استحثاث المقاومة الجهازية في نبات الخيار(*Cucumis sativus* L.) ضد فايروس موزائيك الخيارCMV باستخدام بعض انواع العوامل الحيوية البكتيرية

[1] حوراء اسماعيل عباس الياسري [2] فضل عبد الحسين الفضل [3] عبد الله عبيس الحاتمي

[2-1] قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة الكوفة – العراق

[3]قسم الاحياء المجهرية- كلية الطب البيطري - جامعة الكوفة - العراق

المستخلص :

اجريت هذه الدراسة بهدف معرفة امكانية تحفيز المقاومة في نبات الخيار ضد فايروس موزائيك الخيار باستعمال ثلاث اجناس مختلفة هي *Pseudomonas fluorescens* و*Bacillus subtilis* و*Azotobacter chroococcum* ومعرفة فاعلية كل منهم على انفراد وفاعلية خليط جنسين منهما في مقاومة الفايروس .تضمنت تجارب الاصص البلاستيكية خمسة معاملات وهي 1- تجربة غمر بذور الخيار بمعلق بكتريا *Pseudomonas fluorescens* بتركيز 5×10^{10}، *Bacillussubtilis* بتركيز 2×10^{9} و*Azotobacter chroococcum* بتركيز 2×10^{10} بشكل مفرد وخليط جنسين منها ولمدة 30 و60 دقيقة ، 2-تجربة سقي نباتات الخيار قبل يومين من اجراء العدوى بفايروسCMVبالمعلق البكتيري وخليط جنسين من معلق الاجناس الثلاثة المذكورة انفا ، 3- تجربة غمر بذور الخيار بمعلق البكتريا نفسها وخليط جنسين منها لمدة 30 و60 دقيقة ثم سقي النباتات الناتجة بمعلق البكتريا الآنفة الذكر وخليط جنسين منها قبل يومين من اجراء العدوى بالفايروس ، 4- تجربة المقارنة المعداة بالفايروس ، 5- تجربة المقارنة السليمة. قيمت المعاملات على اساس النسبة المئوية للاصابة والنسبة المئوية لشدة الاصابة وكذلك قياس بعض معايير النمو وهي اطوال المجموع الجذري والخضري وكذلك الاوزان الرطبة والجافة للمجموعين الخضري والجذر بحيث اظهرت معاملة غمر البذور بالاجناس البكتيرية الثلاث وخليطهما وللفترتين 30 و60 دقيقة خفض معنويا في نسبة وشدة الاصابة حيث تراوحت نسب الاصابة بين 17.0- 31.10% وشدة الاصابة مابين 11.1-26.6 % بينما كانت النسبة المئوية وشدة الاصابة في المقارنة المعداة بالفايروس100% وشدة اصابة 88.8% على التوالي وكذلك ظهرت زيادة معنوية في معايير نمو نباتات الخيار المعاملة قياسا الى معاملتي المقارنة ، وتفوقت معاملات غمر البذور بمعلق الخليط البكتيري على معاملات غمر البذور بمعلق البكتريا مفردة وبالفترتين 30 و60 دقيقة من حيث نسبة وشدة الاصابة وزيادة معايير النمو . ان معاملة خليط معلق البكتريا *B. subtilis* و *A. chroococcum* ولمدة 30 و60 دقيقة بدون اجراء العدوى بالفايروس تفوقت على بقية

المعــاملات فــي زيــادة معــايير النمــو فقــد كــان طــول المجمــوع الخضــري 52.0سـم و 53.5 سـم علــى التــوالي ،طــول المجمــوع الجــذري 46.1 سـم و 54.5 سـم علــى التــوالي ، الــوزن الرطــب للمجمــوع الخضــري 23.0 غـم و24.1 غـم علــى التــوالي ،الــوزن الرطــب للمجمــوع الجــذري 10.7 غـم و11.5 غـم علــى التــوالي ،الــوزن الجــاف للمجمــوع الخضــري 2.9 غـم و 3.7 غـم علــى التــوالي والــوزن الجــاف للمجموع الجذري 1.7 غم و2.5 غم على التوالي .

امــا تجربــة سـقي التربــة فــان جميـع المعــاملات اعطـت خفـض واضـح فـي نسـبة وشـدة الاصــابة وكـذلك تحسـين معــايير نمــو النباتــات المعاملــة قياســا بمعاملــة المقارنــة المعـداة بالفــايروس وقـد تفوقـت معــاملات الخلـيط البكتيـري علــى معــاملات معلـق البكتريــا المنفـردة فــي خفـض نسـبة وشـدة الاصــابة وكـذلك فــي مؤشــرات النمو.حيــث تراوحــت نســب الاصــابة فــي الخلــيط مــا بــين 17.0 -27.8 % وشــدة اصــابة مــن 8.9-17.8 % بينمــا كانــت فــي المقارنــة المعــداة بالفــايروس نســبة الاصــابة 100% و شــدة اصــابة 88.8% .

بينمــا وفــرت معاملــة غمــر البــذور لمــدة 30 و60 دقيقــة ثــم السـقي بالاجنــاس البكتيريــة الــثلاث كــل علــى انفــراد او معــا حمايــةلجميع المعــاملات حمايــة لنباتــات الخيــار ضــد فــايروس موزائيــك الخيــار مــن خــلال الخفـض الحاصـل فـي نسـبة وشـدة الاصـابة ، ووجـد ان هنـاك فروقـا معنويـة بـين اسـتعمال معلـق الخلـيط البكتــري ثــم الســقي بــنفس الخلــيط او اســتعمال اجنــاس البكتريــا الثلاثــة بشــكل مفــرد وللفتــرتين 30 و60 دقيقــة ثــم الســقي بــنفس معلــق الاجنــاس البكتيريــة حيــث تراوحــت نســبة الاصــابة فــي الخلــيط بــين 17.0-27.8 % وشــدة الاصــابة بــين 11.1- 20.0 % فــي حــين تراوحــت نســب الاصــابة بــين 30.5-43.7% و شــدة الاصــابة 22.2-31.3 % فــي معاملــة معلــق البكتريــا بشــكل منفــرد ، فــي حــين بلغــت نســبة وشــدة الاصابة بمعاملة المقارنة المعداة بالفايروس 100% و95.5% على التوالي .

الكلمــات المفتاحيــة : اســتحثاث المقاومــة الجهازيــة ، فــايروسCMV، *Azotobacter chroococcum* ، و*Bacillus subtilis* ، *pseudomonas fluorescens*

البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الاول

المقدمة :

يعــد محصــول الخيــار Cucumber(*Cucumis sativus* L.)الـذي ينتمـي الـى العائلـة القرعيـة (cucurbitaceae) مـن نباتـات الخضـر المهمـة لقيمتـه الغذائيـة إذ يحتـوي كـل 100غـم مـن الثمـار الطازجـة بحـدود 96 غـم مـاء و3 غـم كربوهيـدرات و1غـم بروتين و12 سعره حرارية و 1 ملغم فسفور، 0.03ملغـم حديـد ، 0.03 ملغـم فيتـامين B ، 0.04 ملغـم B2 ،0.20 ملغـم نياسين و8 ملغـم حـامض اسـكوربك (3) و يـأتي بالمرتبـة الثانيـة بعـد الطماطـة فـي اوربـا مـن حيـث الاهميـة (14). وهـو مـن المحاصـيل الاقتصـادية السـريعة النضـج والمرغوبـة فـي العـراق. ونتيجـة لزيـادة مسـاحة الاراضـي المزروعـة بهـذا المحصـول ظهـرت العديـد مـن الامـراض حيـث يتعـرض النباتـات باسـتمرار لمهاجمـة المسـببات المرضـية الحيـة وتـاثير المسـببات غير الحية في جميع مراحل نموها (4).

اذ يتعـرض النـوع النبـاتي الواحـد لمهاجمـة 100 نـوع مـن المسـببات المرضـية الفطريـة والبكتيريـة والفـايتو بلازميـة والسـبايرو بلازميـة والفايروسـية والنيماتوديـة (11) ، ومـن اكثرهـا اهميـة فـايروس موزائيـك الخيـار (CMV Cucumber Mosaic Virus) (6) حيـث ينقـل هـذا الفيـروس امـا ميكانيكيـا بالعصـير او بواسـطة 10 انـواع مـن الحـامول ويتضـاعف فيهـا وايضـا ينقـل بواسـطة بـذور 19 نـوع نبـاتي مثـل الخيـار البـري واللوبيـاء وبعـض الحشـائش و الحشـرات مثـل المـن و بالطريقـة غيـر الباقيـة (6). لـذلك فانـه لاجـدوى مـن اسـتعمال المبيـدات الكيميائيـة للسـيطرة علـى المـرض بـل قـد يـؤدي الـى انتشـاره لـذا اتجهـت جهـود البـاحثين الـى البحـث عـن اسـتراتيجيات اخـرى لادارة مثـل هـذه الامـراض (24). وبمـا ان العامـل الـذي يجعـل النباتـات لا تصـاب دائمـا هـو امتلاكهـا لوسـائل وقائيـة تثـبط سـعي الممرضـات لاحـداث الاصـابة تحـت الظـروف البيئيـة الملائمـة لنجاحهـا (4).فقـد اتجـه التفكيـر الـى تنشـيط هـذه الاليـات ، فقـد اشـير الـى ان معاملـة النباتـات بعوامـل مختلفـة (مسـببات مرضـية ،كائنـات غيـر ممرضـة ، مستخلصـات نباتيـة، مركبـات كيميائيـة صـناعية) يمكـن ان تنشـط الاليـات الدفاعـة فـي النبـات وتحفـز مقاومـة جهازيـة فيـه ضد المسببات المرضية (24).

