

دور التلقيح البكتيري بثلاث أنواع من بكتيريا PGPR في تحسين خصوبة التربة وتحفيز نمو نبات البندورة والحد من تأثير فطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea*

د محمد سلمان ابراهيم¹، أ.د. ياسر علي حماد²، د. رامي محمد الشامي³، د. حسن يوسف حسين⁴،
د.عصام محمود عاصم خديجة⁵

الملخص

هدف هذه الدراسة الى تقييم دور التلقيح البكتيري بثلاث أنواع من بكتيريا *Frateriura aurantia* و *Bacillus megaterium* و *Rhizobium leguminosarum* بوجود وغياب العدوى بفطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea* وتأثيرها في تحسين خصوبة التربة وإنتاجية نباتات البندورة وتحفيز المقاومة تجاه الفطر. وذلك من خلال دراسة محتوى التربة من NPK ومحتوى الاوراق من الفينولات الكلية ونشاط أنزيم البروكسيداز وحمض الساليسيليك. نفذ البحث ضمن بيت بلاستيكي في محافظة طرطوس.

أظهرت النتائج أن التلقيح بالأنواع البكتيرية الثلاثة أدى إلى زيادة معنوية في جميع المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد السليم والشاهد والمعدى بالفطر غير الملقح بالبكتيريا، وأظهرت معاملة التلقيح بالأنواع البكتيرية الثلاثة غير المعداة بالفطر (M) زيادة في متوسط محتوى التربة من الازوت والفوسفور والبوتاسيوم (0.243% و 40.11 ppm و 273.30 ppm) على التوالي، في حين حققت المعاملة (BM) أعلى زيادة في معايير تحفيز المقاومة الجهازية ضد فطر العفن الرمادي من خلال زيادة محتوى أوراق نباتات البندورة من الفينولات الكلية (92.49 مغ/100 غ) ومتوسط نشاط أنزيم البيروكسيداز (0.315 ميكرومول/مغ)، ومتوسط تركيز حمض الساليسيليك (56.22 ميكروغرام/غ طازج)، وهذا انعكس ايجابياً على الانتاجية حيث بلغ متوسط انتاج نباتات البندورة عند المعاملة M و BM (3.213 و 2.692 كغ/نبات) على التوالي، مقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى بالفطر. وتؤكد هذه النتائج الكفاءة العالية للتلقيح البكتيري في تعزيز تغذية النبات وتنشيط

دور التلقيح البكتيري بثلاث أنواع من بكتيريا PGPR في تحسين خصوبة التربة وتحفيز نمو نبات البندورة والحد من تأثير فطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea*

الاستجابات الدفاعية الحيوية، مما يسهم بفاعلية في رفع مقاومة النبات للإصابة بفطر العفن الرمادي وتحسين كفاءة الإنتاج النباتي.

الكلمات المفتاحية: بكتريا محفزة لنمو النبات (PGPR)، تربة، فطر العفن الرمادي، بندورة.

¹دكتور، مديرية الزراعة والاصلاح الزراعي، طرطوس- سورية

²أستاذ، قسم علوم التربة والمياه، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين اللاذقية - سورية.

³مدرس، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق- سورية

⁴دكتور، كليتي طب الأسنان والصيدلة، جامعة طرطوس، سورية.

⁵دكتور، مديرية الزراعة والاصلاح الزراعي، حلب- سورية

1- مقدمة

تعدّ البندورة (*Solanum lycopersicon L.*) من أكثر الخضراوات زراعةً في العالم، وتحظى بشعبية واسعة في أسواق المنتجات الطازجة، كما أنه عنصر أساسي في العديد من الصناعات، ومن أهم الخضراوات على مستوى العالم، إذ لا تتفوق عليها في الإنتاج والاستهلاك سوى البطاطس (Li *et al.*, 2023; Roşca *et al.*, 2023)، تشير بيانات منظمة الأغذية والزراعة (FAOSTAT) لعام 2022 إلى حصاد ما يقارب 186,107,972 طنًا من البندورة على مساحة 4,917,735 هكتارًا حول العالم (FAOSTAT, 2024)، وبلغت المساحة الإجمالية المزروعة بالبندورة في سورية 12054 هكتاراً لموسم 2023، وكان الإنتاج الإجمالي للموسم نفسه 740699 طنًا (المجموعة الإحصائية السنوية، 2023).

وتُعدّ نباتات البندورة عرضةً باستمرار للعديد من مسببات الأمراض البكتيرية والفيروسية والفطرية، ومن أكثر الأمراض شيوعاً التي تُصيب محاصيل البندورة، وتُسبب خسائر مالية كبيرة، مرض العفن الرمادي، الذي يُسببه فطر *Botrytis cinerea* وتتراوح الخسائر السنوية الناجمة عن هذا الفطر بين 10 و100 مليار دولار أمريكي على مستوى العالم، أكثر من 1400 نوع نباتي، معرضة للإصابة بفطر العفن الرمادي، ونظرًا لأهميته العلمية والاقتصادية، صُنّف كثاني أهم مسببات الأمراض النباتية، يمكن أن يُسبب هذا المرض خسائر فادحة في البيوت المحمية (Alkilayh *et al.*, 2024). حيث يُلحق الفطر الضرر بخلايا النبات عن طريق إفراز مركبات سامة مثل البوتسينوليد،

والبوتريدال، وحمض الأكساليك، وعن طريق تحفيز إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS)، التي تُعيق دفاعات النبات المضيف (Tian et al., 2023; Mazuecos-Aguilera et al., 2025; Van Kan, 2005;)

ولذلك، كان هناك حاجة ماسة إلى أساليب بديلة، أقل اعتماداً على المواد الكيميائية وأكثر ملائمة للبيئة، للسيطرة على العفن الرمادي (Soylu et al., 2010)، ومن هنا كان الاتجاه إلى استخدام البكتريا المحفزة لنمو النبات (Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) في تلقيح نباتات البندورة، حيث يُبشّر تطوير هذه المناهج للمكافحة البيولوجية بأفاق واعدة، ويُمثل نقلة نوعية نحو نظام زراعي أكثر استدامة ومرونة وصديق للبيئة.

