تأثير البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في الحد من نمو وتطور فيلوكسرا العنب *Daktulosphaira vitifolia*

الباحث: د. شادي عقيل – كلية الزراعة – جامعة دمشق

الملخص

أجري هذا البحث بهدف معرفة تأثير البكتريا *Pseudomonas fluorescens* في الحد من نمو فيلوكسيرا العنب مخبرياً ، بينت النتائج انخفاض النسبة المئوية لإناث الفيلوكسيرا الناضجة مع زيادة تركيز البكتيريا في المعلق وتفوقت النسبة المئوية للإناث الناضجة لدى التركيز 2×10^8 معنوياً على التركيز 10^8 والشاهد، كذلك بالنسبة لمدة تطور الحشرة انخفضت مع زيادة تركيز المعلق البكتيري ، وتفوقت المعاملة 2×10^8 معنوياً على باقي المعاملات كذلك فقد كان هناك انخفاض معدل خصوبة حشرة الفيلوكسيرا مع زيادة تركيز البكتيريا في المعلق المستخدم، وتفوقت المعاملة 2×10^8 معنوياً على باقي المعاملات . كما بينت النتائج أن متوسط مدة تطور حشرة الفيلوكسيرا تأثرت عكساً بزيادة مدة التغطيس بالمعلق البكتيري وزيادة تركيز البكتيريا في المعلق البكتيري. وجد أن المعاملة بالتغطيس في المعلق البكتيري لمدة 15 ساعة وبتركيز 2×10^8 تفوقت معنوياً على جميع المعاملات ووجد انخفاض متوسط الخصوبة لحشرة الفيلوكسيرا مع زيادة مدة تغطيس القطع الجذرية للكرمة في المعلق البكتيري ومع زيادة تركيز البكتيريا في هذا المعلق و تفوقت معاملة التغطيس لمدة 15 ساعة وبالتركيز 2×10^8 معنوياً على المعاملات المدروسة جميعها .

الكلمات المفتاحية: *Daktulosphaira vitifolia* ، *Pseudomonas fluorescens*، بكتيريا جذرية محفزة لنمو النبات، تثبيط النمو، فيلوكسيرا العنب.

The effect of the bacteria *Pseudomonas fluorescens* In reducing the growth and development of Grapevine phylloxera *Daktulosphaira vitifolia*

Abstract

This research was conducted with the aim of knowing the effect of the bacteria *Pseudomonas fluorescens* in limiting the growth of Phyloxera vine in vitro. The results showed a decrease in the percentage of mature female Phylloxera with the increase in the concentration of bacteria in the suspension. The development of the insect decreased with the increase in the concentration of the bacterial suspension, and the treatment 2×10^8 was significantly superior to the rest of the treatments as well. The results showed that the average period of development of phylloxera was inversely affected by the increase in the duration of immersion in the bacterial suspension and the increase in the concentration of bacteria in the bacterial suspension. It was found that the treatment by immersion for 15 hours and at a concentration 2×10^8 was significantly superior to all treatments, and there was a decrease in the average number of eggs of Phyloxera with the increase in the duration of immersion of the root pieces of the vine in the bacterial suspension. With the increase in the concentration of bacteria in this suspension, the treatment of immersion for 15 hours at a concentration of 2×10^8 significantly outperformed all the studied treatments.

Keywords: *Daktulosphaira vitifolia*، *Pseudomonas fluorescens*: Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)، growth inhibiting, Grapevine phylloxera

