تقويم كفاءة أربع سلالات من بكتيريا رايزوبكتر المنشطة للنمو في تحفيز المقاومة الجهازية إزاء فيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة/الطماطم في الزراعة المحمية

حنان قواس[1]، عمر حمودي[2]، أحمد أحمد[3] وعماد دأود اسماعيل[1]

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: hanankawas1@gmail.com؛

(2) مركز البحوث الزراعية، اللاذقية، سورية؛ (3) مركز البحوث الزراعية، طرطوس، سورية.

الملخص

قواس، حنان، عمر حمودي، أحمد أحمد وعماد دأود اسماعيل. 2017. تقويم كفاءة أربع سلالات من بكتيريا رايزوبكتر المنشطة للنمو في تحفيز المقاومة الجهازية إزاء فيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة/الطماطم في الزراعة المحمية. مجلة وقاية النبات العربية، 35(1): 6–15.

أجريت هذه الدراسة لتقويم طريقتي "بذور معاملة + ري" و "بذور معاملة" بأربع سلالات من بكتيريا رايزوبكتر المنشطة للنمو: *Pseudomonas chlororaphis* MA342، *Serratia.plymuthica* HRO-C48، *Bacillus subtillis* B2g و*B. subtillis* FZB27 في تحفيز المقاومة الجهازية إزاء فيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة/الطماطم في الزراعة المحمية. خلطت البذور، عند استخدام "بذور معاملة،" مع المعلق البكتيري للسلالات البكتيرية المحضر بتركيز 10^{10} خلية مشكلة للمستعمرات(cfu)/مل لكل سلالة على حدة؛ وفي استخدام "بذور معاملة + ري" عوملت البذور بالطريقة السابقة ثم أضيف 10 مل من كل معلق بكتيري بتركيز 10^{9}/مل إلى كل شتلة من شتول البندورة بعد 10 أيام من التشتيل، ثم أعديت الشتول بفيروس موزاييك الخيار بعد 19 يوما من التشتيل. سجل موعد تكشف الأعراض الظاهرية وحسبت نسبة الإصابة وشدتها بالاعتماد على الأعراض الظاهرية، كما قدر نشاط إنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة المعاملة بالبكتريا. أشارت النتائج إلى ان المعاملة بالسلالات البكتيرية الاربع أخَرت تكشف الأعراض في النباتات المعاملة مقارنة بالشاهد المعدى، وكان التأخر بطريقة "بذور معاملة + ري" اكثر وضوحا منه بطريقة "بذور معاملة" فقط، حيث تكشفت الأعراض بعد 10–13 يوماً من العدوى في النباتات عند استخدام طريقة "بذور معاملة + ري" بينما ظهرت أعراض الفيروس بعد 8–12 يوماً من العدوى في النباتات عند استخدام طريقة "بذور معاملة" فقط، في حين ظهرت الأعراض سريعا في نباتات الشاهد غير المعاملة بالبكتيريا بعد 6 ايام من العدوى. خفضت المعاملة بالسلالات البكتيرية الأربع من نسب الإصابة بالفيروس بقيم تراوحت مابين 36.11%–46.65% و 45%–63.33% بعد 14 و30 يوماً من العدوى، على التوالي، وكانت أعلى نسبة تخفيض للإصابة عند استخدام السلالة B27 بالطريقتين المتبعتين. وخفضت المعاملة بالسلالات البكتيرية من شدة الإصابة بعد 14 و30 يوماً من العدوى، وكانت نسب تخفيض شدة الإصابة بطريقة "بذور معاملة + ري" أعلى منها بطريقة "بذور معاملة" فقط لكافة السلالات البكتيرية المدروسة، مع تفوق السلالة B27 بطريقة "بذور معاملة+ ري" بنسب تخفيض 57.14% و 60.36% بعد 14 و30 يوماً، على التوالي. حسنت المعاملة بالبكتريا من نشاط إنزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة المعاملة بالبكتريا حيث تراوحت قيم نشاط إنزيم البيروكسيداز 0.039–0.097 نانومول و 0.106–0.271 نانومول مقارنة بالشاهد المعدى (0.021 نانومول و0.022 نانومول) بعد 14 و 30 يوماً من العدوى، على التوالي، مع تفوق السلالة B27 عند استخدامها بطريقة "بذور معاملة + ري".

كلمات مفتاحية: *Pseudomonas chlororaphis* MA342، *Serratia.plymuthica* HRO-C48، *Bacillus subtillis* B2g، *B. subtillis* FZB27، فيروس موزاييك الخيار، معاملة بذور، ري جذور، تحفيز المقاومة.

المقدمة

تحتل زراعة البندورة/الطماطم (*Solanum lycopersicum* L.) مركزاً مهماً بين محاصيل الخضار في جميع أنحاء العالم لما تتسم به من قيمة غذائية عالية. وصل عدد البيوت المحمية المزروعة بالبندورة/الطماطم في سورية 68057 بيتاً عام 2014 (2)، وتهدد زراعتها بالعديد من المسببات المرضية. استخدم نبات البندورة، في السنوات العشرين الأخيرة، بنجاح كنبات نموذج للكشف عن تحفيز مسارات الدفاع بعد التعرض للمسببات المرضية الفطرية والبكتيرية والفيروسية والعوامل غير الحيوية، محرضة آليات دفاع مختلفة من المقاومة (13). يصاب نبات البندورة بالعديد من الفيروسات محدثة فقداً مهماً في الغلة وانخفاضاً في نوعية الثمار. تسبب الإصابات الفيروسية مثل فيروس موزاييك الخيار *Cucumber mosaic virus* (CMV) (جنس *Cucumovirus* عائلة *Bromoviridae*) تحت ظروف الزراعة المحمية والحقلية ضعفاً في نمو نباتات البندورة/الطماطم ونقصاً في كمية الثمار ونوعيتها (18). يعد فيروس موزاييك الخيار واحداً من أهم الفيروسات التي تواجه إنتاج البندورة في بلدان عديدة (14)، ويعد من الفيروسات عالمية الانتشار وله

http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-035.1.006015
© 2016 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

أهمية اقتصادية في العديد من محاصيل الخضار والفاكهة ونباتات الزينة. من الصعب السيطرة عليه بسبب مداه العوائلي الواسع حيث يصيب أكثر من 800 نوعاً نباتياً وينتقل بالطريقة غير المثابرة بوساطة أكثر من 60 نوعاً من حشرات المنّ. تتمثل أعراض الفيروس على البندورة بتقزم عام للنبات، وتشوه وتلطخ النموات الحديثة إضافة إلى مظهر الورقة التي تشبه رباط الحذاء (21).

