تحريض المقاومة الجهازية في نباتات البندورة/الطماطم ضد فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم في ظروف الزراعة المحمية باستخدام عزلة بكتيرية محلية التابعة للنوع *Bacillus subtilis*

حلا محمد غانم[1*]، إنصاف حسن عاقل[2]، قصي علي الرحية[2] وعماد دأود اسماعيل[1]

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (2) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، اللاذقية، سورية.

*البريد الإلكتروني للباحث المراسل: ghanemhala548@gmail.com

الملخص

غانم، حلا محمد، إنصاف حسن عاقل، قصي علي الرحية وعماد دأود اسماعيل. 2021. تحريض المقاومة الجهازية في نباتات البندورة/الطماطم ضد فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم في ظروف الزراعة المحمية باستخدام عزلة بكتيرية محلية التابعة للنوع *Bacillus subtilis*. مجلة وقاية النبات العربية، 39(4): 289–295. https://doi.org/10.22268/AJPP-039.4.289295

أجريت الدراسة في مركز البحوث العلمية الزراعية في محافظة اللاذقية في دفيئة بلاستيكية في موسم 2021/2020 بهدف تقويم كفاءة عزلة بكتيرية محلية B.Ra.217 من النوع *Bacillus subtilis* في الحد من الإصابة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) على نباتات البندورة/الطماطم، وذلك من خلال معاملة بذور البندورة/الطماطم وسقاية الشتول لاحقاً بمعلق من البكتيريا المختبرة لتركيزه 1×10^9/مل وحساب نسبة وشدة الإصابة بالفيروس، وتقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز. أظهرت النتائج بعد 30 يوماً من إحداث العدوى بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم انخفاضاً في نسبة الإصابة بالفيروس وشدتها في النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا مقارنة مع نباتات الشاهد المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا، حيث وصل معدل الانخفاض في نسبة الإصابة وشدتها إلى 26.67 و 34.28%، على التوالي، مع وجود فروق معنوية بين المعاملات. كما أظهرت اختبارات الكشف عن نشاط أنزيم البيروكسيداز بعد 7 أيام من العدوى بالفيروس ازدياد نشاط الأنزيم في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط (0.1342 ميكرومول/مغ) والمعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس (0.0913 ميكرومول/مغ)، مقارنة مع نباتات الشاهد السليم (0.0958 ميكرومول/مغ)، و المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا (0.0570 ميكرومول/مغ). كذلك بينت النتائج بعد 15 يوماً من العدوى أن نشاط الأنزيم كان أعلى في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط (0.1592 ميكرومول/مغ) مقارنة مع الشاهد السليم (0.1415 ميكرومول/مغ) مع وجود فروق معنوية، وأيضاً كانت الفروق معنوية مع النباتات المعداة غير المعاملة (0.1002 ميكرومول/مغ)، ومع النباتات المعداة والمعاملة (0.1372 ميكرومول/مغ)، وبالتالي من الممكن أن يكون لهذه العزلة دوراً تطبيقياً مهماً في تعزيز مقاومة نباتات البندورة تجاه الفيروس والحد من أضراره.

كلمات مفتاحية: *Bacillus subtilis*، TYLCV، بيروكسيداز، نسبة الإصابة، شدة الإصابة، نبات البندورة/الطماطم .

المقدمة

يحتل محصول البندورة /الطماطم (*Solanum lycopersicum* L.) المرتبة الأولى في الزراعة المحمية من حيث المساحة والإنتاج في الساحل السوري، حيث بلغ عدد الدفيئات المحمية المزروعة بالبندورة/الطماطم 96959 دفيئة خلال عام 2018 بمساحة تقدر بـ 3878 هكتاراً وإنتاج 581754 طناً (المجموعة الإحصائية الزراعية، 2018). يتأثر محصول البندورة/الطماطم بالعديد من الأمراض ولا سيما الفيروسية (Mishra *et al*., 2014)، ومن أهم مسببات الأمراض الفيروسية التي تصيبه فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) الذي يتبع عائلة الفيروسات التوأمية *Geminiviridae* وجنس *Begomovirus* الذي يضم أكبر مجموعة من الفيروسات في هذه العائلة (Channarayappa *et al*., 1992). سجل الفيروس لأول مرة على البندورة عام 1964 في فلسطين المحتلة (Cohen & Harpaz, 1964)، كما سجل في سورية على البندورة وبعض الأعشاب البرية الشائعة (حسن وآخرون، 2011)، وسجل على نبات الفاصولياء لأول مرة في سورية (Akel *et al*., 2019). كما تم تسجيله بإصابات مختلطة مع فيروس الذبول المتبقع في البندورة/الطماطم (Tomato spotted wilt virus, TSWV) على عدة محاصيل في سورية (Akel *et al*., 2019). سجل في الساحل السوري وجود سلالتين للفيروس (TYLCV-MILd و TYLCV-IL) (Hasan & Mouhanna, 2016).