اسـتعملت بعـض الاجنـاس البكتيريـه فـي المكافحـه الاحيائيـه للعديـد مـن المسـببات المرضـيه للنبـات ومـن بـين الاجنـاس المسـتعمله هـي البكتريـا *Pseudomonas fluorescens* والبكتريـا *Bacillussubtilis*وواشـحهما اذ اثبتـت فاعليـة فـي السـيطره علـى العديـد مـن المسـببات المرضـيه الفطريـه والبكتيريـه والفايروسـيه وذلـك بسـبب مقـدرة البكتريـا علـى انتـاج العديـد مـن المضـادات الحيويـه وتحفيزهـا المقاومـه الجهازيـه فـي النبـات وانتـاج الفايتوالكسـين فضـلاً عـن كونهـا مـن محفـزات النمـو النباتيـه(12)،وكـذلك أدى اسـتعمال البكتريـا *Pseudomonas fluorescence* الـى تحفيـز

المقاومة الجهازية في نباتات الخيار ضد فايروس موزائيك الخيار الفسيفسائي CMV (2) .

ونظرا لاهمية فيروس موزائيك الخيار CMV في العراق ولعدم وجود دراسات كافية في مجال استحثاث المقاومة ضد هذا الفايروس فان هذا البحث يهدف الى معرفة امكانية تحفيز المقاومة في نبات الخيار ضد فايروس موزائيك الخيار باستعمال ثلاث اجناس من البكتريا *pseudomonas fluorescens* و, *Bacillus subtilis* و*Azotobacter chroococcum* ومعرفة فاعلية كل منهم على انفراد وفاعلية خليط جنسين منهم في مقاومة الفايروس

المواد وطرائق العمل :

تقويم كفاءة العوامل الحيوية في مقاومة فيروس موزائيك الخيار على نبات الخيار:

اجريت هذه التجربة باستعمال اصص بلاستيكية بقطر 24 سم وارتفاع 23 سم . استعملت فيها البكتريا *Pseudomonas fluorescens* ، البكتريا *Bacillus subtilis* وبكتريا *Azotobacter chroococcum* وبثلاث طرق مختلفة وقد اجريت هذه التجارب داخل ظلة بتاريخ 1-9-2015 م ولغاية 15-10-2015 م وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD.

$$\text{شدة المرض} = \frac{(\text{عدد النباتات من 0 الدرجة}\times 0)+(\text{عدد النباتات من 1 الدرجة}\times 1)\cdots+(\text{عدد النباتات من 8 الدرجة}\times 8)}{\text{عدد الكلي للنباتات}\times 10} \times 100\%$$

$$\%\ \text{للاصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد الكلي للنباتات}} \times 100\%$$

قياس معايير النمو :

1- تم قياس اطوال المجموع الخضري واطوال المجموع الجذري لجميع نباتات التجربة بعمر 6 اسبوع.

2- تم حساب الاوزان الطرية والجافة للمجموع الخضري والجذري لنباتات لتجربة بعمر 6 اسبوع .

3- النتائج والمناقشة :

تقويم كفاءة العوامل الحيوية في مقاومة فيروس موزائيك الخيار على نبات الخيار:

تجربة1: تأثير غمر بذور الخياربمعلق العوامل البكتيرية بشكل مفرد اومزدوج ولفترتين 30 و60 دقيقة في استحثاث المقاومة الجهازية المكتسبة ضد فايروس موزائيك الخيار :

اظهرت معاملات تغطيس بذور الخيار بالعالق البكتيري بفترتين 30 دقيقة و60 دقيقة

جــدول (5) خفــض واضــح فــي نســبة وشــدة الاصـــــــــــــــابة بفــــــــــــــايروس

تجربة1: تضمنت هذة التجربة 26 معاملة بثلاث مكررات وكما في جدول (1) :

جدول (1) تأثير غمر بذور الخياربمعلق العوامل البكتيرية بشكل مفرد اومزدوج ولفترتين 30 و60 دقيقة في استحثاث المقاومة الجهازية المكتسبة ضد فايروس موزائيك الخيار :

بذور غمرت بالماء المقطر المعقم وزرعت في تربة معقمة .
بــذور غمــرت بالمـــاءالمقطر المعقــم و زرعــت بتربـــة معقمـــة واعــديت بفــايروس CMV بعمـــر 5-6 اوراق .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقة وزرعت في تربة معقمة .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقة وزرعت في تربة معقمة .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *A. chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقة وزرعت في تربة معقمة .
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة .
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلــق البكتريــا *A. chroococcum* بتركيــز 2×10^{10} وحــدة تكــوين مســتعمرة / مــل ولمــدة 30 دقيقـــة وزرعت في تربة معقمة
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *A. chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة .

بـذور غمـرت بمعلـق معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمدة 60 دقيقة وزرعت في تربة معقمة .
بـذور غمـرت بمعلـق معلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقة وزرعت في تربة معقمة .
بـذور غمـرت بمعلـق معلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمدة 60 دقيقة وزرعت في تربة معقمة .
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة .
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعت في تربة معقمة
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة .
بـذور غمـرت بمعلـق معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقة وزرعت في تربة معقمة ،ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بمعلـق معلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقة وزرعت في تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بمعلـق معلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقة وزرعت في تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.

بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعت في تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقة وزرعت في تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقة وزرعت في تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقة وزرعت في تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعت في تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق .
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربة معقمة ، ثم لقحت النباتات بالفايروس بعمر 3- 5 اوراق.

تجربة 2: تضمنت ثمانية معاملات وبثلاث مكررات وكما في جدول (2) :

جدول (2) تاثير ري نباتات الخيار بمعلق العوامل البكتيرية بشكل مفرد او مزدوج في استحثاث المقاومة الجهازية ضد فايروس موزائيك الخيار :

نباتات خيار سليمة دون اضافة بكتريا او عدوى بالفايروس .
عدوى نباتات خيار بالفايروس فقط .
اضافة بكتريا *P. fluorescens* بشكل مزرعة سائلة على وسط P.D.B. بعمر 48 بتركيز 5×10^{10} وحدة تكوين المستعمرة /مل وبمقدار 200 مل / السندانة حول الجذور واجراء العدوى بالفايروس بعد يومين .
اضافة بكتريا *A. chroococcum* بشكل مزرعة سائلة على وسط P.D.B. بعمر 48 بتركيز 2×10^{10} وحدة تكوين المستعمرة /مل وبمقدار 200 مل / السندانة حول الجذور واجراء العدوى بالفايروس بعد يومين .
اضافة بكتريا *B. subtilis* بشكل مزرعة سائلة على وسط P.D.B. بعمر 48 بتركيز 2×10^{9} وحدة تكوين المستعمرة /مل وبمقدار 200 مل / السندانة حول الجذور واجراء العدوى بالفايروس بعد يومين.
اضافة خليط من بكتريا *B. subtilis* و بكتريا *P. fluorescens* بمقدار 200 مل / السندانة حول الجذور واجراء العدوى بالفايروس بعد يومين .
اضافة خليط من بكتريا *A . chroococcum* و بكتريا *P. fluorescens* بمقدار 200 مل / السندانة حول الجذور واجراء العدوى بالفايروس بعد يومين .
اضافة خليط من بكتريا *A . chroococcum* و بكتريا *B. subtilis* بمقدار 200 مل / السندانة حول الجذور واجراء العدوى بالفايروس بعد يومين.

تجربة 3: تضمنت 26 معاملة بثلاث مكررات وكما في جدول (3) :

جدول (3) تأثير غمر بذور الخياربمعلق العوامل البكتيرية بشكل مفرد اومزدوج ولفترتين 30 و60 دقيقة وري النباتات الناتجة بالعوامل البكتيرية نفسهابشكل مفرد او مزدوج في استحثاث المقاومة الجهازية المكتسبة ضد فايروس موزائيك الخيار :

بذور غمرت بالماء المقطر المعقم وزرعت في تربة معقمة .
بـذور غمـرت بالمـاء المقطـر المعقـم و زرعـت بتربـة معقمـة واعـديت بفـايروس CMV بعمـر 5-6اوراق .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم اضـيف معلـق بكتريـا*P. fluorescens* بشـكل مزرعـة سـائلة علـى وسـط P.D.B. بعمـر 48 سـاعة بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين المسـتعمرة /مـل وبمقـدار 200 مل/السندانة حول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ثـم اضـيف معلـق بكتريـا*B. subtilis*. وبمقـدار 200 مـل / السـندانة حـول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم اضـيف معلـق بكتريـا*A.chroococcum* بشـكل مزرعـة سـائلة علـى وسـط P.D.B. بعمـر 48 سـاعة بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين المسـتعمرة /مـل وبمقـدار 200 مـل / السندانة حول جذورنباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة، ثـم اضـيفت خلـيط مـن بكتريـا *B. subtilis* و بكتريـا *P. fluorescens* بمقدار 200 مـل / السندانة حول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ثـم اضـيف خلـيط مـن بكتريـا *A . chroococcum* و بكتريـا *P. fluorescens* بمقدار 200 مل / السندانة حول جذورنباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق .

بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *A.chroococcum*بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم اضـيف خلـيط مـن بكتريـا *A . chroococcum* و بكتريـا *B. subtilis* بمقـدار 200 مل / السندانة حول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة .ثـم اضـيف معلـق بكتريـا *P. fluorescens* بمقـدار 200 مـل / سندانة حول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة .ثـم اضـيف معلـق بكتريـا *B. subtilis* بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق .
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا *A.chroococcum*بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم اضـيف معلـق بكتريـا *A.chroococcum*بمقـدار 200 مـل /سندانة حول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ثـم تـم اضـافة خلـيط مـن معلقهـذه البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتـات الخيـار بعمر 5-6 اوراق.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *A.chroococcum*بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ثـم تـم اضـافة خلـيط مـن معلقهـذه البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا *A.chroococcum*بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا *B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ثـم تـم اضـافة خلـيط مـن هـذه معلـق البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتـات الخيار بعمر 5-6 اوراق.

بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة معلـق هـذه البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة معلـق هـذه البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة بكتريـا *A. chroococcum* بمقـدار 200 مل/سـندانة حول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة هـذا الخلـيط البكتيـري بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتـات الخيـار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة هـذا الخلـيط البكتيـري بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*A.chroococcum* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 30 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة هـذا الخلـيط البكتيـري بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتـات الخيـار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة معلـق هـذه البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.

بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة معلـق هـذه البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بمعلـق البكتريـا*chroococcumA.* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة معلـق هـذه البكتريـا بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس .
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة هـذا الخلـيط البكتيـري بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتـات الخيـار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*P. fluorescens* بتركيـز 5×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*chroococcumA.* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة هـذا الخلـيط البكتيـري بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتات الخيار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.
بـذور غمـرت بخلـيط معلـق البكتريـا*chroococcumA.* بتركيـز 2×10^{10} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ومعلـق البكتريـا*B. subtilis* بتركيـز 2×10^{9} وحـدة تكـوين مسـتعمرة / مـل ولمـدة 60 دقيقـة وزرعـت فـي تربـة معقمـة ، ثـم تـم اضـافة هـذا الخلـيط البكتيـري بمقـدار 200 مل/سـندانة حـول جـذور نباتـات الخيـار بعمر 5-6 اوراق وبعد 2 يوم لقحت النباتات بالفايروس.

متابعة الاعراض وقياس شدتها على النباتات المعاملة وحساب نسبة الاصابة :

وجـرت متابعـة الاعـراض وشـدتها علـى النباتـات المعاملـة بالاعتمـاد علـى مـدرج مـن 6 درجـات لتقيـيم تطور الاعراض الظاهرة عليها (23)وكما يلي :

CMV ، فقـد اتضـح مـن النتـائج ان غمـر بـذور الخيـار بـالخليط البكتـري المتكـون مـن بكتريـــا *P. fluorescens* و *chroococcumA.* ، معلـق خلـيط بكتريـا *B. subtilis* و *chroococcumA.* و معلـــــــــق خلـيط بكتريـا *B. subtilis* و *P. fluorescens*كـل علـى انفـراد ولمـدة 30 دقيقـة و 60 دقيقـة ثـم اجـراء عـدوى للنباتـات الناتجـة بعمـر 5-6 اوراق حقيقيـة خفـض نسـبة الاصـابة وشـدة الاصـابة فقـد تـراوح معـدل نسـبة الاصـابة

بــين 17.0 – 31.10 % وشــدة اصــابة تتــراوح بــين 11.1- 22.2 % وتفوقــت معــاملات غمــر البـذور بمعلـق الخلـيط البكتـري علـى معـاملات غمــر البــذور بمعلــق البكتريــا *P. fluorescens*، بكتريــــا *A.chroococcum* و بكتريـا *B. subtilis* كـل علـى انفـراد وللفتـرتين 30 دقيقـة و60 دقيقـة حيـث كانـت نسـبة الاصـابة فـي المعـاملات اعـلاه تتـراوح بـين 31.1- 55.5 % وشــدة اصــابة تتــراوح بــين 20-26.6 % بينمـا كانـت نسـبة الاصـابة بالنباتـات المغمـورة بالمـاء المقطـر المعقـم والملقحـة بالفـايروس بعمـر 5-6 اوراق 100% وشـــدة اصـــابة 88.8 % وهــذا يعنــي ان جميــع معــاملات غمــر بــذور الخيـار بعـالق البكتريـا او الخلـيط وللفتـرتين 30 دقيقـة و60 دقيقـة اعطـت حمايـة لنباتـات الخيـار من الاصابة بفايروس CMV.

جدول (4) مدرج تطور الاعراض على النباتات المصابة بالفايروس

الدرجة	نوع الاعراض
0	لا توجد اعراض
2	موزائيك طفيف
4	موزائيك شديد على الاوراق
6	موزائيك والتفاف للاوراق
8	موزائيك شديد والتفاف شديد للاوراق
10	موزائيك شديد والتفاف الاوراق مع تشوهات

فضــلا عــن حمايــة النبــات حققــت المعــاملات السـابقة زيـادة معنويـة فـي معـايير النمـو المتمثلـة بـاطوال المجمـوع الخضـري، اطـوال المجمـوع الجـذري ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري ، الــوزن الرطــب للمجمــوع الجــذري ، الــوزن الجــاف للمجمــوع الخضــري والــوزن الجــاف للمجمــوع الجــذري قياســا بمعاملــة المقارنــة المعــداة بالفــايروس حيــث ادت الــى خفــض معنـوي فـي جميـع المؤشـرات السـابقة اذ كانـت لنتـــائج معاملـــة المقارنـــة الملقحـــة بفـــايروس

16.5 CMV سـم ، 20 سـم ، 6.10 غـم ،4.00 غـم ، 0.86غـم و 0.27 غـم علـى التـوالي و كانـت معـايير معاملـة خلـيط البكتريـا *B. subtilis* و *A. chroococcum* لمـدة 30 دقيقـة بـدون اجـراء عـدوى بالفـايروس طـول المجمـوع الخضـري 52.0سـم (صـورة 14)، طـول المجمـوع الجـذري 46.1 سـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري 23 غـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الجـذري 10.7غـم ، الـوزن الجـاف للمجمـوع الخضـري 2.9 غـم ، الـوزن الجـاف للمجمـوع الجـذري 1.7 غـم وكانـت النتـائج للمعاملـة المماثلـة مـع العـدوى بالفـايروس طـول المجمـوع الخضـري 49.7 سـم ، طـول المجمـوع الجـذري 45.3 سـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري 22.9 غـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الجـذري 10 غـم ،الـوزن الجـاف للمجمـوع الخضـري 3غـم والـوزن الجـاف للمجمـوع الجـذري 1.6 غـم، بينمـا تفوقـت للمعاملـة نفسـها ولمـدة 60 دقيقـة بـدون اجـراء العـدوى بفـايروس CMV علـى بقيـة المعـاملات فقـد كانـت نتـائج اطـوال المجمـوع الخضـري 53.5 سـم (صـورة 15) ، طـول المجمـوع الجـذري 54.5 سـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري 24.1 غـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الجـذري 11.5غـم ، الـوزن الجـاف للمجمـوع الخضـري 3.7غـم والـوزن الجـاف للمجمـوع الجـذري 2.5غـم .بينمـا كانـت لنتـائج المعاملـة المماثلـة مـع اجـراء العـدوى بفـايروس CMV طـول المجمـوع الخضـري51.2 سـم ، طـول المجمـوع الجـذري 53.4 سـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري23.1 غـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الجـذري 11.3غـم ، الـوزن الجـاف للمجموع الخضري 3.2 غم و الوزن الجاف

صورة 1 : غمر بذور الخيار لمدة 30 دقيقة و بمعلق الخليط البكتيري *A.+ B. subtilis chroococcum* (A *B.s.+A.ch.*B (Control C (*B.s.+A.ch.*D + Viruse) مقارنة معداة بالفايروس

جدول 5 : تقويم فاعلية غمر البذور بمعلق بكتريا الجذور *Bacillussubtilis*, *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* لاستحثاث المقاومة الجهازية ضد فايروس CMVفي نبات الخيارولفترتين 30 و 60 دقيقة .

الصفات المعاملات	طول المجموع الخضري	طول المجموع الجذري	الوزن الرطب للمجموع الخضري	الوزن الرطب للمجموع الجذري	الوزن الجاف للمجموع الخضري	الوزن الجاف للمجموع الجذري	% للاصابة	% لشدة الاصابة
المقارنة Control	21.4 f	23.3 D	9.1 e	5.4 e	1.1 f	0.7 f	0.00	0.0
المقارنة الملقحة Infected control	16.4 g	18.0 E	5.4 f	3.2 f	0.6 g	0.3 e	100.00 e	88.8 e
30 Min , B.s.	29.4 ef	28.5 Cd	13.0 def	6.4 de	1.7 ef	0.9 cde	0.00	0.0
30 Min , P.f.	34.3 abcdef	31.2 bcd	14.1 bcde	6.6 de	1.9 cdef	0.9 cde	0.00	0.0
30 Min , A.ch.	30.4 def	30.8 bcd	13.5 bcde	6.5 de	1.8 def	0.8 cde	0.00	0.0
30 Min , B.s+P.f.	46.1 abcde	36.6 abcd	20.6 abcd	9.1 abcde	2.7 bc	1.4 bcde	0.00	0.0

