

Evaluate the efficiency of some biological and chemical factors to control of *Pseudomonas syringae* pv.*Lachrymans* parasitizing on cucumber

*Saba A.K. Al-Falooji, *Sabah L. Al-Hasnawi and **Ahlam K. Al-Yasseen

*Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kufa.

** Department of Biology, College of Education for Girls, University of Kufa.

Article Info.

Received
2019 / 8 / 1
Accepted date
2019 / 9 / 3

Keywords

pseudomonas syringae pv.
Lachrymans,
Biological and
chemical
factor,
cucumber,

Abstract

The study aimed to investigate to the spread areas of angular spotting disease on cucumber leaves caused by *Pseudomonas syringae* pv. *Lachrymans* In the greenhouses of three areas (Al-Qazwiynia , Abbasiya and Al-Haidariya) In the province of Najaf and the first time in Iraq to evaluate the efficiency of using chemical and biological induction agents to control angular spotting disease on cucumber leaves. The geographical distribution of the infected areas and the phenotypic diagnosis of symptoms were confirmed by field survey of the disease. It was later revealed that the diagnosed symptoms were similar to the symptoms of the disease, Where the rate of infection in plastic houses covered by the survey ranged between 19% to 35%. Results of the effect of biochemical and chemical agents on *p. syringae* pv. *Lachrymans* showed that treatment of *P. putida* was increased leaves content of chlorophyll, IAA and GA₃ (93.28 mg.100g⁻¹, 1.61 μM and 24.02 μM, respectively) compared to control 2 treatment (44.65 mg.100g⁻¹, 0.84μM and 8.68 μM). Results showed that *P. fluorescens* was decreased ABA hormone which made plant health (324.19 μM) compared to Control 2 treatment (574.53 μM). The treatment of super fifty was superior in leaf content of carbohydrates, protein, CAT, POD, (28.25 mg.g⁻¹, 17.06%, 186.68 units.min.g⁻¹, 179.91 units.min.g⁻¹) compared to control 2 treatment (13.19 mg.g⁻¹, 8.56%, 58.16 units.min.g⁻¹, 105.90 units.min.g⁻¹).

Corresponding author: E-mail(sabaa.alfalooji@uokufa.edu.iq) Al- Muthanna University All rights reserved

تقويم كفاءة بعض العوامل البيولوجية والكيميائية في السيطرة على *Pseudomonas syringae* pv. *Lachrymans* المتطفل على الخيار
*صبا عبد الهادي كاظم الفلوجي *صباح لطيف الحسنوي **أحلام كاظم ال ياسين

*جامعة الكوفة / كلية الزراعة / قسم وقاية النبات

**جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات / قسم علوم الحياة

هدفت الدراسة الى التحري عن مناطق انتشار مرض التبقع الزاوي على اوراق الخيار المتسبب عن البكتريا *pseudomonas syringae* pv. *Lachrymans* في البيوت البلاستيكية لثلاث مناطق (القروينية والعباسية والحيدرية) في محافظة النجف ولأول مرة بالعراق لتقويم كفاءة استخدام عوامل أستحثاث كيميائية وأحيائية لمكافحة مرض التبقع الزاوي على اوراق الخيار، تم اعتماد التوزيع الجغرافي للمناطق المصابة والتشخيص المظهري للأعراض من خلال المسح الميداني للمرض ، والتي اظهرت لاحقاً بأن الأعراض المشخصة كانت مماثلة لأعراض المرض ، حيث تراوحت نسبة الإصابة بالبيوت البلاستيكية التي شملها المسح بين (19 – 35 %). أذ أظهرت نتائج تأثير عوامل الاستحثاث الاحيائية والكيميائية على *p. syringae* pv. *Lachrymans* الى تفوق معاملة *P. putida* في محتوى الاوراق من الكلوروفيل وهرمون IAA وهرمون GA₃ اذ بلغت (93.28 ملغم.100غم⁻¹، 1.61 مايكرومول و 24.02 مايكرومول على التوالي) مقارنة بمعاملة السيطرة 2 (44.65 ملغم.100غم⁻¹، 0.84 مايكرومول و 8.68 مايكرومول على التوالي). كما اشارت النتائج الى تفوق معاملة *P. fluorescens* في P. هرمون ABA اذ بلغت (324.19 مايكرومول) مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) (574.53 مايكرومول). اما بالنسبة الى معاملة Super Fifty فقد تفوقت في محتوى الاوراق من الكربوهيدرات والبروتين وانزيم CAT وانزيم POD اذ بلغت (28.25 ملغم.غم⁻¹، 17.06 %، 186.68 وحدة.دقيقة.غم⁻¹، 179.91 وحدة.دقيقة.غم⁻¹) بالتتابع مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) (13.19 ملغم.غم⁻¹، 8.56 %، 58.16 وحدة.دقيقة.غم⁻¹، 105.90 وحدة.دقيقة.غم⁻¹).