https://doi.org/10.22268/AJPP-39.4.289295
© 2021 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

ينتقل فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة بكفاءة عالية بوساطة ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) بالطريقة المثابرة (Ghanim *et al.*, 1998). فقد أشار مهنا وآخرون (2014) إلى كفاءة أربعة طرز حيوية (B، nonB، Q، M) من ذبابة التبغ البيضاء المنتشرة في الساحل السوري في نقل عزلة محلية من الفيروس. وينتقل أيضاً بكفاءة عالية عن طريق التطعيم ولكنه لا ينتقل ميكانيكياً (Czosnek *et al.*, 1988)، ولا من خلال التربة (Makkouk *et al.*, 1979). وقد أشار Kil *et al.* (2016) إلى إمكانية انتقاله بوساطة بذور نباتات البندورة. تختلف الأعراض الناتجة عن الإصابة بالفيروس تبعاً للنوع النباتي، حساسية الأصناف ضمن النوع النباتي الواحد، السلالة الفيروسية، والظروف البيئية المحيطة، وعمر النبات ووقت حدوث الإصابة. تبدي النباتات المصابة بالفيروس تجعداً واصفراراً خفيفاً (Martínez-Zubiaur *et al*., 2004)، ويسبب خسائر كبيرة في محصول البندورة/الطماطم قد تصل إلى 100% في الإصابات المبكرة (الفضل، 2012). كما تسبب الإصابة بالفيروس خفضاً في عدد الأزهار والثمار وكذلك الوزن الرطب للثمار اذا ما قورنت بالنباتات السليمة (منصور وآخرون، 2008).

ولمقاومة فيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم استخدمت الأصناف المقاومة (Jasim & Al-Salihy, 2019) والمبيدات الحشرية لمكافحة الناقل الحيوي للفيروس التي ثبتت أضرارها على البيئة والإنسان (El-Sawy *et al*., 2018)، لذلك تم اللجوء إلى استخدام المستخلصات النباتية (El-Sawy *et al*., 2018)، وقد استعملت البكتيريا المحسنة لنمو النبات Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) في مقاومة الأمراض الفيروسية على محاصيل عدة (Kandan *et al*., 2007؛ Shahwan, 2010؛ van Peer *et al*., 1991)، وبناءً على ذلك فإنه من المفيد استخدام أحد العزلات المحلية من بكتيريا PGPR كطريقة جديرة بالاهتمام لإدارة الأمراض الفيروسية في زراعة البندورة المحمية في الساحل السوري، لاسيما وأنه ثبتت فعالية عزلتين مدخلتين تجاه الفيروس. وبناء عليه، هدف هذا البحث إلى تقويم كفاءة العزلة البكتيرية المحلية B.Ra.217 من البكتيريا *Bacillus subtilis* في تخفيض الاصابة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم من خلال حساب نسبة وشدة الاصابة بالفيروس، وتقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز.

مواد البحث وطرائقه

موقع تنفيذ البحث

نفذت تجربة حقلية ضمن دفيئة بلاستيكية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية خلال الموسم الزراعي 2021/2020.

المادة النباتية

استخدم في هذه التجربة هجين البندورة/الطماطم رنا (من شركة Apollo Seeds، نسبة إنبات 85% ونقاوة 98%، استيراد شركة دبانة إخوان، حمص، سورية)، وهو من الهجن المرغوبة في الساحل السوري.

العزلة الفيروسية المستخدمة والعدوى بالفيروس

تم الحصول على نباتات بندورة تحمل أعراض تشبه أعراض الإصابة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة من دفيئة بلاستيكية في محافظة طرطوس، تم تعريف العزلة من قبل الدكتورة إنصاف عاقل في مختبر الفيروسات/مركز بحوث اللاذقية ضمن عدة تجارب حيوية مختبرية (Díaz-Pendón *et al*., 2010)، وتم تأكيدها مصلياً باختبار TAS-ELISA باستخدام المصل المضاد للفيروس من انتاج شركة LOWE الألمانية، وفقاً لتعليمات الشركة المنتجة.

العزلة البكتيرية وإكثارها

استخدم في هذه الدراسة العزلة المحلية B.Ra.217 من البكتيريا *Bacillus subtilis*، المقدمة من قبل الدكتور قصي الرحية، مركز بحوث اللاذقية، والتي عزلت من تربة جذور البندورة المحمية وتميزت بقدرتها التضادية إزاء الفطر *Pyrenochaeta lycopersici* مسبب مرض تفلن الجذور، كما أثبتت فعاليتها في تحسين نمو نباتات البندورة/الطماطم المحمية (الرحية، 2015).

