المعلقات البكتيرية حسب طريقة Hammoudi (13)، حيث نميت السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة على وسط مغذي صلب (TSA) Tryptic soy agar، وحضنت عند 28 ˚س لمدة 24 ساعة. ولتنشيط السلالات البكتيرية لقح كل 20 مل وسط مغذي سائل Tryptic soy broth (TSB) (المحضر بإضافة 1.5 غ TSB إلى 50 مل ماء) بسلالة بكتيرية واحدة، ووضعت على هزاز رقمي 180 دورة/دقيقة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة المختبر 27–30 ˚س. أخذ 2 مل من الوسط السابق ولقح بها 200 مل من وسط مغذ سائل (TSB)، وتركت لمدة 48 ساعة عند درجة حرارة المختبر، ثم عُرضت لطرد مركزي 4000 دورة/دقيقة لمدة عشر دقائق عند 10 ˚س، تم استبعاد الجزء الطافي والاحتفاظ بالراسب البكتيري. تمت معاملة البذور بالراسب البكتيري بمعدل 30 بذرة لكل نوع بكتيري، بخلط البذور مع الراسب البكتيري وقليل من الصمغ العربي لضمان التصاق البكتريا على البذور ثم وضعت على هزاز رقمي بسرعة 180 دورة/دقيقة لمدة 4 ساعات عند 25–30 ˚س. وضعت بذور الشاهد في ماء معقم مضافاً له قليلاً من الصمغ العربي لمدة 4 ساعات ثم جففت هوائياً. قدر تركيز البكتيريا في المحلول الأم (الراسب البكتيري)، بتحضير عدة تخفيفات من المزرعة البكتيرية السائلة، ومن ثم زراعة 10 ميكروليتر من كل تخفيف على مستنبت غذائي صلب (TSA) في أطباق بتري قطرها 9 سم، ثم حضنت عند 28±2 ºس مدة 48 ساعة. حُسب تركيز المعلق البكتيري (cfu) بعد المستعمرات المتشكلة مضروباً بمقلوب التخفيف، وبلغ 9×10^{10} في المحلول الأم. أما بالنسبة لتقدير cfu في البذرة فتم سحق 5 بذور من كل من البذور المعاملة لكل سلالة على حدة في جفنة بورسلان مع 1 مل من محلول NaCl 0.085%، ومن ثم تم تحضير عدة تخفيفات كما هو مشار إليه سابقاً وقد بلغ 10^7 في البذرة الواحدة (13).

حضرت معلقات بكتيرية لكل سلالة بكتيرية على حدة، بتلقيح 50 مل بيئة سائلة معقمة TSB ببكتريا مأخوذة من مزارع بكتيرية نامية على بيئة صلبة من كل سلالة على حدة ومن ثم أخذ 2 مل ولقحت بها 200 مل بيئة سائلة وتركت على هزاز رقمي لمدة 48 ساعة عند درجة حرارة الغرفة، وقدر التركيز cfu لكل معلق بكتيري وفق الطريقة المذكورة سابقاً وقد بلغت 10^9/مل معلق بكتيري، وبعد 10 أيام من التشتيل أضيف 10 مل من كل معلق بكتيري إلى كل شتلة من شتول البندورة حسب معاملات التجربة.

جدول 1. السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة.

Table 1. Bacterial strains used in this study.

رمز السلالة Strain code	السلالة البكتيرية Bacterial Strain	المصدر Origin
MA	*Pseudomonas chlororaphis* MA342	M. Hokeberg, Bioagri, Upsalla, Sweden
C48	*Serratia plymuthica* HRO-C48	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

تصميم التجربة

نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة مُتضمنة 5 معاملات، بما فيها معاملة الشاهد غير المعامل بالبكتريا، وفي كل منها ثلاثة مكررات، وكل مكرر يحوي 5 نباتات. زرعت بذور البندورة في صواني فلينية، ثم نقلت الشتول بعمر 45 يوماً إلى أكياس بلاستيكية سوداء سعة 2 ليتر تحوي خلطة من التربة والتورب الزراعي المعقم بنسبة 1:3 حجماً، وزعت ضمن الدفيئة البلاستيكية في ثلاثة خطوط على مسافة 1م بين الخط والآخر، و40 سم بين الكيس والآخر ضمن الخط الواحد. وبعد 10 أيام من التشتيل، اضيف 10 مل من كل معلق بكتيري بتركيز 10^9/مل إلى كل شتلة من شتول البندورة/الطماطم.

تقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز ومعايير النمو والانتاجية

تقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز في أنسجة نباتات البندورة/الطماطم– تم تقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز بعد 78 و94 يوماً من زراعة البذور. إذ تم تحضير المستخلص الانزيمي وفق طريقة Altunkaya و Gokmen (7)، وقدر نشاط إنزيم البيروكسيداز بوساطة جهاز المطياف الضوئي، حضرت العينات لوضعها في حجرة جهاز المطياف الضوئي حسب ما نشره Ghazi (12)، بإضافة 3 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم تركيز 0.1 مولار، درجة حموضته 6، و200 ميكروليتر من المستخلص الإنزيمي، و 6.2 ميكروليتر Guaiacol مولارية 124.14 غ/مول إلى انبوب اختبار سعة 10 مل. وضعت الأنابيب في حمام مائي حرارته 28–30 °س لمدة 5 دقائق. وقبل وضع العينات بالجهاز مباشرة، تمت إضافة 12 ميكروليتر من الماء الأوكسجيني H_2O_2 34.01 غ/مول إلى كل أنبوب من أنابيب الإختبار الحاوية على المستخلص الإنزيمي، ثم أضيف 3 مل من مزيج المستحضر الإنزيمي في خلية المطياف الضوئي. أخذت قراءة الجهاز عند طول موجة 430 نانومتر مرة كل 30 ثانية لمدة 3 دقائق، وقدر نشاط إنزيم البيروكسيداز بعدد ميكرومولات الماء الأوكسجيني التي تتفكك بوساطة 100 مغ من النسيج النباتي الداخل في تشكيل المستخلص الإنزيمي في الدقيقة الواحدة عند حرارة 25 °س.

وتم حساب نشاط إنزيم البيروكسيداز وفق معادلة الشركة المصنعة للمادة القياسية للإنزيم كما يلي:

$$\text{Peroxidase activity} = \frac{\text{B}\times \text{Sample dilution factor}}{\text{Reaction time} \times \text{V}}$$

حيث B= كمية الماء الأوكسجيني H_2O_2 المنخفضة بين الزمن الأولي والزمن النهائي مقدرة بـــالنانومول؛ V= حجم العينة المضافة إلى حجرة القياس مقدرة بـــ مل؛ Reaction Time= الزمن النهائي – الزمن البدائي مقدراً بالدقيقة.

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

$$\text{معدل الزيادة في النشاط \%} = \frac{\text{النشاط الإنزيمي في المعاملة} - \text{النشاط الإنزيمي في الشاهد}}{\text{النشاط الإنزيمي في الشاهد}} \times 100$$

تأثير المعاملة بالبكتريا في نمو وإنتاجية نباتات البندورة/الطماطم– تم في نهاية التجربة (3 أشهر ونصف)، جرى حساب متوسط ارتفاع النباتات والوزن الطري والجاف لكل من المجموع الخضري والجذري، اضافة إلى متوسط عدد الثمار ووزنها في كل معاملة على حدة وتقدير تأثير المعاملة بالبكتريا في كل مؤشر من مؤشرات النمو والإنتاجية المدروسة وفق المعادلة التالية:

$$\text{معدل الزيادة في المؤشر المدروس \%} = \frac{\text{المؤشر في المعاملة} - \text{المؤشر في الشاهد}}{\text{المؤشر في الشاهد}} \times 100$$

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج CO-STAT 4.6 وتمت المقارنة بين المتوسطات عند أقل فرق معنوي (LSD) 5%.

النتائج والمناقشة

نشاط إنزيم البيروكسيداز

بينت النتائج ارتفاع نشاط إنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا بعد 78 يوماً من زراعة البذور، إذ تراوحت بين 0.048 إلى 0.156 نانومول تبعاً للسلالة البكتيرية مقارنة مع الشاهد غير المعامل (0.002 نانومول)، مع تفوق السلالات B27 وMA بشكل معنوي على الشاهد. وتفوقت السلالة B27 معنوياً على السلالة C48، وبشكل غير معنوي على باقي السلالات. تراوحت نسبة تحسن نشاط إنزيم البيروكسيداز بفعل هاتين السلالتين البكتيريتين 7.7% و 6.2%، على التوالي. لوحظ تحسن في نشاط إنزيم البيروكسيدازفي النباتات المعاملة بالبكتريا بعد 94 يوماً من الزراعة إذ تراوح بين 0.056 و0.393 نانومول مقارنة مع الشاهد (0.056 نانومول)، مع وجود تفوق معنوي للسلالة B27 على الشاهد وعلى السلالتين MA وC48، وبشكل غير معنوي على السلالة B2g، وبلغت نسبة تحسن نشاط البيروكسيداز بفعل هذه السلالة البكتيرية 601.78%.