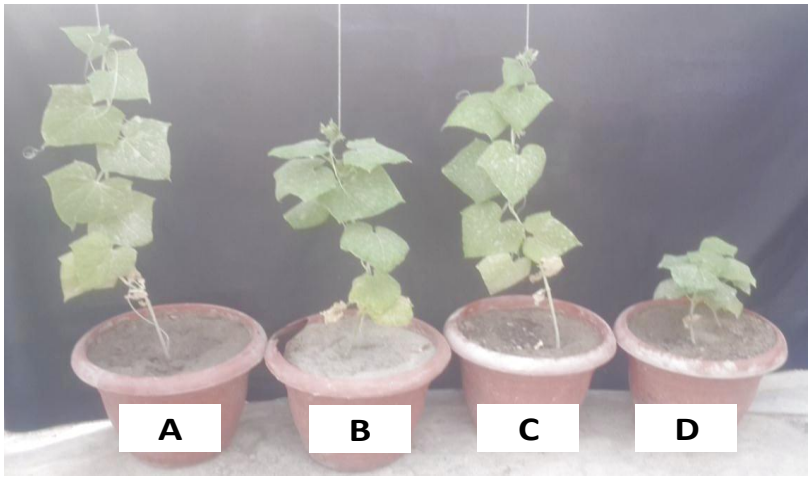
0.0	0.00	1.7 abc	2.9 ab	10.7 abc	23.0 ab	46.1 abcd	52.0 ab	30 Min , B.S.+A.ch.
0.0	0.00	1.3 bcde	2.5 bcde	8.1 abcde	20.5 abcd	35.0 Abcd	45.8 abcde	30 Min , P.f.+A.ch.
22.2 abcd	55.50 d	0.8 de	1.6 ef	5.9 e	12.9 de	24.5 Cd	28.2 ef	30 Min , B.s.+ virus
20.0 abcd	37.00 abcd	1.2 bcde	1.8 def	6.9 cde	14.4 abcde	30.5 Bcd	33.7 bcdef	30 Min , P.f.+ virus
26.6 cd	55.50 cd	0.8 cde	1.7 ef	6.3 de	13.2 cde	24.0 Cd	28.5 ef	30 Min , A.ch.+ virus
17.8 abc	23.13 ab	1.3 bcde	2.8 bc	8.9 abcde	20.4 abcd	33.5 abcd	44.5 abcde	30 Min , B.s+P.f.+ virus
13.3 ab	17.77 a	1.6 bcd	3.0 ab	10.0 abcd	22.9 abc	45.3 abcd	49.7 abcd	30 Min , B.S.+A.ch.+ virus
22.2 abcd	31.10 ab	1.2 bcde	2.3 bcde	8.0 abcde	19.8 abcd	33.3 abcd	44.3 abcde	30 Min , P.f.+A.ch. + virus
0.0	0.0	1.1	1.9	8.0	19.1	37.5	39.9	60 Min , B.s.

		bcde	cdef	abcde	abcd	abcd	abcdef	
0.0	0.0	1.0 bcde	1.8 def	7.4 bcde	17.5 abcd	39.8 abcd	35.0 abcdef	60 Min , P.f.
0.0	0.0	0.9 cde	1.7 ef	7.1 cde	15.2 abcd	35.6 abcd	32.2 cdef	60 Min , A.ch.
0.0	0.0	1.6 bcde	2.9 ab	9.9 abcd	20.7 abcd	46.5 abc	46.7 Abcde	60 Min , B.s+P.f.
0.0	0.0	2.5 a	3.7 a	11.5 a	24.1 a	54.5 A	53.5 a	60 Min , B.S.+A.ch.
0.0	0.0	1.4 bcde	2.5 bcde	8.1 Abcde	20.54 abcd	39.4 abcd	46.2 abcde	60 Min, P.f.+A.ch.
31.1 d	31.1 ab	1.0 bcde	1.7 ef	7.7 abcde	18.9 abcd	30.3 Cd	36.0 Abcdef	60 Min, B.s.+ virus
22.2 abcd	35.5 abc	0.9 cde	1.6 ef	7.2 cde	16.5 abcd	39.2 abcd	34.7 abcdef	60 Min, P.f.+ virus
24.4 bcd	41.6 bcd	0.8 bcde	1.8 def	6.9 cde	14.2 bcde	34.9 abcd	31.7 Cdef	60 Min , A.ch.+ virus

17.7 abc	20.0 a	1.5 bcde	2.7 bcd	9.8 abcd	20.4 abcd	45.6 abcd	45.6 abcde	60 Min , B.s+P.f.+ virus
11.1 a	17.0 a	1.9 ab	3.2 ab	11.3 ab	23.1 ab	53.4 Ab	51.2 abc	60 Min , B.S.+A.ch.+ virus
20.0 abcd	23.3 ab	1.3 bcde	2.4 bcde	8.0 abcde	20.1 abcd	38.6 abcd	45.5 abcde	60 Min , P.f.+A.ch. + virus

B.s.: *Bacillus subtilis* , P.f. : *Pseudomonas fluorescens*A.ch.: *Azotobacter chroococcum* , Min : دقيقة

للمجمـوع الجـذري 1.9 غـم . فـي حـين كانـت مؤشـرات النمـو فـي بقيـة المعـاملات وللفتـرتين 30 و60 دقيقـة وبـدون اجـراء العـدوى بفـايروس CMV كانـت معـدلات اطـوال المجـاميع الخضـرية تتـراوح بـين 46.7-29.4 سـم ، معـدلات اطـوال المجـاميع الجذريـة تراوحـت 46.5-28.5 سـم ، معـدلات الاوزان الرطبـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت 13 - 20.7 غـم ، معـدلات الاوزان الرطبـة للمجـاميع الجذريـة تراوحـت بـين 9.9-6.4 غـم ، معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 1.7- 2.9 غـم ومعـدلات االاوزان الجافـة للمجـاميع الجذريـة تراوحـت بـين 1.6-0.8غـم ، فـي حـين كانـت نتـائج مؤشـرات النمـو للمعـاملات المماثلـة ومـع اجـراء عـدوى بفـايروس CMV هـي : معـدلات اطـوال المجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 45.6-28.2 سـم، معـدلات اطـوال المجـاميع الجذريـة تراوحـت بـين 45.6-24 سـم ، معـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 20.4-13.2 غـم ، ومعـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الجذريـة تراوحـت بـين13.2-12.9 غـم معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 9.8-5.9 غـم ومعـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الجذريـة تراوحـت بـين 2.8-1.6غـم



صورة 2 : غمر بذور الخيار لمدة 60 دقيقة و بمعلق الخليط البكتيري *chroococcumA.+B. subtilis*

(A *B.s.+ A.ch.*B (Control C (*B.s.+ A.ch.*D + Viruse) مقارنة معداة بالفايروس

،ومـن النتـائج السـابقة نلاحـظ ارتفـاع نتـائج معـايير النمـو فـي المعـاملات السـابقة عـن معاملـة المقارنـة (بـذور خيـار غمـرت بمـاء مقطـر معقـم فقـط وزرعـت) حيـث كانـت نتـائج مؤشـرات طـول المجمـوع الخضـري 21.4 سـم ، طـول المجمـوع الجـذري 23.3 سـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري 9.1 غـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الجـذري5.4 غـم ، الـوزن الجـاف

للمجمــوع الخضــري 1.1 غــم والــوزن الجــاف للمجموع الجذري 0.7 غم .

تجربـــة2: تـــاثير ري نباتـــات الخيـــار بمعلـــق العوامـل البكتيريـة بشـكل مفـرد او مـزدوج فـي اســتحثاث المقاومــة الجهازيــة ضــد فــايروس موزائيك الخيار :

اظهـرت النتـائج الموضـحة فـي جـدول (6) ان جميـع المعـاملات اسـتحثت المقاومـة الجهازيـة فــي نباتــات الخيــار ضــد الاصــابة بفــايروس CMV اذ بلغـت نسـبة الاصـابة بالفـايروس عنـد سـقي التربــة بمعلـق بكتريـا *B. subtilis* ، معلــق البكتريــا *P. fluorescens* ومعلــق بكتريــا *A.chroococcum* كــل علــى انفــراد قبـل يـومين مـن اجـراء العـدوى بالفـايروس 34.2 ، 31.1 و43.7 % وشــدة اصــابة بلغــت 26.6 ، 20 و 31.1 % على التوالي .

بينمــا اعطــت معــاملات السـقي بمعلـق خلـيط بكتيريـــا *P. fluorescens* و *A.chroococcum* ، معلـق خلـيط بكتريـا *B. subtilis* و *A.chroococcum* و معلـــــــق خلــيط بكتريــا *B. subtilis* و *P. fluorescens* كـل علـى انفـراد قبـل يـومين مـن اجـراء العـدوى اقـل خفـض فـي نسـبة وشـدة الاصـابة مـن معـاملات السـقي بشـكل مفـرد حيـث بلغــت نســبة الاصــابة 21.7، 18 و19.4 % علـى التـوالي . بالوقـت الـذي كانـت نسـبة وشـدة الاصــابة بمعاملــة المقارنــة المعــداة بالفــايروس 100% و88.8% على التوالي .