تم إكثار العزلة البكتيرية باستخدام المستنبت Tryptone Soya Agar (TSA) في أطباق بتري (9 سم)، وحضنت الأطباق لمدة 48 ساعة عند حرارة 28°س. كما تم إكثار البكتيريا في 100 مل من المستنبت السائل Tryptone Soya Broth (TSB) في زجاجة معيارية سعة 250 مل على هزاز بسرعة 180 دورة/دقيقة عند ظروف التحضين ذاتها. اتبعت طريقة زراعة النقط من المعلق (Hoben & Somasegaran, 1982) لتقدير عدد الخلايا البكتيرية الحية في المزرعة والمعلق البكتيري، حيث زرع في كل مرة من كل تخفيف كمية 10 ميكروليتر ونشرت النقط طولياً على سطح المستنبت الغذائي TSA، وكررت الزراعة ثلاث مرات. وبعد تحضين الأطباق لمدة 48 ساعة عند حرارة 28°س، أحصي عدد الوحدات المشكلة للمستعمرة (Cfu)/مل من المزرعة السائلة أو المعلق المحضر وضبط تعداد البكتيريا المستخدم عند مستوى 1×10^{9}/مل.

معاملة البذور بالمعلق البكتيري

تمت إضافة 1 مل من المزرعة البكتيرية السائلة بعمر 48 ساعة إلى 1 غ بذور بندورة وحضنت لمدة 5 ساعات على هزاز بسرعة 150 دورة/دقيقة، عند حرارة 20°س. جففت البذور هوائياً لليوم التالي عند درجة

الحرارة ذاتها زرعت البذور في صواني فلينية تحوي التورب المعقم، وبعد الانبات تمت إضافة 5 مل من المعلق البكتيري إلى كل شتلة ضمن صواني الانبات، وكررت العملية بعد عشرة أيام من نقل الشتول إلى الأرض الدائمة حيث أضيف 10 مل/شتلة من المعلق البكتيري إلى الشتول حسب معاملات التجربة.

المعاملات التجريبية

اختبر في هذا البحث المعاملات الأربعة التالية: معاملة معداة بالفيروس TYLCV، معاملة الشاهد السليم، معاملة ملقحة بالعزلة المحلية B.Ra.217 من البكتيريا *B. subtilis*، ومعاملة معداة بالفيروس TYLCV + البكتيريا B.Ra.217.

صُمّمت التجربة وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة، وخصص لكل معاملة ثلاثة مكررات، تضمن كل مكرر 5 نباتات وبلغ عدد نباتات التجربة 60 نباتاً.

تقويم نسبة وشدة الإصابة

تم تقويم نسبة الإصابة وشدتها بعد 30 يوماً من العدوى بالفيروس، حسب المعادلات التالية:

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

شدة الاصابة %= [مجموع (درجة الاصابة × عدد النباتات في كل درجة) / العدد الكلي للنباتات × أعلى درجة] × 100.

قدرت درجات الاصابة وفق سلم 0–6 (Friedmann *et al.*, 1998) مع بعض التعديلات (عاقل وآخرون، 2020) على الشكل التالي: 0= لا توجد أعراض ظاهرية، 1= اصفرار خفيف على حواف الوريقات أوبين عروق الأوراق القمية، 2= اصفرار واضح بين عروق الوريقات القمية، 3= الاصفرار العام للنبات/مع استمرار نمو النبات ببطء، 4= اصفرار والتفاف خفيف للأوراق نحو الأعلى مع ضعف نمو النبات، 5= اختزال حجم الوريقات وتقزم واضح جداً والتفاف الاوراق للداخل، 6= موت النبات.

حسبت نسب الانخفاض في نسبة وشدة الإصابة بالاعتماد على معامل التصحيح وفق المعادلة التالية:

$$\text{معامل التصحيح} = \frac{\text{قيمة المعيار للمعاملة}}{\text{قيمة المعيار للشاهد المعدى}} \times 100$$

$$\text{نسبة الانخفاض في نسبة أو شدة الإصابة \%} = \frac{\text{نسبة أو شدة الإصابة في الشاهد المعدى} - \text{نسبة أو شدة الإصابة في المعاملة}}{\text{نسبة أو شدة الإصابة في الشاهد المعدى}} \times 100$$

