تحفيز المقاومة الجهازية في نباتات الخيار إزاء فيروس موزاييك الخيار (CMV) باستخدام البكتريا *Pseudomonas fluorescens* Migula

رقيب عاكف العاني وليث خليل توفيق
قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق، البريد الالكتروني: maa_adhab@hotmail.com

الملخص

العاني، رقيب عاكف وليث خليل توفيق. 2011. تحفيز المقاومة الجهازية في نباتات الخيار إزاء فيروس موزاييك الخيار (CMV) باستخدام البكتريا *Pseudomonas fluorescens* Migula. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 36-42.

أجريت هذه الدراسة لتقويم كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* على تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار (CMV) في نباتات الخيار. عوملت البذور والجذور في إحدى التجارب بمعلق البكتريا بتركيز 4×10^9 وحدة تكوين مستعمرة/مل ثم أعديت البادرات بفيروس موزاييك الخيار عند ثلاث مراحل من النمو (الأوراق الفلقية، الأوراق الحقيقية، وبعد أسبوع). كما رشت الأوراق الفلقية بمعلق البكتريا ثم أعديت بفيروس موزاييك الخيار بعد 2، 7 و 14 يوماً من المعاملة. وجرى متابعة تضاعف الفيروس في النباتات المعاملة باختبار إليزا (ELISA). أظهرت النتائج أن معاملة البذور بمعلق البكتريا 4×10^9 أدت إلى خفض تضاعف الفيروس بنسبة 81.3 و 84.37 و 86.55% خلال الفترات الثلاث، على التوالي، بعد 10 أيام من العدوى بالفيروس. وأدت معاملة الجذور بالبكتريا إلى خفض تضاعف الفيروس بنسبة 61.47 و 69.60 و 75% خلال الفترات الثلاث من العدوى بالفيروس، على التوالي. وأدى رش الأوراق الفلقية بالبكتريا إلى خفض تضاعف الفيروس بنسبة 64.69 و 73.19 و 83.08% للفترات الثلاث من العدوى، على التوالي. وظهر من النتائج أنه كلما طالت الفترة بين المعاملة بالبكتريا والإعداء بالفيروس، كلما زادت كفاءة البكتريا في تثبيط الفيروس.

كلمات مفتاحية: اختبار إليزا (ELISA)، البكتريا *Pseudomonas fluorescens*، فيروس موزاييك الخيار (CMV)، المقاومة الجهازية المنشطة، مكافحة حيوية.

المقدمة

حظيت البكتريا المعزولة من محيط جذور النباتات باهتمام كبير من قبل الكثير من الباحثين كمحفزات للنمو وعنصراً من عناصر المكافحة الأحيائية لمسببات أمراض النبات وأطلق عليها Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) (16). واستعملت البكتريا *Bacillus pumillus* و *Curobacterium flaccumfaciens* ضد مسببات مرضية عديدة (20). وأشير إلى أن PGPR قادرة على استحثاث مقاومة جهازية ضد العديد من المسببات الفطرية والبكتيرية والديدان الثعبانية والفيروسات (11). وأدت معاملة نباتات الطماطم/البندورة المصابة بفيروس موزاييك الخيار (*Cucumber mosaic virus*) بـ PGPR إلى انخفاض تركيز الفيروس وشدة الأعراض وزيادة في إنتاجية المحصول (28). واستعملت البكتريا *Pseudomonas fluorescens* بكفاءة في مكافحة الفطرين *Macrophomina phaseolina* و *Rhizoctonia solani* على نباتات زهرة/دوار الشمس (3)، وأدى استعمالها إلى خفض شدة الإمراضية بـ *Rhizoctonia solani* على القطن (1). واستعملها الدليمي (2) في مكافحة الفطرين *Pythium aphanidermatum* و *Pseudoperonospora cubensis*.