المقدمة

تصاب أشجار العنب بالعديد من الآفات الحشرية الاقتصادية ولكن تبقى حشرة الفيلوكسيرا من أخطر هذه الآفات وأصعبها مكافحة على هذه الشجرة وتنفق أموالاً طائلة سنوياً لرد خسائر هذه الأشجار نتيجة الإصابة بهذه الحشرة،(عقيل ،2007). تتغذى الفيلوكسيرا الجذرية (التي تهاجم الأصناف المحلية والأوربية) على الجذور بامتصاص العصارة النباتية ويتكون في مكان التغذية درنات وانتفاخات تعيق عمل الجذور بامتصاص المواد الغذائية من التربة وفي حال الإصابة الشديدة فإن ذلك يؤدي إلى تماوت الأفرع وتقزم الشجيرات ومهاجمة الفطريات لمكان الجروح والدرنات مما يؤدي إلى تعفنها وموت جزء كبير من الجذور الصغيرة والكبيرة. (Granett *et al.,*2001). وتعتبر أنواع *Pseudomonas* هي الأكثر وفرة في منطقة الجذور حيث تختار النباتات تلك البكتيريا التي تساهم بشكل أكبر في تحفيز نشاطها من خلال إطلاق المركبات العضوية من خلال الإفرازات التي تطلقها تلك البكتيريا (Sivasakthi *et.al,*2014). تعدّ منطقة رايزوسفير النبات إحدى البيئات المتميزة بحجم التربة المحيطة بجذور النباتات والتي تحتوي على عدد أعلى من البكتيريا التي تتأثر بالمفرزات الجذرية ومن المعروف أن تعداد البكتريا في منطقة الرايزوسفير أعلى بمعدل 100−1000 مرة من الترب غير المزروعة وذلك لتنوع العمليات الأيضية لبكتيريا الرايزوسفير وقدرتها على التكيف والاستفادة من المفرزات الجذرية إذ تغطي حوالي 15% من سطح الجذر، وقادرة على إعادة تدوير مغذيات التربة وتسهيل امتصاصها من قبل النبات وبالتالي تحسين خصوبة التربة الزراعية . أشير إلى أن حوالي 2−5% من ميكروبات المحيط الجذري هي بكتيريا محفزة لنمو النبات(Hmissi *et al.*, 2011).

تعرف البكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPRs) بأنها مجموعة متعددة من البكتيريا المتواجدة في منطقة رايزوسفير النبات وعلى سطح الجذور وترتبط معها بعلاقة تكافلية، وتعمل على تحفيز نوعي وكمي لنمو النبات بشكل مباشر أو غير مباشر وبالتالي زيادة نمو النبات، وتبين في العقود الأخيرة وجود أنواع بكتيرية متعددة محفزة لنمو النبات مثل الأجناس: *Acinetobacter , Alcanes, Agrobacterium ,Arthrobacter ,Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Bradyrhizobium, Burkholderia, , Enterobacter, Frankia, Klebsiella Pseudomonas, Thiobacillus, , Rhizobium , Serratia,* (Brewin,2004).

لبكتيريا PGPR أدوار متعددة في تحفيز النمو للنباتات فقد تبين أن بكتيريا PGPR تزيد من تحمل النبات للملوحة والجفاف، وتزيد من نسبة العناصر الغذائية المأخوذة من التربة، وبالتالي يقلل من الحاجة للتسميد المعدني ويحمي من حدوث تراكم للنترات والفوسفات في التربة الزراعية، ويقلل من العبء الاقتصادي على المزارع (Behera *et.al*,2012). نظراً لعدم وجود طريقة فعالة للسيطرة على فيلوكسيرا العنب ،يمكن اعتبار الحجر الصحي من الإجراءات المطلوبة لمنع انتشار هذه الآفة الحشرية . تستخدم المبيدات الحشرية والغمر بالماء الساخن كعلاجات لهذه الآفة، ومع ذلك بمجرد وجود الفيلوكسيرا في مزارع العنب، فإن تحسين مقاومة الجذور هو أكثر الوسائل شيوعاً وفعالية لمقاومة الفيلوكسرا .نظراً لأن إعادة الزراعة مكلفة في المال والوقت والعمل فينبغي التفكير في طرق إضافية للسيطرة على هذه الآفة. تملك بعض البكتريا الجذرية المحفزة لنمو النبات (PGPR)قدرة على الحد من تطور الحشرة من خلال تحفيز آليات الدفاع عند النباتات والتي تجعل النبات المضيف أكثر