استخلاص وتقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز

تم جمع العينات من نباتات البندورة في أكياس بلاستيكية كتب عليها رقم المعاملة ورقم المكرر، وتم سحق 1 غ من أوراق البندورة/الطماطم مع 3 مل من محلول منظم فوسفاتي درجة حموضته 6.5 في جفنة بورسلان، ثم وُضع ناتج السحق في أنابيب خاصة سعة 2 مل، وعرضت للطرد المركزي لمدة 10 دقائق على سرعة 8000 دورة/دقيقة عند حرارة 4°س. أُخذت الرشاحة الناتجة عن الطرد المركزي والتي تحتوي على مكونات العصير الخلوي بما فيها أنزيم البيروكسيداز وسميت "رشاحة المستخلص الإنزيمي". تم قياس نشاط أنزيم البيروكسيداز في محطة الهنادي، بعد تحضير مزيج التفاعل في أنابيب اختبار زجاجية سعة 10 مل، حيث أضيف 3 مل محلول منظم فوسفاتي درجة حموضته 6.5، تركيز 0.1 مول، 200 ميكروليتر مستخلص أنزيم البيروكسيداز، و 6.2 ميكروليتر Guaiacol. وُضعت الأنابيب في حمّام مائي عند حرارة 28–30°س لمدة 5 دقائق. وقبل وضع العينات بجهاز المطياف الضوئي مباشرة، تمت إضافة 12 ميكروليتر من الماء الأوكسجيني (H_2O_2) إلى كل أنبوب من أنابيب الاختبار الحاوية على المستخلص الإنزيمي. وضع 3 مل من مزيج التفاعل السابق في حجرة المطياف الضوئي. أُخذت قراءات امتصاص العينات مرة كل دقيقة لمدة 3 دقائق عند موجة طولها 430 نانومتر. يمثل النشاط الإنزيمي عدد ميكرومولات الماء الأوكسجيني التي تتفكك بوساطة 100 مغ من النسيج النباتي الداخل في تشكيل المستخلص الإنزيمي في الدقيقة الواحدة عند حرارة 25°س. حُسب النشاط الإنزيمي وفق معادلة الشركة المصنعة للمادة القياسية للأنزيم (Technical bulletin) على الشكل التالي:

$$PA = B \times SDF / Rt \times V$$

بحيث PA= نشاط انزيم البيروكسيداز، B= كمية الماء الأوكسجيني المنخفضة بين الزمن الأولي والزمن النهائي، SDF= معامل تخفيف العينة، Rt= زمن التفاعل مقدراً بالدقيقة، V= حجم العينة المضافة إلى حجرة المطياف الضوئي مقدرة بـ مل. حُسبت نسب الزيادة في نشاط أنزيم البيروكسيداز بفعل البكتيريا وفق المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الزيادة في نشاط الأنزيم (\%)} = \frac{\text{النشاط الإنزيمي في المعاملة} - \text{النشاط الإنزيمي في الشاهد الخاص بالمعاملة}}{\text{النشاط الإنزيمي في الشاهد الخاص بالمعاملة}} \times 100$$

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج CO-STAT 4.6 وتمت المقارنة بين المتوسطات باستخدام أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

النتائج والمناقشة

أعراض الإصابة وشدة ونسبة الإصابة

تمثلت أعراض الإصابة بالفيروس على النباتات المعداة باصفرار الأوراق القمية، اصفرار وتجعد الأوراق، و ضعف نمو النبات. أشارت النتائج إلى تأخر موعد ظهور أعراض الإصابة على النباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس مقارنة بالنباتات المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا حيث تكشفت الأعراض بعد 14 يوماً من العدوى في النباتات المعاملة بالبكتيريا، في حين كان ظهور الأعراض أسرع بعد 7 أيام في النباتات المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا. وصلت نسبة الإصابة بعد 30 يوماً من العدوى 93.33% في النباتات المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا في حين كانت نسبة الإصابة في النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا 66.66%، مع وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال 5% ومعدل الإنخفاض في نسبة الإصابة وصل إلى 26.67%.

خفضت العزلة البكتيرية B.Ra.217 من نسبة الإصابة بعد 30 يوماً من العدوى حيث كانت نسبة التخفيض 26.67% (جدول 1). وكانت شدة الإصابة بعد 30 يوماً من العدوى في النباتات المعداة بالفيروس 58.33% في حين وصلت شدة الإصابة في النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا 38.33% دون وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال 5%. كما أن معدل الانخفاض في شدة الإصابة وصل إلى 34.28% (جدول 1). كذلك خفضت العزلة البكتيرية B.Ra.217 من شدة الإصابة بعد 30 يوماً من العدوى، وبلغت نسبة التخفيض 34.28% (جدول 1).

نشاط أنزيم البيروكسيداز

بينت نتائج تقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز بعد 7 أيام من العدوى بالفيروس أن نشاط الأنزيم كان أعلى في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط (0.1342 ميكرومول/مغ) مقارنة مع الشاهد السليم (0.0958 ميكرومول/مغ) دون وجود فروق معنوية، ومقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا (0.0570 ميكرومول/مغ) مع وجود فروق معنوية، ومقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا (0.0913 ميكرومول/مغ) مع وجود فروق معنوية.