استعملت هذه البكتريا أيضاً في مكافحة البكتريا *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* المسببة لمرض اللفحة البكتيرية على الرز وأدت إلى خفض شدة المرض من 6.7 إلى 1.1 حسب مقياس مطور (27). ووجد Landa وآخرون (12) أن البكتريا *Pseudomonas fluorescens* لها القدرة على تثبيط الفطور الممرضة للجذور عن طريق إنتاج المركب 2,4-Diacetylphloroglucinal. وأوضح Bakker وآخرون (5) أن *Pseudomonas fluorescens* تعمل بعدة آليات لكبح المسببات المرضية منها إنتاج المضادات الحيوية واستحثاث المقاومة الجهازية، وأن لهذه البكتريا القدرة على تثبيط مدى واسع من الممرضات (24).

ونظراً للانتشار الواسع لفيروس موزاييك الخيار في البيوت المحمية والخسائر الكبيرة التي يسببها وعدم وجود طريقة كفوءة في مكافحته، فقد أجريت هذه الدراسة بهدف مكافحة الفيروس عن طريق استحثاث مقاومة جهازية في نباتات الخيار بوساطة البكتريا *Pseudomonas fluorescens*.

مواد البحث وطرائقه

الفيروس – تم الحصول على عزلة من فيروس موزاييك الخيار من مختبر الفيروسات بقسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق. تم تأكيد تشخيصها مصلياً باختبار ELISA.

المصل المضاد – تم الحصول على المصل المضاد لفيروس موزاييك الخيار من الدكتورة صفاء قمري، المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ايكاردا)، حلب، سورية. نقي المصل وتم الحصول على الجاما غلوبيلين (δ-globulins) (7).

اختبار اليزا – ربطت الأجسام المضادة المنقاة (الجاما غلوبيلين) بأنزيم الفوسفاتيز القلوي (alkaline phosphatase)، وتم إجراء اختبار إليزا كما وصف سابقاً (7). قيست شدة التفاعل بامتصاص العينات للضوء عند طول موجة 405 نانومترات بوساطة قارىء اليزا إنتاج شركة BDSL، انكلترا (7).

البكتريا – تم الحصول على عزلة من البكتريا *Pseudomonas fluorescens* من قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة الكوفة، العراق. نميت البكتريا على وسط King's B السائل (20 غ ببتون، 2.5 غ فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين (K_2HPO_4)، 6 غ كبريتات المغنسيوم ($MgSO_4$)، 15 مل جليسيرول، وإكمال الحجم إلى لتر ماء مقطر) في أنابيب اختبار، وحُضنت الأنابيب عند درجة حرارة 28±2 °س مدة 48 ساعة، واستدل على نمو البكتريا بظهور صبغة مومضة عند تعريض المزرعة للأشعة فوق البنفسجية (UV). لُقح بجزء من المزرعة السائلة الوسط الغذائي KB الصلب (يضاف الآجار للوسط السائل بنسبة 1.7%) في أطباق بتري بطريقة التخطيط وحُضنت عند درجة حرارة 28±2 °س مدة 48 ساعة. انتخبت مستعمرات فردية ونُقلت إلى الوسط KB السائل في دوارق زجاجية سعة 250 مل. عُرضت الدوارق للرج في هزاز كهربائي مدة 10 دقائق وحُضنت عند درجة حرارة 28±2 °س مدة 48 ساعة للحصول على عزلة نقيه من البكتريا التي استعملت في الدراسات اللاحقة.

تقدير تركيز البكتريا – حُضرت التخفيفات 10^{-1} – 10^{-9} من المزرعة البكترية السائلة، وزُرع 1 مل من كل تخفيف على وسط KB الصلب في أطباق بتري ثم حُضنت عند درجة حرارة 28±2 °س مدة 48 ساعة وحُسب عدد المستعمرات النامية، ثم قُدر التركيز بضرب عدد المستعمرات في مقلوب التخفيف (6).