يعد نبات الخيار (*Cucumis sativus* L.) احد نباتات العائلةالقرعية *Cucurbitaceae* من محاصيل الخضر الصيفية

المقدمة:

المهمة ويزرع الخيار في العراق بعروتين (ربيعية وخريفية) , وهو من النباتات التي تحمل نوعين من الازهار المذكورة والمؤنثة على نبات واحد أي أحادي الجنس والمسكن وهو غذاء منخفض السرعات الحرارية نسبيا حيث يحوي حوالي 15 سرعة حرارية و الخيار غني بالماء حيث يحتوي على 96% ماء 3% كربوهدرات و 1 % بروتين، وكميات بسيطة من الدهون والحديد والكالسيوم والبوتاسيوم ويحتوي على مستويات عالية من فيتامين B وفيتامين C وفيتامين K Mukherjee (2013). تشكل مسببات الأمراض البكتيرية تأثير كبير على الزراعة في جميع أنحاء العالم ، لا سيما بالنظر إلى ظهور مسببات أمراض جديدة تؤدي الى خسائر اقتصادية كبيرة وانخفاض في إنتاج المحاصيل بسبب تفشي الأمراض الناجمة عن مسببات الأمراض النباتية البكتيرية (Borkar, 2016 Yumlemban and Sheppard, et al., 2013), بسبب ارتفاع الرطوبة والحرارة المعتدلة في البيوت المحمية ولأجل توفير ظروف ملائمة لنضج محصول الخيار كانت سبب لانتشار البكتريا المسببة لمرض التبقع الزاوي على أوراق الخيار لكن لم تشير الدراسات الى وجود المرض في العراق وذلك حسب دليل مكافحة الآفات الزراعية لأخر اصدار عام 2010, ان البكتريا تتكاثر في المسافات البينية للنسيج الوسطي للأوراق وتنتج انزيمات محللة لجدران الخلايا بعد 96 ساعة من الإصابة بها , كما توجد بغزارة في اوعية الخشب في الاوراق وتقضي البكتريا فترة الشتاء على البذور الملوثة والنباتات المهيمة وتنتشر منها على الاوراق الفلجية حيث يمكن ان تدخل من خلال الثغور والجروح اي ممكن ان ينتقل المرض الى الحقل عبر البذور الملوثة فحيث تتوفر الرطوبة العالية يكون بإمكان قطرة من المحلول البكتيري الدبق الابيض تكوين حالات عدوى ,وممكن ان تنتقل هذه البكتريا من نبات الى نبات اخر باليد الى ادوات العاملين بالحقل , ويمكن ان ينتقل عبر الحشرات اورش الماء (Yedidia, et al) 2003, و Agrios (2005) كان للعديد من الباحثين في السنوات الاخيرة استخدام وسائل جديدة في مكافحة لمسببات امراض النبات مثل مكافحة الإحيائية التي لاقت اهتماما كبيرا وخاصة بعد الإدراك المتزايد للمخاطر الناجمة عن استخدام المبيدات الكيميائية من قبل العديد من المؤسسات العالمية المهتمة بحماية البيئة من التلوث فضلا

عن تأثيرها في صحة الإنسان ومخاطرها على الكائنات غير المستهدفة وظهور السلالات المقاومة لها (El-Mohamedy, et al., 2011) أن استحثاث المقاومة الجهازية والتي هي حالة فسلجية لتحسين القدرة الدفاعية للنبات لذا هي مجموعة من ردود الفعل التركيبية والكيميائية التي تفشل وتوقف او تعرقل الإصابة والتي تتحفز بتماس المستحث بسطح العائل وتكوين التراكيب او المواد الدفاعية اللازمة , لأن النبات يمتلك القدرة الدفاعية ضد مجموعة واسعة من المسببات المرضية النباتية بعد حث الوسائل الدفاعية بواسطة مستحثات اي تقاوم النباتات هجمات المسبب عن طريق اليات متنوعة قد تكون موجودة اصلا في النبات او تتحفز من قبل بعض العوامل الاحيائية (Mauch-Sharma, et al., 2017, Mani, et al., 2018 و Mhlango, et al., 2018). هدفت الدراسة الى استخدام عوامل استحثاث كيميائية وحيائية كبديل امن وصديق للبيئة لمكافحة البكتريا *P. syringae* pv. *Lachrymans* المسببة للمرض.

المواد وطرائق العمل:

اولاً. التحري عن انتشار مرض التبقع الزاوي على اوراق الخيار في بعض مناطق النجف الاشرف:

اجري المسح الحقل في بعض مناطق محافظة النجف الاشرف (القزوينية والعباسية والحيدرية) التي تشتهر بزراعة محصول الخيار في البيوت البلاستيكية للتحري عن مرض التبقع الزاوي على اوراق الخيار خلال الموسم الزراعي الربيعي والخريفي 2017 , اعتمدت اعراض المرض الظاهرة على الاوراق لتنفيذ الدراسة والمتمثلة على الاوراق بظهور بقع مائية صغيرة دباغية اللون على السطح العلوي ولماعة على السطح السفلي تتحدد بواسطة عروق الورقة , ومع اتساع مساحة البقعة تسقط الانسجة الميتة في مركزها تحت ظروف الرطوبة العالية يخرج من القروح نز بكتيري حليبي يجف مكونا قشورا بيضاء قرب القروح , قدرت نسبة الإصابة في الحقول التي شملها المسح حيث تم حساب النسبة المئوية للإصابة وحسب المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للإصابة \%} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100\%$$

ثانياً. اختبار تأثير عوامل الاستحثاث الكيميائية والاحيائية ضد البكتريا *P. syringae* pv. *Lachrymans* المسبب لمرض التبقع الزاوي على الخبار حقلياً.