كما أظهرت النتائج أن نشاط الأنزيم أعلى في نباتات الشاهد السليم (0.0958 ميكرومول/مغ) مقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا (0.0913 ميكرومول/مغ) دون وجود فرق معنوي، كذلك كان نشاط الأنزيم أعلى في النباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس (0.0913 ميكرومول/مغ) مقارنة مع الشاهد المعدى (0.0570 ميكرومول/مغ) دون وجود فروق معنوية (جدول 2).

كما بينت النتائج بعد 15 يوماً من العدوى أن نشاط الأنزيم كان أعلى في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط (0.1592 ميكرومول/مغ) مقارنة مع الشاهد السليم (0.1415 ميكرومول/مغ) مع وجود فروق معنوية، ومقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا (0.1002 ميكرومول/مغ) مع وجود فروق معنوية، ومقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا (0.1372 ميكرومول/مغ) مع وجود فروق معنوية.

كذلك أظهرت النتائج أن نشاط الأنزيم كان أعلى في نباتات الشاهد السليم (0.1415 ميكرومول/مغ) مقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا (0.1372 ميكرومول/مغ) دون وجود فرق معنوي، أيضاً كان نشاط الأنزيم أعلى في النباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس (0.1372 ميكرومول/مغ) مقارنة مع الشاهد المعدى (0.1002 ميكرومول/مغ) مع وجود فروق معنوية (جدول 2).

جدول 1. نسبة إصابة نباتات البندورة/الطماطم بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم (TYLCV) وشدتها بعد 30 يوماً من العدوى وتأثرها بمعاملة النباتات بالعزلة البكتيرية المحلية B.Ra.217 من النوع *Bacillus subtilis*.

Table 1. Effect of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) inoculation of tomato plants on disease incidence (%), 30 days after inoculation as influenced by tomato plants treatment with the native bacterial isolate B.Ra.217 of *Bacillus subtilis.*

نسبة التخفيض % Reduction in severity of infection (%)	شدة الإصابة % Severity of infection (%)	نسبة التخفيض (%) Reduction in infection rate (%)	نسبة الإصابة (%) Infection rate (%)	Treatment	المعاملة
-	58.33 a	-	93.33 b	TYLCV	
34.28	38.33 a	26.67	66.66 a	B.Ra.217+TYLCV	
	20.69		26.176	$LSD_{0.05}$	

جدول 2. تأثير العزلة البكتيرية B.Ra.217 من النوع *Bacillus subtilis* في نشاط أنزيم البيروكسيداز في نبات البندورة/الطماطم بعد 7 و15 يوماً من العدوى بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم (TYLCV).

Table 2. Effect of the native bacterial isolate B.Ra.217 of *Bacillus subtilis* on peroxidase enzyme activity in tomato plants 7 and 15 days after inoculation with Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV).

المعاملة Treatment	نشاط أنزيم البيروكسيداز (ميكرومول/مغ) بعد الإعداء بالفيروس Peroxidase enzyme activity (µmol/mg) after virus inoculation	
	بعد 7 أيام After 7 days	بعد 15 يوماً After 15 days
الشاهد Control	0.0958 ab	0.1415 b
B.Ra.217	0.1342 a	0.1592 a
TYLCV	0.0570 b	0.1002 c
B.Ra.217 + TYLCV	0.0913 b	0.1372 b
$LSD_{0.05}$	0.041	0.007

توافقت نتائج هذا البحث مع ما توصلت إليه عاقل وآخرون (2020) عند دراستهم لتأثير السلالتين البكتيريتين *B. subtilis* FZB27، و *Pseudomonas chlororaphis* MA342 المدخلتين في نسبة وشدة الإصابة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة على نباتات هجين البندورة هدى المزروعة تحت ظروف الدفيئات بلاستيكية ، حيث زادت السلالتين البكتيريتين من نشاط أنزيم البيروكسيداز في النباتات المعداة والمعاملة بالبكتيريا، حيث كانت أعلى نسبة زيادة مع السلالة B27 (39.13%) بعد 15 يوماً من العدوى، و 204.34% مع السلالة MA بعد 30 يوماً من العدوى وهذا يشير إلى دور أنزيم البيروكسيداز في تفعيل آليات المقاومة ضمن النبات.

كما أكد Li *et al.* (2016) على زيادة نشاط أنزيم البيروكسيداز في نباتات البندورة/الطماطم المعداة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم، وزيادة نشاط أنزيم فينيل ألانين أمونيالياز في نباتات البندورة المعاملة بالبكتيريا *Enterobacter asburiae* BQ9 والمعداة بالفيروس. أيضاً توافقت النتائج مع دراسة سابقة (الشامي وآخرون، 2017) الذين أثبتوا أن معاملة بذور البندورة والري بثلاثة أنواع بكتيرية (*Bacillus megaterium*، *Azotobacter chroococcumin*، *Frateuria aurantia*) تخفض شدة المرض وتعطي أعلى مستوى لنشاط أنزيم البيروكسيداز في كل من نباتات البندورة السليمة والمعداة بفيروس موزاييك الخيار.