حيث يمكن استخدام البكتيريا النافعة غير الممرضة كمضادات لمكافحة الفطريات الممرضة عبر آليات متعددة (Lastochkina et al., 2019)، وتمتلك البكتيريا آليات متعددة لمقاومة العدوى الفطرية، تتراوح بين التنافس على العناصر الغذائية الأساسية والمساحة، وتخليق مجموعة متنوعة من المستقلبات الثانوية ذات الخصائص القوية المضادة للفطريات، أو حتى تنشيط جهاز المناعة لدى المضيف (Morales-Cedeño et al., 2021; Zhu et al., 2022)، تشمل هذه الآليات إنتاج مستقلبات ثانوية متنوعة، مثل المضادات الحيوية، والسيدروفورات، والإنزيمات المحللة، وسيانيد الهيدروجين، والمركبات العضوية المتطايرة، والسكريات الخارجية. يُعتقد أن هذه الجزيئات المعقدة تلعب دوراً حاسماً في تثبيط نمو الفطريات وتطورها، وبالتالي منع حدوث العدوى (Ramakrishna et al., 2020; Karthika et al., 2019). وان التلقيح بـ *Paenibacillus terrae* AY-38 قلل من حدوث الاعراض الفطرية على أوراق وثمار نباتات البندورة وعزز من نمو النبات عن طريق تعديل الاستجابات الدفاعية للهرمونات الداخلية، منها الجاسمونيك والساليسيليك (Kim et al., 2017)، وتشير النتائج أن بكتريا *Bacillus cabrialesii* BH5 تنتج مركب fengycin H وهو مركب شحمي مضاد للفطريات يثبط الفطريات الخيطية ويسبب تلفاً كبيراً في غشاء البلازما في العامل الممرض الفطري *B. cinerea*. مما يؤدي إلى موت الخلايا، وأن كلاً من BH5 و fengycin H يعملان على تحفيز المقاومة الجهازية المستحثة ISR في نباتات البندورة عن طريق تحفيز مسار إشارات الجاسمونيك اسيد JA وهذا ينعكس على تحفيز نمو النباتات (Zhou et al., 2021). في حين أدت سلالة *Araburkholderia* sp. GD17 إلى تحسين نمو نبات البندورة عن

طريق زيادة كفاءة التمثيل الضوئي ومن خلال تعزيز تنظيم التمثيل الغذائي للكربوهيدرات. وحفزت من نمو النباتات عن طريق زيادة المقاومة الجهازية داخل النبات ضد الاعراض التي يسببها *Botrytis cinerea* (Gu et al., 2023)، في حين أدت معاملة جذور وأوراق نباتات البندورة بسلالتين من بكتيريا *Bacillus amyloliquefaciens* إلى انخفاض كبير في شدة العدوى بفطر *B. cinerea* عن طريق افراز مركبات تشبه الببتيدات الدهنية تعمل على تغييرات في هياكل مسليوم الفطر، وحفز التلقيح بالسلالتين نمو نباتات البندورة من خلال إنتاج حمض الإندول أسيتيك (IAA) و 2،3- بوتانيدول، مما يشير إلى وجود تأثير تآزري بين السلالتين ضد فطر *B. cinerea* عن طريق تحريض المقاومة الجهازية في النبات (Salvatierra-Martinez et al., 2018). وعند تلقيح نباتات البندورة بسلالتين من بكتيريا *Pseudomonas Canadensis* و *Azotobacter chroococcum* بوجود غياب العدوى بفطر العفن الرمادي، أدت إلى زيادة في الوزن الطازج للمجموع الخضري والجذري بنسبة 31% و 46% على التوالي، والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري بنسبة 34% و 97% على التوالي، وزيادة في المجموع الطازج والجاف للمجموع الجذري بزيادة قدرها 58% و 48% على التوالي مقارنةً بالمعاملات المعداة وغير الملقحة (Mazuecos-Aguilera et al., 2025).

2- أهمية البحث

تكمن أهمية البحث في المساهمة في تحسين خصوبة التربة الزراعية من خلال استخدام البكتيريا القادرة على تثبيت الأزوت الجوي واذابة الفوسفور والبوتاسيوم، والحد من تأثير الأمراض الفطرية وخاصة العفن الرمادي *Botrytis cinerea* الذي يسبب خسائر اقتصادية كبيرة للمزارعين، وتقليل الاعتماد على المبيدات والأسمدة الكيميائية التي قد تؤدي إلى تلوث التربة والبيئة، وفي دعم مفهوم الزراعة المستدامة وتحسين كفاءة الإنتاج في ظل التحديات البيئية والاقتصادية التي تواجه القطاع الزراعي في سورية.