أشارت نتائج مشابهة جرت في رومانيا بأن معاملة بذور الفاصولياء بسلالتين من البكتريا المحسنة لنمو النبات (*pummilus* strain S7 *Bacillus* ،*mycoides* strain S4 *Bacillus*) معاً أحدث أعلى نشاط لانزيم البيروكسيداز بعد 20 يوماً من المعاملة، وكان نشاط إنزيم البيروكسيداز معتدلاً مع السلالة S7، لكن الزيادة كانت معنوية مقارنة مع الشاهد. وبعد 42 يوماً من المعاملة كان اعلى نشاط لانزيم البيروكسيداز مع السلالة S4، حيث لم تسجل اية اختلافات معنوية بالنسبة للمعاملات الاخرى مقارنة بالشاهد. وبعد 59 يوماً من المعاملة لم يكن هناك أي تأثير للمعاملة بالبكتريا في نشاط أنزيم البيروكسيداز (24).

مؤشرات النمو

ارتفاع النبات – أشارت النتائج إلى وجود زيادة غير معنوية في ارتفاع نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا (58.25–70.25 سم) مقارنة بالشاهد (57.83 سم)، وبلغت اعلى نسبة زيادة بالطول في النباتات المعاملة بالبكتريا B24 (21.47%) مقارنة بباقي السلالات البكتيرية (0.72–9.80%).

جدول 2. تأثير أربع سلالات بكتيرية في نشاط إنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة/الطماطم بعد 78 و 94 يوماً من زراعة البذور.

Table 3. Effect of the four bacterial strains on peroxidase activity in tomato plants 78 and 94 days after planting.

% للزيادة في نشاط إنزيم البيروكسيداز مقارنة مع الشاهد % of peroxidase activity increase compared with control	نشاط إنزيم البيروكسيداز (نانومول) بعد 94 يوماً من زراعة البذور Peroxidase activity (nmol) 94 days after sowing	% للزيادة في نشاط إنزيم البيروكسيداز مقارنة مع الشاهد % of peroxidase activity increase compared with control	نشاط إنزيم البيروكسيداز (نانومول) بعد 78 يوماً من زراعة البذور Peroxidase activity (nmol) 78 days after sowing	Treatment	المعاملة
0.00	0.056 b	0.0	0.002 c	Control	شاهد
601.78	0.393 a	7.70	0.156 a	*Bacillus subtillis* FZB27	
164.28	0.148 ab	3.95	0.081 abc	*B. subtillis* B2g	
55.35	0.087 b	6.20	0.126 ab	*Pseudomonas chlororaphis* MA342	
0.00	0.056 b	2.30	0.048 bc	*Serratia plymuthica* HRO-C48	

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

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

جدول 3. تأثير السلالات البكتيرية الأربع في ارتفاع نباتات البندورة/الطماطم المعاملة بالبكتيريا.

Table 3. Effect of four bacterial strains on the tomato plants height.

% للزيادة في ارتفاع النبات مقارنة مع الشاهد % of plant height increase compared with the control	متوسط ارتفاع النبات (سم) Average plant height (cm)	Treatment	المعاملة
0.00	57.83 a	Control	شاهد
21.47	70.25 a	*Bacillus subtillis* FZB27	
9.80	63.50 a	*Pseudomonas chlororaphis* MA342	
6.48	61.58 a	*Serratia plymuthica*HRO-C48	
0.72	58.25 a	*B. subtillis* B2g	

القيم المتبوعة بحروف متشابهة لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

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

توافقت هذه النتائج مع ما أشارت اليه دراسات سابقة بأن معاملة البذور بالسلالة (BS21-1) *Bacillus subtillis* أدت إلى زيادة معنوية في نمو نبات القرنبيط الصيني والخس وزيادة معدل إنبات البذور في الترب العضوية بالمقارنة مع تربة مرقد البذور (14، 17). وأشار سلومي (2) إلى أن إضافة البكتريا *Pseudomonas striata*، *Azospirillum lipoferum* و *Bacillus megaterium* إلى تربة شتول البندورة، ورش الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على الأوراق تحت ظروف الدفيئة البلاستيكية أدى إلى زيادة إرتفاع النباتات مقارنة مع الشاهد. كما بين Murphy وآخرون (18) زيادة ارتفاع النباتات المعاملة بأربع محضرات حيوية بكتيرية يحوي كل منها على السلالة البكتيرية *Bacillus subtillis* GBO3.

الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري – بينت النتائج ازدياد الوزن الطري للمجموع الخضري لنباتات البندورة المعاملة بالسلالات البكتيرية الأربع (347–581.66 غ) مقارنة بالشاهد غير المعامل (317 غ)، مع وجود تفوق معنوي للسلالة البكتيرية B27 على الشاهد وعلى بقية السلالات. بلغت نسبة الزيادة في الوزن الطري للمجموع الخضري بفعل المعاملة بالبكتريا 9.46–83.48%. وكان الوزن الجاف للمجموع الخضري للنباتات المعاملة بالبكتيريا (151–191 غ) أعلى منه في الشاهد (111.33 غ)، مع تفوق معنوي للسلالتين البكتيريتين B27 و C48 على الشاهد. وتراوحت نسبة الزيادة في الوزن الجاف للمجموع الخضري بفعل البكتريا بين 35.63 و 71.85% (جدول 4).

قد يعود التحسن في النمو الخضري إلى تطور الجذور وبالتالي تحسن امتصاص الماء والعناصر الغذائية من قبل النبات، وقد تحفز بكتريا الجذور نمو النبات بشكل مباشر بإنتاج منظمات النمو وبتحسين امتصاص العناصر الغذائية، أو بشكل غير مباشر بتغيير التوازن الحيوي في المحيط الجذري من خلال تحفيز الميكروبات المفيدة في التربة وهذا ينسجم مع ما أشير سابقاً (16، 23) بأن نمو وتطور النبات يتأثر بشكل واضح بوجود وتراكم حمض السالسليك الذي تحفز بكتريا PGPR على إنتاجه في النبات، حيث يسهم في نقل الإشارة ضمن أجزاء النبات ويتحكم بمقاومة النبات للضغوط البيئية وله تأثير واضح في عملية التمثيل الضوئي والنتح وامتصاص ونقل الأيونات.

توافقت هذه النتائج مع ما أشار إليه Ryu وآخرون (21) بأن استعمار جذور نبات التبغ بالبكتريا *Pseudomonas chlororaphis* 06 يحسن نمو النبات. كما أشار El-Borollosy و Oraby (11) بأن نباتات الخيار المعاملة بالبكتيريا *Bacillus subtillis*، *Azotobacter chrooccum*، *Pseudomonas fluorescens* أعطت أعلى قيم في الوزن الطري والجاف للنبات مع البكتيريا *Azotobacter chrooccum* تلتها البكتيريا *Pseudomonas fluorescens*.

وأدى تغطيس بذور الفول بمعلق مكون من البكتريا *Rhizobium leguminosarum* و *P. fluorescens* وخليط منهما إلى زيادة في طول النباتات والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري (4). كما أشار Murphy وآخرون (18) إلى أن معاملة بذور البندورة بسلالات من PGPR يحسن بشكل معنوي من نمو النبات. كما أشار Ryu وآخرون (21) إلى أن خليط من سلالتين من جنس *Bacillus* يمكن أن يستخدم كمحفز حيوي من أجل حماية النبات من الأمراض البكتيرية والفيروسية من جهة وتحسين نمو النبات من جهة أخرى.

جدول 4. تأثير أربع سلالات بكتيرية في الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري لنباتات البندورة/الطماطم المعاملة بالبكتيريا.
Table 5. Effect of four bacterial strains on the fresh and dry weight of tomato plants.

المعاملة	Treatment	متوسط الوزن الطري للمجموع الخضري(غ) Average plant foliage fresh weight (g)	% للزيادة في الوزن الطري للمجموع الخضري مقارنة مع الشاهد % of foliage fresh weight increase compared with the control	متوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ) Average of plant foliage dry weight (g)	% للزيادة في الوزن الجاف للمجموع الخضري مقارنة مع الشاهد % of foliage dry weight increase compared with the control
شاهد	Control	317.00 e	0.00	111.33 b	0.00
	Bacillus subtillis FZB27	581.66 a	83.48	191.33 a	71.85
	B. subtillis B2g	437.00 b	37.85	151 ab	35.63
	Serratia plymuthica HRO-C48	424.33 c	33.85	169.5 a	52.25
	Pseudomonas chlororaphis MA342	347.00 d	9.46	159 ab	42.81