تأثير معاملة النباتات بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* في تضاعف فيروس موزاييك الخيار

ملئت أصص فخارية معقمة بخليط تربة معقمة، وزرع في قسم منها بذور خيار غطست في معلق البكتريا 4×10^9 وحدة تكوين مستعمرة (CFU)/مل مدة 24 ساعة، وذلك بمعدل ثلاثة بذور لكل أصيص. حضر اللقاح المعدي بسحق أوراق خيار مصابة في مهراس خزفي مع محلول منظم فوسفاتي 0.1 جزيء، عند درجة حموضة 7، بنسبة 1:1 (وزن : حجم)، ورشح المستخلص من خلال طبقتين من قماش الشاش واعتمد الراشح لقاحاً للفيروس. أعديت البادرات النابتة ميكانيكياً (باستخدام الكاربورانـدوم كمادة مخرشة) بمستخلص الفيروس. زُرعت بذور خيار غير معاملة بالبكتريا في القسم الثاني من الأصص وعوملت البادرات بعد الإنبات بالبكتريا بطريقتين: الأولى بإضافتها إلى التربة والأخرى رشاً على المجموع الخضري بمعدل 100 مل/أصيص من معلق البكتريا تركيزه 4×10^9 وحدة تكوين مستعمرة (CFU)/مل، وكانت المعاملات على النحو الآتي: 1) بذور معاملة بالبكتريا ثم عدوى البادرات بالفيروس في مرحلة الأوراق الفلقية؛ 2) إضافة البكتريا إلى التربة ثم العدوى بالفيروس في مرحلة الأوراق الفلقية؛ 3) عدوى البادرات بالفيروس في مرحلة الأوراق الفلقية (شاهد)؛ 4) بذور معاملة بالبكتريا ثم عدوى البادرات بالفيروس في مرحلة الأوراق الحقيقية؛ 5) إضافة البكتريا إلى التربة ثم العدوى بالفيروس في مرحلة الأوراق الحقيقية؛ 6) عدوى البادرات بالفيروس في مرحلة الأوراق الحقيقية (شاهد)؛ 7) بذور معاملة بالبكتريا ثم عدوى النباتات بعد اسبوع من ظهور الأوراق الفلقية؛ 8) إضافة البكتريا إلى التربة في مرحلة الأوراق الفلقية ثم عدوى النباتات بعد أسبوع من الإضافة؛ 9) عدوى البادرات بالفيروس بعد اسبوع من ظهور الأوراق الفلقية (شاهد)؛ 10) رش النباتات بالبكتريا في مرحلة الأوراق الفلقية ثم العدوى بالفيروس بعد 48 ساعة؛ 11) عدوى النباتات بالفيروس بعد 48 ساعة من ظهور الأوراق الفلقية (شاهد)؛ 12) رش النباتات بالبكتريا في مرحلة الأوراق الفلقية ثم العدوى بالفيروس بعد أسبوع من الرش؛ 13) عدوى النباتات بعد اسبوع من ظهور الأوراق الفلقية (شاهد)؛ 14) رش النباتات بالبكتريا في مرحلة الأوراق الفلقية ثم العدوى بالفيروس بعد أسبوعين من الرش؛ 15) عدوى النباتات بالفيروس بعد أسبوعين من ظهور الأوراق الفلقية (شاهد)؛ 16) معاملة النباتات بالبكتريا مع التربة في مرحلة الأوراق الفلقية (شاهد)؛ 17) نباتات سليمة غير معاملة بالبكتريا وغير معداة بالفيروس (شاهد).

جرت متابعة تطور الفيروس باختبار ELISA، وقُدرت النسبة المئوية لتثبيط الفيروس بعد 10 أيام من العدوى حسب المعادلة التالية:

$$\text{\% تثبيط} = \frac{\text{الامتصاص عند طول موجة 405 نانوميترات للشاهد} - \text{الامتصاص عند طول موجة 405 نانوميترات للمعاملة}}{\text{الامتصاص عند طول موجة 405 نانوميترات للشاهد}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

تأثير معاملة النباتات بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* في تطور الفيروس

