مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (4) العدد(10) 2020
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (4) No. (10) 2020

تقييم فعالية بعض المخصبات الحيوية وحمض الساليسيليك في تحفيز المقاومة الجهازية لنبات الفليفلة ضد فيروس موزاييك الخيار

د. ياسر علي حماد*

أ.د. سليم راعي**

محمد سلمان ابراهيم ***

(تاريخ الإيداع 10/8 /2020. قُبِل للنشر في 6 /2020/12)

□ **ملخّص** □

هدف البحث لدراسة فعالية بعض المخصبات الحيوية وحمض الساليسليك بتلقيح شتول نباتات الفليفلة المزروعة بأصص في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار. بتقدير صبغات التمثيل الضوئي (الكلوروفيلA والكلوروفيل B والكاروتيدئيدات) ومحتوى حمض الساليسيليك في اوراق نباتات الفليفلة بعد 30 يوما من العدوى الفيروسية. نفذ البحث في موسم 2019/2018 ضمن بيت بلاستيكي في محافظة طرطوس.

أظهرت النتائج أن التلقيح بالمخصبات الحيوية والمعاملة بحمض الساليسيليك أدى إلى زيادة معنوية في جميع المعاملات المدروسة بالمقارنة مع الشاهد غير الملقح بالبكتريا وغير المعامل بحمض الساليسليك بالنسبة لصبغات التمثيل الضوئي ومحتوى حمض الساليسيليك في أوراق نبات الفليفلة، وأظهرت معاملة التلقيح بالمخصب الحيوي الاول (M1) مع حمض الساليسيليك S3 تركيز (2 mM) بوجود وغياب العدوى الفيروسية زيادة في صبغات التمثيل الضوئي، إذ بلغت (الكلورفيل A 1.033 و 1.345 مغ/غ) و (الكلوروفيل B 0.961 و 1.259 مغ/غ) و (الكاروتينوئدات 0.977 و 1.261 مع/غ) وحمض الساليسيليك، إذ بلغ (52.76 و 32.78 ميكروغرام/غ طازج) على التوالي، مقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك. إن الزيادة في كمية صبغات التمثيل الضوئي وحمض الساليسيليك تشير لقدرة البكتريا المستخدمة على تحفيز المقاومة الجهازية وتخفيض تأثير الفيروس في نباتات الفليفلة.

الكلمات المفتاحية: بكتريا محفزة لنمو النبات(PGPR)، الفليفلة، فيروس موزاييك الخيار، صبغات التمثيل الضوئي، حمض الساليسيليك.

* أستاذ مساعد، قسم علوم التربة والمياه، كلية الزراعة جامعة تشرين اللاذقية – سورية.

** أستاذ قسم وقاية النبات، كلية الزراعة جامعة تشرين اللاذقية– سورية

*** طالب دراسات عليا (دكتوراه)، قسم علوم التربة والمياه، كلية الزراعة جامعة تشرين اللاذقية – سورية

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (4) العدد(10) 2020
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (4) No. (10) 2020

Evaluation of the effectiveness of some biofertilizers and salicylic acid in stimulating systemic resistance of pepper plant against Cucumber mosaic virus.

Mohammad S.Ibrahim*
Dr. Yaser A. Hammad**
Dr. Salim Raahe***

(Received 8/10/2020. Accepted 6/ 12/2020)

□ **ABSTRACT** □

The aim of this study was to determine on efficiency of some biological fertilizers and salicylic acid on stimulate Mechanisms of systemic resistance against *Cucumber Mosaic Virus* (CMV). photosynthesis pigments and Salicylic acid were observed on fresh leaves pepper plant after 30 DAI .Season 2018/2019 in a greenhouse in Tartous Governorate

The results showed that fertilization with bio-fertilizers and salicylic acid resulted in a significant increase in all studied treatments compared to control (non-vaccinated with bacterial control and untreated with salicylic acid). For photosynthesis pigments and salicylic acid content on fresh leaves pepper plant, Results showed that the treatment of immunization with the first biological fertilizer M1 with salicylic acid in the presence and absence of infection with CMV option, An increase in photosynthesis pigments, which reached (chlorophyll A 1.033 and 1.345 mg / g), (chlorophyll B 0.961 and 1.259 mg / g), (carotenoids 0.977 and 1.261 with / g) and salicylic acid, reaching (52.76 and 32.78 micrograms / g fresh).) Respectively compared to control (non-vaccinated with bacterial control and untreated with salicylic acid). Then the increase in photosynthesis pigments and salicylic acid indicate to the ability of rhizobacter to stimulate systemic resistance and reduce the effect of the virus on pepper plants.

Keywords: PGPR, Pepper, CMV، Photosynthesis pigments، Salicylic acid.

* Post graduate Student, Department of soil and water sciences., Faculty of Agriculture, University of Tishreen, Lattakia, Syria.
** Associated Professor, , Department of soil and water sciences, Faculty of Agriculture, University of Tishreen, Lattakia, Syria.

*** Professor, Department of Plant Protection Faculty of Agriculture, University of Tishreen, Lattakia, Syria..

مقدمة:

يزرع محصول الفليفلة في مختلف أنحاء العالم، الموطن الأصلي للفليفلة هو أمريكا الوسطى وأمريكا الجنوبية، وتنتمي الفليفلة إلى الفصيلة الباذنجانية Solanaceae والجنس *Capsicum* والنوع .L *Capsicum annuum*، وتعد الفليفلة من محاصيل الخضار الرئيسية في سورية نظراً لقيمتها الغذائية والاستهلاكية والتصنيعية (Dagnoko *et al.*, 2013)، بلغت المساحة الإجمالية المزروعة بالفليفلة 4577 هكتار لموسم 2018 أعطت 54116 طناً في سورية (المجموعة الإحصائية السنوية لعام 2018)، ويحتل محصول الفليفلة Pepper في سورية المرتبة الثالثة من حيث الأهمية بعد البندورة والبطاطا (Ahmad *et al.*, 2020)،

تعرف المخصبات الحيوية كمجموعة متعددة من الكائنات الحية الدقيقة المتواجدة في المنطقة المحيطة بالمجموع الجذري للنبات Rhizosphere، والتي تعمل على تحفيز نوعي وكمي للنبات بشكل مباشر عن طريق تزويد النبات بمواد محفزة لنموه أو تسهيل امتصاص النبات للمواد الموجودة في التربة، أما التأثير غير المباشر للنمو فيظهر من خلال منعها الآثار الضارة لممرض واحد أو أكثر من التأثير في النبات، وذلك من خلال القدرة على إنتاج أو تغيير تركيز منظمات النمو، مثل حمض الأندول الخلي وحمض الجبرلين والسايتوكينينات والاثيلين، وتثبيت الآزوت الجوي، وإذابة الفوسفات المعدني والبوتاسيوم والعناصر المغذية الأخرى (Singh, 2013 ; Saharan and Nehra, 2011).