يمكن تحفيز المقاومة الجهازية لفيروس موزاييك الخيار بمعاملة النباتات ببكتريا غير ممرضة أو احد المنتجات البكتيرية، أو بالمعاملة ببعض المواد الكيميائية التي تكون أكثر خطورة بالمقارنة مع البكتريا. يتمثل دور هذه المقاومة الجهازية المحفزة بتحسين إنتاج النبات لإنزيمات الحماية المضادة للأكسدة، مثل إنزيم البيروكسيداز إضافة إلى تنشيط بعض مورثات الدفاع في النبات منتجة بروتينات مرتبطة بالإمراضية Pathogen Releated Proteins التي لم تدرس آلية عملها بشكل جيد (19). أشار Wojtaszek (23) إلى ان إنزيم البيروكسيداز يسهم بدور مهم في أولى السمات الملاحظة في استراتيجية الدفاع النباتية. وجد Chittoor وآخرون (7) أن بإمكان إنزيم البيروكسيداز أن يترافق مباشرة بالقدرة المتزايدة على حماية الأنسجة جهازياً باللغننة عند مهاجمة النباتات بالممرضات النباتية أو عند تعرضها لأذى ميكانيكي.

نظراً لصعوبة السيطرة على فيروس موزاييك الخيار وصعوبة السيطرة عليه من خلال مكافحة نواقله بالمبيدات الكيميائية إضافة إلى الآثار السلبية لهذه المبيدات وكلفتها المرتفعة، وحاجة المستهلك لغذاء خالي من المبيدات (8، 19)، كان لا بد من اللجوء إلى طرائق بديلة أكثر أماناً للسيطرة على الإصابة والحد منها (8، 16) منها المقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance (22). لذلك هدف هذا البحث إلى تقويم طريقتين لاستخدام أربع سلالات من بكتيريا رايزو بكتر المنشطة للنمو المختبرة في دراسة سابقة وأثبت دورها المتباين في تحفيز المقاومة الجهازية إزاء فيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة ضمن الزراعة المحمية (1)، وذلك من خلال حساب نسبة الإصابة بالفيروس وشدتها وتقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز.

مواد البحث وطرائقه

موقع تنفيذ البحث

نفذ البحث في مركز البحوث الزراعية في اللاذقية ضمن بيت بلاستيكي في تجربة نصف حقلية خلال آذار/مارس–أيار/مايو، 2016. زرعت بذور البندورة في صواني فلينية ومن ثم شتلت النباتات في أكياس بلاستيكية سوداء سعة 2 ليتر تحوي خلطة من التربة مع التورب الزراعي المعقم بنسبة 1:3.

هجين البندورة والعزلة الفيروسية والسلالات البكتيرية المستخدمة

استخدم هجين البندورة ميريل (Tomato Merel F1) مصدره الصين، والمنتج من قبل Pluriton Export B.V. والهجين معروف بإنتاجيته العالية وقابليته للإصابة بفيروس موزاييك الخيار. تم الحصول على عزلة لفيروس موزاييك الخيار معرفة سابقاً من مختبر الأمراض الفيروسية في كلية الزراعة بجامعة تشرين. حفظت عزلة الفيروس على نباتات التبغ وأعدي بها عدد من نباتات البندورة لتأمين حاجة الدراسة من اللقاح الفيروسي. استخدمت 4 سلالات بكتيرية محفوظة عند حرارة –85 °س في مختبر الأمراض البكتيرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية والتي تم الحصول عليها من المصادر المذكورة في جدول 1.

تم عزل سلالات الريزوبكتيريا المنشطة لنمو النبات المستخدمة في الدراسة على بيئة صلبة Tryptic soy agar (TSA) وحضنت عند حرارة 28 °س لمدة 24 ساعة. نقلت بعدها إلى بيئة سائلة Tryptic soy broth (TSB) (حضرت بإضافة 1.5 غ بودرة بيئة TSB إلى 50 مل ماء معقم ورجت بشكل جيد ثم وضع كل 20 مل منها في دورق). حضنت البكتريا عند حرارة المختبر 27–30 °س ضمن البيئة السائلة السابقة على هزاز ديجيتال 180 دورة/دقيقة لمدة 24 ساعة. أخذ 2 مل من المستنبت السابق ولقح بها 200 مل من بيئة سائلة من TSB بالشروط السابقة أعلاه، ثم عُرضت لطرد مركزي 4000 دورة/دقيقة وتم استبعاد الجزء الطافي واحتفظ بالراسب البكتيري. استخدمت البكتريا بطريقتين، الطريقة الأولى: بذور معاملة، حيث خلطت البذور مع المعلق البكتيري المحضر بتركيز 10^{10} cfu/مل، ولضمان التصاق البكتريا على البذور وضعت على هزاز ديجيتال بسرعة 180 دورة/دقيقة لمدة 4 ساعات عند حرارة 25–30 °س وحسب عدد الوحدات المشكلة لمستعمرات في البذرة وقد تراوح مابين 10^{6} إلى 10^{7} cfu/ البذرة، ونقعت بذور معاملة الشاهد في ماء معقم لمدة 4 ساعات ثم جففت هوائياً (9). الطريقة الثانية: بذور معاملة + ري، حيث بعد معاملة البذور بالطريقة السابقة أضيف 10 مل من كل معلق بكتيري بتركيز 10^{9} cfu/مل إلى كل شتلة من شتول البندورة بعد 10 أيام من التشتيل حسب تراكيز معتمدة في دراسة سابقة (17) مستخدمين السلالتين *Pseudomonas florescence* 89B 27 و *Serratia marcescens* 90-166 بتراكيز 5×10^{9}–1×10^{10}. كما استخدم Murphy وآخرون (15) سلالات من بكتريا *Bacillus* بتركيز 10^{7} cfu/مل.

جدول 1. السلالات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة.

Table 1. Bacterial strains used in this study.