معاملة البذور والجذور بالبكتريا ثم العدوى بالفيروس في مراحل مختلفة – أظهرت نتائج اختبار إليزا لعينات من نباتات خيار ناتجة من بذور معاملة بالبكتريا وتلك التي أضيفت لها البكتريا إلى الجذور ثم أعديت بالفيروس في مرحلة الأوراق الفلقية تأثيراً تثبيطياً لتطور CMV، إذ بلغت نسبة تثبيط الفيروس 81.38% و 69.47%، على التوالي بعد 10 أيام من العدوى (جدول 1). وبلغ امتصاص العينات المختبرة للضوء عند طول موجة 405 نانوميترات 0.23 و 0.48، على التوالي مقارنة مع 1.246 لعينات من نباتات معداة بالفيروس فقط، و 0.047 لعينات من نباتات سليمة غير معاملة وغير معداة بالفيروس. وبلغت أعلى نسبة تثبيط للفيروس في النباتات المعاملة بالبكتريا في مرحلتي البذور والجذور ومعداة بالفيروس في مرحلة الأوراق الأولية 84.37% و 69.60%، على التوالي بعد 10 أيام من العدوى، إذ بلغت نسبة امتصاص العينات للضوء عند طول موجة 405 نانوميترات 0.2 و 0.389 للمعاملتين، على التوالي مقارنة مع 1.28 لعينات من نباتات معداة بالفيروس فقط و 0.047 للنباتات غير المعاملة وغير المعداة بالفيروس (جدول 2).

جدول 1. تأثير معاملة نباتات الخيار بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* والعدوى بفيروس موزاييك الخيار في بمرحلة الأوراق الفلقية في تطور الفيروس مقدرة باختبار اليزا.

Table 1. Effect of treatment with *Pseudomonas fluorescens* and *Cucumber mosaic virus* at cotyledons stage on virus multiplication as estimated by ELISA.

Period (days) المدة بالأيام 20	18	16	14	12	10	8	6	4	المعاملة Treatment
1.533	1.489	1.422	1.455	1.581	1.246	1.171	0.896	0.560	شاهد (فيروس فقط) Control (virus only)
0.680	0.649	0.547	0.480	0.334	0.232	0.269	0.360	0.453	معاملة البذور Seed treatment
1.048	1.086	1.067	0.965	0.732	0.480	0.538	0.640	0.495	معاملة الجذور Root treatment
0.028	0.026	0.026	0.042	0.028	0.047	0.043	0.007	0.035	شاهد بدون معاملة Control (without treatment)
0.044	0.045	0.027	0.046	0.003	0.073	0.013	0.009	0.036	شاهد بكتريا Control (Bacteria)

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات، لامتصاص العينات للضوء عند طول موجة 405 نانوميترات.

Values represent mean of 3 replicates for ELISA readings at 405 nm.

جدول 2. تأثير معاملة نباتات الخيار بالبكتريا *P. fluorescens* والعدوى بفيروس موزاييك الخيار في مرحلة الأوراق الأولية في تكاثر الفيروس مقدرة بقيم اليزا.

Table 2. Effect of treatment with *P. fluorescens* and *Cucumber mosaic virus* at primary leaf stage on virus multiplication based on ELISA values.

Period (days) المدة بالأيام 20	18	16	14	12	10	8	6	4	المعاملة Treatment
1.475	1.549	1.466	1.520	1.520	1.280	1.113	0.965	0.580	شاهد (فيروس فقط) Control (virus only)
0.520	0.575	0.492	0.400	0.288	0.200	0.223	0.306	0.422	معاملة البذور Seed treatment
0.983	1.021	0.937	0.753	0.640	0.389	0.480	0.538	0.466	معاملة الجذور Root treatment
0.028	0.026	0.026	0.042	0.028	0.047	0.043	0.007	0.035	شاهد بدون معاملة Control (without treatment)
0.044	0.045	0.027	0.046	0.003	0.073	0.013	0.009	0.036	شاهد بكتريا Control (Bacteria)

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات، لامتصاص العينات للضوء عند طول موجة 405 نانوميترات.

Values represent mean of 3 replicates of ELISA readings at 405 nm.

وأدت معاملة النباتات بالبكتريا في مرحلتي البذور والجذور ثم العدوى بالفيروس بعد أسبوع من ظهور الأوراق الفلقية إلى أعلى تثبيط للفيروس مقداره 86.55% و 75.04%، على التوالي بعد 10 أيام من العدوى. و كانت نسبة امتصاص العينات للضوء عند طول الموجة 405 نانوميترات 0.16 و 0.297 للمعاملتين، على التوالي مقارنة مع 1.19 للنباتات المعداة بالفيروس فقط و 0.047 للنباتات غير المعاملة بالبكتريا وغير المعداة بالفيروس (جدول 3).