3- أهداف البحث:

يهدف البحث إلى دور التلقيح البكتيري بثلاث أنواع من بكتيريا المحفزة للنمو (PGPR) في تحسين خصوبة التربة وتحفيز نمو نباتات البندورة ومقاومة الإصابة بفطر العفن الرمادي من خلال تحقيق الأهداف التالية:

- تقييم التلقيح ببكتيريا PGPR في تحسين خصوبة التربة ونمو وانتاجية نباتات البندورة والحد من الاصابة بفطر العفن الرمادي، وتحديد أفضل المعاملات القادرة على تعزيز نمو النبات وتحسين مقاومته، والمساهمة في تطوير استراتيجيات مكافحة حيوية مستدامة.

4- مواد وطرائق البحث:

- مكان تنفيذ البحث: تم إجراء البحث في مخبر الأمراض ومخبر ابحاث علوم التربة والمياه في كلية الهندسة -الزراعية في جامعة تشرين - اللاذقية.
- إنتاج الشتول: زرعت بذور البندورة صنف بلدي (بذور المعرفة) في صواني إنبات من الستريبور ذات 220 حفرة. تمت تعبئة الحفر بالتورب الزراعي المعقم. قدمت للبادرات الخدمات الزراعية المطلوبة كما تمت تغطيتها بشبك ناعم لمنع دخول الحشرات.
- الزراعة وعمليات الخدمة: استخدمت تربة زراعية جيدة الخواص ذات قوام طيني ومحتوى جيد من المادة العضوية، ومحتوى منخفض نسبياً من الأزوت الكلي، ومحتوى جيد من الفوسفور والبوتاسيوم القابلين للإفادة جدول (1)، وهي تربة ملائمة لزراعة البندورة وأضيف لها سماد عضوي متخمّر بنسبة 4/1 حجماً، وغطيت بشريحة من البلاستيك الشفاف للتعقيم الشمسي لمدة ثلاثة اشهر، ثم عبئت ضمن اصص بلاستيكية سعة 5 كغ.

جدول (1): التحليل الكيميائي والميكانيكي للتربة قبل الزراعة

التحليل الميكانيكي			N كلي	P متاح	K متاح	pH
طين	سنت	رمل				
44	20	36	0.119	20.2	212.5	7.5

وزعت الاصص ضمن البيت المحمي حسب المعاملات والمكررات على 6 خطوط منفردة بحيث كان البعد بين النباتات والأخر ضمن الخط نفسه 40 سم وبين الخط والآخر 100سم، كانت المسافة بين

دور التلقيح البكتيري بثلاث أنواع من بكتيريا PGPR في تحسين خصوبة التربة وتحفيز نمو نبات البندورة والحد من تأثير فطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea*

المكرر والآخر 80 سم وذلك لمنع تلامس النباتات بين معاملتين مختلفتين، وبلغ عدد نباتات التجربة 120، وقدم للنباتات كافة العمليات الزراعية اللازمة من ري بالتنقيط، ورش دوري بالمبيدات الحشرية، والمبيدات الفطرية، والأكاروسية.

ربيت النباتات تربية عمودية قصيرة على ساق واحدة ثم أزيلت الفروع الجانبية النامية في آباط الأوراق على الساق الرئيسية بشكل دوري.

- **عزلة الفطر المستخدمة في الدراسة:** استخدمت عزلة من فطر العفن الرمادي (*Botrytis cinerea*) معزولة وموصفة في مخبر أبحاث علوم التربة والمياه - جامعة اللاذقية، تم تنشيط العزلة الفطرية على بيئة PDA، وأجريت الاختبارات عليها بعد أسبوع من نموها على البيئة الغذائية.

- **تحضير المعلق الفطري:** تم تحضير المعلق الفطري من العزلة الفطرية *Botrytis cinerea* بإضافة طبق بتري نمت عليه العزلة الفطرية الممرضة على بيئة أغار البطاطا دكستروز PDA وأضيف الطبق إلى 1 لتر ماء معقم وتمت عملية المزج على هزاز دوراني.

- **الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة:**
تم استخدام ثلاث عزلات بكتيرية معزولة وموصوفة في مخبر أبحاث علوم التربة والمياه - جامعة اللاذقية وهي:

- بكتريا *Fratureia aurantia*: بكتيريا ميسرة للبيوتاس (حماد والشامي، 2017)
- بكتريا *Bacillus megaterium*: بكتيريا ميسرة للفوسفور (حماد والشامي، 2017)
- بكتريا *Rhizobium leguminosarum*: بكتريا مثبتة للأزوت الجوي ومنشطة لنمو النبات (المغربي وآخرون، 2016).

- **تنشيط البكتريا وتحضير اللقاح البكتيري:**
نشطت الأنواع البكتيرية المستخدمة بإعادة زراعتها على بيئات متخصصة للحصول على خلايا حديثة في أوج نشاطها الحيوي (حماد والشامي، 2017)، وتحقق من نقاوتها ومطابقتها للمواصفات المزرعية بتنميتها على بيئات تخصصية .

حُضِرَ المعلق باستخدام بيئة غذائية سائلة (Tryptic Soy Broth (TSB)، وذلك في زجاجات خاصة بتنمية البكتريا (BIOGEN) سعة 2 لتر تسمح بالتحريك وتأمين التهوية الملائمة للنمو، تم استخدام وحدة تنمية لكل نوع بكتيري، وتلقيح البيئة السائلة بالأنواع البكتيرية بعد تنشيطها للحصول على مزارع حديثة، ثم وضعت على هزاز بسرعة 100 - 150 دورة بالدقيقة، ومن ثم إجراء التحضين على درجة حرارة 28 درجة مئوية لمدة 48 ساعة، لحين الوصول إلى التركيز 10^9 خلية/مل، واستخدم شريحة العد Bürker لتقدير كثافة البكتريا ميكروسكوبياً وضبطها في المعلق وفق التركيز المطلوب 10^9 خلية/مل بالتخفيف أو زيادة التركيز حسب الحاجة.