رمز السلالة Strain code	السلالة البكتيرية Bacterial strain	المصدر Source
MA	*Pseudomonas chlororaphis* MA342	M. Hokeberg, Bioagri, Upsalla, Sweden
C48	*Serratia plymuthica* HRO-C48	Gabriele Berg, University of Gras, Austria
B2g	*Bacillus subtillis* B2g	Institute of Microbiology, University of Rostock, Germany
B27	*Bacillus subtillis* FZB27	Research Center, Berlin, Germany

تحضير المعلقات البكتيرية

تحضير اللقاح الفيروسي والعدوى الميكانيكية

حضر اللقاح الفيروسي بسحق أوراق البندورة المصابة بفيروس موزاييك الخيار مع الماء المقطر بنسبة 5:1 في جفنة بورسلان. أجريت العدوى الميكانيكية بكمية 2 مل تقريباً من اللقاح الفيروسي على ثلاث أوراق حقيقية من نباتات البندورة بعد 19 يوماً من التشتيل، وذلك بنثر بودرة كربيد السيليكون بشكل خفيف على أوراقها العلوية ومن ثم مسح الأوراق بقطعة قطن مبللة باللقاح الفيروسي باتجاه واحد. غسلت الأوراق المعاملة بلقاح الفيروس بالماء للتخلص من بقايا العصير الخلوي وكربيد السيليكون.

تصميم التجربة

صممت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة مُتضمنة 18 معاملة، بما فيها معاملات الشاهد السليم (غير معامل وغير معدى بالفيروس)، والشاهد المعدى بالفيروس فقط، والشاهد المعامل بالبكتيريا فقط.، وكررت كل معاملة ثلاث مرات وشمل كل مكرر 5 نباتات. زرعت بذور البندورة في صواني فلينية تحوي تورب معقم وقدمت لها عمليات الخدمة اللازمة. نقلت شتول البندورة بعمر 45 يوماً إلى الأكياس البلاستيكية. وزعت الأكياس داخل البيت البلاستيكي في ثلاثة خطوط مزدوجة على مسافة 40 سم بين الكيس والآخر وعلى مسافة 50 سم بين الخط والآخر. أجريت العدوى بالفيروس بعد 19 يوماً من التشتيل. حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج CO-STAT 6.4 وقورنت المتوسطات باستخدام أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمال 5%.

المعايير المعتمدة في تقويم المقاومة المحفزة بفعل بكتيريا الريزوبكتر المنشط لنمو النبات

نسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار وشدتها – حسبت نسبة الإصابة بعد 14 و30 يوماً من العدوى بالفيروس وفق المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{العدد الكلي للنباتات}} \times 100$$

وحسبت شدة الإصابة بعد 14 و30 يوم من العدوى بالفيروس وفق معادلة Yang (24):

$$\text{شدة الإصابة \%} = \frac{\text{مجموع (درجة الإصابة} \times \text{عدد النباتات في كل درجة)}}{\text{العدد الكلي للنباتات} \times \text{أعلى درجة إصابة}} \times 100$$

كما حسب معدل التخفيض في نسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار وشدتها نتيجة المعاملة بالبكتريا وذلك وفق المعادلة التالية:

$$\text{معدل التخفيض في نسبة الإصابة\%} = \frac{\text{نسبة الإصابة للشاهد المعدى} - \text{نسبة الإصابة للمعاملة}}{\text{نسبة الإصابة للشاهد المعدى}} \times 100$$

$$\text{معدل التخفيض في شدة الإصابة\%} = \frac{\text{نسبة الإصابة للشاهد المعدى} - \text{شدة الإصابة للمعاملة}}{\text{شدة الإصابة للشاهد المعدى}} \times 100$$

نشاط إنزيم البيروكسيداز في أنسجة نباتات البندورة/الطماطم – قدر نشاط إنزيم البيروكسيداز بعد 14 و30 يوماً من العدوى بعد استخلاصه وفق طريقة Altunkaya و Gokmen (5) وتحضير المستخلص الإنزيمي. حضرت العينات لتقدير نشاط إنزيم البيروكسيداز فيها بإضافة 3 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم تركيز 0.1 مولار pH= 6 و 200 ميكروليتر من المستخلص الإنزيمي و 6.2 ميكروليتر Guaiacol عيارية 124.14 غ/مول. وضعت الأنابيب في حمام مائي عند 28–30 °س لمدة 5 دقائق. وقبل وضع العينات بالجهاز مباشرة تم إضافة 12 ميكروليتر من الماء الأوكسجيني H_2O_2 عيارية 34.01 غ/مول إلى كل أنبوب من أنابيب الاختبار الحاوية على المستخلص الإنزيمي، ثم أضيف 3 مل من مزيج المستحضر الإنزيمي في خلية المطياف الضوئي Spectrophotometer وأخذت القراءات عند طول موجة

430 نانومتراً. أخذت قراءة الجهاز مرة كل 30 ثانية لمدة 3 دقائق، وقدر نشاط إنزيم البيروكسيداز بعدد ميكرومولات الماء الأوكسجيني التي تتفكك بوساطة 100 ملغ من النسيج النباتي الداخل في تشكيل المستخلص الإنزيمي في الدقيقة الواحدة عند 25 °س.

حسب نشاط إنزيم البيروكسيداز وفق معادلة الشركة المصنعة للمادة القياسية للإنزيم كما يلي:

$$\text{نشاط البيروكسيداز} = \frac{\text{كمية الماء الأوكسجيني } H_2O_2 \text{ المختزلة بين الزمن الأولي والزمن النهائي مقدرة بـــ نانومول} \times \text{معامل تخفيف العينة}}{\text{حجم العينة المضافة إلى الكيوفت (مل)} \times \text{مدة التفاعل مقدراً بالدقيقة}}$$

النتائج والمناقشة

موعد تكشف الأعراض ونسبة الإصابة:

يتضمن جدول 2 النتائج المُتحصل عليها من تأثير السلالات البكتيرية في موعد تكشف الأعراض ونسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار بعد 14 و30 يوماً من العدوى قياساً بالشاهد المعدى بالفيروس، ونسبة التخفيض في نسبة الإصابة بفعل المعاملة بالبكتريا.