مقاومة لمزيد من دخول مسببات الأمراض. وقد لوحظ أن تغذي الحشرة في مواقع محددة على قشرة الجذر يؤدي إلى تطور تشكل الدرنة كانتفاخ في موقع التغذية مع فقد القدرة على التطور لطبقة الأندوديرم كما لوحظ تراكم النشاء والحموض الأمينية في مواقع التغذية (Alison *et al.,*2004) .تم عزل العديد من سلالات البكتيريا الجذرية واختبارها في تعزيز نمو النباتات لسلالة معزولة من *P.aeruginosa* تبين بأن لها خصائص مضادة للميكروبات ضد ثلاثة فطريات ممرضة للنبات: *Fusarium solani* و *Aspergillus niger* و *Curvularia lunata* وسلالتان من البكتيريا – *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* ولها تأثير إيجابي ومحفز على إنبات بذور القمح الطري *Triticum aestivum* والذرة الصفراء *Zea mays* .(Tiwari and singh,2017)

تم تقييم تأثير عزلة البكتيريا BTP1 *P.putida* على تكاثر وتطور حشرة الفيلوكسيرا التي تصيب جذور العنب المحلي "بلدي حيث أظهرت النتائج من قبل Adam وزملاؤه ،2012 وجود اختلافات بين النباتات المعاملة والشاهد و انخفضت نسبة الإناث الناضجة والخصوبة عند معاملة النباتات بالبكتيريا وقد تأثرت مقاومة البكتيريا النباتية بمدة نقع الجذور في معلق *P. putida* BTP1كما بينت الدراسة إمكانية استخدام *P.putida* BTP1 لزيادة مقاومة العنب لحشرة الفيلوكسيرا. وفي دراسة على تأثير سلالات العصوية الرقيقة على بقاء وتكاثر نبات العنب تبين أن العديد من سلالات البكتيريا الجذرية المعززة لنمو النبات (PGPR) لها القدرة على تحفيز المقاومة الجهازية في العديد من النظم المرضية، اجرى Adam وزملاؤه ، 2021 دراسة التأثير الوقائي لأربع سلالات تنتمي إلى (*Bacillus subtilis*، Bs168 Bs2500، Bs2504 و

Bs2508) على جذور العنب لصنف العنب المحلي الحساس "الحلواني" ضد حشرة الفيلوكسيرا. تم غمر الجذور الطازجة في معلقات بكتيرية 0 ، 3 ، 5 و 15 ساعة قبل العدوى ببيض فيلوكسيرا. أظهرت نتائج القياسات الحيوية اختلافات كبيرة في دورة حياة نبات الفيلوكسيرا بين الجذور المعالجة وغير المعالجة. حيث أثرت سلالات العصيات سلبًا على نمو وتكاثر النبات. زادت فعالية العلاج عندما زاد وقت غمر الجذور في المعلق البكتيري. من ناحية أخرى ، كانت هناك اختلافات كبيرة بين السلالات من حيث تأثيرها الوقائي ضد حشرة الفيلوكسيرا ، لكن سلالة BS2508 كانت الأكثر فاعلية خاصة عند غمر الجذور لمدة 15 ساعة. وفي دراسة مخبرية أجراها Adam وزملاؤه عام 2013 على المقاومة الجهازية التي تسببها سلالة *P.putida* ضد حشرة فيلوكسيرا العنب باستخدام أصلين من العنب وهما Ru140 Ruggeri و B41 تبين وجود فروق ذات دلالة معنوية فيما يتعلق بالإناث الناضجة والخصوبة وفترة وضع البيض بين النباتات غير المعالجة والمعالجة بالبكتيريا في كل من الجذور المعاملة بالبكتريا حيث تفوقت معاملة الأصل Ru140على الأصل B41 حيث أثرت السلالة البكتيرية سلباً على نمو وتطور الفيلوكسيرا والذي يؤدي بدوره إلى زيادة في مقاومة النبات لهذه الحشرة .تم عزل 11 سلالة بكتيرية في أعماق مختلفة للتربة من منطقة جذور العنب من مزارع العنب وتبين أن السلالة البكتيرية Rt4M10 *Bacillus licheniformis* والسلالة *P.fluorescens* Rt6M10 كبكتريا محفزة لنمو النبات قد حرضت على انتاج حمض الأبسيسيك (ABA) وحمض الأندول الخلي (IAA) والجبريلينات A1 و A3 حيث زادت مستويات ABA في النباتات المعاملة بعمر 45 يومًا 76 ضعفًا بواسطة *B.*

licheniformis و 40 ضـــــعفًا بواســـــطة *P.fluorescens* مقارنـــــة بالشـــــاهد (Salomona *et.al*,2013).