- التلقيح بالبكتريا:

أضيفت اللقاحات البكتيرية المحضرة من الأنواع البكتيرية المختلفة (معلقات بتركيز 10^9 CFU/ml) إلى نباتات التجربة بعد 7 أيام من التشثيل في الأصص، وفق المعاملات المدروسة بإضافة اللقاح البكتيري (معلق بكتيري تركيزه 10^9 خلية/مل) وذلك بريّ الشتول بمعدل 25 مل لكل نبات، وجزئت كمية اللقاح البكتيري عند مزج الأنواع البكتيرية الثلاثة بحيث تبقى الكمية ذاتها 25 مل حسب كل معاملة. وأضيف 25 مل ماء مقطر للشاهد حسب المعاملات.

- الإعداد بالعزلة الفطرية الممرضة:

تم إعداد نباتات البندورة بالمعلق الفطري بمعدل 20 مل من المعلق لكل نبات، حسب المعاملات المدروسة. وأضيف 20 مل ماء مقطر للشاهد الغير معدى بالفطر فقط وللمعاملات الملقحة بالأنواع البكتيرية المدروسة، حسب تصميم التجربة.

5- تصميم البحث والتحليل الإحصائي:

اعتمد في تصميم البحث نظام القطاعات العشوائية الكاملة، بواقع 4 معاملات بخمس مكررات لكل معاملة و6 نباتات لكل مكرر وبلغ عدد النباتات الكلي 120 نباتاً. وكانت المعاملات وفق الاتي:

دور التلقيح البكتيري بثلاث أنواع من بكتيريا PGPR في تحسين خصوبة التربة وتحفيز نمو نبات البندورة والحد من تأثير فطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea*

معاملات البحث: C: نباتات غير معاملة (شاهد سليم)، B: نباتات معداة بفطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea*، M: نباتات ملقحة بالأنواع البكتيرية الثلاثة فقط، MB: نباتات ملقحة بالأنواع البكتيرية الثلاثة المستخدمة ومعداة بفطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea*.

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstat-12، واختبار One-way ANOVA (no Blocking)، ومقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD 5% واختبار Duncan's.

6- المؤشرات المدروسة:

تم أثناء الدراسة تسجيل القراءات التالية:

- تحليل التربة قبل الزراعة وبعد قلع المحصول:

- تم تقدير الفوسفور المتاح بطريقة بيكرينات الصوديوم (Olsen and Sommers, 1982).
- تم تقدير البوتاسيوم المتاح بطريقة خلاص الامونيوم والقياس بجهاز اللهب (Richards, 1954).
- تم تقدير الأزوت الكلي بطريقة كلداهل (Bremner and Mulvaney, 1982).
- تم تحديد قوام التربة (التحليل الميكانيكي) بطريقة الماصة (Day, 1965).

- تقدير المركبات الفينولية الكلية:

قُدرت المركبات الفينولية الكلية باستخدام طريقة كاشف الفولين-سيوكالتو (Singleton and Rossi, 1965)، إذ أُخذ 2 غرام من أوراق نباتات البندورة الطازجة بعد 30 يوماً من العدوى الفيروسية، طحنت في جفنة بورسلان وأضيف 15 مل إيثانول 80% مع رمل نقي، رشح المزيج بورق ترشيح ووضعت الرشاحة ضمن مثقلة على سرعة 10000 دورة/دقيقة ولمدة 15 دقيقة، جمعت المواد الطافية (الرائق) وأعيد الاستخلاص مرتين بالكحول والترشيح، جفف المستخلص الإيثانولي هوائياً عند درجة حرارة الغرفة لقرب الجفاف، أضيف إليه 5 مل ماء مقطر، وحُضِرَ محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (200 غ/ل)، وكاشف فولين (Merck, Germany)، ومحلول حمض الكاتيكل القياسي (CHEMIE-LOBA, India) الذي حضر بتركيز 1 غ/ل. قيس أولاً بتحضير سلسلة عيارية من حمض الكاتيكل بتركيز تتراوح بين (400-0 مغ/ل). أخذ 20 ميكروليتر من المستخلص المحضر سابقاً أو محاليل السلسلة العيارية (واستبدلت العينة بالميثانول 70% في الشاهد) وأضيف إليها 100

ميكروليتر من كاشف فولين-سيوكالتو و 1.58 مل من الماء المقطر، حُرِّك المزيج بعد ذلك جيداً ومن ثم ترك لمدة 5 دقائق ليضاف بعدها 300 ميكرو ليتر من محلول كربونات الصوديوم 200 غ/ل، ثم تُرك المزيج في الظلام لمدة ساعة ونصف، وقيست بعدها الامتصاصية الضوئية للمحلول الناتج باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer (JASCO-اليابان) عند موجة طولها 650 نانوميتر. حُسب المحتوى الفينولي للعينات بالاستعانة بالمنحني القياسي وبقيمة امتصاصية العينة، حيث تم تعويض قيمة الامتصاصية للعينة في معادلة المنحني القياسي لإيجاد تركيز المركبات الفينولية في العينة مقدرة بعدد الملي غرامات المكافئة من حمض الكاتيكول القياسي.

- تقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز:

قُدِّر نشاط أنزيم البيروكسيداز بأخذ 1 غ من أوراق نباتات التجربة بعد 30 يوماً من العدوى الاصطناعية بفطر العفن الرمادي، وأضيف لها 3 مل محلول فوسفاتي منظم Phosphate Buffer pH=7 تركيز 0.1 مول/ل عند درجة حرارة 4 م°، ووضعت ضمن جفنة بورسلان وطحنت بالهاون، ثم وُضع الناتج ضمن أنبوب سعته 1.5 مل، ثم ثقلت لمدة 10 دقائق على سرعة 10000 دورة/دقيقة، واستخدامات المادة الطافية كمصدر للأنزيم وخففت بنسبة 20:1. تم قياس نشاط أنزيم البيروكسيداز بعد إضافة 1.5 مل بيروغالول Pyrogallol 5 مول/ل، و 0.5 مل من الماء الأوكسجيني 1%، و 0.5 مل من المستخلص الأنزيمي المخفف، ضمن مزيج التفاعل عند درجة حرارة (28 م°) لمدة دقيقة واحدة. قيس عند طول موجة 420 نانوميتر وأخذت القراءة كل 30 ثانية لمدة 3 دقائق. قدر نشاط أنزيم البيروكسيداز بعدد ميكرومولات الماء الأوكسجيني التي تتفكك بواسطة 100 مغ من النسيج النباتي الداخل في تشكيل المستخلص الأنزيمي في الدقيقة الواحدة عند درجة حرارة 25 م° (Hammerschmidt et al., 1982 ; Behera et al., 2012).

قُدِّر نشاط أنزيم البيروكسيداز وفق المعادلة:

$$\text{نشاط أنزيم البيروكسيداز} = \frac{\text{عامل التمديد} \times \text{كمية الماء الأوكسجيني}}{\text{حجم العينة} \times \text{الزمن}} \times 100$$

دور التلقيح البكتيري بثلاث أنواع من بكتيريا PGPR في تحسين خصوبة التربة وتحفيز نمو نبات البندورة والحد من تأثير فطر العفن الرمادي *Botrytis cinerea*

كمية الماء الأوكسجيني المتفاعلة بين الزمن الأولي والنهائي مقدرة بالميكرومول/ل = الامتصاصية عند الزمن 3 دقيقة - الامتصاصية عند الزمن 0.5 دقيقة.
عامل التمديد = 20 ، في اختبارات هذه التجربة مددت العينة 20 مرة، لأجل إعطاء القيمة الحقيقية في 3 مل من المستخلص الإنزيمي.
حجم العينة: مقدر بالمليتر.
زمن التفاعل: الوقت النهائي (3دقائق) - الوقت البدائي (0.5 دقيقة). (Sigma-Aldrich, 2014)

تقدير تركيز حمض الساليسيليك في أوراق البندورة:

قيس تركيز حمض الساليسيليك في أنسجة النبات بعد 30 يوم من إجراء العدوى الاصطناعية بفطر العفن الرمادي، وذلك بوزن 1 غ من أوراق القمة النامية لنباتات التجربة لنباتات التجربة كل على حدة، وضعت ضمن جفنة بورسلان وأضيف لها 1 مل من حمض كلور الماء 6 نظامي و 10 مل من الكلوروفورم، طحنت العينة على نحو جيد ورشحت باستخدام قمع الفصل في أنبوب الاختبار، وأضيف لكل عينة 5 مل من محلول كلوريد الحديد $FeCl_3$ (حضر محلول كلوريد الحديد بإضافة 0.5 غ بودرة كلوريد الحديد إلى 100 مل ماء مقطر وحرك جيدا لتمام الذوبان)، يتكون نتيجة التفاعل بين حمض الساليسيليك وشاردة الحديد الثلاثية Fe^{+3} معقد بنفسجي يختلف لونه باختلاف تركيز حمض الساليسيليك في العينة النباتية المختبرة، تم تحديد تركيز حمض الساليسيليك (ppm) وفق قيم الامتصاصية الضوئية للمحلول الناتج باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجة 540 نانومتر تجريبية، وذلك بعد رسم خط بياني باستخدام أربعة تراكيز من حمض الساليسيليك العياري 0 و 25 و 50 و 75 و 100 ppm (Maria and Martínez-Merino, 2007).

7- النتائج والمناقشة:

بينت النتائج الموضحة في الجدول (2)، زيادة في جميع معاملات التجربة بوجود وغياب العدوى بفطر العفن الرمادي بالمقارنة مع معاملتي الشاهد السليم والمعدى بالفطر، حيث تفوقت المعاملة M الملقة بالأنواع البكتيرية الثلاثة وبدون عدوى بالفطر معنوياً في كافة المعايير المدروسة على معاملتي الشاهد السليم والشاهد المعدى بالفطر *Botrytis cinerea* إذ بلغ متوسط محتوى التربة من الآزوت 0.243 % والفوسفور 40.11 ppm والبوتاسيوم 273.30 ppm،

وحققت المعاملة BM أعلى زيادة في تحفيز المقاومة الجهازية تجاه الفطر، حيث وصل متوسط محتوى الأوراق من الفينولات الكلية (92.9 مغ/100غ) ونشاط أنزيم البيروكسيداز (0.315 ميكرومول/مغ) وتركيز حمض الساليسيليك في الأوراق (56.22 ميكروغرام/غ طازج) مقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى، في حققت المعاملة M أعلى زيادة في متوسط إنتاج النبات وبفروق معنوية مع جميع المعاملات، حيث وصل متوسط إنتاج النبات الواحد 2.213 كغ/نبات مقارنة مع الشاهد 0.0601 كغ/نبات.