نفدت تجربة حقلية في محافظة النجف بمنطقة القزوينية خلال الموسم الزراعي 2018 بهدف السيطرة على *P. syringae* pv. *lachrymans* المتطفل على الخبار باستخدام عوامل احيائية وكيميائية. طبقت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبثلاث مكررات لكل معاملة , بعد تهيئة التربة وزراعة بذور الخبار صنف Omega في اطباق فلينية تحتوي على وسط زراعي من البتموس من نوع 1T:S وبعد انبات البذور وظهور الورقة الحقيقة الثانية تم نقل الشتلات الى المكان الدائم في البيت البلاستيكي البالغ مساحته 500م² بشكل متبادل على جانبي المسطبة وبعد وصول الشتلات الى مرحلة الورقة الحقيقة السادسة تم وضع خيوط التسليق وربطها مع السلك الرئيسي على ارتفاع 2م من سطح التربة. حيث تم اضافة لقاح البكتريا الممرضة *P. syringae* pv. *Lachrymans* بالتخفيف 5.9×10^8 (وحدة تكوين مستعمرة / مل) وذلك رشا على المجموع الخضري لحد الاشباع وبعد اربعة ايام تم استخدام عوامل استحثاث المقاومة الاحيائية *pseudomonas putida* و *pseudomonas fluorescens* بتركيز 6.4×10^7 و 6.7×10^7 (وحدة تكوين مستعمرة / مل) على التوالي واستخدم مستخلص الطحالب النانوي Super Fifty بتركيز 150 ppm اما العوامل الكيميائية (Mobeesal 48 % و Salicylic acid) تم الاعتماد على التركيز 150 ppm, أما معاملة (السيطرة) يضاف لها الماء فقط , حيث أصبحت المعاملات كالاتي....

1. بدون اضافة (Control)

2. *P. syringae*

3. *P. putida*

4. *P. fluorescens*

5. Super Fifty

6. Mobeesal 48 %

7. Salicylic acid

8. *P. syringae* + *P. putida*

9. *P. syringae* + *P. fluorescens*

10. *P. syringae* + Super Fifty

11. *P. syringae* + Mobeesal 48 %

12. Salicylic acid + *P. syringae*

13. *P. fluorescens* + *P. putida*

14. *P. fluorescens* + Super Fifty

15. *P. fluorescens* Mobeesal 48%

16. Salicylic acid+ *P. fluorescens*

17. *P. putida* + Super Fifty

18. *P. putida* Mobeesal 48%

19. Salicylic acid+ *P. putida*

20. Super Fifty + Mobeesal 48%

21. Salicylic acid + Super Fifty

22. Salicylic acid Mobeesal 48%

ثالثاً. المؤشرات الكيميائية في الاوراق (تم قياس بعض مؤشرات النمو لنبات الخبار في الجنيه الثالثة).

محتوى الاوراق من الكلوروفيل (ملغم. 100غم ماده طرية)⁽¹⁾ تم تقدير صبغة الكلوروفيل الكلية في اوراق النباتات بأخذ الورقة الرابعة من القمة النامية (الصحاف , 1989) ثم أخذ 1غم وزن طري أضيف له 10 مل أسيتون تركيز 85% وسحق النسيج الورقي بهاون خزفي ثم رشح المحلول باستعمال ورق الترشيح بعدها أكمل حجم الراشح الكلي بالأسيتون 20 مل (Goodwin, 1976) واستعمل جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer لقياس الامتصاص الضوئي للصبغات بالطولين الموجيين 645 , 663 نانوميتر ثم حسبت كمية صبغة الكلوروفيل الكلية , بتطبيق المعادلة الآتية :

$$\text{Total chlorophyll} = [20.2 \times D(645)] + [8.02 \times D(663)] \quad (v/w \times 1000)$$

محتوى الاوراق من الكربوهيدرات الكلية الذائبة (ملغم. غم⁻¹) وزن جاف:

قدرت كمية الكربوهيدرات الذائبة الكلية في الثمار وحسب طريقة (Herbert, et al., 1971) وتمت قراءة الإمتصاص الضوئي بواسطة جهاز UV-visible Spectrophotometer على طول موجي 490 نانوميتر.

النسبة المئوية للبروتين في الاوراق على اساس الوزن الجاف:

Kjeldahl) وحسب الطريقة التي اوردتها (الصحاف، 1989) و تم حساب النتروجين الكلي من المعادلة الآتية :

$$\%N = \frac{\text{حجم الحمض المستهلك بالتسخين} \times \text{عيارية الحمض} \times 14 \times \text{حجم التخفيف}}{\text{حجم العينة المأخوذة عند تقطير} \times \text{وزن العينة المهضومة} \times 1000} \times 100$$

اتساع مساحة البقعة تسقط الانسجة الميتة في مركزها تحت ظروف الرطوبة العالية ,اي تجف وتتشقق وغالبا تسقط تاركة ثقباً او حفر كبيرة وغير منتظمة على الاوراق , حيث يخرج من القروح نز بكتيري حليبي يجف مكوناً قشوراً بيضاء قرب القروح حيث تكون القروح لينة دائرية تحت قشرة الثمار المصابة التي تبدو سليمة وكما في (صورة 1)، ان نسبة الاصابة في البيوت البلاستيكية قد تراوحت بين 19% الى 35 % حيث سجلت منطقة القزوينية اعلى نسبة اصابة بلغت 35 % وتليها منطقة الحيدرية اذ بلغت 30% بينما سجلت اقل نسبة اصابة في منطقة العباسية اذ بلغت 19 % وهذه النسبة لا يمكن تجاهلها كونها تسبب خسائر اقتصادية لنبات الخيار جدول (1). يعزى سبب الانتشار الواسع في منطقة القزوينية الى توفر ظروف ملائمة من حرارة ورطوبة لنمو الخيار والتي تعد سبباً لانتشار البكتريا المسببة لمرض التبقع الزاوي على اوراق الخيار وتطورها , كما ان معظم الحقول التي جرى عليها المسح زرعت بمحصول الخيار لعدة سنوات متتالية او اكثر وقد ساهم ذلك بتراكم اللقاح البكتيري في التربة كما تبقى لأكثر من سنتين على بقايا النباتات المصابة في التربة حيث عند انبات البذرة فإنها غالباً ما تقتل لكن في البادرات الناتجة من بذور مصابة تنتقل البكتريا الى انسجة الاوراق الفلجية لتصيب البادرة بذلك توفر اصابة اولية (Venette, 1996 و Hansen, 2000). كما اشارت الدراسة ان الحرارة والرطوبة عامل رئيسي لحدوث الاصابة لذا فعند توفر درجات الحرارة المعتدلة والرطوبة العالية حيث تؤدي الى تشبع انسجة النبات بالماء في البيوت البلاستيكية مما يؤدي الى تطور المرض (Venett, 1996). ان سوء تشخيص المسبب المرضي يعد سبباً لانتشار المرض حيث يشخص المرض على انه مرض فطري ويكافح بمبيد حاوي على مركبات النحاس التي قد تستفاد منها البكتريا المسببة للمرض , اذ تسبب البكتريا خسائر اقتصادية كبيرة في الانفاق البلاستيكية المزروعة بالخيار .