اضــافة الــى خفــض نســبة وشــدة الاصــابة بفــايروس CMV وحمايــة نباتــات الخيــار فــان العوامــل الحيويــة المســتخدمة اعطــت زيــادة معنويــة فــي مؤشــرات نمــو نبــات الخيــار اذ تفوقــت المعاملــة الســقي بمعلــق الخلــيط البكتيـري *B. subtilis* و*A.chroococcum* دون اجــراء العــدوى بالفــايروس مقارنــة مــع المعاملـــة المماثلـــة لهـــا ولكـــن بـــاجراء عـدوىبالفايروس CMV بعـد يـومين مـن السـقي بـالمعلق البكتيـري المـذكور حيـث كانـت النتـائج للمعـاملتين هـي معـدل طـول المجمـوع الخضـري 56.1 و 53.8 سـم علـى التـوالي (صـورة 16) ، معـدل طـول المجمـوع الجـذري 49.2 و45.2 سـم علـى التـوالي ، معـدل الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري 21.6 و21.1 غـم ، معـدل الــوزن الرطــب للمجمــوع الجــذري 12 و10.5 غـم ، معـدل الـوزن الجـاف للمجمـوع الخضـري 3.5 و2.9 غــم و الــوزن الجــاف للمجمــوع الجـذري 2.2 و 1.7 غـم بينمـا كانـت النتـائج فـي بقيــة المعــاملات غيــر المعــداة بالفــايروس هــي معـدلات اطـوال المجـاميع الخضـرية تراوحـت بـــين 33.1-45.5 ســـم ، معـــدلات اطـــوال المجـاميع الجذريـة 33.2 -42.4 سـم ، معـدلات الاوزان الرطبـــة المجـــاميع الخضـــرية 13.4-19.6 غـم ، معـدلات الاوزان الرطبـة للمجـاميع الجذريـــة 7.3 – 10.2غـــم ، معـــدلات الاوزان الجافــة المجــاميع الخضــرية 1.5-2.3 غــم و معـــدلات الاوزان الجافـــة المجـــاميع الجذريـــة 0.9- 1.5غم فـي حـين كانـت النتـائج للمعـاملات المماثلــة للمعــاملات اعــلاه ولكــن مــع اجــراء العـــدوى بفـــايروس CMV معـــدلات اطـــوال

المجـــاميع الخضـــرية 32.5 -44.1 ســـم ، معدلات اطوال المجاميع الجذرية تراوحت بين 33.2-41.4 ســم ، معــدلات الاوزان الرطبــة المجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 13-19.3 غـم ، معــدلات الاوزان الرطبــة للمجــاميع الجذريـة تراوحـت بـين 7.1-10.4 غـم ،معـدلات الاوزان الجافــة المجــاميع الخضــرية 1.4-2.2 غــم و معــدلات الاوزان الجافــة المجــاميع الجذريـة تراوحـت بـين 0.8-14 غـم مقارنـة مـع معاملــة المقارنــة الملقحــة بلفــايروس CMV والتــي بلغـت المؤشـرات فيهـا طـول المجمـوع الخضـري 17.0 سـم، طـول المجمـوع الجـذري 16.3 سـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري 5.5 غـــم ، الـــوزن الرطـــب للمجمـــوع الجــذري3.5 غــم ، الــوزن الجــاف للمجمــوع الخضــري 0.5 غـم و الـوزن الجـاف للمجمـوع الجـذري 0.3 غـم بينمـا كانـت نتـائج معاملـة المقارنـــة (نبـــات الســـليم) طـــول المجمـــوع الخضـري 23.6 سـم ، طـول المجمـوع الجـذري 23.4 سـم ، الـوزن الرطـب للمجمـوع الخضـري 9.4غـــم ، الـــوزن الرطـــب للمجمـــوع الجــذري5.5غــم ، الــوزن الجــاف للمجمــوع الخضــري 1.2 غـم و الـوزن الجـاف للمجمـوع الجذري 0.8غم .

ومــن النتــائج الســابقة الــذكر اتضــح ان سـقي نباتـات الخيـار بـالمعلق البكتيـري للبكتريـا المسـتخدمة فـي الدراسـة او السـقي بمعلـق خلـيط نـوعين منهـا اسـتحث المقاومـة الجهازيـة لنبـات الخيـار بالاضـافة الـى تحسـين معـايير النمـو حيـث وجـد فـي دراسـات سـابقة ان العديـد مـن البـاحثين تطرقــوا إلــى امكانيــة حــث نباتــات الخيــار والطماطـــة علـــى مقاومـــة فـــايرس موزائيـــك الخيــار CMV وفــايرس تبــرقش الطماطــة (ToMOV) Tomato Mottle Virus باســـتخدام عـــدة عـــزلات مـــن البكتريـــا *P. putida* و*P.fluorescence* و*Serratia marcesens* و*Flavomonas oryzihabitans* و*Bacllus pumilis* كمـــا اسـتخدمت بعـدة هيئـات منهـا المسـاحيق البكتريـة سـواء بـالرش علـى الأوراق أو معاملـة التربـة أو تعفيـر البـذور وتـم اعتمـاد عـدة مؤشـرات لقيـاس مــدى التحفيــز الحاصــل فــي النبــات ضــد الفايروســين أعــلاه منهــا مقيــاس الأعــراض symptomatic scale

وقـيم الامتصـاص لاختبـار إليـزا Elisa Value وارتفــاع النبــات والحاصــل والمســاحة تحــت منحنـى تطـور المـرض Area (Audpc) under the disease progress وغيرهـا (Zehnder وآخـــــرون ، 2000 ، Zehnder وآخـــرون ، 2001) وقـــد ذكـــر Siddiqui و Sakhtar (2007) إن خلـط أكثـر مـن عامـل أحيـائي لمقاومـة الأمـراض النباتيـة تـأثير إيجـابي فـي زيـادة النمـو ومحتـوى النبـات مـن الكلوروفيـل والنتروجين والفسفور والبوتاسيوم .

تجربــة 3: تــأثير غمــر بــذور الخيــاربمعلق العوامــل البكتيريــة بشــكل مفــرد اومــزدوج ولفتـرتين 30 و60 دقيقـة وري النباتـات الناتجـة بالعوامـل البكتيريـة نفسهابشـكل مفـرد او مـزدوج فـي اسـتحثاث المقاومـة الجهازيـة المكتسـبة ضـد فايروس موزائيك الخيار :

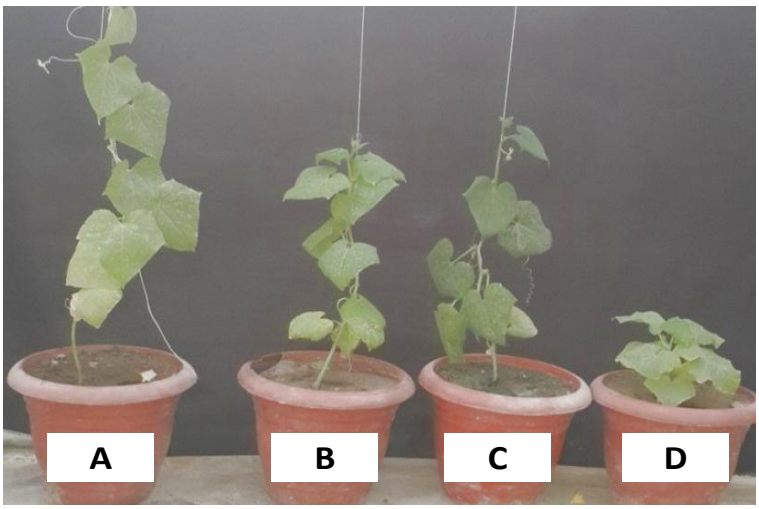
جدول (6) تقويم فاعلية سقي النباتات بمعلق بعض بكتريا الجذور *Pseudomonas fluorescens* و*Bacillus subtilis* و *A zotobacter chroococcum* وخليط نوعين منها لاستحثاث المقاومة الجهازية ضد فايروس CMV في نباتات الخيار

الصفات / المعاملة	طول المجموع الخضري	طول المجموع الجذري	الوزن الرطب للمجموع الخضري	الوزن الرطب للمجموع الجذري	الوزن الجاف للمجموع الخضري	الوزن الجاف للمجموع الجذري	% للاصابة	% لشدة الاصابة
المقارنةControl	23.6 E	23.4 e	9.4 d	5.5 d	1.2 d	0.8 d	0.0	0.0
المقارنة الملقحة Infected control	17.0 F	16.3 F	5.5 e	3.5 e	0.5 e	0.3 e	100.0 c	88.8 c
B.s.	34.2 D	34.8 d	13.7 c	7.7 c	1.6 c	1.2 bcd	0.0	0.0
P.f.	35.2 D	36.7 cd	13.9 c	7.9 c	1.7 c	1.4 bcd	0.0	0.0
A.ch.	33.1	33.2	13.4	7.3	1.5	0.9	0.0	0.0

		bcd	c	c	c	d	D	
0.0	0.0	1.5 bc	2.3 b	10.2 b	19.6 b	42.4 bc	45.5 Bc	B.s+P.f.
0.0	0.0	2.2 a	3.5 a	12.0 a	21.6 a	49.2 a	56.1 A	B.S.+A.ch.
0.0	0.0	1.3 bcd	2.2 b	9.8 b	18.9 b	37.8 cd	43.8 C	P.f.+A.ch.
26.6 ab	34.2 ab	1.1 bcd	1.5 c	7.5 c	13.4 c	34.8 d	32.6 D	B.s.+ virus
20.0 ab	31.1 ab	1.3 bcd	1.6 c	7.8 c	13.6 c	36.7 cd	34.5 d	P.f.+ virus
31.1 b	43.7 b	0.8 cd	1.4 c	7.1 c	13.0 c	33.2 d	32.5 d	A.ch.+ virus
15.5	21.7	1.4	2.2	10.4	19.3	41.8	44.1	B.s+P.f.+ virus

ab	ab	bcd	b	b	b	bc	c	
8.9 a	18.0 a	1.7 ab	2.9 b	10.5 b	21.1 b	45.2 ab	53.8 ab	B.S.+A.ch.+ virus
17.8 ab	19.4 a	1.2 bcd	2.1 b	9.7 b	18.6 b	36.5 cd	42.5 d	P.f.+A.ch. +virus

B.s.: *Bacillus subtilis* , P.f. : *Pseudomonas fluorescens*A.ch. : *Azotobacter chroococcum* , Min : دقيقة