كذلك توافقت النتائج مع نتائج قواس (2018) عند دراستها لتأثير أربع سلالات بكتيرية محسنة لنمو النبات حيث تبين أن موعد ظهور أعراض الإصابة قد تأخر في النباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالنباتات غير المعاملة وأكدت من خلال دراستها أن السلالة البكتيرية *B. subtilis* FZB27 قد أثبتت كفاءتها وتفوقها على باقي السلالات المستخدمة عند استخدامها في معاملة البذور + الري.

إذاً أسهمت العزلة البكترية المحلية *B. subtilis* B.Ra.217 في تأخير ظهور أعراض الإصابة في النباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس في حين ظهرت الأعراض سريعاً في النباتات المعداة بالفيروس وغير المعاملة بالبكتيريا، كما أنها عملت على تخفيض نسبة الإصابة بالفيروس وشدتها ، كما أن أعلى مستوى لنشاط أنزيم البيروكسيداز كان في النباتات المعاملة بالبكتيريا ويليه في النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا وهذا يشير إلى مقاومة النباتات للمسببات المرضية.

Abstract

Ghanem, H.M., E.H. Akel, Q.A. Al-Rhayeh and I.D. Ismail. 2021. Induction of Systemic Resistance in Tomato Plants Against Tomato yellow leaf curl virus in Protected Cultivation Using a Local Bacterial Isolate of *Bacillus subtilis.* Arab Journal of Plant Protection, 39(4): 289-295. https://doi.org/10.22268/AJPP-039.4.289295

This study was conducted at the Agricultural Scientific Research Center in Lattakia Governorate in a plastic house during the 2020/2021 growing season to evaluate the efficiency of the native bacterial isolate B.Ra.217 of *Bacillus subtilis*, in reducing infection of tomato plants with Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), by treating tomato seeds and later watering the seedlings with a suspension of the tested bacteria at a concentration of $1x10^9$/ml, and then measuring incidence (%) and severity of virus infection, and estimating peroxidase enzyme activity. The results showed that 30 days after inoculation with tomato leaf curl virus, a decrease in virus infection rate and severity in virus-infected and bacteria-treated plants compared with virus-infected and untreated control plants was observed. The reduction in disease incidence and severity of infection reached 26.67% and 34.28%, respectively, with significant differences between the treatments. In addition, the activity of peroxidase enzyme 7 days after infection with the virus showed an increase in plants treated with bacteria only (0.1342 µmol/mg) and those treated with bacteria and virus-infected (0.0913 µmol/mg), compared with the healthy control plants (0.0958 µmol/mg), and virus-infected and untreated with bacteria (0.0570 µmol/mg). The results also showed 15 days after infection that the enzyme activity was higher in plants treated with bacteria only (0.1592 µmol/mg) compared with the healthy control (0.1415 µmol/mg) with significant differences, and also the differences were significant with the untreated infected plants (0.1002 µmol/mg), and with inoculated and treated plants (0.1372 µmol/mg). Thus, this bacterial isolate may have an important applied role in enhancing tomato plant resistance to the virus and consequently reducing its damage.

Keywords: *Bacillus subtilis* B.Ra.217, TYLCV, peroxidase, incidence, severity of infestation, tomato plant.

Affiliation of authors: *H.M. Ghanem[1*], E.H. Akel[2], Q.A. Al-Rhayeh[2] and I.D. Ismail[1]. (1) Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria; (2) General Authority for Scientific Agricultural Research, Lattakia, Syria. *Email of corresponding author: ghanemhala548@gmail.com*

المراجع

حسن، زياد، عماد اسماعيل وصلاح الشعبي. 2011. التحري عن العوائل البرية المخزّنة لفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة في الساحل السوري. مجلة جامعة تشرين، سلسلة العلوم البيولوجية، 33(5): 189-200.

*[**Hasan, Z., I. Ismail and S. Al-Shaabi.** 2011. Survey of wild hosts of Tomato yellow leaf curl virus along the Syrian coast. Tishreen University Journal (Biology Series), 33(5): 189-200 (In Arabic).]*

الرحّية، قصي. 2015. تحسين الكفاءة الحيوية للسماد العضوي وتأثيرها في مرض تفلن جذور البندورة *Pyrenochaeta lycopersici*. أطروحة دكتوراه، قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حلب، سورية. 127 صفحة.