مبررات وأهداف البحث

تـأتي أهميـة البحـث مـن خطـورة وانتشـار حشـرة الفيلوكسـيرا علـى العنـب وتأثيرهـا المـدمر علـى نمـو وانتـاج هـذه الأشـجار ممـا يسـبب خسـائر اقتصـادية هامـة، ولصـعوبة مكافحـة هـذه الحشـرة ضـمن التربـة بالمبيـدات الزراعيـة، ولـدور البكتريـا (***P. fluorescens***) المحفـزة لنمـو الجـذور فـي تحفيـز مقاومـة النبـات للممرضات والحشرات. لذلك هدف البحث إلى:

1–معرفـة دور البكتريـا الجذريـة المحفـزة للنمـو (PGPR) فـي حمايـة جـذور العنب من الفيلوكسرا .

2– معرفـة تـأثير التراكيـز المختلفـة مـن البكتريـا المحفـزة ومـدة نقـع الجـذور فـي نسـبة إناث الفيلوكسيرا الناضجة وتطور مجتمعاتها وفترة الإباضة.

مواد وطرائق البحث

تم تنفيذ هذا البحث في حقول من العنب في محافظة السويداء تم أخذ عينات من الفيلوكسيرا منها لتنفيذ الدراسة المخبرية التي تمت في المخبر التابع لوقاية النبات في مديرية زراعة السويداء لعام 2021م

– **عزلة من بكتريا(*P. fluorescens*)** وهي عزلة بكتيرية ميسرة للفوسفور معزولة ومعرفة (حماد، 2019) تم تنميتها على البيئة المتخصصة بالبكتيريا الميسرة للفوسفور Pikoviskaya,s Agar، ضمن أطباق بتري، ثم حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 33 مْ لمدة ثلاثة أيام.

- إنشاء مستعمرات حشرة الفيلوكسيرا

تم جمع حشرات الفيلوكسيرا من أصناف العنب المحلية في البساتين الموجودة في السويداء. وتم إنشاء مستعمرات الفيلوكسيرا حسب الطريقة الموصوفة من قبل مكي وآخرون ، 2003م. أخذت جذور كرمة سليمة وطازجة بقطر يتراوح مابين 4-7 مم وطول يتراوح ما بين 5-7 سم من الصنف المحلي حلواني، تم إضافة 10 إلى 15 بيضة من بيض حشرة فيلوكسيرا العنب على الجذور المستخدمة في التجربة ووضعت كل 3 قطع جذرية بطول حوالي 5 سم وقطر حوالي 1 سم على رمل المزار البحري ضمن طبق بتري قطره 12سم . ولاستمرار التهوية تم عمل ثقب بقطر 1-1,5 سم في طبق البتري وغطي الثقب بقطعة من القماش. وأغلقت حواف أطباق البتري بإحكام بواسطة أشرطة من البارافلم، وحضنت على درجة حرارة 25 درجة مئوية ورطوبة نسبية 70% وظلام 24 ساعة. تم استبدال القطع الجذرية الجافة أو المتعفنة أو المزدحمة بمستعمرات الفيلوكسيرا كلما دعت الضرورة.

- تحضير اللقاح البكتيري

حُضّر اللقاح البكتيري باستخدام بيئة غذائية سائلة (Tryptic Soy Broth (TSB، وعبئ في زجاجات خاصة بتنمية البكتريا /BIOGEN سعة 2 ل تسمح بالتحريك وتأمين التهوية الملائمة للنمو ، استخدمت وحدة تنمية لكل عزلة بكتيرية، لقحت البيئة السائلة بالعزلات بعد تنشيطها والحصول على مزارع حديثة، وضعت على هزاز بسرعة 100 دورة بالدقيقة وحضنت على درجة حرارة 28 درجة مئوية، لمدة 48 ساعة، تم استخدام شريحة العد Bürker لتقدير تركيز البكتيريا وضبطها في المعلق وفق التركيزين المستخدمين 10^8 خلية/مل و $2*10^8$ خلية/مل.