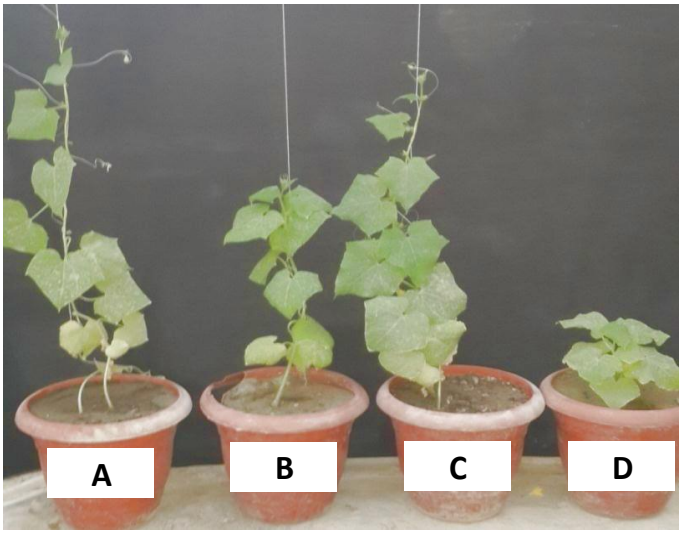
صورة 3 : سقي نباتات الخيار بمعلق الخليط البكتيري *B. subtilis* و*A. chroococcum*قبل يومين من اجراء العدوى بفايروس CMV

(A *A.s.* + *B.s.*B (Control C *A.s.* + *B.s.*D + Viruse) مقارنة معداة بالفايروس

اظهرت النتائج الموضحة في جدول (7) ان جميع معاملات غمر بذور الخيار بالعالق البكتيري بفترتين 30 و60 دقيقة ثم السقي بنفس العالق قبل يومين من اجراء العدوى بالفايروس ادت الى خفض معنوي في نسبة وشدة الاصابة بفايروسCMV فقد تبين ان معاملات غمر البذور بمعلق الخليط البكتيري المتكون من معلق بكتريا *P. fluorescens* و *A. chroococcum* ، معلق خليط بكتريا *B. subtilis* و *A. chroococcum*و معلق خليط بكتريا *B. subtilis* و *P. fluorescens*كل على انفراد ولمدة 30 دقيقة و 60 دقيقة ثم السقي بنفس الخليط قبل يومين من اجراء العدوى بفايروس CMV اعطت خفض معنوي في نسبة وشدة الاصابة حيث كانت نسبة الاصابة تتراوح بين 17.0-27.8 % وشدة اصابة من 11.1-20% ووجد ان هناك فروق معنوية بين استعمال معلق الخليط البكتري ثم السقي بنفس الخليط قبل يومين من اجراء العدوى واستعمال اجناس البكتريا الثلاثة بشكل مفرد وللفترتين 30 و60 دقيقة حيث تفوقت معاملات الخليط البكتيري على معاملات غمر البذور بمعلق البكتريا *P. fluorescens*، معلق بكتريا *A. chroococcum* و معلق بكتريا *B. subtilis*بشكل مفرد وللفترتين 30 دقيقة و60 دقيقة ثم السقي بمعلق البكتريا قبل يومين من اجراء العدوى بالفايروس CMV من حيث نسبة الاصابة وشدة الاصابة فقد تراوحت معدلات نسب الاصابة بالمعاملات الاخيرة ما بين 30.5-43.7 % و شدة الاصابة 24.4-31.3 % في حين بلغت نسبة وشدة الاصابة بمعاملة المقارنة المعداة بالفايروس 100% و95.5% على التوالي .

اضافة الى خفض نسبة وشدة الاصابة في المعاملات الانفة الذكر مقارنة مع معاملة

المقارنــة المعـداة بالفـايروس فقـد حسـن اسـتعمال الاجنـاس البكتيريـة الثلاثـة بشـكل مفـرد او خلـيط جنسـين مـن الاجنـاس البكتيريـة المـذكورة نمـو نباتـات الخيـار حيـث كانـت هنـاك زيـادة فـي معـايير النمـو المتمثلـة بـاطوال المجمـوع الخضـري والجـذري والـوزن الرطـب والجـاف للمجـوعين الخضـري والجـذري حيـث تفوقـت معـاملتي غمـر البـذور بمعلـق خلـيط بكتريـا *B. subtilis*و*A.chroococcum*لمـدة 60 دقيقـة ثـم السـقي بمعلـق نفـس الخلـيط قبـل يـومين مـن اجـراء العـدوى بفـايروس CMV و المعاملـة المماثلـة لهـا ولكـن بـدون اجـراء العـدوى حيـث بلغـت معـدلات اطـوال المجـاميع الخضـري 71.6سـم و67.6 سـم علـى التـوالي (صـورة 17) ، معـدلات اطـوال المجـاميع الجذريـة 65.5 سـم و63.9 سـم ، معـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الخضـرية 23.8و22.8 غـم ، معـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الجذريـة 13.7و13.5 غـم ، معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الخضـرية 3.3و3.2 غـم و معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الجذريـة 1.9 و1.8 غم،بينمـا كانـت النتـائج فـي بقيـة المعـاملات غيـر الملقحـة بالفـايروس هـي معـدلات اطـوال المجـاميع الخضـرية تتـراوح بـين 30.5- 57.6 سم ، معدلات اطـوال المجـاميع الجذريـة تتـراوح بـين 32.1-53.9 سـم ، معـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 13.1- 21.9 غـم ، معـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الجذريـة تراوحـت 7.2-11.3غـم ، معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 1.7-3.1غـم وتراوحـت معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الجذريـة بـين 1-1.5غـم امـا نتـائج المعـاملات المماثلـة للمعـاملات السـابقة ولكـن مـع اجـراء العـدوى بفـايروس CMV فكانـت معـدلات اطـوال المجـاميع الخضـرية تتـراوح بـين 29.4-56.2 سـم ، معـدلات اطـوال المجـاميع الجذريـة تتـراوح بـين 30.8-52.6 سـم ، معـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 12.8-20.8 غـم، معـدلات الاوزان الطريـة للمجـاميع الجذريـة تراوحـت بـين 6.9-10.9 غـم ، معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الخضـرية تراوحـت بـين 1.6-3.0 غـم و و معـدلات الاوزان الجافـة للمجـاميع الجذريـة تراوحـت بـين 0.8 – 1.5غـم ،قياسـا بمعاملـة المقارنـة الملقحـة بالفـايروس CMV حيـث بلـغ معـدل طـول المجمـوع الخضـري 15.7 سـم ، معـدل طـول المجمـوع الجـذري 16.9سـم و ومعـدلات الاوزان الطريـة للمجمـوعين الخضـري والجـذري 5.4 و 3.5 غـم علـى التـوالي ومعـدلات الاوزان الجافـة للمجمـوعين الخضـري والجـذري 0.5 غـم و0.3 غـم علـى التـوالي. وايضـا هنـاك فـروق معنويـة بـين المقارنـة المعـداة بالفـايروس والمقارنـة السـليمة حيـث بلغـت نتـائج مؤشـرات معاملـة المقارنـة السـليمة معـدل طـول المجمـوع الخضـري والجـذري 24.0 و 23.0 سـم علـى التـوالي والـوزن الرطـب للمجمـوعين الخضـري والجـذري 9.2 غـم و5.3 غـم والـوزن الجـاف للمجموعين الخضـري والجـذري 1.1 غـم 0.0 غم .



صورة 17 : غمر بذور الخيار لمدة 60 دقيقة بمعلق الخليط البكتيري *chroococcum A.+ B. subtilis* ثم السقي بنفس الخليط قبل يومين من اجراء العدوى بفايروس CMV

(A *B.s+A.ch.* (B، Control (C ، D + Viruse. *B.s+A.ch.*) مقارنة معداة بفايروس CMV

ومـن النتــائج الانفــة الــذكر اتضــح ان المعــاملات بالاجنـــاس البكتيريـــة الثلاثـــة وخلـــيط جنســـينمنها ســـواء بطريقـــة غمـــر البـــذور او الســـقي او الغمـــر والســـقي تزيـــد مـــن معـــايير النمـــو لنباتـــات الخيـــار وكـــذلك تحفـــز المقاومـــة الجهازيـــة فيهـــا ضـــد فـــايروس CMV مـــن خـــلال خفـــض نســـبة وشـــدة الاصـــابة فـــي جميـــع المعـــاملات البكتيريـــة مقارنـــة بالمعاملـــة المعـــداة بالفـــايروس ومعاملـــة المقارنـــة السليمة.

وان هـــذه النتـــائج توضـــح التـــاثيرات الســـلبية لفـــايروس CMV علـــى نبـــات الخيـــار مـــن جهـــة وفاعليـــة بعـــض بكتريـــا الجـــذور PGPR فـــي اســـتحثاث المقاومـــة الجهازيـــة فـــي نبـــات الخيارضـد هـــذا الفـــايروس اضـــافة الـــى تحســـين معـــايير النمـــو لنباتـــات الخيـــار مـــن جهـــة اخـــرى . اذ ان فـــايروس CMV اثـــر علـــى نمـــو نباتـــات الخيـــار بشـــكل كبيـــر وان الموزائيـــك يـــدل علـــى تحلـــل الكلوروفيـــل حيـــث ذكـــر يـــونس (8) أن للإصـــابة المبكـــرة لفـــايروس CMV تـــأثيراً كبيـــراً علـــى كميـــة الكلوروفيـــل الكلـــي إذ خفضـــته بنســـبة وصـــلت إلـــى 70%. كـــذلك ارتفـــاع نســـب الإصـــابة بالموزائيـــك فـــي حقـــول القرعيـــات فـــي الموصــــل إذ وصــــلت إلــــى (100%) وكــــان فـــايروس موزائيـــك الخيـــار أيضـــاً أحـــد أهـــم مسببات هذه الأعراض (1).