*[**Al-Rhayeh, Q.** 2015. Improvement of biological efficiency of organic manure, and its effects on tomato corky root disease (Pyrenochaeta lycopersici). PhD thesis, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture Engineering, Aleppo University. Syria. 127 pp. (In Arabic).]*

الشامي، رامز محمد، ياسر علي حماد وعماد داود اسماعيل. 2017. تقييم فعالية التلقيح بالبكتيريا المحفزة لنمو النبات في الحد من تأثير فيروس موزاييك الخيار في بعض معايير نمو نباتات البندورة. مجلة جامعة البعث، 39(2) :83-103.

*[**Al Shami, R.M., Y.A. Hammad and I.D. Ismail**. 2017. Effectiveness of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on reduction of Cucumber mosaic virus infection effect on some growth parameters of tomato plants. Al Baath University Journal, 39(2): 83-103. (In Arabic)]*

عاقل، إنصاف حسن، قصي علي الرحية، حنان نادر قواس وعماد داود اسماعيل. 2020. تأثير سلالتين من بكتيريا الجذور المحفزة للنمو في نسبة وشدة الإصابة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة/الطماطم وعلى بعض مؤشرات النمو لنبات البندورة/الطماطم تحت ظروف البيوت المحمية. مجلة وقاية النبات العربية، 38(3): 241-251.
https://doi.org/10.22268/AJPP-38.3.241251

*[**Akel, E.H., Q.A. Al-Rhayeh, H.N. Kawas and I.D. Ismail.** 2020. Effect of two strains of plant growth promoting rhizobacteria on the incidence and severity of infection with tomato yellow leaf curl virus and on some plant growth criteria for tomatoes grown under greenhouse conditions. Arab Journal of Plant Protection, 38(3): 241-251. (In Arabic).
https://doi.org/10.22268/AJPP-38.3.241251]*

الفضل، فضل عبد الحسين. 2012. الخصائص البايولوجية والمصلية لفايروس تجعد واصفرار اوراق الطماطم. مجلة جامعة الكوفة للعلوم البيولوجية، 4(2): 139-145.

*[**Al-Fadhal, F.A.** 2012. Biological and serological properties of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). Al-Kufa University Journal of Biology, 4(2): 139-145. (In Arabic)]*

قواس، حنان. 2018. دراسة تأثير بعض السلالات من بكتيريا الجذور المحسنة لنمو النبات PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار على نبات البندورة في الزراعة المحمية. رسالة دكتوراه، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، سورية. 103 صفحات.

References

*[**Kawas, H.** 2018. Effect of some strains of improved plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in inducing systemic resistance against Cucumber mosaic virus on tomato plant under greenhouse conditions. PhD thesis, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria. 103 pp. (In Arabic).]*

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. 2018. مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، سورية.

*[**Annual Agricultural Statistical Group.** 2018. Directorate of statistics and planning, Ministry of Agriculture and Agrarian reform, Syria. (In Arabic).]*

منصور، عقل، جابر فجلة، أمين حاج قاسم، عايدة نسور، طلال الزدجالي وحسني يونس. 2008. الفيروسات التي تصيب محصول البندورة/الطماطم. الصفحات 272-245. في: الأمراض الفيروسية للمحاصيل الزراعية المهمة في المنطقة العربية. خالد مكوك، جابر فجلة وصفاء قمري (معدين). الجمعية العربية لوقاية النبات. 631 صفحة.

*[**Mansour, A., G. Fegla, A. Haj-Kasem, A. Nasour, T. Alzdjali and H. Younes.** 2008. Virus diseases of tomato crops. Pages 245-272. In: Virus Diseases of Important Agricultural Crops in the Arabic Region. K.M. Makkouk, G. Fegla and S.G Kumari (eds.). Published by the Arab Society for Plant Protection, Beirut, Lebanon. 631 pp. (In Arabic).]*

مهنا، أحمد محمد، همام شعبان برهوم، لؤي أصلان وعصام قاسم 2014. حصر المجموعات الرئيسية من ذبابة التبغ البيضاء *Bemisia tabaci* Genn. المنتشرة على عوائل مختلفة في الساحل السوري باستخدام مؤشرات الـ DNA الدنا العشوائية. مجلة وقاية النبات العربية، 32(3): 207-218.

*[**Mouhanna, A.M., H. Barhoum, L. Assllan and A. Kassem.** 2014. Detection of the major groups of Bemisia tabaci Genn. spread on different hosts in Syria coastal based on random DNA indices. Arab Journal of Plant Protection, 32(3): 207-218. (In Arabic).]*

Akel, E., Q.A. Al-Rhayeh, N. Ali and I.D. Ismail. 2019. First report of a mixed infection with *Tomato yellow leaf curl virus* TYLCV and *Tomato spotted wilt virus* TSWV in some economic crops in the Syrian Coastal Region. Canadian Journal of Pesticides and Pest Management, 1: 37-45.
https://doi.org/10.34195/can.j.ppm.2019.12.003