حسبت النسبة المئوية للبروتين في الاوراق على اساس الوزن الجاف , وذلك من خلال حساب النتروجين اذ تم تقديرها حسب طريقة كلدال باستخدام جهاز المايكرو كلدال (Micro-

ومن ثم تم حساب النسبة المئوية للبروتين وحسب المعادلة التالية (A.O.A.C, 1970).

نسبة البروتين على أساس الوزن الجاف = (النسبة المئوية للنتروجين في الاوراق $\times 6.25$)

تركيز هرمونات النمو النباتية (IAA) Indole -3- acetic acid و Gibberellic acid (GA₃) و Absciscic acid في الاوراق: ABA

تمت عملية التقدير الكمي لهرمونات النمو النباتية (IAA) Indole -3- acetic acid (و Gibberellic acid (GA₃) و Absciscic acid (ABA) وفق طريقة Unyayar (Ergun وآخرون, 1996) الواردة في (Ergun وآخرون, 2002) حيث تم تقدير كل من (IAA و GA₃ و ABA) الحر وعلى اطوال موجية على التوالي (245 و 263 و 280) نانومتر وقرأت

العينات بجهاز UV- visible spectrophotometer

تقدير الفعالية الكلية لأنزيم (POD) peroxidase:

تم تقدير فعالية انزيم POD وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل (Asada و Nakana, 1981) تمت قراءة الامتصاصية في جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer عند طول موجي 420 نانوميتر.

تقدير فعالية انزيم (CAT) Catalase:

قدرت فعالية انزيم CAT بواسطة جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer وحسب طريقة (Aebi, 1974) هذه الطريقة تستعمل مقدار التغير في امتصاصية عند 240 نانوميتر.

النتائج والمناقشة:

اظهر المسح الميداني الكشف عن مرض التبقع الزاوي على اوراق الخيار في ثمانية وعشرون بيت بلاستيكي في كل من القزوينية والعباسية والحيدرية وجاءت اعراض المرض مماثلة لما ذكره (Hansen, 2000 و Agrios, 2005) اذ ظهرت الأعراض على الاوراق بشكل بقع مستديرة مائية صغيرة غير منتظمة الشكل دباعية اللون على السطح العلوي ولماعة على السطح السفلي له زوايا، تتحدد بواسطة عروق الورقة، ومع



B



A

صورة (1): اعراض مرض التبّع الزاوي على اوراق الخيار **A** : ورقة سليمة **B** : ورقة مصابة

جدول (1): النسبة المئوية لاصابة نبات الخيار بمرض التبّع الزاوي على اوراق الخيار بمناطق القزوينية والعباسية والحيدرية .

النسبة المئوية %			
تسلسل البيت البلاستيكي	القزوينية	العباسية	الحيدرية
1	35	29	25
2	22	28	26
3	20	24	30
4	25	27	23
5	29	22	22
6	27	19	21
7	26	23	23
8	27	25	24
9	25	28	21
10	24	-	-

و 89.63 ملغم. 100غم⁻¹ على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة
1) والتي بلغت 78.98 ملغم. 100غم⁻¹ ، كذلك كانت هناك
فروقات معنوية في معاملة *P. putida* مع *P. syringae*

أوضحت نتائج الجدول (2) تأثير المعاملات في محتوى اوراق
الخيار من الكلوروفيل اذ تفوقت معنويا معاملة *P. putida*
ومعاملة مستخلص الطحالب Super Fifty التي بلغت 95.58

المركبات السامة اي انها تقوم بدورهم في حماية النبات تحت ظروف الاجهاد بوجود المتطفل من خلال وتحفيز نمو النبات بالاضافة الى قدرتها على انتاج مركبات تشجع توفير بعض العناصر المهمة كالنتروجين والفسفور بصورة جاهزة وتسهيل عملية الامتصاص بالجذور (Molina-Romero, 2017).