تشير النتائج المبينة في جدول 2 إلى تاخر موعد ظهور أعراض الإصابة في النباتات المعاملة بالبكتريا مقارنة بالنباتات غير المعاملة، حيث تكشفت الأعراض بعد 10–13 يوماً من العدوى في معاملة "بذور معاملة + ري" بينما ظهرت أعراض الفيروس بعد 8–12 يوماً من العدوى في معاملة "بذور معاملة" فقط، في حين كان ظهور الأعراض سريعاً في نباتات الشاهد غير المعاملة بالبكتيريا (6 أيام بعد العدوى). كانت أكثر السلالات كفاءة في الحد من تطور الإصابة الفيروسية وبالتالي الحد من ظهور أعراض المرض هي السلالة B27 عند استخدام "بذور معاملة + ري" حيث اخرت الأعراض الى 13 يوماً بعد العدوى مما اعطى النبات فترة أطول للنمو بشكل افضل. توافقت هذه النتائج مع نتائج دراسة سابقة أشارت إلى تأخر ظهور الأعراض في نباتات البندورة المعاملة بذورها بالسلالات البكتيرية الاربع المشمولة في هذه الدراسة مقارنة بالشاهد المعدى (1)، كما أشارت دراسة أخرى إلى ان معاملة بذور البطيخ ببكتريا *P. fluorescens* حد من نشاط فيروس موزاييك الخيار بشكل معنوي إلى ما بعد العدوى بـــ 20 يوماً (4).

جدول 2. نسبة الإصابة بعد 14 و30 يوماً من العدوى ونسبة تخفيض الإصابة بفيروس موزاييك الخيار.

Table 2. Infection rate (%) 14 and 30 days after inoculation and reduction of CMV infection rate.

نسبة انخفاض الإصابة بعد 30 يوم العدوى Reduction of infection level (%) 30 days after inoculation	نسبة الإصابة بعد 30 يوم من العدوى% Infection rate (%) 30 days after inoculation	نسبة انخفاض الإصابة بعد 14 يوم من العدوى Reduction of infection level (%) 14 days after inoculation	نسبة الإصابة بعد 14 يوم من العدوى% Infection rate (%) 14 days after inoculation	موعد تكشف الأعراض بعد الإعداء بالأيام Symptoms appearance, days after inoculation	المعاملة* Treatment*
00.00 b	100.00 a	00.00 b	85.00 a	6	CMV
55.00 a	45.00 bc	56.01 a	36.66 b	12	B27+CMV (s)
63.33 a	36.60 b	64.35 a	30.00 b	13	B27+CMV (s+i)
49.66 a	50.33 b	52.77 a	40.00 b	9	B2g +CMV (s)
61.66 a	38.33 b	60.18 a	33.33 b	11	B2g+CMV (s+i)
45.00 a	55.00 b	36.11 a	53.33 b	8	MA+CMV (s)
50.00 a	50.00 b	44.44 a	46.66 b	10	MA+CMV (s+i)
46.66 a	53.33 b	41.01 a	48.66 b	8	C48+CMV (s)
51.66 ab	48.33 b	48.42 a	42.00 b	10	C48+CMV (s+i)
21.57	21.57	34.97	29.97		أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05

* s+i= Seed and irrigation treatment, s= Seed treatment * s+i = معاملة بذور+ ري؛ s= معاملة بذور

MA= *Pseudomonas chlororaphis* MA342; C48= *Serratia plymuthica* HRO-C48; B27 =*Bacillus subtillis* FZB2;, B2g= *Bacillus subtillis* B2g.

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

بينت النتائج أن نسبة الإصابة بعد 14 يوماً من العدوى في النباتات المعاملة بالبكتيريا كانت في حدود 30–53.33% وهي أقل من تلك في الشاهد المعدى (85%)، وكانت نسب الإصابة بطريقة " بذور معاملة + ري" في حدود 30–46.66% وهي أقل من تلك بطريقة "بذور معاملة" فقط (36.66–53.33%) للسلالات البكتيرية الأربع الداخلة بالدراسة، وكانت أقل نسبة إصابة بعد 14 يوماً من العدوى في المعاملة B27+CMV بطريقة "بذور معاملة + ري" مع عدم وجود أي فرق معنوي مع المعاملات الأخرى باستثناء الشاهد المعدى. تراوحت نسبة الإصابة بعد 30 يوماً من العدوى في النباتات المعاملة بالبكتيريا في حدود 36.66–53.33% وكانت أقل من تلك في الشاهد المعدى (100%). وكانت نسب الإصابة باستخدام طريقة "بذور معاملة + ري" في حدود 36.66–50% وهي أقل من تلك عند استخدام طريقة "بذور معاملة" فقط (45–53.33%) وكانت أقل نسبة إصابة بعد 30 يوماً من العدوى في المعاملة B27+CMV مع تفوق معنوي للسلالة B27 بطريقة "بذور معاملة + ري" (36.66%) على الشاهد المعدى. خفضت السلالات البكترية الأربع من تطور الإصابة مع الزمن بنسب تختلف حسب السلالة البكتيرية وحسب طريقة التطبيق مقارنة بالشاهد المعدى. خفضت المعاملة بالبكتريا من نسب الإصابة بقيم تراوحت مابين 36.11–46.65% و 45–63.33% بعد 14 و30 يوم من العدوى، على التوالي، وكانت أعلى نسبة تخفيض بعد 14 و 30 يوماً من العدوى مع السلالة B27 بطريقتي الاستخدام المتبعتين. توافقت النتائج مع دراسات سابقة (17، 26) حيث وجد أن معاملة بذور البندورة بسلالتين من الرايزوبكتر المنشط لنمو النبات، ومعاملة بذور نباتات الخيار بالسلالات *Bacillus pumilus* strain SE34، *Kluyvera cryocrescens* strain*IN114*، *Bacillus amyloliquefaciens* strain IN937a و *Bacillus subtilus* strain IN937b قد خفضت من نسبة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار مقارنة بالنباتات غير المعاملة. واشار المياحي والعاني (3) إلى أن نسبة الإصابة بفيروس الموزاييك الأصفر للفاصولياء *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) في النباتات الناتجة من بذور معاملة بالبكتريا *P. fluorescens* و *R. leguminosarum* وخليط منها والمعداة بالفيروس كانت 46، 44 و40%، على التوالي، مقارنة بنسبة إصابة 94% في الشاهد المعدى.

شدة الإصابة

يتضمن جدول 3 النتائج المُتحصل عليها من تأثير السلالات البكتيرية في شدة الإصابة بفيروس موزاييك الخيار ونسب انخفاضها بعد 14 و30 يوماً من العدوى.

جدول 3. شدة الإصابة بعد 14 و 30 يوم أمن العدوى بفيروس موزاييك الخيار.

Table 3. Disease Severity 14 and 30 days after inoculation with CMV.