تعد الأمراض الفيروسية إحدى أهم المشاكل التي تؤثر في إنتاج الفليفلة في العديد من البلدان، وقد أشار(Nienhaus, 1981) إلى إصابة محصول الفليفلة بـ 13 فيروساً، ومن ضمنها فيروس موزاييك الخيار (CMV) *Cucumber mosaic virus*، جنس *Cucumovirus*، فصيلة Bromoviridae. ويمكن للأمراض الفيروسية أن تخفض إنتاج المحصول بمقدار 90% إضافة إلى صعوبة مقاومتها (Reddick and Habera, 1999). ويُسبب الفيروس على النباتات المُصابة به أعراضاً تتمثل بتبرقش خفيف مخضر، ثم تتطور مع تقدم الإصابة لتظهر على شكل بقع دائرية صفراء، ويحدث تضيق وتطاول للورقة لتشبه أوراق الصفصاف، أما الأزهار فتتشوه، ويحدث عقم لحبوب اللقاح، وحتى الثمار التي تتشكل تبقى متقزمة ومشوهة وعلى سطحها بقع نكروزية (Sutic *et al.*,1999). وقد سجل الفيروس على الفليفلة في المنطقة الوسطى والساحلية من سورية (اسماعيل وآخرون، 2007).

يعد حمض الساليسليك مركباً طبيعياً، في النبات منظماً لنموه، ويلعب دوراً مهماً في تنظيم بعض العمليات الفسيولوجية في النبات، مثل نمو وتطور النبات وامتصاص الأيونات ونقلها ونفاذية الأغشية (Simael *et al.*, 2012)، وهو منظم مهم لعملية التمثيل الضوئي لتأثيره في بنية الأوراق والبلاستيدات الخضراء (Uzunora and Popora, 2000) وأغلاق الثغور (mateo *et al.*, 2004 ؛ melotto *et al.*, 2006) والحد من تخليق الاثيلين (Ahmad *et al.*, 2020)، وبالتالي يزيد من تحمل النباتات للظروف غير الحيوية (Hussain *et al.*, 2011) من خلال تنظيم الاشارات الداخلية، او تحفيز الجينات التي تنتج مختلف مركبات الدفاع النباتية (Zhang *et al.*, 2009)، ويمكن أن يحفز حمض الساليسيليك المقاومة الجهازية لمدى واسع من الممرضات، ومنها الفيروسات، إذ يعمل على تحفيز المقاومة من خلال تأثيره بمراحل الإصابة الفيروسية، وهي: مرحلة التضاعف، والانتقال من خلية لأخرى، والحركة الجهازية ضمن النبات(Singh *et al.*, 2004 ; Chaturvedi and Shah 2007). حيث كان لمعاملة نباتات الفليفلة بحمض الساليسليك تأثير محفز لنمو النبات بزيادة المسطح الورقي وكمية الكلوروفيل أ و ب

(Ahmad et al., 2020)، وبالتالي حسن من عملية التمثيل الضوئي، وخلق استقراراً في غشاء الخلية النباتية وقلل من الاثار السلبية للإجهادات (Amirinejad et al., 2017)

وجد أن تلقيح نباتات الفليفلة والبندورة بعزلات من بكتريا المحفزة لنمو النبات بشكل مفرداً او مختلط (Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium Rhizobium ،Frateuria aurantia leguminosarum,) حرضت المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار على النبات، وقللت من تأثيره من خلال زيادة صبغات التركيب الضوئي والمركبات الفينولية وحمض الساليسيليك مقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى بالفيروس (الشامي وآخرون، 2018 ؛ ابراهيم وآخرون، 2017)

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لأهمية محصول الفليفلة الغذائية والاقتصادية في سورية، وأهمية المخصبات الحيوية والمحفزات الكيميائية كبديل آمن في تسميد الفليفلة حيوياً، وصعوبة السيطرة على فيروس موزاييك الخيار من خلال مكافحة نواقله بالمبيدات الكيميائية، إضافة إلى الآثار السلبية لهذه المبيدات وكلفتها المرتفعة، وحاجة المستهلك لغذاء خالي من المبيدات، كان لا بد من اللجوء إلى طرائق بديلة أكثر أماناً للسيطرة على الإصابة والحد منها. لذا هدف البحث لاختبار فعالية المخصبات الحيوية (Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium, Frateuria aurantia, Rhizobium leguminosarum, Pseudomonas fluorescens, Bacillus circulans) والمحفز الكيميائي حمض الساليسيليك (S) Salicylic acid في تحفيز المقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance لدى نباتات الفليفلة ضد فيروس موزاييك الخيار من خلال: تقدير حمض الساليسيليك وتحديد الأصبغة النباتية في أوراق النبات (الكلورفيل A والكلوروفيل B والكاروتينوئيدات).

طرائق البحث ومواده:

- المادة النباتية: بذار هجين فليفلة سيرا نيفادا الجيل الأول Sierra Nevada F1 صنف حلو غير محدود النمو (نسبة الإنبات75% والنقاوة 98% المنشأ اسبانيا، وسنة الإنتاج 2018).

-موقع الدراسة: الساحل السوري في محافظة طرطوس في قرية برج ميعار التي تبعد 20 كم جنوب شرق طرطوس، داخل بيت بلاستيكي مساحته 192 (24×8 م^2)، ارتفاعه 4أمتار.

- إنتاج الشتول: زرعت بذور هجين الفليفلة في صواني إنبات من الستروبور ذات 220 حفرة. بتعبئة الحفر بالتورب الزراعي المعقم (البيتموس) من شركة Clasmann الألمانية. وقدمت للبادرات الخدمات الزراعية المطلوبة (ري، مكافحة للوقاية من الأمراض الفطرية،.. الخ) وتغطيتها بشبك ناعم لمنع دخول الحشرات.