جدول (2) يوضح متوسط المؤشرات المدروسة وفق المعاملات المستخدمة بوجود وغياب العدوى بفطر *Botrytis cinerea*

المعاملات	الأزوت الكلي %	الفوسفور المتاح ppm	البوتاسيوم المتاح ppm	الفينولات الكلية (مغ/100غ)	أنزيم البيروكسيداز (ميكرومول/مغ)	حمض الساليسيليك (ميكروغرام/غ طازج)	إنتاج النبات (كغ/نبات)
B	0.129 _a	23.31 _a	a228.51	38.45 _b	0.063 _a	11.85 _b	0.298 _a
M	0.243 _d	40.11 _c	d273.30	71.35 _c	0.180 _b	34.45 _c	3.213 _d
BM	0.231 _c	38.22 _c	c265.81	92.49 _d	0.315 _c	56.22 _d	2.692 _c
C	0.142 _b	26.15 _b	1b233.1	32.14 _a	0.038 _a	6.25 _a	0.601 _b
LSD5 %	0.007 ₆₅	2.400	4.539	6.101	0.044 ₁₆	2.977	0.1883

(M)=*Rhizobium leguminosarum*+ *Frateruria aurantia* +*Bacillus megaterium*, (C)= control; (B)= *Botrytis cinerea*

تعود الزيادة في محتوى التربة من NPK ومحتوى الأوراق من الفينولات الكلية ونشاط أنزيم البيروكسيداز وتركيز حمض الساليسيليك في نباتات البندورة الملقحة بالبكتيريا المحفزة للنمو (PGPR) لدورها في إنتاج أو تغيير تركيز منظمات النمو مثل الأوكسينات والجبرلينات والساييتوكينينات

والأثيلين، والتي تساعد في إنبات البذور، وزيادة حجم الخلايا وانقسامها وتمايز الأنسجة، ونضج الثمار، وتحفز نمو المجموع الجذري وتطوره، ما ينعكس على زيادة امتصاص المغذيات من التربة وبالتالي زيادة نمو النبات وإنتاجه (Selvakumar et al., 2016; Meena et al., 2018). وتتوافق نتائج دراستنا مع دراسات أخرى مشابهة (Arfaoui et al., 2006; Hmissi et al., 2011; Singh et al., 2004) حيث تعمل البكتيريا المحفزة لنمو النبات على الحد من فعالية الممرضات النباتية، لكونها تملك آليات عديدة تسمح لها بمكافحة الممرضات، وتشمل المنافسة على الحديد والغذاء، وإنتاج مضادات حيوية وزيادة في نمو النبات، وحث آليات الدفاع في النبات. حيث أظهرت معاملة نباتات البندورة الملقحة ببكتيريا *Paenibacillus terrae* AY-38 والمعدة بفطر *B. cinerea* زيادة في نمو النباتات وفي ارتفاع النبات ومساحة المسطح الورقي، عن طريق إنتاج كمية كبيرة من IAA (حمض الإندول -3 أسيتيك) و Siderophores والجلوكاناز، حيث يرتبط Siderophores الذي تنتجه البكتيريا بالحديد وبالتالي يمنع استخدامه من قبل مسببات الأمراض، بينما من المعروف أن الجلوكاناز يرتبط بمسببات الأمراض المقاومة لأنه يؤدي إلى تحلل مكونات جدران الخلايا الفطرية، مما يؤدي إلى الحد من الاصابات الفطرية وبالتالي نمو أفضل للمحاصيل وزيادة في الانتاج (Sayyed et al. 2005; Hong & Meng 2003).

الاستنتاجات والمقترحات:

- الاستنتاجات:

أدى تلقيح نباتات البندورة بالأنواع البكتيرية الثلاثة (*Rhizobium leguminosarum* و *Bacillus megaterium* و *Frateuria aurantia*) بوجود العدوى بالفطر الممرض *Botrytis cinerea* وغياها إلى:

1. تحسن خصوبة التربة بزيادة محتواها من الآزوت الكلي والفوسفور والبوتاسيوم المتاحين للنبات، وتحفيز المقاومة الجهازية داخل النبات تجاه الفطر عن طريق زيادة محتوى الأوراق من الفينولات الكلية ونشاط أنزيم البيروكسيداز وتركيز حمض الساليسيليك، هذا بدوره انعكس ايجابيا على انتاجية نباتات البندورة بالمقارنة مع الشاهد السليم والمعدى بالفطر غير المعاملين بالبكتيريا

- المقترحات:

1- استخدام التلقيح البكتيري بالأنواع الثلاثة (*Bacillus* و *Rhizobium leguminosarum* و *Fratureuria aurantia* و *megaterium*) بإضافتها إلى شتول نباتات البندورة لتحسين محتوى التربة من العناصر الغذائية وزيادة نمو وإنتاجية النباتات ومقاومتها لمرض العفن الرمادي.