المعاملة* Treatment*	شدة الإصابة بعد 14 يوم من العدوى% Disease severity 14 days after inoculation%	نسبة تخفيض شدة الإصابة بعد 14 يوم % Reduction in disease severity 14 days after inoculation %	شدة الإصابة بعد 30 يوم من العدوى% Disease severity 30 days after inoculation%	نسبة تخفيض شدة الإصابة بعد 30 يوم % Reduction in disease severity 30 days after inoculation%
CMV	70.00 a	00.00 c	90.00 a	00.00 d
B27+CMV (s)	37.50 bc	40.04 ab	54.00 cd	37.45 bc
B27+CMV (s+i)	28.00 c	57.14 a	34.00 e	60.36 a
B2g+CMV (s)	50.00 abc	22.07 bc	62.20 c	37.86 bc
B2g+CMV (s+i)	44.00 bc	32.98 ab	53.32 cd	27.87 c
C48+CMV (s)	55.33 ab	14.45 bc	47.45 d	45.39 abc
C48+CMV (s+i)	39.33 bc	38.61 ab	44.33 de	48.58 ab
MA+CMV (s)	40.00 bc	37.65 ab	78.00 b	9.62 d
MA+CMV (s+i)	37.66 bc	50.87 a	53.33 cd	38.42 bc
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05	23.67	28.47	11.53	17.85

* s+i = معاملة بذور+ ري؛ s= معاملة بذور * s+i= Seed and irrigation treatment, s= Seed treatment

MA= *Pseudomonas chlororaphis* MA342; C48= *Serratia plymuthica* HRO-C48; B27 =*Bacillus subtillis* FZB; B2g= *Bacillus subtillis* B2g.

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

تشير النتائج في جدول 3 إلى أن شدة الإصابة بعد 14 يوماً من العدوى بفيروس موزاييك الخيار في النباتات المعداة والمعاملة بالبكتريا كانت أقل منها في الشاهد المعدى، وكانت شدة الإصابة في النباتات المعاملة بطريقة "معاملة بذور+ ري" في حدود 28–44% أقل منها في النباتات المعاملة بطريقة معاملة البذور (37.5–55.33%) بالسلالات البكتيرية الأربع دون وجود فرق معنوي بين طريقتي التطبيق لكل سلالة. تفوقت المعاملة B27+CMV(s+i) معنوياً على المعاملة C48+CMV (s) والشاهد المعدى، في حين لم يكن هناك فروق معنوية بين الشاهد المعدى والمعاملتين C48+CMV(s) و B2g+CMV(s). وبعد 30 يوماً من العدوى بفيروس موزاييك الخيار كانت شدة الإصابة في المعاملات البكتيرية أقل منها في الشاهد المعدى، حيت وصلت إلى 34–78% تبعاً للسلالة وطريقة التطبيق مقارنة بـــ 90% للشاهد المعدى، وكانت شدة الإصابة باستخدام طريقة "معاملة البذور+ ري" 34.00–53.33% وهي أقل من تلك عند استخدام طريقة "معاملة البذور" فقط (47.45–78%) مع تفوق المعاملة B27+CMV عند استخدام طريقة "معاملة البذور+ ري" معنوياً على المعاملة C48+CMV (s+i) وبشكل معنوي على الشاهد المعدى وبقية المعاملات.

خفضت المعاملة بالبكتيريا من شدة الإصابة بعد 14 و 30 يوماً من العدوى بنسب تفاوتت حسب السلالة البكتيرية وطريقة التطبيق وكانت نسب التخفيض بطريقة "معاملة البذور+ ري" أعلى منها بطريقة "معاملة البذور" فقط للسلالات البكتيرية الأربع، بلغت أعلى نسبة تخفيض عند المعاملة B27+CMV (s+i) مع تفوق السلالة B27 بطريقة "معاملة البذور+ ري" بنسب تخفيض 57.14% و 60.36% بعد 14 و30 يوماً من العدوى، على التوالي. توافقت نتائج نسبة الإصابة و شدتها مع نتائج دراسة سابقة أجريت لتقويم كفاءة السلالات البكتيرية نفسها المشمولة في الدراسة في تحفيز المقاومة الجهازية إزاء فيروس موزاييك الخيار في نباتات البندورة ضمن الزراعة المحمية، حيث أظهرت النتائج أن معاملة البذور بالمعلقات البكتيرية أدت إلى خفض معنوي في نسبة الإصابة وشدتها في النباتات المعاملة المعداة مقارنة بغير المعداة حيث تراوحت نسبة الإصابة مابين 40 % و 66.66 % مقارنة بـــ 93.33% للشاهد المعدى، دون وجود فروق معنوية بين السلالات البكتيرية. وتراوحت شدة الإصابة مابين 45.53% و 62.2% للمعاملات البكتيرية مقارنة بـــ 88.86% للشاهد المعدى (1). أشار Murphy وآخرون (15) بان معاملة بذور البندورة بمستحضر بكتيري يحوي *B. subtilis* و *B. pumilus* قد خفضت شدة الإصابة بفيروس موزاييك البندورة Tomato mosaic virus (ToMV) وأدت إلى زيادة في الغلة. وأشارت دراسات سابقة إلى أن المقاومة المحفزة تتمثل بالحد من نمو المسبب المرضي أو الحد من تطور أعراض المرض، وقد أثبت تخفيض نسبة حدوث الإصابة وشدة الأعراض في البيت المحمي عقب معاملة بذور البندورة بسلالات من أنواع *Bacillus*، حيث تحدث البكتيريا المحفزة انخفاضاً واضحاً في شدة المرض اعتماداً على تطور الأعراض (15، 26).

نشاط البيروكسيداز

يتضمن جدول 4 النتائج المُتحصل عليها من تأثير السلالات البكتيرية في نشاط إنزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة والمعاملة والنباتات المعاملة قياساً بالشاهد المعدى.

تشير النتائج إلى أن نشاط إنزيم البيروكسيداز بعد 14 يوماً من العدوى في الشواهد البكتيرية المتراوحة قيمه مابين 0.40 و 0.113 نانومول كان أعلى من ذلك للشاهد السليم (0.036 نانومول)، وكانت قيم النشاط الإنزيمي عند استخدام طريقة "معاملة البذور+ ري" 0.042–0.13 نانومول وكانت أعلى من تلك المتحصل عليها عند استخدام طريقة "معاملة البذور" فقط (0.040–0.113 نانومول) للسلالات البكتيرية الأربع، مع تفوق السلالة B27 بطريقتي التطبيق ولم يكن هناك فرقاً معنوياً بين المعاملات B27(s) وB27(s+i) و B2g(s+i) في حين تفوقت المعاملتين B27(s) وB27(s+i) على بقية المعاملات (الشواهد المعداة بالبكتيريا فقط).