القيم المتبوعة بحروف متشابهة في العامود نفسه لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.
Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري – بينت النتائج ارتفاع الوزن الطري للمجموع الجذري لنباتات البندورة المعاملة بالسلالات البكتيرية الأربع، والذي تراوح ما بين 37.66 و 142 غ مقارنة بالشاهد (22.33 غ)، مع تفوق معنوي للسلالة B27 والسلالة B2g على الشاهد وعلى بقية السلالات. وبلغت نسبة تحسن الوزن الطري للمجموع الجذري لنباتات البندورة بفعل المعاملة بالبكتريا B27 والسلالة B2g 535.91 و 237.34 غ، على التوالي. ازداد الوزن الجاف للمجموع الجذري للنباتات المعاملة بالبكتريا (6–8.66 غ) مقارنة بالشاهد (5 غ)، دون وجود فروقات معنوية مع الشاهد (جدول 5).

تفسر هذه الزيادة في المجموع الجذري بمساهمة البكتيريا في تامين كثير من احتياجات النبات سواء بطريق مباشر أو غير مباشر، حيث تتميز هذه البكتيريا بتثبيت النيتروجين لوجود إنزيم النيتروجيناز وبالتالي توفر قدر أمن احتياجات النبات النيتروجينية، كما يستطيع بعضها إذابة وتيسير بعض العناصر الضرورية كالفوسفور والحديد وغيره بالإضافة إلى تحسين تحمل النبات لبعض العناصر الثقيلة. تقوم بعض السلالات من بكتيريا الجذور المنشطة لنمو النبات ببناء بعض منظمات النمو النباتية مثلا الأوكسين والجبريلين والسيتوكينين والإيثيلين أو بإنتاج مركبات متطايرة وهذه بدورها تسهم في تنشيط النمو (6).

تباينت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة سابقة على السلالات البكتيرية نفسها ، حيث اشير إلى تحسن ارتفاع النباتات المعاملة بالبكتريا مقارنة بالشاهد مع تفوق معنوي للسلالة البكتيرية C48 على الشاهد وعلى السلالة B27 و MA، وتحسن الوزن الطري للمجموع الخضري في النباتات المعاملة بالبكتريا دون وجود فارق معنوي مع الشاهد وبين السلالات البكتيرية. وبالنسبة للوزن الطري للمجموع الخضري كان هناك تحسن في الوزن الجاف للمجموع الخضري للنباتات المعاملة بالبكتريا دون وجود فرق معنوي مع الشاهد وبين السلالات البكتيرية. اما بالنسبة للوزن الطري للمجموع الجذري فقد كان هناك تحسن في المعاملات البكتيرية مقارنة بالشاهد دون وجود فرق معنوي مع الشاهد وبين السلالات البكتيرية. وكان الوزن الجاف للمجموع الجذري في المعاملات البكتيرية أفضل منه في الشاهد مع عدم وجود فروق معنوية مع الشاهد وبين السلالات البكتيرية (1). وأشار Ryu وآخرون (21) إلى أن استعمار جذور النبات ببكتريا محيط جذري معينه يحسن نمو النبات، وأن دور حمض الجاسمونيك في المحيط الجذري لنبات التبغ الحاوي على *Pseudomonas chlororaphis* 06 هو تحفيز نمو نبات التبغ. وأدى تغطيس بذور الفول بمعلق مكون من البكتريا *Rhizobium leguminosarum* و *P. fluorescens* وخليط منهما إلى تحسين عوامل النمو (طول النباتات والوزن الطري والوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري) في النباتات الناتجة من هذه البذور (4).

عدد الثمار ووزنها – أظهرت النتائج ارتفاع عدد ثمار المعاملة في نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا فقد تراوحت عدد ثمار النباتات المعاملة ما بين 10.66 و 14.0 ثمرة مقارنة بالشاهد 8.66 ثمرة، دون وجود فروقات معنوية مع الشاهد أو بين السلالات (جدول 6).

ازداد متوسط وزن ثمار المعاملة في النباتات المعاملة بالبكتريا (139.0–197.33 غ) مقارنة بالشاهد (105.33 غ) دون وجود فروقات معنوية مع الشاهد و بين السلالات (جدول 6).

جدول 5. تأثير السلالات البكتيرية على الوزن الطري والجاف للمجموع الجذري لنباتات البندورة/الطماطم المعاملة.

Table 5. Effect of bacterial strains on the fresh and dry weight of treated tomato plant roots.