- المراجع:

1. حماد، ياسر و رامي الشامي. 2017-توصيف بعض أنواع بكتيريا الرايزوسفير المحفزة لنمو النبات من بعض الأسمدة الحيوية والتربة. مجلة جامعة البعث. سورية. المجلد 39. ص25.
2. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية.(2023) - مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية.
3. المغربي، صباح وبشرى رزق وياسر حماد.2016- دراسة تأثير بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* مخبرياً. مجلة وقاية النبات العربية، 2016، عدد2. المجلد34، 14- 135 .
2. المراجع الاجنبية:

4. ALKILAYH, O. A., HAMED, K. E., SAYYED, R. Z., ABDELAAL, K., & OMAR, A. F. 2024. Characterization of Botrytis cinerea, the causal agent of tomato grey mould, and its biocontrol using Bacillus subtilis. Physiological and Molecular Plant Pathology, 133, 102376.
5. ARFAOUI,A., B.SIFI, A.BOUDABOUS, I.EL HADRAMI,AND M.CHERIF. 2006. Identification of Rhizobium isolates possessing antagonistic activity against Fusarium oxysporum f.sp. ciceris, the causal agent of Fusarium wilt of chick. Journal of Plant Pathology, 88 (1), 67-75.
6. BEHERA, B., S. GHANTY, F. AHMAD, S. SANTRA, S. BANERJEE.2012 .UV-Visible Spectrophotometric Method Development

- and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation. **Analytical & Bioanalytical Techniques**. J Anal Bioanal Techniques, 3(6).
7. BREMNER. JM AND MULVANEY. CS.1982. Methods of soil analysis part2. **Am. Soc. Agron. Madison** WI, USA, 595-624.
 8. DAY. PR. 1965 .Methods of soil analysis, part1. **Am. Soc. Agron. Madison** Wi, QSA, 546-566.
 9. FAOSTAT 2024.Crops and livestock products. Available online at: <https://www.fao.org/faostat/en/data/QCL> (Accessed April, 20, 2024)
 10. GU, A., ZHAO, D., LIU, H., FU, W., LI, G., & HAO, L. 2023. *P araburkholderia* sp. *GD17* improves tomato plant growth and resistance to *Botrytis cinerea*-induced disease. **Plant and Soil**, 486(1), 487-502.
 11. HAMMERSCHMIDT, R., E.M NUCKLES,. And J KUC.1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology** , 20: 73-82.
 12. HMISSI,I.,S.GARGOURI.,And B.SIFI. 2011. Attempt of wheat protection against *Fusarium culmorum* using *Rhizobium* isolates. **Tunisian Journal of Plant Protection** 6,2011, 75-86.
 13. HONG TY, MENG M. 2003. Biochemical characterization and antifungalactivity of an endo-1, 3- β -glucanase of *Paenibacillus* sp. Isolated from garden soil. Appl **Microbiol Biotechnol**. 61:472–478
 14. KARTHIKA S. VARGHESE S. JISHA M. S. 2020. Exploring the efficacy of antagonistic rhizobacteria as native biocontrol agents against tomato plant diseases. **Biotech**.10, 320–337. doi: 10.1007/s13205-020-02306-1
 15. KIM, A. Y., SHAHZAD, R., KANG, S. M., KHAN, A. L., LEE, S. M., PARK, Y. G., ... & LEE, I. J. 2017. *Paenibacillus terrae* AY-38 resistance against *Botrytis cinerea* in *Solanum lycopersicum* L. plants through defence hormones regulation. **Journal of plant interactions**, 12(1), 244-253.
 16. LASTOCHKINA O., SEFIKALHOR M., ALINIAEIFARD S., BAYMIEV A., PUSENKOVA L., GARİPOVA S. 2019. *Bacillus* spp.: Efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plants**8, 1–24. doi: 10.3390/plants8040097
 17. LI T., SUN M., HE Q., ZHANG G., SHI G., DING X., ET AL. 2023. Tomato recognition and location algorithm based on improved YOLOv5.

-
- Comput. Electron Agric.** 208, 107759. doi: 10.1016/j.compag.2023.107759
18. MARIA J. GIL and VÍCTOR MARTÍNEZ-MERINO. 2007. *Determination of The Free Salicylic Acid Concentration in Aspirin By forming Fe+3 Complexes.* www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry, p8.
19. MAZUECOS-AGUILERA, I., ANTA-FERNÁNDEZ, F., CRESPO-BARREIRO, A., MARTÍNEZ-QUESADA, A., LOMBANA-LARREA, L., & GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. 2025. Plant growth-promoting rhizobacteria enhanced induced systemic resistance of tomato against Botrytis cinerea phytopathogen. **Frontiers in Plant Science**, 16, 1570986.
20. MAZUECOS-AGUILERA, I., ANTA-FERNÁNDEZ, F., CRESPO-BARREIRO, A., MARTÍNEZ-QUESADA, A., LOMBANA-LARREA, L., & GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. 2025. Plant growth-promoting rhizobacteria enhanced induced systemic resistance of tomato against Botrytis cinerea phytopathogen. **Frontiers in Plant Science**, 16, 1570986.
21. MEENA, K. N., NAYAN TARA And BALJEET SINGH SAHARAN. 2018. *Review on PGPR: An Alternative for Chemical Fertilizers to Promote Growth in Aloe vera Plants.* International **Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. Volume 7 Number 03. P6.
22. MORALES-CEDENO L. R., OROZCO-MOSQUEDA M., DEL C., LOEZA-LARA P. D., PARRA-COTA F. I., DE LOS SANTOS-VILLALOBOS S. 2021. Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre- and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives. **Microbiol. Res.** 242, 126612. doi: 10.1016/j.micres.2020.126612
23. OLSEN.SR AND SOMMERS.LE.1982 .Methods of soil analysis, part2, Am. Soc. **Agron. Madison** WI, USA, 403-430.
24. RAMAKRISHNA W., YADAV R., LI K. 2019.Plant growth-promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. Appl. **Soil Ecol.**138, 10–18. doi:10.1016/j.apsoil..02.019
25. RICHARDS.LA.1954 .Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. USDA **Agric Handbook** 60, Washington DC.
26. ROŞCA M., MIHALACHE G., STOLERU V. 2023. Tomato responses to salinity stress: From morphological traits to genetic changes. **Front. Plant Sci.** 14. doi: 10.3389/fpls..1118383