وكما اشارت الدراسة الحميري (2013) ان كفاءة استعمال البكتريا *P. putida* ضد الاحياء الممرضة تحت ظروف البيوت المحمية تقود الى خفض نسبة الاصابة وشدة الاصابة للمرض في النبات وبالتالي تؤدي البكتريا الى زيادة محتوى النبات من البروتين الكلي والكلوروفيل والفينولات وزيادة انزيم PO (Peroxidase). ان تفوق معاملة Super Fifty في محتواها من الكاربوهيدرات والكلوروفيل والبروتين وكما اوضحت دراسة ان محتوى مستخلصات الاعشاب البحرية على نسبة عالية من Salicylic acid و Cytokinin ومركبات عضوية وهرمونات مشجعة للنمو و Humic acid التي تزيد من مقاومة النباتات للاجهاد الحيوي والجفاف وزيادة نمو الجذور والافرع وزيادة كفاءة التمثيل الضوئي التي تؤدي الى تقليل الاصابة بالامراض من خلال عملها على منع اكسدة فيتامين E و C الذي يوجد في الكلوروبلاست وبالتالي تحمي عملية البناء الضوئي عندما يتعرض النبات للاجهاد مع زيادة معنوية في نسبة فيتامين C و الكاربوهيدرات و البروتين عند الرش بمستخلص الطحالب Super Fifty على النباتات (Ramya, et al., 2015).

ومعاملة *P. syringae* مع Super Fifty والتي بلغت 93.28 و 87.40 ملغم. 100غم⁻¹ على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 44.65 ملغم. 100غم⁻¹. بينما كانت نتائج محتوى الاوراق من الكاربوهيدرات الكلية الذائبة التي كانت متفوقة معنويا في معاملة Super Fifty ومعاملة *P. Putida* التي بلغت 29.6 و 27.87 ملغم. 100غم⁻¹ مقارنة بمعاملة (سيطرة 1) التي بلغت 25.32 ملغم. 100غم⁻¹. و كانت هناك فروقات معنوية في معاملة *P. Syringae* مع Super Fifty ومعاملة *P. Putida* مع *P. syringae* اذ بلغت 28.25 و 27.04 ملغم. 100غم⁻¹ على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 13.19 ملغم. 100غم⁻¹. اشارت نتائج الجدول (2) ان تاثير المعاملات في النسبة المئوية للبروتين في الاوراق اذ تفوقت معنويا معاملة Super Fifty ومعاملة *P. putida* التي بلغت 17.97 و 16.93 % على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 1) والتي بلغت 12.05 % , اما في معاملة *P. syringae* مع Super Fifty ومعاملة *P. putida* مع *P. syringae* كانت متفوقة معنويا اذ بلغت 17.06 و 15.06 % على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 8.56 % . ان تفسير زيادة محتوى الاوراق من الكلوروفيل و الكاربوهيدرات والنسبة المئوية للبروتين في المعاملات التي اضيفت لها البكتريا الحيوية *P. putida* كانت بسبب ان هذه البكتريا الحيوية تحتوي على بعض المركبات التي لها اهمية في المقاومة الحيوية والتي اثبتت الكثير من الدراسات بقدرتها على استعمار جذور النباتات وتحطيم

جدول (2): تأثير اضافة عوامل الاستحثاث الاحيائية والكيميائية في مقاومة البكتريا *syringae* pv. *Lachrymans* على محتوى الكلوروفيل ومحتوى الكاربوهيدرات ونسبة البروتين

المعاملات	محتوى الكلوروفيل (ملغم. 100 غم ⁻¹)	محتوى الكاربوهيدرات (ملغم. 100 غم ⁻¹)	النسبة المئوية البروتين (%)
Control 1 ((بدون اضافة	78.98	25.32	12.05
Control 2 ((البكتريا <i>P. syringae</i> فقط	44.65	13.19	8.56
<i>P. putida</i>	95.58	27.87	16.93
<i>P. fluorescens</i>	88.44	26.61	15.66
Super Fifty	89.63	29.6	17.97
Mobeasal 48%	79.25	20.92	15.78
Salicylic acid	73.88	20.52	11.93
<i>P. syringae</i> + <i>P. putida</i>	93.28	27.04	15.06
<i>P. syringae</i> + <i>P. fluorescens</i>	84.38	23.42	13.34
<i>p. syringae</i> + Super Fifty	87.40	28.25	17.06

14.75	20.63	74.48	<i>P. syringae</i> Mobeesal+48%
10.55	20.43	74.31	Salicylic acid+ <i>P. syringae</i>
10.05	19.82	51.47	<i>P. fluorescens</i> + <i>P. putida</i>
10.30	19.14	53.58	+ <i>P. fluorescens</i> Super Fifty
9.7	18.03	62.05	<i>P. fluorescens</i> +48% Mobeesal
9.57	18.55	64.36	<i>P. fluorescens</i> + Salicylic acid
9.37	18.59	68.13	<i>P. putida</i> + Super Fifty
9.42	19.06	56.98	<i>P. putida</i> +48% Mobeesal
10.25	17.36	55.33	<i>P. putida</i> + Salicylic acid
9.26	14.98	54.52	48% Mobeesal + Super Fifty
9.27	17.167	51.53	Super Fifty + Salicylic acid
9.06	16.997	50.363	48% Mobeesal + Salicylic acid
2.77	5.46	10.04	L.S.D 0.05

مايكرومول على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 574.53 مايكرومول.