- دراسة تأثير إضافة البكتريا *P. fluorescens* إلى جذور العنب

استخدم لكل تركيز من المعلق البكتيري *P. fluorescens* المحضر أعلاه ثلاث فترات تغطيس للقطع الجذرية (0 ،5، 15) ساعة وتم استخدام 5 قطع جذرية ولكل تركيز

مستخدم بمحموع 30 قطعة جذرية .تركت القطع الجذرية بعد تغطيسها لتجف هوائياً، ووضع لكل قطعة جذرية 50 حورية حديثة الفقس من حشرة فيلوكسيرا العنب، ثم حفظت جميع القطع الجذرية المستخدمة ضمن حاضنة على درجة حرارة 25 درجة مئوية ورطوبة نسبية 70% وفي ظلام دائم 24 سا/يوم وأخذت القراءات على تلك الحشرات الموضوعة على القطع الجذرية ودرس تأثير التغطيس بالبكتيريا على فترة نضج الإناث ومدة تطور الحشرة وفي متوسط عدد البيوض الموضوعة من قبل الإناث لمدة ثلاثة أسابيع متتالية .

- تصميم البحث والتحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstat-12، واختبار One-way ANOVA Bloking)، ومقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD 5% واختبار Duncan's

النتائج والمناقشة

تأثير الجذور المعاملة بالبكتيريا في حشرة الفليوكسيرا

بينت النتائج في الجدول (1) انخفاض متوسط النسبة المئوية لإناث الفيلوكسيرا الناضجة مع زيادة تركيز البكتيريا في المعلق وتفوقت النسبة المئوية للإناث الناضجة لدى التركيز 2×10^8 معنوياً على التركيز 10^8 والشاهد إذ بلغت 31.05% بالمقارنة مع الشاهد 81.15%. كذلك انخفض متوسط مدة تطور الحشرة انخفضت مع زياد تركيز المعلق البكتيري ، وتفوقت المعاملة 2×10^8 معنوياً على باقي المعاملات إذ بلغت متوسط مدة التطور 24.32 يوم بالمقارنة مع المعاملة ذات التركيز البكتيري10^8 والتي بلغت 26.45 يوم ومعاملة الشاهد 29.24 يوم. انخفض متوسط معدل خصوبة اناث الفيلوكسيرا مع زيادة تركيز البكتيريا في المعلق المستخدم، وتفوقت المعاملة 2×10^8 معنوياً

علـى بـاقي المعـاملات إذ بلـغ متوسـط الخصـوبة 34.3 بيضــة للأنثــى بالمقارنــة مــع الشاهد 45.13 بيضة.

جدول (1) متوسط النسبة المئوية للإناث الناضجة، زمن التطور، الخصوبة ووضع البيض للفيلوكسيرا المرباة على القطع الجذرية المعاملة بالبكتيريا *P. fluorescens*

تركيز البكتيريا خلية/ مل	متوسط الإناث الناضجة%	متوسط مدة التطور / يوم	متوسط الخصوبة الأنثى / بيضة
0	81.15^a	29.24^a	45.13^a
10^8	40.33^b	26.45^b	39.04^b
2×10^8	31.05^c	24.32^c	34.3^c

تأثير مدة تغطيس الجذور والتراكيز البكتيرية المستخدمة في متوسط النسبة المئوية للإناث الناضجة

لوحظ من خلال النتائج المبينة في الجدول(2) تأثير مدة تغطيس القطع الجذرية بالمعلق البكتيري وتركيزه في النسبة المئوية للإناث الناضجة المنبثقة واختلاف الأحرف في العمود الواحد يشير إلى وجود فروقات معنوية بين المعاملات، حيث انخفضت النسبة المئوية لإناث الفيلوكسيرا المنبثقة مع زيادة تركيز البكتريا في المعلق البكتيري وبزيادة مدة تغطيس القطع الجذرية. حيث عملت البكتيريا *P. fluorescens* على تخفيض النسبة المئوية للإناث المنبثقة في جميع المعاملات وفي كلا التركيزين المستخدمين. ووجد أن معاملة تغطيس القطع الجذرية لمدة 15 ساعة بالمعلق البكتيري ذي التركيز 2×10^8 تفوقت معنوياً على معاملات التجربة جميعها إذ بلغت النسبة المئوية للإناث المنبثقة 21.6% بالمقارنة مع معاملة الشاهد 0 مدة تغطيس بالمعلق وتركيز 0 للبكتريا (ماء عادي) إذ بلغت النسبة المئوية للإناث الناضجة المنبثقة 85.3%.ولكن هذه النسبة كانت أعلى لدى الشاهد عند التركيز 10^8 إذ بلغت (87.6 %).