وان اجنــــاس البكتريــــا المســــتخدمة فــــي هــــذه الدراســـة ادت الـــى خفـــض ملحـــوظ فـــي شـــدة ونســـبة الاصـــابة بهـــذا الفـــايروس اضـــافة الـــى ذلـــك حســـنت نمـــو النبـــات ، وان الخفـــض الحاصـــل فـــي نســـبة وشـــدة الاصـــابة باســـتعمال الخلـــيط البكتيـــري يـــدل علـــى تعـــايش هـــذه الاجنـــاس البكتيريـــة مـــع بعضــــها فــــي التربــــة وتكافلهــــا فــــي اســــتحثاث

جدول (7) تقويم فاعلية غمر البذور بعالق بعض بكتريا الجذور *Pseudomonas fluorescens*، *Bacillussubtilis* و *Azotobacter chroococcum* وخليط نوعين منها ثم السقي حول الجذور بالعوامل نفسها قبل يومين من اجراء العدوى لاستحثاث المقاومة الجهازية ضد فايروس CMV في نباتات الخيار

الصفات / المعاملات	طول المجموع الخضري	طول المجموع الجذري	الوزن الرطب للمجموع الخضري	الوزن الرطب للمجموع الجذري	الوزن الجاف للمجموع الخضري	الوزن الجاف للمجموع الجذري	% للاصابة	% لشدة الاصابة
المقارنة Control	24.0 j	23.0 g	9.2 jl	5.3 g	1.1 j	0.6 j	0.0	0.0
المقارنة الملقحة Infected control	15.7 k	16.9 h	5.4 m	3.5 h	0.5 k	0.3 k	100.0 d	95.5 i
30 Min, B.s.	30.6 hij	34.5 ef	13.2 hij	7.6 f	1.8 ghij	1.1 ghij	0.0	0.0
30 Min , P.f.	31.9 ghij	36.5 de	13.8 ghi	8.0 def	1.9 fghij	1.2 fghij	0.0	0.0
30 Min , A.ch.	30.5 hij	32.1 ef	13.1 hijk	7.2 f	1.7 ghij	1.0 ghij	0.0	0.0
30 Min , B.s+P.f.	43.1 de	45.5 c	18.3 bcdef	10.6 bc	2.7 abcde	1.6 abcde	0.0	0.0

0.0	0.0	1.9 abcd	2.9 abcd	12.1 ab	20.0 abcde	55.5 b	47.2 cd	30 Min , B.S.+A.ch.
0.0	0.0	1.5 defghi	2.2 defghi	9.6 cde	17.6 cdefg	43.8 c	40.2 Defg	30 Min , P.f.+A.ch.
28.8 fgh	35.5 abc	1.0 hij	1.7 hij	7.3 f	13.1 hij	34.4 ef	29.9 ij	30 Min, B.s.+ virus
26.6 efgh	31.1 abc	1.1 ghij	1.8 ghij	7.6 f	13.7 ghi	33.6 ef	30.9 hij	30 Min , P.f.+ virus
31.1 gh	43.7 c	0.8 efghi	1.6 ij	6.9 fg	12.8 ijkl	30.8 f	29.4 ij	30 Min , A.ch.+ virus
15.5 abcd	26.8 abc	1.3 abcdef	2.6 abcdef	9.8 cd	18.1 bcdef	44.9 c	41.8 def	30 Min , B.s+P.f.+ virus
11.1 ab	17.0 a	1.8 abcde	2.8 abcde	12.1 ab	19.8 abcde	51.6 b	44.9 d	30 Min , B.S.+A.ch.+ virus
20.0 acdef	27.8 abc	1.4 efghi	2.0 efghi	8.6 def	17.3 cdefgh	40.8 cd	39.2 defgh	30 Min , P.f.+A.ch. + virus
0.0	0.0	0.9 efghi	2.1 efghi	7.8 ef	16.8 defghi	35.1 ef	32.0 ghij	60 Min , B.s.

0.0	0.0	1.0 bcdefg	2.5 bcdefg	8.5 def	18.3 bcdef	37.0 de	35.1 efghi	60 Min, P.f.
0.0	0.0	1.2 efghi	2.0 efghi	7.7 f	16.4 efghi	35.6 ef	34.4 Fghi	60 Min , A.ch.
0.0	0.0	1.5 abc	3.1 abc	11.3 bc	21.9 ab	53.9 b	57.9 b	60 Min , B.s+P.f.
0.0	0.0	1.9 a	3.3 a	13.7 a	23.8 a	65.5 a	71.6 a	60 Min , B.S.+A.ch.
0.0	0.0	1.4 abcd	3.0 abcd	11.2 bc	21.5 abc	53.1 b	54.1 bc	60 Min , P.f.+A.ch.
24.4 defgh	30.5 abc	0.9 ij	2.0 efghi	7.4 f	14.8 fghi	33.7 ef	31.3 hij	60 Min , B.s.+ virus
22.2 cdefg	30.5 abc	0.9 cdefgh	2.4 cdefgh	8.1 def	16.9 defghi	36.7 de	33.8 fghi	60 Min , P.f.+ virus
31.1 h	41.6 bc	1.0 fghi	1.9 fghi	7.3 f	14.7 fghi	34.6 ef	32.7 ghij	60 Min , A.ch.+ virus
13.3 abc	20.0 ab	1.4 abcd	3.0 abcd	10.9 bc	20.8 abcd	52.6 b	56.2 B	60 Min , B.s+P.f.+ virus

11.1 a	17.0 a	1.8 ab	3.2 ab	13.5 a	22.8 a	63.9 a	67.6 a	60 Min , B.S.+A.ch.+ virus
17.8 Abcde	23.3 abc	1.3 abcd	2.9 abcd	10.8 bc	20.4 abcde	52.1 b	53.5 bc	60 Min , P.f.+A.ch. + virus

B.s.: *Bacillus subtilis* , P.f. : *Pseudomonas fluorescens*A.ch.: *Azotobacter chroococcum* , Min : دقيقة

مقاومــة نبــات الخيــار ضــد المســببات المرضــية وتحسين نمـوه وعـدم وجـود تضـاد بـين الاجنـاس الثلاثـة . اذ ان منطقـة الرايزوسـفير تكـون عنـدها مجتمعـات الاحيـاء المجهريـة المفيـدة والضـارة مسـتوطنة فـي حالـة ديناميكيـة بسـبب مصـادر الغـذاء الخارجيـة والداخليةوهـذا مـا اكـده Pandey(20)وBhattacharyya و (Jha13)وان وجـود معلـق هـذه البكتريـا حـول جـذور النبـات يحفـز المقاومـة الجهازيـة للنبـات (22)كمـا ان التصـاق هـذه البكتريـا مـع النبـات يـؤدي الـى تنشـيط مسارالاشـارة الـذي يقـود للمقاومـة ISRكمـا ذكرفهمـي(7)، ولا يقتصـر عمـل الاجنـاس البكتيريـة الثلاثـة سـواء بشـكل مفـرد اوخلـيط علـى تحفيـز المقاومـة فقـط وانمـا يتعـدى الـى تحسـين نمـو النبـات وان سـبب الخفـض فـي نسـبة وشـدة الاصـابة والزيـادة الحاصـلة فـي اطـوال المجمـوع الخضـري والجـذري والـوزن الرطـب والجـاف للمجمـوعين الخضـري والجـذري فـي هـذه التجربـة تعـود الـى اليـات مختلفـة مباشـرة وغيـر مباشـرة و هـذه الاليـات يمكـن ان تكـون نشـطة فـي ان واحـد او بالتتـابع فـي مراحـل مختلفـة مـن نمـو النبـات حيـث وُضـعت عـدة نظريـات لتفسـير تحفيـز نمـو ومقاومـة النبـات بواسـطة هـذه العوامـل وكـان مـن أكثرهـا شـيوعاً افـراز المضـادات الحياتيـة وانتـاج مركبـات منافسـة لعناصـر كيميائيـة يحتاجهـا الممـرض فـي تطـوره وانتـاج منظمـات النمـو النباتيـة فضـلاً عـن تحريـر عمـل الجينـات المشـغلة operator genes عـن طريـق فـك ارتباطهـا بجزيئـة بـروتين الكـابح Repressor (9 ; 17)و ذكـر Gupta واخـرون (15) ان لبكتريـا Plant Growth Promoting Rhizobacteria القـدرة علـى زيـادة المغـذيات المعدنيـة وجاهزيـة العناصـر للنبـات وكـذلك تثبيـت النتـروجين وانتـاج المضـادات الحيويـة وتحسـين مقاومـة النبـات للجفـاف والملوحـة وسـمية المعـادن و إنتـاج العديـد مـن منظمـات النمـو مثـل الجبـرلين (Gibberellin) والسـايتوكانين(Cytokinin) والاوكسـينات مثـل انـدول اسـتيك اسـيد (IAA) ، كـذلك لهـا القـدرة علـى تعـديل مسـتوى الاثيلـين فـي النبـات وإنتـاج كميـات منخفضـة مـن الاثيلـين يمكـن أن تكـون مفيـدة للنبـات (10 ; 18).كمـا انبكتريـا *B. subtilis*، *chroococcumA.* و *P. fluorescens* تنـتج عـدداً مـن الانزيمـات التيلهـا اثـر كبيـر فـي تحليـل المخلفـات العضـوية واعـادة تـدوير عناصـرها وجاهزيتهـا للنبـات مـن أهمهـا Nitrogenase، Phosphatase، Amylase، Esterase، Cellulase، Catelase، Peroxidase، Phenol oxidase (16) وهـذه الانزيمـات لهـا دور كبيـر فـي اسـتحثاث المقاومـة ضـد المسـببات المرضـية (17).