ان الزيادة الحاصلة في الهرمونات المشجعة للنمو يعود الى نشاط المركبات التي تكونها بكتريا المقاومة الحيوية *P. Putida* و *P. fluorescens* منها diacetylphloroglucinol -2,4, N- acyl- homoserine lactones , pyocyanin pyoverdin لها دور فعال في تحفيز النمو وتراكم العديد من المواد الايضية والتي تعزز من الدفاعات المستحثة وتحسن اداء النبات (Pieterse وآخرون , 2014) . ان قدرة البكتريا *P. putida* على تحفيز نمو النبات ومقاومة الامراض قد يرجع الى انتاجها لبعض المركبات المشجعة للنمو مثل الجبرلينات والسايو كايينينات و حامض الخليك (Penrose و Glick, 1997). كذلك يعزى تفوق البكتريا *P. putida* الى قدرتها على تنظيم نمو النبات من خلال إنتاج (Indole Acetic Acid) IAA الذي يكون له دور كبير في السيادة القمية للخيار (Mordukhova, et al, 1991). ان فعالية البكتريا *P. fluorescens* ضد *P. syringae* تعود الى انتاجها العديد من المضادات الحياتية مثل Pyoluteorin والمركبات الايضية التي تعمل على التنافس على عنصر الحديد وجعله غير جاهز للحياة الدقيقة الاخرى. بالاضافة الى ذلك تقوم *P. fluorescens* في استعمار جذور النباتات وانتاج حامض Salicylic acid الذي يعمل على استحثاث المقاومة الجهازية وهذا بدوره يعزز نمو الخيار (Beneduzi, et al, 2012). من جانب اخر تقوم *P. fluorescens* بدور كبير تحول دون زيادة في نمو وامراضية *P. syringae* من خلال تحفيز النبات على تكوين مركبات تعرقل تصنيع البروتينات المتعلقة

يبين الجدول (3) تأثير المعاملات على تركيز هرمونات النمو منها هرمون (IAA) في اوراق الخيار حيث تفوقت معاملة *P. putida* و *P. fluorescens* التي بلغت 2.42 و 1.79 مايكرومول على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 1) التي بلغت 0.91 مايكرومول. ولنفس الهرمون حيث كانت هناك فروقات معنوية في معاملة *P. putida* مع *P. syringae* ومعاملة *P. Fluorescens* مع *P. syringae* والتي بلغت 1.61 و 1.26 مايكرومول على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 0.84 مايكرومول. بينما كان تأثير المعاملات في الجدول (3) على تركيز هرمون (GA₃) في اوراق الخيار حيث تفوقت معنويا معاملة *P. Putida* ومعاملة *P. Fluorescens* التي بلغت 25.46 و 23.62 مايكرومول على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 1) التي بلغت 19.63 مايكرومول. كذلك تفوقت معنويا معاملة *P. putida* مع *P. syringae* ومعاملة *P. fluorescens* مع *P. syringae* التي بلغت 24.02 و 21.86 مايكرومول على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 8.68 مايكرومول جدول (3).

اشارت نتائج الدراسة كما موضح في الجدول (3) كان تأثير معاملات الاستحثاث على هرمون (ABA) في اوراق الخيار حيث كان هناك فروقات معنوية في معاملة *P. Putida* و *P. Fluorescens* التي بلغت 215.76 و 269.68 مايكرومول على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 1) التي بلغت 489.05 مايكرومول. اما بالنسبة الى معاملات عوامل الاستحثاث مع الممرض حيث كانت هناك فروقات معنوية في معاملة *P. Fluorescens* مع *P. syringae* ومعاملة *P. Putida* مع *P. Syringae* التي بلغت 324.19 و 329.95

خلال انتاجها الهرمونات النباتية phytohormones التي تعمل على تدوير الفوسفات التي لا يمكن للنبات اذابتها مثل Indole-3Acetic Acid) (Jeon, et al., 2003).

بالمسبب المرضي *P. syringae* وهذا ما اكدته الدراسات السابقة Hoffland, et al., 1996 . كذلك ان *P. fluorescens* تؤدي الى زيادة نمو النبات بصورة عامة من

جدول (3): تأثير اضافة عوامل الاستحثاث الاحيائية والكيميائية في مقاومة البكتريا *syringae* pv. *Lachrymans* على *Pseudomonas* هرمونات النمو النباتية (IAA و GA₃ و ABA)

المعاملات	هرمون IAA (مايكرومول)	هرمون GA ₃ (مايكرومول)	هرمون ABA (مايكرومول)	المؤشرات
Control 1)) بدون اضافة	0.91	19.63	489.05	
Control 2)) البكتريا <i>P. syringae</i> فقط	0.84	8.68	574.53	
<i>P. putida</i>	2.42	25.46	269.68	
<i>P. fluorescens</i>	1.79	23.62	215.76	
Super Fifty	1.04	20.52	301.53	
Mobeasal 48%	0.84	18.90	364	
Salicylic acid	0.78	17.52	407.42	
<i>P. syringae</i> + <i>P. putida</i>	1.61	24.02	329.95	
<i>P. syringae</i> + <i>P. fluorescens</i>	1.26	21.86	324.19	
<i>p. syringae</i> + Super Fifty	0.98	20.28	486.32	
<i>P. syringae</i> Mobeasal+48%	0.46	17.70	415.28	
Salicylic acid+ <i>P. syringae</i>	0.70	14.99	465.29	
<i>P. fluorescens</i> + <i>P. putida</i>	0.06	16.15	402.49	
+ <i>P. fluorescens</i> Super Fifty	0.54	15.00	357.52	
<i>P. fluorescens</i> +48% Mobeasal	0.52	16.43	366.44	
<i>P. fluorescens</i> + Salicylic acid	0.53	17.86	401.53	
<i>P. putida</i> + Super Fifty	0.56	19.68	557.06	
<i>P. putida</i> +48% Mobeasal	0.50	17.09	400.74	
<i>P. putida</i> + Salicylic acid	0.50	15.53	360.56	
48% Mobeasal + Super Fifty	0.50	14.39	356.56	
Super Fifty + Salicylic acid	0.45	17.88	344.58	
48% Mobeasal + Salicylic acid	0.48	15.66	397.6	
L.S.D 0.05	0.088	4.21	45.11	

ومعاملة *P. putida* التي بلغت 188.64 و 185.8 وحدة دقيقة. غم⁻¹ وزن طري مقارنة بمعاملة (سيطرة 1) التي بلغت 118.65 وحدة دقيقة. غم⁻¹ وزن طري , كذلك تفوقت معنويا معاملة *P. syringae* مع Super Fifty ومعاملة *P. putida* مع *P. syringae* التي بلغت 179.91 و 173.45 وحدة دقيقة. غم⁻¹ وزن طري على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 105.90 وحدة دقيقة. غم⁻¹ وزن طري.