-الزراعة وعمليات الخدمة: استخدمت تربة زراعية جيدة الخواص متوسطة القوام، ذات محتوى متوسط من المادة العضوية، ومحتوى منخفض نسبياً من الآزوت الكلي، ومحتوى جيد من الفوسفور والبوتاسيوم، وهي تربة ملائمة لزراعة الفليفلة. وأضيف لها سماد عضوي متخمر (بقري)

بنسبة 3/1 حجماً، والتغطية بشريحة من البلاستيك الشفاف سماكته 200 ميكرون للتعقيم الشمسي، ثم عبئت الخلطة الزراعية ضمن أكياس بلاستيكية أبعادها 30×40 سم سعتها 28 لتراً. تم توزيع الأكياس ضمن البيت البلاستيكي حسب المعاملات والمكررات على 6 خطوط منفردة، بحيث كان البعد بين النبات والأخر ضمن نفس الخط 50 سم وبين الخط والآخر 100سم، وبلغ عدد نباتات التجربة 360 نباتاً، وقدم لنباتات التجربة كافة العمليات الزراعية اللازمة من ري بالتنقيط، ورش دوري بالمبيدات الحشرية، والمبيدات الفطرية، والأكاروسية.

- **الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة:.**

استخدمت سبعة أنواع بكتيرية، وزعت ضمن مخصبين حيويين (M1 و M2):

حيث المخصب الحيوي الأول (M1) مكون :

- النوع Azotobacter chroococcum (AT): بكتيريا مثبتة للآزوت الجوي معزولة من تربة مزروعة بنبات البندورة (حماد والشامي، 2017).
- النوع Bacillus megaterium: بكتيريا ميسرة للفوسفور (حماد والشامي، 2017).
- النوع Frateuria aurantia: بكتيريا ميسرة للبوتاسيوم (حماد والشامي، 2017).
- النوع Rhizobium leguminosarum: بكتريا منشطة لنمو النبات(المغربي وآخرون،2016).

- **والمخصب الحيوي الثاني (M2) مكون:**

- النوع Pseudomonas fluorescens: بكتريا ميسرة للفوسفور (حماد والشامي، 2017).
- النوع Bacillus circulans : بكتيريا ميسرة للبوتاسيوم (Hammad, 2019)
- النوع Azotobacter chroococcum (AC): بكتيريا مثبتة للآزوت الجوي معزولة من تربة مزروعة بنبات الخيار (حماد والشامي، 2017).

- **تنشيط البكتريا وتحضير اللقاح البكتيري:**

تم تنشيط الأنواع البكتيرية المستخدمة بإعادة زراعتها على بيئات متخصصة للحصول على خلايا حديثة في أوج نشاطها الحيوي، وحضر المعلق باستخدام بيئة غذائية سائلة Tryptic Soy Broth (TSB) (حماد والشامي، 2017).

تنشيط العزلة الفيروسية المستخدمة في الدراسة:

استخدمت عزلة محلية من فيروس موزاييك الخيار معرفة مصلياً في المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة ICARDA في حلب ومحفوظة على نبات التبغ في مخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية– كلية الزراعة–جامعة تشرين. تم تحضير اللقاح الفيروسي حسب طريقة (Jefferies,1998) .

- **التلقيح بالبكتريا:**

تم إضافة اللقاحات البكتيرية المحضرة من الأنواع البكتيرية المختلفة (معلقات بتركيز 10^9خلية/مل) وفق المعاملات المدروسة، وأضيف اللقاح البكتيري إلى البذور بنقعها لمدة 3 ساعات (Jarak et al.,2010)، ونقع بذور الشاهد بالماء المقطر والمعقم، ومن ثم زرعت في صواني خاصة بإنتاج الشتول. وبعد ظهور الورقتين

الحقيقيتين الثالثة والرابعة، أي بحدود 30 يوم من الزراعة، نقلت شتول الفليفلة إلى البيت المحمي، ثم أضيف اللقاح البكتيري إلى التربة بالقرب من الجذر أثناء التشتيل بمعدل 25 مل من معلق بكتيري تركيزه 10^9 خلية/ مل.

- **العدوى بفيروس موزاييك الخيار CMV:**

أعديت نباتات التجربة بلقاح فيروس موزاييك الخيار على الورقتين الحقيقيتين الأولى والثانية بعد أسبوع من نقلها إلى البيت المحمي (بعد أسبوع من التلقيح البكتيري) بما فيها معاملة الشاهد بالفيروس فقط. وترك شاهد سليم أجريت عليه عدوى عادية من عصارة نباتات فليفلة سليمة.

-إضافة المحفزات الكيميائية:

تم تحضير محلول حمض الساليسيليك ($C_7H_6O_3$) انتاج Sigma-Aldrich، بإضافة 1.12غرام من حمض الساليسليك النقي إلى 4 ليترا ماء مقطر لنحصل بذلك على محلول حمض الساليسيليك تركيزه 2 ميلي مول، وتم أخذ ليتر واحد من المحلول السابق، وأضيف له ليتر واحد ماء مقطر لنحصل بذلك على محلول حمض الساليسيليك تركيزه 1ميلي مول، ولنحصل على محلول حمض الساليسيليك تركيزه 0.5 ميلي مول تم إضافة 0.5 ليتر من المحلول الأول (2 ميلي مول) إلى 1.5 ليتر ماء مقطر.

وتم ري المعاملات بحمض الساليسيليك Salicylic acid (S) بثلاثة تراكيز (0.5-1-2 ميليمول) بمعدل 30 مل/نبات وذلك وفق مخطط التجربة.

التحاليل والقراءات المنفذة:

1- تقدير تركيز حمض الساليسيليك في أوراق الفليفلة:

تم قياس تركيز حمض الساليسليك في أنسجة النبات (Maria *et al.,* 2007) بعد أسبوعين من إجراء العدوى الاصطناعية بفيروس موزاييك الخيار، وذلك بوزن 1 غ من أوراق القمة النامية لنباتات التجربة، وضعت ضمن جفنة بورسلان وأضيف لها 1 مل من حمض كلور الماء 6 نظامي و 10 مل من الكلوروفورم، طحنت العينة بشكل جيد، ورشحت باستخدام قمع الفصل في أنبوب الاختبار، وأضيف لكل عينة 5 مل من محلول كلور الحديد $FeCl_3$ (تم تحضير محلول كلور الحديد بإضافة 0.5 غ بودرة كلور الحديد إلى 100 مل ماء مقطر وحرك جيدا لتمام الذوبان). يتكون نتيجة التفاعل بين حمض الساليسليك 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 نانوميتر، وذلك بعد رسم خط بياني باستخدام أربعة تراكيز من حمض الساليسيليك العياري 25 و50 و75 و100 ppm والتركيز 0 ماء مقطر فقط.