المعاملة	Treatment	متوسط الوزن الطري للمجموع الجذري (غ) Average root fresh weight (g)	% للزيادة في الوزن الطري للمجموع الجذري % root fresh weight increase	متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ) Average root dry weight (g)	% للزيادة في الوزن الجاف للمجموع الجذري % root dry weight increase
شاهد	Control	22.33 c	0.00	5.00 a	0.0
	Bacillus subtillis FZB27	142.00 a	535.91	8.66 a	73.2
	B. subtillis B2g	75.33 b	237.34	6.66 a	33.2
	Serratia plymuthica HRO-C48	37.66 c	68.65	6.66 a	33.2
	Pseudomonas chlororaphis MA342	42.33 c	89.56	6.00 a	20.0

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

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

جدول 6. تأثير السلالات البكتيرية في عدد ثمار نباتات البندورة/الطماطم ووزنها.

Table 6. Effect of bacterial strains on the number and weight of tomato fruits.

نسبة الزيادة في وزن الثمار مقارنة مع الشاهد غير المعامل % % Increase in the fruits weight compared with the untreated control	متوسط وزن الثمار (غ) Average fruits weight	نسبة الزيادة في عدد الثمار مقارنة مع الشاهد غير المعامل % % Increase in fruits number compared with the untreated control%	متوسط عدد ثمار The average of fruits number	Treatment	المعاملة
0.00	105.33 a	0.00	8.66 a	Control	شاهد
87.34	197.33 a	61.66	14.00 a	*Bacillus subtillis* FZB27	
31.96	139.00 a	42.37	12.33 a	*B. subtillis* B2g	
56.65	165.00 a	42.37	12.33 a	*Serratia plymuthica*HRO-C48	
53.16	161.33 a	23.09	10.66 a	*Pseudomonas chlororaphis* MA342	
-	151.95	-	14.79	LSD at 5%	أقل فرق معنوي عند 5%

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

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

توافقت النتائج مع ما أشارت إليه إحدى الدراسات السابقة بنباتات البندورة المعاملة بالمحضرات الحيوية الحاوية على البكتريا *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a، *B. pumilus* E34، *B. subtili*IN937b، *B. pumilus* INR7، *B. pumilus* T4 كانت مشابهة من حيث الشكل والتطور لنباتات الشاهد الأكبر بـــ 10 أيام من نباتات التجربة، مما يشير إلى أن معاملة البندورة بالمحضرات الحيوية يؤدي إلى تحسن ملحوظ في النمو (19). ولم تتوافق النتائج مع ما أشار إليه Zehnder وآخرون (25) بان نباتات البندورة المعاملة بثلاث سلالات من PGPR قد حسنت الغلة بشكل معنوي مقارنة بالنباتات غير المعاملة.

وفي دراسة اجريت في رومانيا لمعرفة تأثير المعاملة بسلالتين من البكتريا المحسنة لنمو النبات (*Bacillus pummilus* strain S7، *Bacillus mycoides* strain S4) في التركيب الضوئي وفي عمليات الأكسدة والغلة لنبات الفاصولياء، أشير إلى أن السلالتين البكتيريتين لوحدهما أو كليهما قد حسنتا من عملية التركيب الضوئي والنتح ومن كفاءة استخدام الماء ومن محتوى الأوراق من الكلوروفيل. وقد حسنت السلالة S7 من غلة الحبوب بنسبة 41.40%، وحسنت السلالات البكتيرية من القيمة الغذائية لمحصول الحب بتحسين محتوى البروتين الذائب بنسبة 16.24% (24).

مقارنة نتائج تقدير معايير النمو مع نتائج تقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز

أشارت نتائج تقدير معايير النمو إلى وجود تفوق معنوي للنباتات المعاملة بالسلالة B27 على الشاهد من حيث الوزن الطري للمجموع الخضري بينما لم تتفوق معنوياً على باقي السلالات، كما تفوقت معنوياً على الشاهد وعلى بقية المعاملات من حيث الوزن الطري للمجموع الجذري، بينما لم يكن هناك تحسن معنوي في إرتفاع النبات والوزن الطري للمجموع الخضري والجذري وعدد ووزن الثمار بفعل البكتريا (جدول 7).

بمقارنة نتائج تقدير معايير النمو مع نتائج تقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز نلاحظ ترافق تحسن معايير النمو مع إرتفاع نشاط إنزيم البيروكسيداز، وقد يعود ذلك إلى دور إنزيم البيروكسيداز 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 وآخرون (15).

جدول 7. ترافق قيم عوامل نمو البندورة/الطماطم مع تقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز.

Table 7. Association between tomato growth factors and peroxidase enzyme activity.