يلاحظ من هذه النتائج أن معاملة البذور بالبكتريا أعطت أعلى نسبة تثبيط للفيروس، وربما يعود هذا إلى أن وجود البكتريا في مرحلة مبكرة من الإنبات يحفز تكوين مركبات مضادة للفيروس تنتقل جهازياً في النبات وتعمل على الحد من تضاعف الفيروس.

رش البكتريا على المجموع الخضري ثم العدوى بالفيروس في مراحل مختلفة – أدى رش بادرات الخيار في مرحلة الأوراق الفلقية ثم العدوى بالفيروس بعد 48 ساعة، أسبوع وأسبوعين إلى تثبيط تكاثر الفيروس بنسبة 64.69، 73.19 و 83.08%، على التوالي بعد 10 أيام من العدوى، إذ بلغت قيم امتصاص العينات للضوء عند طول موجة 405 نانوميترات 0.353، 0.234 و 0.104، على التوالي مقارنة مع 1.073، 0.873 و 1.101 لعينات من نباتات معداة بالفيروس فقط، و0.047 لعينات من نباتات سليمة غير معاملة وغير معداة بالفيروس (جدول 4). ويلاحظ من الجدول أن عدوى النباتات بالفيروس بعد أسبوعين من المعاملة بالبكتريا أعطت أعلى نسبة تثبيط للفيروس 83.08%، وهذا يشير إلى أن وجود البكتريا في مرحلة مبكرة قبل حصول العدوى يوفر الوقت اللازم لها لكي تنمو وتستقر ثم تعمل على تحفيز إنتاج مواد تقوم بتحفيز مقاومة جهازية في النبات ضد الفيروس. ولا يستبعد أن بعض المركبات المحفزة لا تعمل مباشرة ضد الفيروس بل تعمل على تحفيز إنتاج مركبات أخرى كالبروتينات التي تؤثر في تكاثر الفيروس. وقد أشارت دراسات عديدة إلى إمكانية استعمال بكتيريا الجذور Rhizobacteria في مقاومة العديد من الممرضات مثل البكتريا *Pseudomonas fluorescens* (4، 9، 10، 15، 17، 19، 21).

إن تحفيز المقاومة بوساطة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* لفيروس موزاييك الخيار في هذه الدراسة قد يعود إلى استقرار البكتريا على سطح الجذور وإفرازها مواداً ترتبط على مستقبلات معينة عليها، فتصدر إشارات إلى بعض مورثات الخلايا لإنتاج مواد (بروتينات) تعمل على إيقاف تكاثر الفيروس. ويتم ذلك بحالة مشابهة لحدوث إصابة أولية بمسبب مرضي لاسيما تلك التي تسبب فرط حساسية Hypersensitivity ، فتحفز الخلايا المصابة على تصنيع عوامل تنتقل جهازياً إلى المناطق الأخرى من النبات وتضفي عليها مقاومة ضد المسبب (21، 23، 25). وقد أشارت بعض الدراسات إلى أن مكونات الغشاء الخلوي للبكتريا من عديدة السكريات الدهنية Lipopolysaccharides وخصوصاً السلسلة الانتيجينية O-antigenic chain هي المسؤولة عن عملية تحفيز المقاومة (14)، إذ أدى استخلاصها وتنقيتها إلى تحفيز المقاومة الجهازية.

جدول 3. تأثير معاملة نباتات الخيار بالبكتريا *P. fluorescens* والعدوى بفيروس موزاييك الخيار بعد أسبوع من ظهور الأوراق الفلقية في تكاثر الفيروس مقدرة باختبار اليزا.

Table 3. Effect of treatment with *P. fluorescens* on infection with *Cucumber mosaic virus* one week after cotyledons emergence as estimated by ELISA.