2- تقدير كمية صبغات التركيب الضوئي:

تم استخلاص وتقدير كمية صباغ الكلوروفيل أ وب والكاروتينوئدات حسب (Arnon, 1949)، بأخذ 1غ من عينات الأوراق الطازجة بعد 30 يوماً من العدوى الفيروسية، وطحنت في جفنة بورسلان مع إضافة 10 مل من الأسيتون 80% مع وجود رمل مجفف ومغسول وكمية قليلة من $CaCO_3$ (0.1 غ) لمعادلة الأحماض العضوية في الأوراق الطازجة، بعد ذلك تم ترشيحها من خلال قمع ترشيح، ثم غسل

الباقي بإضافة الأسيتون عدة مرات حتى زوال اللون الأخضر من العينة النباتية، وأكمل الحجم لـ 25 مل. ثم حددت الكثافة الضوئية للمستخلص باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول الموجة 663 للكلوروفيل أ و645 نانوميتر للكلوروفيل ب، وعند طول الموجة 440 نانوميتر لصبغة الكاروتينوئدات.

وحسبت كمية الصبغات وفق المعادلات (Kalaivani *et al.,* 2013):

كلوروفيل أ (مغ/غ) = $\frac{V}{1000*W} * [(A_{645}) * 2.69 - (A_{663}) * 12.7]$

كلوروفيل ب (مغ/غ) = $\frac{V}{1000*W} * [(A_{663}) * 4.68 - (A_{645}) * 22.9]$

كاروتينوئيدات (مغ/غ) = $\frac{V}{1000*W} * \left[(A_{440}) * 4.965 - (\text{كلوروفيل A} + \text{كلوروفيل B}) * 0.268\right]$

حيث: A= الامتصاصية عند طول الموجة المحددة ، V= الحجم النهائي للمستخلص بالأسيتون تركيز 80%. W= الوزن الطازج للنسيج النباتي المستخدم.

- **تصميم التجربة والتحليل الإحصائي:**

اتبع في تصميم التجربة نظام القطاعات العشوائية الكاملة حيث تضمن البحث 24 معاملة ثلاث مكررات و5 نباتات لكل مكرر. بلغ عدد النباتات الكلي 360 نباتاً. حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Genstat-12، واختبار One-way ANOVA (no Bloking) ، ومقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD 1% واختبار دانكان.

معاملات التجربة: M1: مخصب حيوي أول، M2: مخصب حيوي ثاني، S1: حمض الساليسيليك تركيز (0.5 mM)، S2: حمض الساليسيليك تركيز (1 mM)، S3: حمض الساليسيليك تركيز (2 mM)،M1S1: مخصب حيوي أول مع التركيز الأول من حمض الساليسيليك، M1S2: مخصب حيوي أول مع التركيز الثاني من حمض الساليسيليك، M1S3: مخصب حيوي أول مع التركيز الثالث من حمض الساليسيليك، M2S1: مخصب حيوي ثاني مع التركيز الأول من حمض الساليسيليك، M2S2: مخصب حيوي ثاني مع التركيز الثاني من حمض الساليسيليك، M2S3: مخصب حيوي ثاني مع التركيز الثالث من حمض الساليسيليك، C: شاهد، اي 12 معاملة، وبوجود وغياب العدوى بفيروس موزاييك الخيار يصبح عدد المعاملات 12 * 2 = 24 معاملة.

النتائج والمناقشة:

- **محتوى أوراق نباتات البندورة من الكلوروفيل أ:**

لدى مقارنة النتائج بطرائق التلقيح بالمخصبين الحيويين M1 وM2 والري بحمض الساليسيليك وفاعلية كل منهما على انفراد وفاعلية الخليط لكل منهما بوجود وغياب العدوى بفيروس موزاييك الخيار أظهرت معظم المعاملات المدروسة (جدول 1) تفوقاً واضحاً وبفروق معنوية في كمية الكلوروفيل أ في أوراق نباتات الفليفلة بالمقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسليك.

حيث أظهرت المعاملة بالمخصب الحيوي الأول M1 لوحده بوجود وغياب العدوى بالفيروس تفوقاً واضحاً وبفروق معنوية في كمية الكلوروفيل أ (0.932-1.105 مغ/غ) على معاملة المخصب الحيوي الثاني M2 لوحده (0.911- 1.062 مغ/غ) مقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالكتيريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك (0.486- 0.601 مغ/غ).

جدول (1) كمية الكلوروفيل أ بـ (مغ/غ) في أوراق نباتات الفليفلة الملقحة بالبكتريا (بوجود وغياب العدوى) بفيروس موزاييك الخيار

المعاملات	ملقح غير معدى بـ CMV	ملقح ومعدى بـ CMV
M1	1.105^{p}	0.932^{j}
M2	1.062^{o}	0.911^{i}
S1	0.773^{f}	0.661^{c}
S2	0.805^{g}	0.713^{d}
S3	0.851^{h}	0.741^{e}
M1S1	1.222^{s}	0.981^{l}
M1S2	1.243^{t}	0.996^{m}
M1S3	1.345^{v}	1.033^{n}
M2S1	1.131^{q}	0.941^{j}
M2S2	1.163^{r}	0.955^{k}
M2S3	1.272^{u}	1.001^{m}
شاهد سليم Control	0.601^{b}	
شاهد معدى ب CMV	0.486^{a}	
LSD 1%	0.011105	

وبالنسبة لمعاملات حمض الساليسيليك بالتراكيز الثلاثة المستخدمة تفوقت المعاملة بحمض الساليسيليك S3 (تركيز 2 Mm) بوجود وغياب العدوى بالفيروس على المعاملتين S1 و S2 وعلى معاملة الشاهدين، إذ بلغت كمية الكلوروفيل أ في أوراق الفليفلة بوجود وغياب العدوى الفيروسية (0.741–0.581 مغ/غ) على التوالي، مقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

ولدى مقارنة معاملات المخصبين الحيويين M1 و M2 مع تراكيز حمض الساليسليك الثلاثة بوجود وغياب العدوى بفيروس موزاييك الخيار وجد تفوق معنوي في كمية الكلوروفيل أ في أوراق نباتات الفليفلة في جميع المعاملات بالمقارنة مع الشاهدين ومع معاملتي المخصبين M1 و M2، وكانت المعاملة M1S3 هي الأفضل في زيادة محتوى الأوراق من كمية الكلوروفيل أ مقارنة مع كافة المعاملات بوجود وغياب العدوى بالفيروس إذ بلغت (1.345–1.033 مغ/غ) على التوالي، مقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى .

-محتوى أوراق نباتات الفليفلة من الكلوروفيل ب:

بينت النتائج في (الجدول 2)،أن التلقيح بالمخصبين الحيويين وحمض الساليسيليك أدى إلى زيادة في كمية الكلوروفيل ب في أوراق نباتات الفليفلة في المعاملات المدروسة جميعها بوجود وغياب العدوى الفيروسية وبفروق معنوية بالمقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

جدول (2) كمية الكلوروفيل ب بـ (مغ/غ) في أوراق نباتات الفليفلة الملقحة بالبكتريا (بوجود وغياب العدوى) بفيروس موزاييك الخيار

المعاملات	ملقح غير معد بـ CMV	ملقح ومعدى بـ CMV
M1	1.001p	0.901j
M2	0.982o	0.871i
S1	0.713f	0.632c
S2	0.733g	0.663d
S3	0.764h	0.684e
M1S1	1.131s	0.915kl
M1S2	1.154t	0.921l
M1S3	1.259v	0.961n
M2S1	1.051q	0.910k
M2S2	1.073r	0.912k
M2S3	1.181u	0.942m
شاهد سليم Control	0.601b	
شاهد معدى بـ CMV	0.486a	
LSD 1%	0.00928	

حيث وجد في طريقة التلقيح بالمخصبين الحيويين M1 و M2 بوجود وغياب العدوى بالفيروس تفوق المعاملة بالمخصب الحيوي الأول M1 في محتوى الكلوروفيل ب في أوراق نبات الفليفلة على المعاملة بالمخصب الحيوي الثاني M2 وبفروق معنوية، إذ بلغت كمية الكلوروفيل ب (0.901 – 1.001 مغ/غ) بالمقارنة مع معاملة الشاهدين المعدى والسليم غير الملقح بالبكتريا وغير المعامل بحمض الساليسيليك (0.486 – 0.601 مغ/غ).

وفي معاملات تراكيز حمض الساليسيليك الثلاثة المستخدمة تفوقت المعاملة بحمض الساليسيليك S3 (تركيز 2 Mm) على المعاملتين S1 وS2 وعلى معاملتي الشاهد السليم والمعدى بفروق معنوية، إذ بلغ محتوى الأوراق من كمية الكلوروفيل ب بوجود وغياب العدوى بالفيروس (0.684 – 0.764 مغ/غ) على التوالي، مقارنة مع معاملة الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

وسجّلت أكبر كمية لمحتوى الأوراق من كلوروفيل ب لدى المعاملة بالمخصب الحيوي الأول مع التركيز الثالث لحمض الساليسيليك M1S3 وبفروق معنوية بالمقارنة مع كافة المعاملات والشاهدين بوجود وغياب العدوى بالفيروس، حيث بلغت (0.961 – 1.259مغ/غ) على التوالي. قياساً بمعاملة الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

- **محتوى أوراق نباتات الفليفلة من الكاروتينوئيدات:**

بينت النتائج في (الجدول 3)، أن التلقيح بالمخصبين الحيويين وحمض الساليسيليك أدى الى زيادة في كمية الكاروتينوئيدات في أوراق نباتات الفليفلة في المعاملات المدروسة جميعها بوجود وغياب العدوى الفيروسية وبفروق معنوية بالمقارنة مع الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

جدول (3) كمية الكاروتينوئيدات (مغ/غ) في أوراق نباتات الفليفلة الملقحة بالبكتريا (بوجود وغياب العدوى) بفيروس موزاييك الخيار

المعاملات	ملقح غير معدى بـ CMV	ملقح ومعدى بـ CMV
M1	1.033q	0.861j
M2	0.983p	0.821i
S1	0.731f	0.610c
S2	0.745g	0.685d
S3	0.786h	0.723e
M1S1	1.144t	0.919m
M1S2	1.163u	0.933n
M1S3	1.261w	0.977p
M2S1	1.064r	0.883k
M2S2	1.100s	0.900l
M2S3	1.191v	0.951o
شاهد سليم Control	0.601b	
شاهد معدى بـCMV	0.486a	
LSD 1%	0.00928	

حيث وجد في طريقة التلقيح بالمخصبين الحيويين M1 و M2 بوجود وغياب العدوى بالفيروس تفوق المعاملة بالمخصب الحيوي الأول M1 في كمية الكاروتينوئيدات في أوراق نبات الفليفلة على المعاملة بالمخصب الحيوي الثاني M2 وبفروق معنوية، إذ بلغت كمية الكاروتينوئيدات (0.861 – 1.033 مغ/غ) بوجود وغياب العدوى الفيروسية بالمقارنة مع معاملة الشاهدين المعدى والسليم غير الملقح بالبكتريا وغير المعامل بحمض الساليسيليك (0.486 – 0.601مغ/غ).