متوسط وزن الثمار للنباتات المعاملة (غ) Mean fruits weight of treated plants	متوسط عدد ثمار نباتات المعاملة/ نبات Mean number of treated tomato fruits/ plant	متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري (غ) Mean root dry weight (g)	متوسط الوزن الطري للمجموع الجذري (غ) Mean foliage fresh weight (g)	متوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري (غ) Mean foliage dry weight (g)	متوسط الوزن الطري للمجموع الخضري (غ) Mean root fresh weight (g)	متوسط ارتفاع النبات (سم) Mean plant height (cm)	نشاط إنزيم البيروكسيداز (نانومول) بعد 94 يوم من زراعة البذور Peroxidase activity (nmol) 94 days after sowing	Treatment	المعاملة
105.33 a	8.66 a	5.00 a	22.33 c	111.33 b	317.00 e	57.83 a	0.056 b	Control	الشاهد
197.33 a	14.00 a	8.66 a	142.00 a	191.33 a	581.66 a	70.25 a	0.393 a	*Bacillus subtillis* FZB27	
139.00 a	12.33 a	6.66 a	75.33 b	151.00 ab	437.00 b	63.50 a	0.148 ab	*B. subtillis* B2g	
165.00 a	12.33 a	6.66 a	37.66 c	169.50 a	424.33 c	61.58 a	0.087 b	*Serratia plymuthica* HRO-C48	
161.33 a	10.66 a	6.00 a	42.33 c	159.00 ab	347.00 d	58.25 a	0.056 b	*Pseudomonas chlororaphis* MA 342	

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

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

Abstract

Kawas, H., A. Ahmed, O. Hammoudi and I. Ismail. 2017. Effect of four strains of plant growth promoting rhizobacter (PGPR) for peroxidase enzyme activity and growth of the tomato plants under greenhouse conditions. Arab Journal of Plant Protection, 35(2): 58-66.

This study was conducted to evaluate four strains of plant growth promoting rhizobacter (PGPR): *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia plymuthica* HRO-C48, *Bacillus subtillis* B2g and *B. subtillis* FZB27, to improve peroxidase activity and some tomato growth parameters under greenhouse conditions. Bacterial strains were applied as seed treatment with each strain separately and the peroxidase enzyme activity was measured 33 and 49 days after treatment. The plant height, fresh and dry weight of shoot and roots, the number of fruits and fruit weights were recorded. Activity of the enzyme peroxidase enzyme in leaf samples was measured 78 days after sowing, showed a significant superiority of the two strains B27 and MA (0.156, 0.126 nmol), respectively, compared with the control (0.002 nmol). The peroxidase enzyme activity 94 days after sowing, the strain B27 was superior (0.393 nmol) as compared to the two strains MA and C48 (0.087 and 0.056 nmol, respectively), and to the control (0.056 nmol).The results showed insignificant increase in the height of the treated tomatoes compared to the control. Tomato vegetative growth was significantly higher when the strain B27 was used (581.66 g) compared to other strains and to the control (317 g). Whereas, the dry weight of the vegetative growth was significantly higher when the two strains B27 and C48 (191.33, 169.5 g, respectively) were used compared to the control (111.3 g). The fresh weight of the root growth was significantly higher when the two strains B27 and B2g (142.00, 75.33 g, respectively) were used compared with the other strains or the control (22.33 g). There were no significant differences among the bacterial strains and the control on root dry weight. Results obtained indicated that there were no significant differences among treated plants and the control in relation to fruits number and fruits weight.

Keywords: *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia plymuthica* HRO-C48, *Bacillus subtillis* B2g, *B. subtillis* FZB27, tomato.

Corresponding Author: Hanan Kawas, Scientific Agricultural Research Center, Lattakia, Syria, Email: hanankawas1@gmail.com