المعاملة Treatment	Period (days) المدة بالأيام 4	6	8	10	12	14	16	18	20
شاهد (فيروس فقط) Control (virus only)	0.491	0.930	1.050	1.190	1.380	1.440	1.580	1.630	1.577
معاملة البذور Seed treatment	0.432	0.310	0.180	0.160	0.230	0.300	0.400	0.460	0.390
معاملة الجذور Root treatment	0.434	0.480	0.400	0.297	0.492	0.585	0.840	0.930	0.816
شاهد بدون معاملة Control (without treatment)	0.035	0.007	0.043	0.047	0.028	0.042	0.026	0.026	0.028
شاهد بكتريا Control (Bacteria)	0.036	0.009	0.013	0.073	0.003	0.046	0.027	0.045	0.044

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات، لامتصاص العينات للضوء عند طول موجة 405 نانوميترات.

Values represent mean of 3 replicates, for ELISA readings at 405 nm.

جدول 4. تأثير رش الأوراق الفلقية لنبات الخيار بالبكتريا *P. fluorescens* وإلقاحها بفيروس موزاييك الخيار بعد 48 ساعة و أسبوع و أسبوعين من المعاملة في تكاثر الفيروس مقدرة بقيم إليزا.

Table 4. Effect of spraying *P. fluorescens* on cotyledons followed by *Cucumber mosaic virus* inoculation 48 hours, one, and two weeks later on virus multiplication based on ELISA values.

Period (days) المدة بالأيام									**المعاملة**
20	18	16	14	12	10	8	6	4	**Treatment**
0.58	0.50	0.47	0.37	0.36	0.35	0.37	0.51	0.77	القاح الفيروس بعد 48 ساعة من رش البكتريا Virus inoculation 48 hr after spray with bacteria
1.25	1.33	1.29	1.15	1.11	1.07	0.87	0.80	0.89	القاح الفيروس بعد 48 ساعة بدون رش Virus inoculation 48 hr without spray of bacteria
0.52	0.49	0.36	0.27	0.25	0.23	0.35	0.46	0.67	القاح الفيروس بعد أسبوع من رش البكتريا Virus inoculation one week after spray with bacteria
1.18	1.23	1.25	1.12	1.01	0.87	0.80	0.77	0.76	القاح بالفيروس بعد أسبوع بدون رش بكتيريا Virus inoculation one week without spray of bacteria
0.56	0.55	0.44	0.21	0.12	0.10	0.26	0.43	0.48	القاح بالفيروس بعد أسبوعين من رش البكتريا Virus inoculation two weeks after spray with bacteria
1.26	1.30	1.35	1.32	1.12	1.10	0.98	0.81	0.77	القاح بالفيروس بعد أسبوعين بدون رش بكتيريا Virus inoculation two weeks without spray of bacteria
0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	0.05	0.04	0.01	0.04	مقارنة بدون معاملة Control (without treatment)
0.04	0.05	0.03	0.05	0.01	0.07	0.01	0.01	0.04	مقارنة بكتريا فقط Control (Bacteria only)

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات، لامتصاص العينات للضوء عند طول موجة 405 نانوميترات.

Values in the table represent mean of 3 replicates, for ELISA values at 405 nm.

ويعتقد أن الجزء الكاربوهيدراتي هو المسؤول عن التحفيز، كما أن لحامض الساليسيلك المنتج في النباتات المصابة من قبل بعض سلالات البكتريا دوراً في تحفيز المقاومة الجهازية. فقد وُجد سابقاً أن تحفيز المقاومة في نباتات التبغ إزاء فيروس موزاييك التبغ (TMV) بوساطة *P. aeruginosa*، أنه يعتمد على إنتاج حامض الساليسيلك (8، 26)، وأن الحامض المنتج ينقل إلى الأجزاء النباتية ويحفز فيها المقاومة عن طريق تحفيز تصنيع بروتينات ذات علاقة بالإمراضية (Pathogenesis related Protein) PRs تعمل على تثبيط تكاثر الفيروس وإعاقة حركته بين الخلايا (18). وأشارت دراسات أخرى إلى أن تحفيز المقاومة بوساطة البكتريا ربما يكون عن طريق إنتاج حامض الجاسمونك والإيثيلين اللذان يعتمدان على وجود البروتين NPR_1 والذي يلعب دوراً في تحفيز المقاومة الجهازية لمسببات أمراض النبات (13، 22)، ويبدو أن هذا البروتين يرتبط مع حامض RNA المسؤول عن PR-Proteins (29). يشير هذا إلى أن آلية تحفيز المقاومة الجهازية تختلف من نوع نباتي لآخر ومن سلالة بكتيرية لأخرى. ويستخلص من هذه الدراسة أنه بالإمكان معاملة البذور باستخدام البكتريا *P. fluorescens* في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار، إذ أن وجودها على جذور النباتات يعمل على تحفيز عوامل المقاومة فيها قبل حصول الإصابة وبالتالي تكون حدة الإصابة والخسائر الاقتصادية أقل.