وفي معاملات تراكيز حمض الساليسيليك الثلاثة المستخدمة تفوقت المعاملة بحمض الساليسيليك S3 (تركيز 2 Mm) على المعاملتين S1 وS2 على معاملتي الشاهد السليم والمعدى بفروق معنوية، إذ بلغ محتوى الأوراق من كمية الكاروتينوئيدات بوجود وغياب العدوى بالفيروس (0.723 – 0.786 مغ/غ) على التوالي، مقارنة مع معاملة الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

وسجّلت أكبر كمية لمحتوى الأوراق من الكاروتينوئيدات لدى المعاملة بالمخصب الحيوي الأول مع التركيز الثالث لحمض الساليسيليك M1S3 وبفروق معنوية بالمقارنة مع كافة المعاملات والشاهدين بوجود وغياب العدوى بالفيروس حيث بلغت (0.977– 1.261 مغ/غ) على التوالي. مقارنة بمعاملة الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

وبناءً على نتائج هذه الدراسة، تبين أن الزيادة في محتوى الأوراق من الكلوروفيل (أ) و(ب) والكاروتينوئيدات، تعمل على الزيادة في النمو والإنتاج، لدورها الأساسي في الاصطناع الحيوي للمواد الغذائية وهذا يتوافق مع (Malkin and Niyogi, 2000)، وتجلى ذلك بانخفاض أعراض الإصابة بالفيروس مع زيادة كمية الكلورفيل أ و ب و الكاروتينوئيدات وهذا يشير لقدرة المخصبين الحيويين الأول والثاني على تحفيز آليات المقاومة الجهازية وتخفيض تأثير الفيروس في نباتات الفليفلة. إذ زادت صبغات التركيب الضوئي بوجود البكتيريا المحفزة لنمو النبات وحمض الساليسيليك بوجود وغياب العدوى بفيروس موزاييك الخيار. حيث أشار عدد من الباحثين أن التلقيح ببكتريا *Azotobacter chroococcum* و*Pseudomonas fluorescens*

بشكل مختلط مع أو بدون حمض الساليسيليك على نباتات الفليفلة بوجود وغياب العدوى بفيروس موزاييك الخيار زاد بشكل معنوي في مؤشرات النمو، حيث استحثت المقاومة الجهازية في النبات ضد الفيروس وخفضت من شدة الإصابة، وتجلى ذلك بزيادة تركيز حمض الساليسيليك وكمية الكلوروفيل الكلي (الفضل والحارس، 2018)، في حين وجد (الشامي، 2019) زيادة في محتوى الأوراق من الكلوروفيل أ و ب والكاروتينوئيدات وحمض الساليسيليك في نباتات البندورة المعداة بفيروس CMV والمعاملة بعزلات من *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus megaterium* ، *Frateuria aurantia* بشكل مفرد ومخلط مقارنة بالشاهدين السليم والمعدى بالفيروس. في حين زاد الوزن الطازج للمجموع الخضري بنسبة 12.40% وكمية الكلوروفيل أ و ب بنسبة 15.31 % عند معاملة نباتات الفليفلة بثلاث تراكيز مختلفة من حمض الساليسليك بالمقارنة مع الشاهد غير المعامل (Canakci، 2011).

كما وُجد أن إصابة العديد من العوائل النباتية بالفيروسات تقلل من كمية صبغات التركيب الضوئي في الأوراق المصابة (Bollard and Mathews, 1966). إذ بينت دراسة على نباتات البندورة المصابة بفيروس موزاييك التبغ انخفاضاً في كمية الكلورفيل أ وب والصبغات الكلية، وأظهر الفحص بالمجهر الالكتروني تغيراً وتشوهاً في أشكال الصانعات الخضراء، حيث أخذت شكل الفنجان بالمقارنة مع خلايا النباتات السليمة (Nassar, 1998).

- **محتوى حمض الساليسليك الحر في أوراق نباتات الفليفلة:**

لوحظ من خلال النتائج المبنية في الجدول (4) أن التلقيح بالمخصبين الحيويين وحمض الساليسيليك أدى إلى زيادة، وبفروق معنوية في محتوى حمض الساليسيليك في أوراق نباتات الفليفلة الملقحة بالبكتريا والمعاملة بحمض الساليسليك بوجود وغياب العدوى بفيروس موزاييك الخيار، مع تفوق واضح لمعظم المعاملات المدروسة على معاملة الشاهد السليم والشاهد المعدى.غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

جدول (4) محتوى حمض الساليسيليك (ميكروغرام/غ طازج) في أوراق نباتات الفليفلة الملقحة بالبكتريا (بوجود وغياب العدوى) بفيروس مزاييك الخيار

المعاملات	ملقح غير معدى بـ CMV	ملقح ومعدى بـ CMV
M1	21.99j	34..90r
M2	19.57i	33.06q
S1	10.71c	15.62f
S2	12.71d	16.77g
S3	14.14e	17.90h
M1S1	25.80l	38.11t
M1S2	27.91n	46.69v
M1S3	32.78p	52.76x
M2S1	23.93k	35.59s
M2S2	26.54m	39.70u
M2S3	28.43o	49.20w
شاهد سليم Control	6.33a	
شاهد معدى بـ CMV	8.75b	
LSD 1%	0.1447	

حيث وجد في طريقة التلقيح بالمخصبين الحيويين M1 و M2، بوجود وغياب العدوى بالفيروس تفوق المعاملة بالمخصب الحيوي الأول M1 في محتوى حمض الساليسيليك في اوراق نباتات الفليفلة على المعاملة بالمخصب الحيوي الثاني M2 وبفروق معنوية، إذ بلغ محتوى حمض الساليسيليك (34.90 – 21.99 ميكروغرام/غ طازج) بالمقارنة مع معاملة الشاهدين المعدى والسليم غير الملقح بالبكتريا وغير المعامل بحمض الساليسيليك (8.75 – 6.33 ميكروغرام/غ طازج).

وفي معاملات تراكيز حمض الساليسيليك الثلاثة المستخدمة تفوقت المعاملة بحمض الساليسيليك S3 (تركيز 2 mM) على المعاملتين S1 وS2 على معاملتي الشاهد السليم والمعدى بفروق معنوية، إذ بلغ محتوى حمض الساليسيليك بوجود وغياب العدوى بالفيروس (17.90– 14.14 ميكروغرام/غ طازج) على التوالي، مقارنة مع معاملة الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

وسجّل أعلى محتوى لحمض الساليسيليك لدى المعاملة بالمخصب الحيوي الأول مع التركيز الثالث لحمض الساليسيليك M1S3 وبفروق معنوية بالمقارنة مع كافة المعاملات والشاهدين بوجود وغياب العدوى بالفيروس حيث بلغت (52.76 – 32.78 ميكروغرام/غ طازج) على التوالي قياسا بمعاملة الشاهدين السليم والمعدى غير الملقحين بالبكتريا وغير المعاملين بحمض الساليسيليك.