جدول (2): تأثير التراكيز البكتيرية ومدة تغطيس الجذور في النسبة المئوية للإناث الناضجة المنبثقة

التراكيز البكتيرية خلية/مل / مدة التغطيس/ساعة	0الشاهد	10^8	2×10^8
	النسبة المئوية للإناث الناضجة المنبثقة %		
0	85.3 [a]	87.6 [a]	86.2 [a]
5	75.5 [b]	40.3 [b]	35.1 [b]
15	77.3 [c]	27.4 [c]	21.6 [c]

تأثير مدة تغطيس الجذور والتراكيز البكتيرية المستخدمة في مدة تطور حشرات الفيلوكسيرا

يشير اختلاف الأحرف في العمود الواحد إلى وجود فروقات معنوية بين المعاملات حيث بينت النتائج الموضحة في الجدول (3) أن متوسط مدة تطور حشرة الفيلوكسيرا تأثرت عكساً بزيادة مدة التغطيس بالمعلق البكتيري وبزيادة تركيز البكتيريا في المعلق البكتيري. إذ خفضت مدة تغطيس القطع الجذرية و وزيادة تركيز المعلق البكتيري من مدة تطور الفيلوكسيرا . ووجد أن المعاملة بالتغطيس لمدة 15 ساعة وبتركيز للمعلق البكتيري 2×10^8 تفوقت معنوياً على المعاملات جميعها إذ بلغ متوسط مدة تطور الفيلوكسيرا 25.1 يوم بالمقارنة مع الشاهد 0 تغطيس و0 بكتيريا إذ بلغ متوسط مدة تطور الفيلوكسيرا 30.2 يوم.

جدول (3): تأثير التراكيز البكتيرية ومدة تغطيس الجذور في مدة تطور الفيلوكسيرا

التراكيز البكتيرية خلية/مل / مدة التغطيس/ساعة	0	10^8	2×10^8
	متوسط مدة تطور الفيلوكسيرا/يوم		
0	30.2 a	28.9 a	29 a
5	27.4 b	26.2 b	25.4 b
15	26.8 c	26.1 c	25.1 c

تأثر مدة نقع الجذور والتراكيز البكتيرية المستخدمة في متوسط عدد بيض للأنثى لحشرة الفيلوكسيرا

يشير اختلاف الأحرف في العمود الواحد إلى وجود فروقات معنوية بين المعاملات حيث وجد من خلال النتائج المبينة في الجدول (4) انخفاض متوسط عدد البيض لحشرة الفيلوكسيرا مع زيادة مدة تغطيس القطع الجذرية للكرمة في المعلق البكتيري *P.fluorescens* ومع زيادة تركيز هذه البكتيريا *P.fluorescens* في هذا المعلق. تفوقت معاملة التغطيس لمدة 15 ساعة وبالتركيز 2×10^8 معنوياً على المعاملات المدروسة جميعها إذ بلغ متوسط عدد البيض 29 بيضة/حشرة بالمقارنة مع الشاهد بـ 0 ساعة تغطيس و0 معلق بكتيري إذ بلغ متوسط عدد البيض للحشرة الواحدة 66 بيضة/ حشرة.