Abstract

Al-Ani, R.A. and L.K. Tawfik. 2011. Induced of Systemic Resistance in Cucumber Plants Against *Cucumber mosaic virus* (CMV) by *Pseudomonas fluorescens* Migula. Arab Journal of Plant Protection, 29: 36-42.

This study was carried out to evaluate the efficacy of *Pseudomonas fluorescens* in inducing systemic resistance against cucumber mosaic virus (CMV) in cucumber plants. Seeds and roots were treated by a suspension of *Pseudomonas fluorescens* followed by seedlings inoculation with CMV at three growth stages; cotyledonary leaves, primary true leaves, and one week later. Bacteria was also applied on cotyledonary leaves and seedlings were inoculated with CMV 2, 7 and 14 days after treatment. The virus multiplication in plants was monitored by ELISA. Results showed that seeds treatment with bacteria reduced virus multiplication by 81.3, 84.37 and 86.55% at the three growth stages, respectively, 10 days after virus inoculation. Root treatment caused virus reduction of 61.47, 69.60 and 75% for the three virus inoculations, respectively. Similarly, the application of bacteria on cotyledonary leaves caused a reduction in virus multiplication of 64.69, 73.19 and 83.08% for the three virus inoculations, respectively. It was evident that the longer the period between the treatments with bacteria and inoculation with CMV, the higher was the effect on virus multiplication.

Keywords: ELISA test, *Pseudomonas fluorescens*, Cucumber mosaic virus, induced systemic resistance, biological control.

Corresponding author: ***Rakib Akif Al-Ani, Plant Protection Department, College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq, Email: maa_adhab@hotmail.com***

References

المراجع

1. **الجبوري، صبا باقر عبد خلف.** 1998. اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* على محصول القطن، الاستجابة والمقاومة الحيوية لمرض الخناق *Rhizoctonia solani*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق، 99 صفحة.
2. **الدليمي، إسماعيل عباس جديع.** 2000. تقويم كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* Migula في استحثاث مقاومة جهازية في نبات الخيار ضد الفطرين الممرضين *Pythium aphanidermatum*(Edsonl)fitz و *Pseudopernospora cubensis* (BerkandCurt) Rostow. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق، 74 صفحة.
3. **العاني، ناهدة مهدي صالح.** 1997. فعالية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* ضد الإصابة بالفطرين *Macrophomina phaseolina* و *Rhizoctonia solani* في ظروف البيت الزجاجي. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 28: 69-73.