لوحظ من خلال النتائج تفوق معاملة الشاهد المعدى معنوياً على معاملة الشاهد السليم، بالإضافة لزيادة محتوى الأوراق من حمض الساليسيليك الحر لدى المعاملات الملقحة والمعداة بالفيروس بالمقارنة مع مثيلتها الملقحة بالبكتيريا فقط، ويشير ذلك لقدرة بكتريا المحفزة لنمو النبات على تحفيز آليات المقاومة الجهازية وتخفيض تأثير الفيروس في نباتات الفليفلة، ولتحفيز فيروس موزاييك الخيار النبات على إنتاج حمض الساليسليك كرد فعل دفاعي تجاه الفيروس، لأن حمض الساليسيليك يعتبر الإشارة الكيميائية المسؤولة عن تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) (Naylor *et al.,* 1998). إن حمض الساليسليك يحفز المقاومة الجهازية المكتسبة SAR داخل العديد من النباتات ضد الفيروسات النباتية بتنشيط بعض مورثات الدفاع في النبات منتجة بروتينات PRsمرتبطة بالإمراضية Pathogen Releated Proteins ، وبالتالي مقاومة النبات للأمراض الفيروسية. وتتوافق نتائج دراستنا مع ما أشار له (إبراهيم وآخرون، 2017).

إن الأنواع البكتيرية المحفزة للنمو المستخدمة في تلقيح نباتات الفليفلة والمعداة بفيروس موزاييك الخيار، زادت من تركيز حمض الساليسيليك الحر في الأوراق بالمقارنة مع الشاهدين السليم والشاهد المعدى بالفيروس غير المعاملين بالبكتيريا. وفي دراسة أخرى أشار (Murphy *et al.,* 1999, 2004) إلى أن زيادة حمض الساليسليك داخل النبات مرتبط بزيادة المقاومة الجهازية للنبات ضد الممرضات الفيروسية، كما بين Naylor) (*et al.*, 1998أن حمض الساليسليك حفز المقاومة الجهازية للنباتات ضد فيروس موزاييك الخيار عن طريق منع الحركة الانتقالية الجهازية للفيروس ضمن النبات والتي تتأثر بحمض ساليسيل هيدروكساميك. وبيّن *et al.*, (Hondo 2007) أن حمض الساليسيليك حفز تشكيل الجينات المضادة للإمراضية PR1 وPR2 لدى نباتات البندورة. وأشير في دراسة أخرى (Choudhary *et al.,* 2007) إلى أن بعض أنواع بكتريا PGPR حفزت مسار المقاومة الجهازية المكتسبة عن طريق إنتاج حمض الساليسيليك على سطح جذر النبات

الاستنتاجات والتوصيات:

- أدى تلقيح نباتات الفليفلة بالمخصبين الحيويين وحمض الساليسيليك بوجود العدوى بفيروس موزاييك الخيار وغيابها إلى تحفيز المقاومة الجهازية في النبات بزيادة كمية الكلوروفيل أ والكلوروفيل ب والكاروتينوئيدات ومحتوى حمض الساليسليك في أوراق نباتات الفليفلة في معاملات التجربة جميعها، ما يشير لتفعيل آليات المقاومة الجهازية داخل نباتات الفليفلة ضد فيروس موزاييك الخيار.

- أظهرت معاملة التلقيح بالمخصب الحيوي الأول مع التركيز الثالث من حمض الساليسيليك أفضل النتائج في الحدَ من تأثير فيروس موزاييك الخيار في نباتات الفليفلة وتحفيز المقاومة الجهازية (SR).

- نوصي باعتماد التلقيح بالمخصب الحيوي بإضافته إلى بذور وشتول النباتات لتحسين نموها، وتطبيقه على نباتات اخرى.

- إمكانية استخدام بكتيريا الدراسة في تحفيز المقاومة لدى النباتات ضد فيروس موزاييك الخيار، واختبار فعاليتها على الممرضات النباتية الأخرى.

المراجع:

1. إبراهيم، محمد سلمان؛ حماد، ياسر علي و راعي، سليم يونس. 2017. تأثير بعض أنواع الرايزوبكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR) في نمو وانتاج الفليفلة والإصابة بفيروس موزاييك الخيار (CMV). مجلة جامعة البعث. سورية، المجلد (39).

2. إسماعيل، عماد دأود؛ القاعي، باسل فهمي؛ يوسف، ريم نوفل 2007. التحري عن بعض الأمراض الفيروسية على محصول الفليفلة في المنطقتين الوسطى والساحلية من سورية .مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم البيولوجية. المجلد (9) العدد (2)، 97-105.

3. حماد، ياسر ؛ الشامي، رامز. 2017. توصيف بعض أنواع بكتريا الرايزوسفير المحفزة لنمو النبات من بعض الأسمدة الحيوية والتربة. مجلة جامعة البعث. سورية. المجلد 39، ص25.

4. الشامي، رامز محمد؛ اسماعيل، عماد داود ، حماد، ياسر علي.2018. تأثير ثلاثة أنواع من البكتيريا المحفزة للنمو PGPR في تحريض المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار لدى نبات البندورة. المجلة السورية للبحوث الزراعية .5(4):227-239

5. الشامي، رامز.2019.تأثير بعض الأنواع البكتيرية (PGPR) في الحد من الإصابة بفيروس موزاييك الخيار على البندورة. أطروحة دكتوراه كلية الزراعة، جامعة تشرين.

6. الفضل، فضل عبد حسين، عمار سعد ناصر الحارس.2018.استحثاث المقاومة الجهازية لنبات الفلفل ضد فايروس موزاييك الفلفل باستخدام بعض الاحياء الحيوية. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. العراق 10(2):124-149.

7. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. 2018. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية.

8. المغربي، صباح؛ رزق ، بشرى؛ حماد، ياسر. 2016. دراسة تأثير بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* مخبرياً. مجلة وقاية النبات العربية. عدد2. المجلد34، 14 – 135 .

9. Ahmed. W, M. Imran, M.Yaseen, T. Haq, M. U. Jamshaid, S. Rukh, R. M. Ikram, M.Ali, A. Ali, M. Maqbool, M.Arif, M. A.Khan.2020, *Role of salicylic acid in regulating ethylene and physiological characteristics for alleviating salinity stress on germination, growth and yield of sweet pepper .PeerJ* 8:e8475.