References

المراجع

1. **اسماعيل، عماد دأود، حنان نادر قواس، عمر حمودي وأحمد أحمد.** 2017. تأثير معاملة بذور البندورة بسلالات من PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار في الزراعة المحمية. مجلة جامعة تشرين، 38: قيد النشر.
2. **سلومي، علي كريم.** 2014. تأثير استخدام خليط بكتيري (*Bacillus*، *Azospirillum*، *Pseudomonas*) و Sakata على بعض الصفات الخضرية لصنفي الطماطة (*Sakata* وNR) تحت ظروف البيت البلاستيكي. المجلة العلمية الاكاديمية العراقية IASJ ، 6: 208-213.
3. **المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية.** 2014. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية.
4. **المياحي، سعد ورقيب العاني.** 2014. فعالية بكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium leguminosarum* ضد فيروس الموزاييك الأصفر للفاصولياء. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 45: 593-601.
5. **النعيم، أحمد وحسين صديق.** 2001. التسميد البيولوجي للارز الحساوي والبرسيم الحجازي. جامعة الملك فيصل، كلية العلوم الزراعية والغذائية. قسم علوم الأغذية وتقنيتها. أطروحة دكتوراه.
6. **الوهيبي، حمد محمد.** 2008. بكتيريا المحيط الجذري المنشطة لنمو النبات. المجلة السعودية للعلوم البيولوجية، 15: 3-16.
7. **Altunkaya, A. and V. Gokmen.** 2011. Purification and characterization of polyphenol oxidase, peroxidase and lipoxygenase from freshly cut lettuce (*L. sativa*). Biotechnology, 49: 249–256.
8. **Barriuso, J., B.R. Solano, J.A. Lucas, A. Probanza Lobo, A. García-Villaraco and F.J. Gutiérrez Mañero.** 2008. Ecology, Genetic diversity and screening strategies of plant growth promoting hizobacteria (PGPR). Pages 1-17. In: Plant-Bacteria

induced disease suppression of four vegetable crops by a selected plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus subtilis* 21-1 under two different soil conditions. Acta Physiologiae Plantarum, 36: 1353-1362.

18. **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.
19. **O'Vonnell, P.F**. 1992. Sustainable agriculture - a valid alternative. Outlook of Agriculture, 21: 5-12.
20. **Pieterse, C.J.M. and L.C. Van Loon.** 2007. Signalling cascades involved in induced resistance. Pages 229-249. In: Induced resistance for plant disease control: a sustainable approach to crop protection. D. Walters, A. Newton and G. Lyon (eds.). Blackwell Publishing, Oxford.
21. **Ryu, C.M., B.R. Kang, S,H. Han, S.M. Cho, J.W. Kloepper, A.J. Anderson and 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.
22. **Saharan, B.S. and V. Nehra.** 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. Life Sciences and Medical Research, 21: 1-30.
23. **Siddiqui, A.Z.** 2006. Induced Systemic Resistance as a Mechanism of Disease Suppression by Rhizobacteria. Pages 111-142. In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Z. Siddiqui (ed.). Springer, Netherlands.
24. **Stefan, M., N. Munteanu, V. Stoleru and M. Mihasan.** 2013. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on photosynthesis, antioxidant status and yield of runner bean. Romanian Biotechnological Letters, 18: 8132-8143.
25. **Zehnder, G.W., Y.A.O. Changbin, F.M. John, R.S. Edward and W.K. Joseph.** 2000. Induced of resistance in tomato against *cucumber mosaic cucumovirus* by plant growth- promoting rhizobacteria. Biocontrol, 45: 127-137.

Interactions: Strategies and Techniques to Promote Plant Growth. I. Ahmad, J. Pichtel and A. Probanza (eds.). Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

9. **Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clément and E.A. Barka.** 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Applied Environmental Microbiology, 71: 4951-4959.
10. **Dashti, N., F. Zang, R. Hynes and L. Smith.** 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean (*Glycine max* L. Merr.) under short season conditions. Plant Soil, 200: 205-213.
11. **El-Borollosy, M.A. and M.M. Oraby.** 2012. Induced systemic resistance against *Cucumber mosaic cucumovirus* and promotion of cucumber growth by some plant growth-promoting rhizobacteria. Annals of Agricultural Science, 57: 91-97.
12. **Ghazi, A.M.** 1976. Comparative biochemical studies on plant peroxidases. Ph.D. Thesis. Faculty of Sciences, Al-Azhar University, Cairo, Egypt. 224 pp.
13. **Hammoudi, O.** 2007. Einfluss milkrobieller Antagonisten auf den Befall mit Phoma lingam und *Vereticillium dahlia* var. *longisporum* an Raps (*Brassica napus* L.var. *napus*). Dissertation, University of Kiel. 123 pp.
14. **Han, H.S. and K.D. Lee.** 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. Research Journal of Agricultural & Biological Sciences, 1: 210-215.
15. **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.
16. **Hayat, S. and A. Ahmad.** 2007. Salicylic Acid: A Plant Hormone. 1st Edition. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 401 pp.
17. **Lee, Se-Weon, Lee Seo-Hyun, K. Balaraju, Kyung-Soo Park, Ki-Woong Nam, Jin-Woo Park and Kyungseok Park.** 2014. Growth promotion and

Received: January 30, 2017; Accepted: June 5, 2017

تاريخ الاستلام: 2017/1/30؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2017/6/5