جدول (4): تأثير التراكيز البكتيرية ومدة تغطيس الجذور في متوسط عدد بيض حشرة الفيلوكسيرا

التراكيز البكتيرية خلية/مل / مدة التغطيس/ساعة	0	10^8	2×10^8
	متوسط عدد البيض/حشرة		
0	66 a	65 a	63 a
5	51 b	39 b	33 b
15	45 c	35 c	29 c

تأثر مدة تغطيس الجذور والتراكيز البكتيرية المستخدمة في متوسط مدة وضع البيض لحشرة الفيلوكسيرا

يشير اختلاف الأحرف في العمود الواحد إلى وجود فروقات معنوية بين المعاملات حيث تبين من خلال النتائج الموضحة في الجدول (5) أن متوسط فترة وضع البيض لحشرة الفيلوكسيرا تأثر بتركيز البكتيريا*P. fluorescens* المستخدم وبعدد ساعات تغطيس القطع الجذرية بالمعلق البكتيري، حيث انخفض متوسط فترة وضع البيض للحشرة بزيادة التراكيز البكتيرية المستخدمة وزيادة مدة التغطيس. كما تبين أن معاملة تغطيس القطع الجذرية لمدة 15 ساعة وبالتركيز 2×10^8 للمعلق البكتيري تفوقت معنوياً على معاملات التجربة جميعها إذ بلغ متوسط فترة وضع البيض 9.3 يوماً بالمقارنة مع الشاهد من دون معاملة بالتغطيس إذ بلغ متوسط فترة وضع البيض لحشرة الفيلوكسيرا 18 يوم.

جدول (5): تأثير التراكيز البكتيرية ومدة تغطيس الجذور في متوسط مدة وضع بيض حشرة الفيلوكسيرا/يوم

التراكيز البكتيرية خلية/مل / مدة التغطيس/ساعة	0	10^8	2×10^8
	متوسط فترة وضع بيض حشرة الفيلوكسيرا/يوم		
0	18 [a]	16.2 [a]	15.7 [a]
5	17 [b]	13.8 [b]	10.4 [b]
15	17.5 [c]	12.9 [c]	9.3 [c]

يشير اختلاف الأحرف في العمود الواحد إلى وجود فروقات معنوية بين المعاملات حيث أشارت العديد من الأبحاث إلى قدرة البكتريا المحفزة لنمو النبات على تعزيز المقاومة الجهازية للنبات ضد الحشرات الضارة حيث توافقت نتائجنا مع ما أشار له Adam وآخرون ، 2013 إذ تبين أن البكتريا *P. putida* عملت على تخفيض النسبة المئوية للإناث الناضجة ومدة التطور للحشرة الفيلوكسيرا وخصوبتها ومدة وضع البيض على جذور العنب المعاملة بالبكتريا *P. putida* وقد يعود ذلك لدخول البكتيريا جسم الحشرة أثناء تغذيتها على سطح الجذور والتي تعمل على منعها من التغذية وبالتالي الحشرات التي تغذت على الجذور المعاملة بالبكتريا ستنتج عدد بيض أقل من الحشرات التي لم تتغذى على الجذور المعاملة بالبكتريا المحفزة للنمو، وتبين أن هناك علاقة عكسية ما بين مدة المعاملة بالبكتيريا وزيادة التركيز البكتيري في المعلق ويعود ذلك لزيادة تركيز البكتيريا على سطح الجذور المعاملة والتي تعمل على منع حشرات الفيلوكسيرا وفي مختلف الأطوار من التغذية مما ينعكس على مستعمراتها وعدد البيض التي تضعه الأنثى وبالتالي زيادة مقاومة نبات العنب لحشرة الفيلوكسيرا، وقد يعود قلة تغذية الحشرة على الجذور المعاملة بالبكتريا بسبب عدم انجذابها لهذه الجذور ولأن البكتريا *P.fluorescens* تفرز مواد فينولية وأنزيمات تعمل على منع الحشرة من التغذية على الجذور وعدم تطورها.

الاستنتاجات

1- ثبطت البكتيريا *P. fluorescens* من تطور حشرة الفيلوكسيرا إذ خفضت من النسبة المئوية للإناث الناضجة ومن مدة تطور الحشرة وفترة وضع البيض وخصوبة الأنثى.

2- أعطت مدة التغطيس بالمعلق البكتيري لمدة 15 ساعة وبتركيز $2*10^8$ خلية بكتيرية/مل أفضل النتائج في زيادة مقاومة جذور العنب لحشرة الفيلوكسيرا.