زاد نشاط إنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة المعاملة بالسلالات البكتيرية بعد 30 يوماً من العدوى ليصل إلى 0.122–0.276 نانومول، بينما وصل هذا النشاط في الشاهد السليم إلى 0.029 نانومول، وكانت قيم النشاط الأنزيمي بطريقة "معاملة البذور+ ري" 0.147–0.276 نانومول أعلى من تلك المتحصل عليها بطريقة "معاملة البذور" فقط (0.122–0.237 نانومول) للسلالات البكتيرية الأربع. وتفوقت السلالة B27 بطريقتي التطبيق على باقي السلالات وبشكل معنوي على الشاهد السليم عند استخدامها بطريقة "بذور معاملة+ ري". ولم تكن هناك فروقات معنوية بين طريقتي التطبيق للسلالة الواحدة.

حسنت المعاملة بالبكتريا من نشاط انزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة المعداة بعد 14 يوماً من العدوى وكان النشاط بطريقة "بذور معاملة + ري" 0.040–0.097 نانومول أعلى من المتحصل عليه بطريقة "معاملة البذور" فقط (0.039–0.085 نانومول) مع السلالات الأربع مقارنة بالشاهد السليم (0.036 نانومول) والشاهد المعدى (0.021 نانومول)، تفوقت المعاملتان B27+CMV(s+i) وB27+CMV (s) بشكل غير معنوي على الشاهد السليم وبشكل معنوي على الشاهد المعدى، ولم تكن هناك فروقاً معنويةً بين بقية

المعاملات والشاهد السليم والمعدى. بعد 30 يوماً من العدوى كان نشاط انزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة المعاملة بالبكتريا بطريقة "معاملة البذور+ ري" 0.119–0.271 نانومول للسلالات الاربع أفضل من المتحصل عليه بطريقة "معاملة البذور" فقط (0.106–0.172 نانومول) مقارنة بالشاهد المعدى (0.022 نانومول) والشاهد السليم (0.041 نانومول)، كانت هناك فروق معنوية بين المعاملة B27+CMV (s+i) والشاهد السليم والمعدى فقط، في حين لم يكن بين بقية المعاملات والشاهد السليم والمعدى أي فروق معنوية.

توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة سابقة أجريت في خريف 2015 أشارت إلى ارتفاع نشاط انزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة المعاملة بذورها بالسلالات البكتيرية الأربع المشمولة في هذه الدراسة مقارنة بالشاهد المعدى والشاهد السليم (1)، وأشار Khamdan وSuprapta (11) إلى أن نشاط إنزيم البيروكسيداز قد ارتفع في نباتات فول الصويا المعداة بفيروس تقزم فول الصويا المعاملة ببكتريا *Pseudomonas aeruginosa* مقارنة بالنباتات غير المعاملة. كما اشار Kishore وآخرون (12) في بحث أجري على نباتات الفول السوداني المزروع في الحقل إلى أن نشاط انزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة المعاملة بالسلالتين *Bacillus megaterium* GPS 55, *Pseudomonas aeruginosa* GPS 21 ارتفع 1.5–2.0 مرة بعد العدوى بـــ 7 أيام، كما أن معاملة بذور البندورة ببكتريا *P. fluorescens* أدى إلى ازدياد نشاط إنزيمي البولي فينيل أوكسيداز و1.3 بيتاّ غلوكوناز والكيتيناز (10). وأثبت ان المقاومة الجهازية المحفزة مرتبطة بإنزيم البيروكسيداز و فينيل ألانين أمونياز (6، 27). كما أشار Young وآخرون (25) إلى ان المقاومة الجهازية يمكن ان تحفز كنتيجة لتفعيل مورث دفاع في النباتات يترجم إلى بروتينات تعمل كمضادات فيروسية بشكل مباشر، أو كإنزيمات مضادة للأكسدة مثل البيروكسيداز والفينيل ألانين أمونيالياز، التي تسهم بدور في استقلاب المركبات الفينولية التي تؤدي إلى إنتاج مركبات مضادة للفيروس. وأشار Kishore وآخرون (12) إلى تزايد نشاط انزيم البيروكسيداز بعد 12–72 ساعة من العدوى و بعد 7 أيام من العدوى.

مقارنة شدة الإصابة ونشاط البيروكسيداز بعد 14 و 30 يوماً من العدوى

يتضمن جدول 5 النتائج المتحصل عليها من شدة إصابة ونشاط إنزيم البيروكسيداز بعد 14و 30 يوماً من العدوى بفيروس موزاييك الخيار.

جدول 4. نشاط إنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة/الطماطم بعد 14 و 30 يوماً من العدوى بفيروس موزاييك الخيار.

Table 4. Peroxidase enzyme activity in tomato plants 14 and 30 days after inoculation with CMV.

نشاط إنزيم البيروكسيداز (نلنومول) في نباتات البندورة/الطماطم Peroxidase activity (n mol) in tomato plants		
المعاملة Treatment	بعد 14 يوماً من العدوى 14 days after inoculation	بعد 30 يوماً من العدوى 30 days after inoculation
شاهد سليم	0.036 bc	0.041 b
CMV	0.021 c	0.022 b
B27 (s)	0.113 a	0.237 ab
B27 (s+i)	0.130 a	0.276 a
B27+ CMV (s)	0.085 ab	0.172 ab
B27+CMV (s+i)	0.097 ab	0.271 a
B2g (s)	0.046 bc	0.168 ab
B2g (s+i)	0.081 abc	0.173 ab
B2g+CMV (s)	0.044 bc	0.122 ab
B2g+CMV (s+i)	0.070 abc	0.133 ab
MA (s)	0.040 bc	0.122 ab
MA (s+i)	0.042 bc	0.147 ab
MA+CMV (s)	0.039 bc	0.106 ab
MA+CMV (s+i)	0.040 bc	0.119 ab
C48 (s)	0.048 bc	0.151 ab
C48 (s+i)	0.0483 bc	0.163 ab
C48+CMV (s)	0.044 bc	0.120 ab
C48+CMV (s+i)	0.045 bc	0.154 ab
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05	0.063	0.22

* s+i = معاملة بذور+ ري؛ s= معاملة بذور * s+i= Seed and irrigation treatment, s= Seed treatment

MA= *Pseudomonas chlororaphis* MA342; C48= *Serratia plymuthica* HRO-C48; B27 =*Bacillus subtillis* FZB2;, B2g= *Bacillus subtillis* B2g.