10. AMIRINEJAD, A.-A., M. SAYYARI, F. GHANBARI, S. KORDI .2017, *Salicylic acid improves salinity Salicylic acid improves salinity-alkalinity tolerance in pepper (Capsicum annuum L.) Adv. Hort. Sci.*, 31(3): 157-163

11. ARNON, D.I.1949, *Plant Physiology. University of California, Berkeley*. p241.

12. BOLLARD, E.G. AND MATHEWS, R.E.F. 1966, *The physiology of parasitic diseases. In F.C. steward* (Ed) *plant physiology 4(b*) Acad. Pres, New York, 599p.

13. CANAKCI, S. 2011, *Effects of salicylic acid on growth, biochemical constituents in pepper (Capsicum annuum L.) seedlings. Pak J Biol Sci*, , Feb 15;14(4):300-4

14. CHATURVEDI R, AND SHAH J. 2007, *Salicylic acid in plant disease resistance. In Salicylic acid: A plant hormone. Hayat S and Ahmad A, eds., Springer, Dordrecht, The Netherlands*, pp. 335-370.

15. CHOUDHARY, D.K. ; A. PRAKASH. AND B.N JOHRI. 2007, *Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. Indian Journal of Microbiology*. 47 (4): 289-297.

16. DAGNOKO, S. N, YARO-DIARISSO, P. N. SANOGO, O. ADETULA. 2013, Overview of Pepper (Capsicum spp.) breeding in West Africa. African journal of agricultural research, 8(13):1108-1114.

17. HAMAD, Y, 2019, isolation and identification of some species of plant growth promoting rhizobacteria(pgpr)from some bio-fertilizers ,the arab journal foe arid environment.

18. HONDO D, S. HASE, Y. KANAYAMA, N. YOSHIKAWA, S. TAKENAKA and H. TAKAHASHI. 2007, The LeATL6 -associated ubiquitin/proteasome system may contribute to fungal elicitor-activated defense response via the jasmonic acid-dependent signaling pathway in tomato. Mol Plant-Microbe Interact 20:72–81.

19. Hussain M, Nawaz K, Majeed A, Ilyas U, Lin F, Ali K, Nisar MF (2011). Role of exogenous salicylic acid applications for salt tolerance in violet. Sarhad J. Agric. 27:151-175.

20. JARAK.M.N., S.S.DURIC and B.D.DORDEVIC. 2010, Benefits Of inoculation with Azotobacter in the growth production of Tomato and Pepper. Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad. Serbia, No 119, 71-76.

21. JEFFRIES C.J. 1998, Potato. FAO/IPGRI technical *guidelines for the safe movement of germplasm.* 19, p 62–63.

22. KALAIVANI, M., JEBAESAN, A., MARAGATHAVALLI, S., ANNADURAI. B. AND GANGWAR, S. K. 2013, *Studies On Chlorophyll Content, Soluble Protein, Carbohydrates And Moisture Content OF Morus alba Linn*. *International Jornal of Science and Nature*. Vol. 4(1) :P 131- 137.

23. MALKIN, R., & NYOGI, K. 2000, *Photosynthesis. In B.B. Buchanan, W. Gruissem, & R.L. Jones (Eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. (pp. 568-628). *Rockville, MD, USA: ASPP*.

24. MARIA J. GIL and VÍCTOR MARTÍNEZ-MERINO. 2007, *Determination of The Free SalicylicAcid Concentration in Aspirin Byforming Fe+3 Complexe*s.www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/. P8.

25. MATEO A, MU¨ HLENBOCK P, RUSTERUCCI C, CHANG CC, MISZALSKI Z,KARPINSKA B, PARKER JE, MULLINEAUX PM, KARPISNKI S. 2004, *lesion simulating disease1 is required for acclimation to conditions that promote excess excitation energy. plant physiology* 136, 2818–2830.

26. MELOTTO M, UNDERWOOD W, KOCZAN J, NOMURA K, HE SY. 2006, *Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion.Cell* 126, 969–980.

27. MURPHY AM, A. GILLILAND, C.J. YORK, B. HYMAN, J. P. CARR. 2004, *High-level xpression of alternative oxidase protein sequences enhances the spread of viral vectors in esistant and susceptible plants*. *J Gen Virol* 85:3777–3786.

28. MURPHY, A., CHIVASA, S., SINGH, D. AND CARR, J. 1999, *Salicylic acid-induced resistance to viruses and other pathogens: a parting of the ways? Trends in Plant Science Reviews*, 4, 155-160.

29. NASSAR, G.A. 1998, *Algal activity against local and systemic plant viral infection. Ph.D. Thesis, Faculty of Science, Zagazig University, Zagazig,* Egypt, 164p.

30. NAYLOR, M., MURPHY, A., BERRY, J. AND CARR, J. 1998, *Salicylic Acid can induce resistance to plant virus movement. Molecular plant - Microbe Interactions*, 11, 860-868.

31. NIENHAUS, F. 1981, *Virus and similar diseases in tropeical and subtropical areas.Published by German Agency for Technical Cooperation(GTZ).*16-20p.

32. REDDICK, B. B. AND HABERA, L. F. 1999, *New Resistance to Plant Viruses in Pepper. The University of Tennessee, Knoxville,TN*, USA.

33. .SAHARAN, B,S. and V NEHRA. 2011, *Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. Life Sciences and Medicine Research*, Volume: LSMR-21.

34. SIMAEI M, KHAVARI-NEJAD R.A, BERNARD F. 2012,. *Exogenous application of salicylic acid and nitric oxide on the ionic contents and enzymatic activities in nacl-stressed soybean plants. American Journal of Plant Sciences*, 3: 1495-1503.

35. 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.

36. SINGH.,JAY SHANKAR. 2013, *Plant Growth Promoting Rhizobacteria Potential Microbes for Sustainable Agriculture. (Central)* University, Raibarely Road, Lucknow 226025 Uttar Pradesh, India, ,pp7.

37. SUTIC, P., D.D., FOR, R.E.,and TOSIC, M.T. 1999, *Hand book of plant virus diseases*. CRC prees. 126-134pp.

38. UZUNOVA AN, POPOVA LP. 2000,. *Effect of salicylic acid on leaf anatomy and chloroplast ultrastructure of barley plants. Photosynthetica* , 38, 243–250

39. ZHANG .LI-NA, DA-CHENG WANG, QIANG HU, XIANG-QUN DAI, YUE-SHENG XIE, QING LI, HUA-MEI LIU and JIAN-HUA GUO. 2009,. *Consortium of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Strains Suppresses Sweet Pepper Disease by Altering the Rhizosphere Microbiota.*, Front, Microbiol, 10:1668.