يعزى تفوق معاملة Super Fifty على باقي المعاملات في تقدير فعالية انزيم peroxidase و Catalase في النباتات حيث ان Super Fifty مستخلص الطحالب يؤدي الى تعزيز فعالية مختلف الانزيمات والبروتينات ذات العلاقة بالامراضية

اكدت نتائج الجدول (4) وجود فروقات معنوية في تأثير المعاملات على فعالية انزيم Catalase (CAT) حيث نلاحظ تفوق معاملة Super Fifty ومعاملة *P. putida* وبفروقات معنوية التي بلغت 183.8 و 132.75 وحدة دقيقة. غم⁻¹ وزن طري على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 1) التي بلغت 61.04 وحدة دقيقة. غم⁻¹ , وزن طري , كذلك تفوقت معنويا معاملة *P. syringae* مع Super Fifty ومعاملة *P. putida* مع *P. syringae* التي بلغت 186.68 و 177.75 وحدة دقيقة. غم⁻¹ وزن طري على التوالي مقارنة بمعاملة (سيطرة 2) التي بلغت 58.16 وحدة دقيقة. غم⁻¹ وزن طري . اما تأثير المعاملات على انزيم Peroxidase (POD) في جدول (4) حيث تفوقت معنويا معاملة Super Fifty

(2013). كما اكد (Sharma, et al., 2018) ان البكتريا *P. putida* هي بكتريا نافعة تعيش بشكل حر بالتربة وتعمل على تشجيع نمو النبات باليات عدة حيث تعمل على تحفيز المقاومة الجهازية و لها دور في خفض كثافة الاحياء الممرضة التي تصيب النبات وكفائتها في الاستحثاث اذ زادت مستويات الانزيم الدفاعية كـ (Peroxidase (POD و chitinase مما يعزز الدفاعات النباتية اتجاه *P. syringae* pv. *Lachrymans* وهذا ما اكدته الدراسات السابقة. ان انزيم Catalase ويعد من الانزيمات الشائعة في تحفيز كفاءة البناء الضوئي والتنفس مما يؤدي الى زيادة النمو في ظروف تطفل *P. syringae* على الخيار (Seidlitz, et al., 2004).

وتضمنت chitinase و β -1,3-glucanase و peroxidase و phenylalanine ammonia و polyphenol oxidase و lyase و lipooxygenase طريق تنشيط الجينات المسؤولة عن انتاج هذه البروتينات (Jayaraman, et al., 2010). كما اشارت الدراسة الى ان ديمومة صحة النبات تكمن بالدرجة الاولى بأحتواء الانسجة النباتية الكمية الكافية من العناصر الغذائية الصغرى والكبرى والاحماض العضوية والهرمونات المشجعة للنمو ولأن مستخلص الطحالب النانوي Super Fifty يحتوي على هذه المركبات المهمة التي لها دور في زيادة الفعاليات الحيوية في الخيار ضد اضرار تطفل *P. syringae* حيث ان اضافتها الى التربة الخفيفة تعمل على تحسين احتفاظها بالرطوبة وهذا ما اكدته الدراسات السابقة (Lee, et al., 2013).

جدول (4): تأثير اضافة عوامل الاستحثاث الاحيائية والكيميائية في مقاومة البكتريا *Pseudomonas syringae* pv. *Lachrymans* على الانزيمات (Catalase (CAT و Peroxidase (POD

المعاملات	انزيم (Catalase (CAT (وحدة .دقيقة.غم ⁻¹ وزن طري)	المؤشرات انزيم (POD) (وحدة .دقيقة.غم ⁻¹ وزن طري)
Control 1)) بدون اضافة	61.04	118.65
Control 2)) البكتريا <i>P. syringae</i> فقط	58.16	105.90
<i>P. putida</i>	132.75	185.8
<i>P. fluorescens</i>	121.19	184.55
Super Fifty	183.8	188.64
Mobeasal 48%	89.36	141.82
Salicylic acid	83.06	152.19
<i>P. syringae</i> + <i>P. putida</i>	177.75	173.45
<i>P. syringae</i> + <i>P. fluorescens</i>	157.37	157.81
<i>p. syringae</i> + Super Fifty	186.68	179.91
<i>P. syringae</i> Mobeasal+48%	98.69	152.47
Salicylic acid+ <i>P. syringae</i>	98.18	151.05
<i>P. fluorescens</i> + <i>P. putida</i>	94.06	110.83
+ <i>P. fluorescens</i> Super Fifty	97.83	121.58
<i>P. fluorescens</i> +48% Mobeasal	94.21	125.65
<i>P. fluorescens</i> + Salicylic acid	100.25	131.02
<i>P. putida</i> + Super Fifty	104.94	120.87
<i>P. putida</i> +48% Mobeasal	97.02	123.32
<i>P. putida</i> + Salicylic acid	99.58	98.02
48% Mobeasal + Super Fifty	95.98	99.13
Super Fifty + Salicylic acid	90.81	94.35
48% Mobeasal + Salicylic acid	93.46	95.97
L.S.D 0.05	8.50	15.01

وتشخيص سلالاته . اطروحة دكتوراة . كلية الزراعة . جامعة بغداد . ص 143 .
الصحاف، فاضل حسين . 1989. تغذية النبات التطبيقي. جامعة بغداد . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. ص 31 - 69. العراق.