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

جدول 5. شدة الإصابة ونشاط البيروكسيداز في نباتات البندورة المعاملة بعد 14 و30 يوم من العدوى بفيروس موزاييك الخيار.

Table 5. Disease severity and peroxidase enzyme activity in treated tomato plants, 14 and 30 days after inoculation with CMV.

نشاط إنزيم البيروكسيداز (نانومول) بعد 30 يوماً من العدوى Peroxidase enzyme activity (n mol) 30 days after inoculation	شدة الإصابة بعد 30 يوماً من العدوى% Disease Severity 30 days after inoculation%	نشاط إنزيم البيروكسيداز(نانومول) بعد 14 يوماً من العدوى Peroxidase enzyme activity(n mol) 14 days after inoculation	شدة الإصابة بعد 14 يوماً من العدوى% Disease severity 14 days after inoculation%	المعاملة Treatment
0.022 b	90.00 a	0.021 c	70.00 a	CMV
0.172 ab	54.00 cd	0.085 ab	37.50 ab	B27+CMV (s)
0.271 a	34.00 f	0.097 ab	28.00 b	B27+CMV (s+i)
0.122 ab	62.20 c	0.044 bc	50.00 a	B2g +CMV (s)
0.133 ab	53.32 cde	0.070 abc	44.00 ab	B2g+CMV (s+i)
0.120 ab	47.45 de	0.044 bc	55.33 a	C48+CMV (s)
0.154 ab	44.33 e	0.045 bc	39.33 ab	C48+CMV (s+i)
0.106 ab	78.00 b	0.039 bc	40.00 ab	MA+CMV (s)
0.119 ab	53.33 cde	0.040 bc	37.66 ab	MA+CMV (s+i)
0.22	11.53	0.063	23.67	أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at P=0.05

* s+i = معاملة بذور+ ري؛ s= معاملة بذور

* s+i= Seed and irrigation treatment, s= Seed treatment

MA= *Pseudomonas chlororaphis* MA342; C48= *Serratia plymuthica* HRO-C48; B27 =*Bacillus subtillis* FZB2;, B2g= *Bacillus subtillis* B2g.

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العامود لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

بمقارنة نتائج شدة الإصابة على نشاط إنزيم البيروكسيداز تبين ارتفاع نشاط إنزيم البيروكسيداز مع انخفاض شدة الإصابة بعد 14 و30 يوماً من العدوى، وكانت أعلى قيمة لنشاط إنزيم البيروكسيداز بعد 14 يوماً من العدوى (0.097 نانومول) في المعاملة (B27+CMV s+i) التي بلغت شدة الإصابة فيها 28% مقارنة بالشاهد المعدى الذي بلغ نشاط إنزيم البيروكسيداز فيه 0.021 نانومول وشدة الإصابة 70%. بعد 30 يوماً من العدوى، كانت أعلى قيمة لنشاط إنزيم البيروكسيداز 0.271 نانومول في المعاملة "B27+CMV s+i" التي بلغت شدة الإصابة فيها 34% مقارنة بالشاهد المعدى الذي بلغ نشاط إنزيم البيروكسيداز فيه 0.022 نانومول وشدة الإصابة 90% جدول (6). توافقت نتائج المقارنة السابقة مع نتائج دراسة سابقة بينت ارتفاع النشاط الانزيمي مع انخفاض شدة الإصابة (1)، كما أشار Young وآخرون (25) إلى أن تزايد نشاط إنزيم البيروكسيداز مرتبط بمقاومة النبات للمسببات المرضية وبالتالي انخفاض شدة الإصابة. ويفسر الإرتباط بين الانخفاض في شدة الإصابة الفيروسية وازدياد النشاط الانزيمي بان انزيم البيروكسيداز مسؤول عن عمليات اللغننة وتشكل بيروكسيد الهيدروجين اللذين يمنعان بشكل مباشر نمو المسبب المرضي أو لدور إنزيم البيروكسيداز في تشكل الجذور الحرة التي تسهم بدور المضاد الحيوي (20).

Abstract

Kawas, H., O. Hamoudi, A. Ahmad and I.D. Ismail. 2017. Evaluation of efficacy of four bacterial strains of plant growth promoting rhizobacter to induce systemic resistance against *Cucumber mosaic virus* in tomato plants grown in the greenhouse. Arab Journal of Plant Protection, 35(1): 6-15.

This study was conducted to evaluate two application methods of four strains of plant growth promoting rhizobacter: *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia plymuthica* HRO-C48, *Bacillus subtillis* B2g, *B. subtillis* FZB27 to induce systemic resistance in tomato plants against *cucumber mosaic virus* (CMV) under greenhouse conditions. In the "treated seed" application, tomato seeds were submerged in a suspension of *Pseudomonas chlororaphis* MA342*, Serratia plymuthica* HRO-C48, *Bacillus subtillis* B2gor *B. subtillis* FZB27 (10^{10} cfu/ml), and in "treated seed + irrigation" application, seeds were treated in the same way as mentioned above, and 10 days after transplanting, every transplant was irrigated with 10 ml of each suspension (10^9/ml), and 19 days after transplanting were inoculated with CMV. The time required for initial symptoms development was recorded. In addition, disease incidence, disease severity and peroxidase enzyme activity were also determined. Results obtained showed that treatment with the four strains delayed the time needed for symptoms appearance compared with the infected control, and the delay was more in the "treated seed + irrigation" application than in the "treated

seed" application. The treatment with four bacterial strains decreased disease incidence in treated plants which ranged between 36.11-46.65% and 45.00-63.33% 14 and 30 days after inoculation, respectively. Consequently, the highest reduction in infection rate was with the strain B27 (treated seed + irrigation). The treatment with bacterial strains reduced infection severity 14 and 30 days after inoculation, and the reduction was higher in the "treated seed + irrigation" application than in the "treated seed" for all the evaluated bacterial strains. The B27 strain with "treated seed + irrigation" application gave the best effect compared with the other three strains, with reduction in infection rate of 57.14% and 60.36%, 14 and 30 days after inoculation, respectively. The treatment with bacteria improved the peroxidase enzyme activity in the inoculated treated plants with recorded activity of 0.039- 0.097 n mol and 0.106-0.271 n mol compared with the infected control (0.021 n mol) and the healthy control (0.022 n mol) 14 and 30 days after inoculation, respectively. The B27 strain in the "treated seed + irrigation" application gave the best result.