27. SALVATIERRA-MARTINEZ, R., ARANCIBIA, W., ARAYA, M., AGUILERA, S., OLALDE, V., BRAVO, J., & STOLL, A. 2018. Colonization ability as an indicator of enhanced biocontrol capacity—An example using two *Bacillus amyloliquefaciens* strains and *Botrytis cinerea* infection of tomatoes. **Journal of Phytopathology**, 166(9), 601-612.
28. SAYYED RZ, BADGUJAR MD, SONAWANE HM, MHASKE MM, CHINCHOLKAR BB. 2005. Production of microbial iron chelators (siderophores) by *fluorescent Pseudomonads*. Indian **J Biotechnol.** 4:484–490.
29. SELVAKUMAR G, BINDU GH, BHATT RM, UPRETI KK, PAUL AM, ASHA A, SHWETA K, SHARMA M. 2016. Osmotolerant cytokinin producing microbes enhance tomato growth in deficit irrigation conditions. **Proc Natl Acad Sci, India, Sect B Biol Sci.** doi:10.1007/s40011-016-0766-3.
30. Sigma-Aldrich. Technical Bulletin- Peroxidase Activity Assay Kit, , Catalog Number MAK092, USA, 2014, Pp4.
31. SINGH, D.P.; MOORE, C.A.; GILLILAND, A. AND CARR, J.P.2004 .Activation of multiple antiviral defense mechanisms by salicylic acid. **Molecular Plant Pathology**, 5, 57–63.
32. SINGLETON V L & ROSSI J A JR.1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Amer. **J. Enol. Viticult**, 16:144-58.
33. SOYLU, E. M; KURT, Ş; AND SOYLU, S. 2010. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **Int. J. Food Microbiol.** 143, 183–189. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015
34. TIAN S., LIU B., SHEN Y., CAO S., LAI Y., LU G. 2023. Unraveling the Molecular Mechanisms of Tomatoes' Defense against *Botrytis cinerea*: Insights from Transcriptome Analysis of Micro-Tom and Regular Tomato Varieties. **Plants**12, 2965. doi:10.3390/plants12162965.
35. VAN KAN J. A. L. 2005. Infection strategies of *Botrytis cinerea*. Acta Hort. 669, 77–90. doi: 10.17660/ActaHortic.2005.669.9.
36. ZHOU, L; SONG, C; MUÑOZ, C. Y; & KUIPERS, O. P. 2021. *Bacillus cabrialesii* BH5 protects tomato plants against *Botrytis cinerea* by

production of specific antifungal compounds. **Frontiers in Microbiology**, 12, 707609.

37. ZHU L. MHUANG J. LU X., ZHOU C. 2022. Development of plant systemic resistance by beneficial rhizobacteria: Recognition, initiation, elicitation and regulation. **Front. Plant Sci.** 13, 952397. doi: 10.3389/fpls.2022.952397

The role of bacterial inoculation with three types of PGPR bacteria in improving soil fertility, stimulating tomato plant growth, and mitigating the impact of the *Botrytis cinerea*.

Mohammed Salman Ibrahim¹, Prof. Dr. Yasser Ali Hammad², Dr. Ramez Mohamed El-Shami³, Dr. Hassan Youssef Hussein⁴, Dr. Issam Mahmoud Assem Khadija⁵

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the role of bacterial inoculation with three types of bacteria *Frateuria aurantia*, *Bacillus megaterium*, and *Rhizobium leguminosarum* in the presence and absence of infection with *Botrytis cinerea*, and its effect on improving soil fertility, increasing tomato plant productivity, and stimulating resistance to the fungus. This was achieved by studying soil NPK content, leaf total phenol content, peroxidase enzyme activity, and salicylic acid levels. The research was conducted in a greenhouse in Tartous Governorate.

The results showed that inoculation with the three bacterial species led to a significant increase in all studied treatments compared to the healthy control and the control infected with the fungus that was not inoculated with bacteria. The treatment of inoculation with the three bacterial species not infected with the fungus (M) showed an increase in the average soil content of nitrogen, phosphorus and potassium (0.243%, 40.11 ppm and 273.30 ppm) respectively. While treatment (BM) achieved the highest increase in

parameters for stimulating systemic resistance against *Botrytis cinerea* by increasing the total phenol content of tomato leaves (92.49 mg/100 g), average peroxidase enzyme activity (0.315 $\mu\text{mol/mg}$), and average salicylic acid concentration (56.22 $\mu\text{g/g}$ fresh), this was reflected positively in productivity, with the average yield of tomato plants in treatments M and BM reaching (3.213 and 2.692 kg/plant, respectively), compared to the healthy and fungal-infected controls. These results confirm the high efficiency of bacterial inoculation in enhancing plant nutrition and stimulating biological defense responses, which effectively contributes to increasing plant resistance to *Botrytis cinerea* infection and improving plant production efficiency.

Keywords: plant growth promoting bacteria (PGPR), Soil, *Botrytis cinerea*, tomato.

¹PhD, Directorate of Agriculture and Agrarian Reform, Tartous, Syria.

²Professor, Department of Soil and Water Sciences, Faculty of Agricultural Engineering, Tishreen University, Latakia, Syria.

³Lecturer, Faculty of Agricultural Engineering, Damascus University, Syria.

⁴PhD, Faculties of Dentistry and Pharmacy, Tartous University, Syria.

⁵PhD, Directorate of Agriculture and Agrarian Reform, Aleppo, Syria.