المصادر References:

1. البيضـاني، نصـير كـاظم حسـين .2005. تشـخيص فايروسـات قـرع الكوسـة ومقاومتهـا. رسـالة ماجسـتير، كليـة الزراعـة والغابـات، جامعـة الموصـل، جمهورية العراق.
2. العـاني ، رقيـب عـاكف ، وليـث خليـل توفيـق . 2010 . اسـتعمال البكتريـا

Pseudomonas fluorescence فــي تحفيـز مقاومـة جهازيـة فـي نباتـات الخيـار ضـد فـايروس موزائيـك الخيـار (CMV) . مجلــة وقايــة النبــات العربيــة ، 29 : 36-42 ،جمهورية العراق .

3. حســن، احمــد عبــد المــنعم.1991. انتــاج محاصـيل الخضـر. الـدار العربيـه للنشـر والتوزيـع. الطبعـة الاولـى. 710 صـفحة، مصر.

4. شــريف ،فيــاض محمــد .2012.علــم امــراض النبــات والاســس الجزيئيــة للاصــابة والمقاومــة.دار الــذاكرة للنشــر والتوزيـع .الطبعـة الاولـى . 685 صـفحة ، جمهورية العراق .

5. صــبر، ليلــى جبــار.2013. تحفيــز المقاومــة الجهازيــة فــي الطماطــة ضــد فـايروس موزائيـك الخيـار باسـتخدام خلـيط بكتيــري ومستحضــر البيــون تحــت ظــروف البيــت الزجــاجي . اطروحــة دكتـوراه . كليـة الزراعـة . جامعـة بغـداد. جمهورية العراق.

6. عـوض ، محمـد احمـد . 2005. امـراض النبــات الفيروســية ومســبباتها. الــدار العربيـه للنشـر والتوزيـع. الطبعـة الاولـى، مصر.

7. فهمــى، فكــري جــلال محمــد . 2006 . علــــم الفايروســــات النباتيــــة Phytovirology . دار الكتـب العلميـة للنشر والتوزيع،مصر 224 صفحة .

8. يــونس، نضــال ذنــون .2000. دراســات علــى بعــض الفايروســات المســببة لأعــراض الموزائيــك علــى محصــول الفلفــل فــي محافظــة نينــوى. رســالة ماجســتير، كليــة الزراعــة والغابــات، جامعة الموصل، العراق.

9. Ahn,P. ;K. Park andHoekimC. , 2002. Rhizobactria-induced resistance perturbs viral disease progress and triggers defense related gene expression. Mol.cells, 13(2):302-308.

10. Ahmad, F.I. A. and M.S. Khan. 2005. Indole Acetic Acid production by the indigenous isolates of Azotobacter and Fluorescent Pseudomonas indigenous isolates of Azotobacter and in the presence and Absence of Tryptophan. Turk J. Bot ; 29:29-34.

11. Agriose, G. N. 1997. Plant Pathology. 4th .ed.Academic Press.SanDiegoArgentina . PP. 635.

12. Bakker,P .A. H.M.; L.X,Ran ; C.M.J. Pieters andVan Loon L.C., 2003. Understanding the

phenol oxidase from nitrogen-fixing *Azotobacter chroococcum*. ABM Express,1-14.

17. Maheshwari , D. K. ; V.B. Figueiredo ; L. Seldin ; F.F. Araujoand MarianoR.L. R., 2010 . Plant Growth And Health Promoting Bacteria , Microbiology Monographshttp://WWW.springer.com/97 8-3-642-13611-5

18. Mali, G. V. and M. G. Bodhankar. 2009 Anti fungal and Phyto hormone production potential of *Azotobacter chroococcum* isolates from groundnut(*Arachis hypogea*) Rhizosphere.Asian J .Exp. Sci., 23(1):293-297.

19.Noordam,D.1973.Indentificatio n Of Plant Viruses. Methods And Experiments .Center For Agriculture Publishing And Documentation, Wageningen The Netherlands , pp. 207 .

involvement of rhizosphere bacteria mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases . Can. J. Plant Pathol. 25,5-9.

13. Bhattacharyya , P.N. and D.K. Jha . 2012.Plant growth promoting rihzobacteria (PGPR): emergence in agriculture . word J. microbial. Biotechnol 28:1327-1350.

14. Eifediyi. E. K. and S. U. Remison.2010. Growth And Yield Of Cucumber (*Cucumis Sativus* L.) As Influenced Byfarmyard Manure And Inorganic Fertilizer. J. Plant Breed. Crop Sci. , 7: 216-220.

15. Gupta, A.; M. Gopal and TilakK. V. , 2000. Mechanism Of Plant Growth Promotion By Rhizobacteria. Indian J. Exp Boil 38: 856-862.

16. Herter, S. ; M. Schmidt ; M. L. Thompson ; A. Mikolasch and SchauerF., 2011. Study of enzymatic properties of

20. Pandey, D.B.P.2012. Plant Pathology. Chand and company Ltd., Ram nagar , New Delhi, India PP.437.

Scott, H.A. 1963.Purification Of Cucumber Mosaic Virus . Virology. 20: 130-106.21.

22. Ton, J.; J.A.V. Pelt; L.C. Vallonand PieterseC.M.J.,2002. Differential Effectiveness of salicylate-Dependent and Jasmonate / Ethylen-Dependent induced Resistance in Arabidopsis. Molecular Plant Microbe interaction S. 15:27-34.

23.Wang , S.; H. Wu ;J.Zhan ; Y. Xia ; S. Gao ;W. Wang ; P. Xue ; X. And Gao X. , 2011. The Role Of Synergistic Action and Molecular Mechanism In The Effect Of Genetically Engineered Strain *Bacillus Subtilis* OKBHF In Enhancing Tomato Growth And Cucumber Mosaic Virus Resistance For Biological Control . 56: 113-121.

24. Walters,D.R. ; D. Walsh; A. C. Newton and LyonG.D. , 2005. induced resistance for plant disease control: Maximizying the efficacy of resistance elicitors. Phytopathology, 95: 1368-1373.

Inducing the systemic resistance in cucumber plants (*Cucumis saivus* L.) against cucumber mosaic virus by using some kind of biotic bacterial agents

[1]Hawraa Ismail AL-yasery [2] Fdhel AL-Fadhel[3]Abdullah O. Alhatami

1-2 Department of plant protection-Faculty of Agriculture University of Kufa

3 Department of Microbiology, faculty of Veterinary medicine, University of Kufa

Abstract

This study was conducted to determine the ability of inducing systemic resistance in cucumber plants against cucumber mosaic virus (CMV) by using three genus of bacteria *Bacillussubtilis* , *Pseudomonas fluorescens and Azotobacter chroococcum* and determine the activity of each one individually and as a mixture to control the virusThe plastic pots experiment included five treatments as they are 1- Immerse cucumber seeds in *Bacillus subtilis* suspension 2×10^9 CFU, *Pseudomonas fluorescens* suspension 5×10^{10} CFUand *Azotobacter chroococcum* suspension 2×10^{10} CFU individually and as a mixture of two genus for 30 and 60 min. , 2- Treatment of Irrigate cucumber plants 2 days before treatment with CMV with above bacteria suspension individually and as a mixture 3- immerse cucumber seeds in *Bacillus subtilis* suspension 2×10^9 CFU, *Pseudomonas fluorescens* suspension 5×10^{10} CFU and *Azotobacter chroococcum* suspension 2×10^{10} CFUfor 30 and 60 min. , then Irrigate cucumber plants 2 days before treatment with CMV with the same bacteria suspension individually and as a mixture 4-Infected control treatment. 5-control treatment . The evaluation of treatment were estimated depending upon the infection percentage , infection severity percentage and determination of some growth parameters .The immerse of seeds by the above three genus of bacteria individually and as a mixture for 30 and 60 min. , showed significant reduction in percentage of infection and severity , which was ranged between 17.0 -55.5 % and 11.1 – 26.6 % respectively , compared to infected control treatment which was percentage of infection 100% and the severity 88.83 % respectively .

Significant increase in growth parameters were appeared in comparison to the control treatments . The treatment of immersing seeds in mixed bacteria over –powered upon other treatments individually through 30 and 60 min. , in the percentage of infection and disease severity and in case of increase growth parameters .The mixture of *Bacillus subtilis* and *Azotobacter chroococcum* for 30 and 60 min. without treatment with virus over-powered upon other treatment in : the length of vegetative growth was 52.0 and 53.5 cm , the length of roots which was 46.1-54.5 cm , fresh weight of vegetative parts which was 23.0 and 24.1 gm. , the fresh weight of roots which was 10.7 and 11.5 gm. , dry weight of roots was 1.7 and 2.5 gm. respectively.

The irrigation treatment lead to clear decrease in percentage and severity of infection and improve the plant growth parameters in comparison to infected control .The treatment of mixed bacteria over-powered in the individual bacteria treatment in term of reduction in percentage and severity of infection ,and plant growth parameters the incidence of infection was ranged between 17.0 -27.8 % while severity infection 8.9 -17.8 % compared to infected control 100% incidence infection with 88.8 % severity infection .

The treatment of immersing cucumber seeds for 30 and 60 min. , then irrigated by three genus of the above suspension bacteria individually or as mixture gave protection to cucumber plants against CMV through reduction in the infection percentage and its severity.There was significant differences between using the mixed bacteria followed by irrigation of the same mixture or using the three genus of bacteria individually for two periods (30 and 60 min.) , the percentage of infection in the mixture was 17.0- 26.8 % and the infection severity was 11.1-20.0 % , while the infection percentage was 30.5-43.7 % and the infection severity was 22.2-31.3 % in the individual bacteria treatment, compared to infection percentage 100% of infected control and the infection severity was 95.5% respectively .

kywords :Induced systemic resistance , CMV , *Azotobacter chroococcum* , *Pseudomonas fluorescens Bacillus subtilis*

Part of M.Sc. thesis of the first author