المصادر:
الحميري، ياسر ناصر حسين . 2013. التكامل في مكافحة مرض الذبول الفيوزاري في الطماطة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*

- A.O.A.C., .1970. Official Methods of Analysis 11.th Association of - Official Analytical Chemists. USA.P.1015.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Method of Enzymology*, 105: 121-129
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1044-1051.
- Borkar S.G. and Yumlemban, R.A. 2016. *Bacterial disease of crop plants*. Boca Raton, CRC Press. Pp 616.
- Hussain, R., Arif, S., Sikander, M. A., & Memon, A. R. (2011). Effect of using bio-control agents on growth, yield, head quality and root rot control in broccoli plants. *International journal of academic Research*, 3(2), 71-80.
- Ergün, N., TOPCUOĞLU, Ş. F., & Yildiz, A. (2002). Auxin (Indole-3-acetic acid), gibberellic acid (GA₃), abscisic acid (ABA) and cytokinin (Zeatin) production by some species of mosses and lichens. *Turkish Journal of Botany*, 26(1), 13-18.
- Glick, B. R., Penrose, D. M., & Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of theoretical biology*, 190(1), 63-68.
- Goodwin, T. W. 1976 .*Chemistry and Biochemistry of plant Pigment* 2nd Ed. Academic Press, N. Y., Sanfrancisco .USA.pp. 373.
- Hansen, M.A. 2000. Angular leaf spot of cucumber. Virginia State University, Plant Disease Fact Sheets. 5: 450 -700.
- Herbert, D., Philips, P.J.and R.E. Strange .1971. Determination of Total Carbohydrates, (C.F. Methods in Microbiology. Norris J.R. and D.W. Robbins (Eds) Acad., Press, London. 5B, Chap. England).
- Hoffland, E., Hakulinen, J., & Van Pelt, J. A. (1996). Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. *Phytopathology*, 86(7), 757-762.
- Jayaraman, J., Norrie, J., & Punja, Z. K. (2011). Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 353-361.
- Jeon, J. S., Lee, S. S., Kim, H. Y., Ahn, T. S., & Song, H. G. (2003). Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal of Microbiology*, 41(4), 271-276.
- Lee, J. C., Hou, M. F., Huang, H. W., Chang, F. R., Yeh, C. C., Tang, J. Y., & Chang, H. W. (2013). Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. *Cancer Cell International*, 13(1), 1-7.
- Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E., & Flors, V. (2017). Defense priming: an adaptive part of induced resistance. *Annual review of plant biology*, 68, 485-512.
- Mhlongo, M. I., Piater, L. A., Madala, N. E., Labuschagne, N., & Dubery, I. A. (2018). The chemistry of plant-microbe interactions in the rhizosphere and the potential for metabolomics to reveal signaling related to defense priming and induced systemic resistance. *Frontiers in Plant Science*, 9, 112.
- Molina-Romero, D., Morales-García, Y. E., Hernández-Tenorio, A. L., Castañeda-Lucio, M., Netzahuatl-Muñoz, A. R., & Muñoz-Rojas, J. (2017). *Pseudomonas putida* estimula el crecimiento de maíz en función de la temperatura. *Rev Iberoam Ciencias*, 4, 80-88.
- Mordukhova, E. A., Skvortsova, N. P., Kochetkov, V. V., Dubeikovskii, A. N., & Boronin, A. M. (1991). Synthesis of the phytohormone indole-3-acetic acid by rhizosphere bacteria of the genus *Pseudomonas*. *Microbiology (New York, NY)*, 60(3), 345-349.
- Mukherjee, P. K., Nema, N. K., Maity, N., & Sarkar, B. K. (2013). Phytochemical and therapeutic potential of cucumber. *Fitoterapia*, 84, 227-236.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880.
- Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker,

- P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology*, 52.
- Ramya, S. S., Vijayanand, N., & Rathinavel, S. (2015). Foliar application of liquid biofertilizer of brown alga *Stoechospermum marginatum* on growth, biochemical and yield of *Solanum melongena*. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 4(3), 167-173.
- Vandenabeele, S., Vanderauwera, S., Vuylsteke, M., Rombauts, S., Langebartels, C., Seidlitz, H. K., ... & Van Breusegem, F. (2004). Catalase deficiency drastically affects gene expression induced by high light in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 39(1), 45-58.
- Sharma, C. K., Vishnoi, V. K., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2018). A twin rhizospheric bacterial consortium induces systemic resistance to a phytopathogen *Macrophomina phaseolina* in mung bean. *Rhizosphere*, 5, 71-75.
- Sheppard, S. K., Didelot, X., Meric, G., Torralbo, A., Jolley, K. A., Kelly, D. J. and Falush, D. (2013). Genome-wide association study identifies vitamin B5 biosynthesis as a host specificity factor in *Campylobacter*. *Proceedings of the national academy of sciences*, 110(29), 11923-11927.
- Unyayar, S., Topcuoglu S.F. and Unyayar A. 1996 .Amodified method for extraction and identification of indole – 3- acetic acid (IAA) , gibberellic (GA₃) and abscisic acid (ABA) and zeatin produced by *phanoerochate chrysosporium* ME446 .Bulg .J. Plant Physiol .,22(3-4):105 – 110.
- Venette, J. R., Smith, C. and Lamey, A. 1996. Angular leafspot of cucumber. North Dakota State University. Pp 738.
- Yedidia, I., Shores, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7343-7353.