Keywords: *Pseudomonas chlororaphis* MA342, *Serratia plymuthica* HRO-C48, *Bacillus subtillis* B2g, *B. subtillis* FZB27, CMV, induced resistance, tomato

Corresponding author: ***Hana Kawas, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen Unversity, Lattakia, Syria, Email: hanankawas1@gmail.com***

References

11. **Khamdan, K. and D.N. Suprapta.** 2011. Induction of plant resistance against Soybean stunt virus using some formulation of *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences, 17: 98-105.
12. **Kishore, G.K., S. Pande and A.R. Podile.** 2005. Phylloplane bacteria increase seedling emergence, growth and yield of field-grown groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Letters in Applied Microbiology, 40: 260-268.
13. **Lancioni, P.** 2008. Studies on biotic and abiotic elicitors inducing defense responses in tomato. Ph.D. Thesis, Phytopathology Department, Faculty of Agriculture, University of Bologna, Italy. 125 pp.
14. **Mohamed, E.F.** 2010. Interaction between some viruses which attack tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants and their effect on growth and yield of tomato plants. Journal of American Science, 6: 311-320.
15. **Murphy, J.F., M.S. Reddy, C.M. Ryu, J.W. Kloepper and R. Li.** 2003. Rhizobacteria-mediated growth promotion of tomato leads to protection against Cucumber mosaic virus. Phytopathology, 93:1301-1307.
16. **Postma, J., M. Montanari, and P.H.J.F. van den Boogert.** 2003. Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. European Journal of Soil Biology, 39:157-163.
17. **Raupach, G.S., L. Liu, J.F. Murphy, S. Tuzun and J.W. Kloepper.** 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). Plant Disease, 80: 891-894.
18. **Shahwan, E.M.** 2010. Inducing systemic resistance against some tomato virus diseases. Ph.D. Thesis, Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Moshtohor Banha University.
19. **Shehata, S.F. and A.M. El-Borollosy.** 2008. Induction of resistance against Zucchini yellow mosaic Potyvirus and growth enhancement of squash plants using some plant growth-promoting rhizobacteria. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2: 174-182.

المراجع

1. **قواس، حنان، عمر حمودي، أحمد أحمد وعماد داود اسماعيل.** 2016. تأثير معاملة بذور البندورة بسلالات من PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTER في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار في الزراعة المحمية. مجلة جامعة تشرين (قيد النشر).
2. **المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية.** 2012. مديرية الإحصاء والتخطيط, وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي, الجمهورية العربية السورية.
3. **المياحي، سعد ورقيب العاني.** 2014. فعالية بكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Rhizobium leguminosarum* ضد فيروس الموزاييك الاصفر للفاصولياء. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 45: 593-601.
4. **Al-Ani, R.A. and M.A. Adhab.** 2012. Protection of melon plants against Cucumber mosaic virus infection using *Pseudomonas fluorescens* biofertilizer. African Journal of Biotechnology, 11: 16579-16585.
5. **Altunkaya, A. and V. Gokmen.** 2011. Purification and characterization of polyphenol oxidase, peroxidase and lipoxygenase from freshly cut lettuce (*L. sativa*). Food Technology & Biotechnology, 49: 249–256.
6. **Chen, C. and B.Y Liu.** 2000. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. Journal of Applied Microbiology, 89: 834-839
7. **Chittoor, J.M., J.E. Leach and F.F. White.** 1999. Induction of peroxidase during defense against pathogens. In: Pathogenesis: Related proteins in plants. S.K. Datta, S. Muthukrishnan (eds.). CRC Press, Boca Raton, FL. 291 pp.
8. **Gerhardson, B.** 2002. Biological substitutes for pesticides. Trends in Biotechnology, 20: 338-343.
9. **Hammoudi, O.** 2007. Einfluss mikrobieller Antagonisten auf den Befall mit *Phoma lingam* und *Verticillium dahliae* var. *longisporum* an Raps (*Brassica napus* L. var. *napus*). Dissertation, Universität zu Kiel. 123 pp.
10. **Kandan, A., M. Ramiah, V.J. Vasanthi, R. Radjacommare, R. Nandakumar, A. Ramanathan and R. Samiyappan.** 2007. Use of *Pseudomonas fluorescens* - based formulations for management of tomato spotted wilt virus (TSWV) and enhanced yield in tomato. Biocontrol Science and Technology Journal, 15: 553-569.

20. **Silva, H.S.A., R.S. Romeiro, R. Carrer-Filho, J.L.A. Pereira, E.S.G. Mizubuti and A. Mounteer.** 2004. Induction of systemic resistance by *Bcillus cereus* against tomato foliar diseases under field conditions. Journal of Phytopathology, 152: 371-375.
21. **Sudhakar, N., D. Nagendra-Prasad, N. Mohan and K. Murugesan.** 2007. Induction of systemic resistance in *Lycopersicon esculentum* cv. PKM1 (tomato) against Cucumber mosaic virus by using ozone. Journal of Virological Methods, 139: 71-78.
22. **Van Loon, L.C., C.M.J Bakker and P.A.H.M. Pieterse.** 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology, 36: 453-483.
23. **Wojtaszek, P.** 1997. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. Journal of Biochemistry, 322: 681-692.
24. **Yang, X., K. Liangyi and P. Tien.** 1996. Resistance of tomato infected with cucumber mosaic virus satellite RNA to potato spindle tuber viroid. Annals of Applied Biology, 129: 543- 551.
25. **Young, S.A., A. Guo, J.A. Guikema, F. White and L.E. Leach.** 1995. Rice cationic peroxidase accumulation in xylem vessels during incompatible interaction with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Journal of Plant Physiology, 107: 1333-1341.
26. **Zehnder, G.W., C. Yao, J.F. Murphy, E.J. Sikora and J.W Kloepper.** 2000. Induction of resistance in tomato against Cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. Biological Control, 45: 127-137.
27. **Zheng, H.Z., C.I Cui, Y.T Zhang, D. Wang, Y. Jing and K.Y Kim.** 2005. Active changes of lignifications related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and *Phytophthora capsisi*. Journal of Zhejiang University Science B, 68: 778-786.

تاريخ الاستلام: 2016/8/17؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2016/11/8

Received: August 17, 2016; Accepted: November 8, 2016