التوصيات

1- دراسة تأثير إضافة البكتيريا *P. fluorescens* إلى جذور العنب حقلياً لمعرفة تأثير الظروف الحقلية على العلاقات المتبادلة ما بين الحشرة والبكتيريا وجذور العنب وتأثرها في زيادة مقاومة العنب لحشرة الفيلوكسيرا.

2- دراسة تراكيز أعلى مختلفة واختيار التركيز الأمثل الفعال الذي يعطي أفضل النتائج.

3- نوصي بإجراء تجارب حقلية أو نصف حقلية لإمكانية تطبيق تلك الدراسة بالحقل وإعطاء حلول لتلك الحشرة على أرض الواقع.

المراجع

1- حماد، ياسر و رامز الشامي. (2019). توصيف بعض أنواع بكتريا الرايزوسفير المحفزة لنمو النبات من بعض الأسمدة الحيوية والتربة. مجلة جامعة البعث. سورية. المجلد 39. ص25.

2 -عقيل، شادي.(2007). دراسة بيولوجية لحشرة فيلوكسيرا العنب *Daktulosphaira vitifolia* في محافظة السويداء وطرائق مكافحتها. رسالة ماجستير، جامعة دمشق، 139.

3-مكي ، حياة ، طريف الشربجي ، زهير الأيوبي، ، ، عماد أدريس. 2003. تقدير مقاومة بعض أصول لحشرة الفيلوكسيرا بطريقة الاستنبات بالنسج و على القطع الجذرية . منشورات هيئة الطاقة الذرية السورية، 29.

1-Adam .A, Makee. H, Idris. I.(2012). The influence of a non-pathogenic *Pseudomonas putida* strain BTP1 on reproduction and development of grape phylloxera. Adv. Hort. Sci., 26(2):75-80.

2- Adam .A**,** Idris. I and Ayyoubi. Z. (2013). In vitro *Pseudomonas putida* BTP1-induced systemic resistance in grapevine rootstocks against Phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*). Advances in Horticultural Science. 27,(4) (137)-142 .

3- Adam. A, Idris.I, A. Asaad.A , and Houssian.K(2021). Impact of *Bacillus subtilis* strains on survival and reproduction of grapevine phylloxera. Hellenic Plant Protection Journal 14: 24-30.

4-Alison .V, Sedgley.K , and Heeswijck.V,(2004) Interaction Between Vitis vinifera and Grape Phylloxera: Changes in Root Tissue During Nodosity Formation. Annals of Botany 93: 581-590.

5-Behera.C, Mahadik.N, and Morey.M.(2012). Antioxidative and cardiovascular - protective activites of metabolite usnic acid and psoromic acid produced by lichen species ushea complanata under submerged fermentation . Pharm Biol. 50: 968-979.

6-Brewin, N. (2004). Plant cell wall remodelling in the rhizobium–legume symbiosis. Critical reviews in plant sciences, 23,. 4, 293–316.

7-Hmissi .I,Gargouri.S, and Sifi.B,(2011). Attempt of wheat protection against *Fusarium culmorum* using *Rhizobium* isolates. Tunisian Journal of Plant Protection 6, 75-86

8- Granett. J, Andrew.M, Laszlo .K, and Amir. D. Omer,(2001), biology and management of grape phylloxera , Annual Review of Entomology. 46: 387-412 .

9- Salomona Mar´ıa Victoria, Rub´en Bottinia, Gonc¸alo Apolin´ario de Souza Filhob, Ana Carmen Cohena, Daniela Morenoa, Mariana Gil a and Patricia Piccolia,(2013). Bacteria isolated from roots and rhizosphere of *Vitis vinifera* retard water losses, induce abscisic acid accumulation and synthesis of defense-related terpenes in in vitro cultured grapevine. Physiologia Plantarum ISSN ,9(3),702-732.

10- Tiwari. P and Jay Shankar. S.(2017). A Plant Growth Promoting Rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* Strain Inhibits Seed Germination in *Triticum aestivum* (L) and *Zea mays* L. Res., 8(2), 33-72.

11- Sivasakthi. S, Usharani G, Saranraj P,(2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A reviewArticle Number - 9(16), 1265-1277.