4. **Baker, B., P. Zambryski, B. Staskawicz and S.P. Dinesh-Kumar.** 1997. Signaling in plant-microbe interactions. Science, 276: 726-733.
5. **Bakker, P.A.H.M., L.X. Ran, C.M.J. Pieterse and L.C. Van Loon.** 2003. Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant disease. Canadian Journal of Plant Pathology, 25: 5-9.
6. **Clark, F.E.** 1965. Agar-Plate method for total microbial count. C.F. Black, Method of soil analysis, part 2. Publisher Madison, Wisconsin, U.S.A. 1572 pp.
7. **Clark, M.F. and A.N. Adams.** 1977.Characteristic of the microplate methods of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34:475-483.
8. **De Meyer, G., M. Hofte, B. Duffy, U. Rosenberger and G. Defago.** 1998. Inducton of systemic resistance by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 is a salicylic acid dependent phenomenon in tobacco. Bulletin OILB SROP, 21:117-121.
9. **Heil, M. and R.M. Bostock.** 2002. Induce systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. Annals of Botany, 89: 503-512.
10. **Heil, M.** 1999. Systemic acquired resistance: available information and open ecological questions. Journal of Ecology, 87: 341-346.
11. **Kloepper, J.W., R. Rodriguez-Kabana, G.W. Zehnder, J.F. Murphy, E.J. Sikora and C. Fernandez.** 1999. Plant root-bacterial interaction in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. Australasian Plant Pathology, 28: 21-26.
12. **Landa, B.B., H.A.E. De Werd, B.B. McSpadden-Grardener and D.M. Weller.** 2002. Comparison of three methods for monitoring populations of different genotype of 2,4-diacetylphloroglucinol producing *Pseudomonas fluorescens* in rhizosphere. Phytopathology, 92: 129-137.
13. **Lazarovits, G. and J. Nowak.** 1997. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. Hortscience, 32:188-192.
14. **Leeman, M., J.A. Van Pelt, F.M. Den Ouden, M. Heinsbroek, P.A.H.M. Bakker and B. Schippers.** 1995. Induction of systemic resistance against Fusarium wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathology, 85: 1021-1027.
15. **Mauch-Mani, B. and J.P. Metraux.** 1998. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. Annals of Botany, 82: 535-540.
16. **Maurhofer, M., C. Hase, P. Meuwly, J.P. Metraux and G. Defago.** 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: influence of the *gacA* gene and pyoverdine production. Phytopathology, 84: 139-146.
17. **Metraux, J.P., C. Nawrath and T. Genoud.** 2002. Systemic acquired resistance. Euphytica, 124: 237-243.
18. **Naylor, M., A.M. Murphy, J.O. Berry and J.P. Carr.** 1998. Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement. Molecular Plant-Microbe Interactions, 11:860-868.
19. **Pieterse, C.M.J., J.A. Van Palt, S.C.M. Van Wees, J. Ton, K.M. Leon-Kloosterziel, J.J.B. Keurentjes, B.W.M. Verhagen, M. Knoester, I. Van der Sluis, P.A.H.M. Bakker and L.C. Van Loon.** 2001. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signaling, and expression. European Journal of Plant Pathology, 107: 51-61.
20. **Raupach, G.S. and J.W. Kloepper.** 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. Phytopathology, 88: 1158-1164.
21. **Ryals, J., K. Weymann, K. Lawton, L. Friedrich, D. Ellis, H.Y. Steiner, J. Johnson, T.P. Delaney, T. Jesse, P. Vos and S. Uknes.** 1997. The Arabidopsis NIM1 protein shows homology to the mammalian transcription factor inhibitor I kappa B. Plant Cell, 9: 425-439.
22. **Ryals, J.A., U.H. Neuenschwander, M.G. Willits, A. Molina, H.Y. Steiner and M.D. Hunt.** 1996. Systemic acquired resistance. Plant Cell, 8: 1809-1819.
23. **Ryu, C.M., M.A. Farag, C.-H. Hu, M.S. Reddy, J.W. Kloepper and P.W. Pare.** 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 134: 1017-1026.
24. **Sharma, A. and B.N. Johri.** 2003. Combat of iron-deprivation through a plant growth promoting fluorescent pseudomonas strain GRP3A in mung bean (*Vigna radiate* L. Wilzeck). Microbiological Research, 158: 77-81.

25. **Sticher, L., B. Mauch-Mani, J.P. Metraux.** 1997. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology, 35: 235-270.
26. **Van Loon, L.C. and E. Van Strien.** 1999.The families of pathogenesis-related proteins: their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology, 55: 85-97.
27. **Vidhyasekaran, P., N. Kamale, A. Ramanathan, K. Rajappan, V. Paranidharan and R. Velazhahan.** 2001. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* PF1 against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice leaves. Phytoparasitica, 29: 155-166.
28. **Zehnder, G.W., J.F. Murphy, E. Sikora and J.W. Kloepper.** 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. European Journal of Plant Pathology, 107: 39-50.
29. **Zhang, Y., W. Fan, M. Kinkema, X. Li and X. Dong.** 1999. Interaction of NPR1 with basic leucine zipper protein transcription factors that bind sequences required for salicylic acid induction of the PR-1 gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96: 6523-6528.

تاريخ الاستلام: 2009/10/31؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2010/8/3

Received: October 31, 2009; Accepted: August 3, 2010