Channarayappa, C., V. Muniyappa, D. Schwegler-Berry and G. Shivashankar. 1992. Ultrastructural changes in tomato infected with *Tomato leaf curl virus*, a whitefly-transmitted geminivirus. Canadian Journal of Botany, 70(9): 1747-1753.
https://doi.org/10.1139/b92-216

Cohen, S. and I. Harpaz. 1964. Periodic, rather than continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci Gennadius*). Entomologia Experimentalis et Applicata, 7: 155–166.
https://doi.org/101111/j. 1570-7458. 1964.tb02435.x

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, 15(6): 553-569. https://doi.org10.1080/09583150500088546

Kil, E.J., S. Kim, Y.J. Lee, H.S. Byun, J. Park, H. Seo, C.S. Kim, J.K. Shim, J.H. Lee, J.K. Kim, K.Y. Lee, H.S. Choi and S. Lee. 2016. *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV-IL): a seed-transmissible geminivirus in tomatoes. Scientific Reports, 6: 19013. https://doi.org/10.1038/srep19013

Li, H., X. Ding, C. Wang, H. Ke, Z. Wu, Y. Wang, H. Liu and J. Guo. 2016. Control of *Tomato yellow leaf curl virus* disease by *Enterobacter asburiae* BQ9 as a result of priming plant resistance in tomatoes. Turkish Journal of Biology, 40: 150-159. https://doi.org/10.3906/biy-1502-12

Makkouk, K.M., S. Shehab and S.E. Majdalani. 1979. Tomato yellow leaf curl: Incidence, yield losses and transmission in Lebanon. Journal of Phytopathology, 96(3): 263-267. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1979.tb01648.x

Martínez-Zubiaur, Y., D. Fonseca, M.L. Quiñones and I. Palenzuela. 2004. Presence of *Tomato yellow leaf curl virus* infecting squash *Cucurbita pepo* in Cuba. Plant Disease, 88(5): 572. https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.5.572C

Mishra, S., K.S. Jagadeesh, P.U. Krishnaraj and S. Prem. 2014. Biocontrol of *tomato leaf curl virus* (ToLCV) in tomato with chitosan supplemented formulations of *Pseudomonas* sp. under field conditions. Australian Journal of Crop Science, 8(3): 347-355.

Shahwan, E.D.M. 2010. Inducing systemic resistance against some tomato virus diseases. PhD Thesis, Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Benha University, Egypt. 225 pp.

van Peer, R., G.J. Niemann and B. Schippers. 1991. Induced resistance and phytoalexin in biological control of Fusarium wilt of carnation by *pseudomonas* sp. Strain WCS417r. Phytopathology, 81(7): 728-734. https://doi.org/10.1094/Phyto-81-728

Czosnek, H., R. Ber, Y. Antigus, S. Cohen, N. Vavot and D. Zamir. 1988. Isolation of *Tomato yellow leaf curl* virus, a geminivirus. Phytopathology, 78(5): 508–512. https://doi.org/10.1094/Phyto-78-508

Díaz-Pendón, J.A., M.C. Cañizares, E. Moriones, E.R Bejarano, H. Czosnek, J. Navas-Castillo. 2010. *Tomato yellow leaf curl viruses*: *ménage à trois* between the virus complex, the plant and the whitefly vector. Molecular Plant Pathology, 11(4): 441-450. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00618.x

El-Sawy, M.M., M.M. Elsharkawy, J.M. Abass and E.S. Hagag. 2018. Inhibition of *Tomato yellow leaf curl virus* by Zingiber officinale and Mentha longifolia extracts and silica nanoparticles. International Journal of Antivirals and Antiretrovirology, 1(1): 001-006.

Friedmann, M., M. Lapidot, S. Cohen and M. Pilowsky. 1998. A novel source of resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* exhibiting a symptomless reaction to viral infection. Journal of the American Society for Horticultural Science, 123(6): 1004–1007. https://doi.org/10.21273/JASHS.123.6.1004

Ghanim, M., S. Morin, M. Zeidan and H. Czosnek. 1998. Evidence for transovarial transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* by its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. Virology 240(2): 295–303. https://doi.org/10.1006/viro.1997.8937

Hasan, A.A. and A. Mouhanna. 2016. Detection of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) in some vegetable crops in greenhouses and identify its strains in the Syrian Coast. International Journal of ChemTech Research, 9(11): 278-286.

Hoben, H.J. and P. Somasegaran. 1982. Comparison of the pour, spread, and drop plate methods for enumeration of *Rhizobium* spp. in inoculants made from pre-sterilized peat. Applied and Environmental Microbiology, 44(5): 1246-1247. https://doi.org/10.1128/aem.44.5.1246-1247.1982

Jasim, B.N. and A.A. Al-Salihy. 2019. Molecular screening for Ty-1 and Ty-3 genes IN in seventeen tomato genotypes. Plant Archives, 19 (Supplement 2): 1762-1764.

Received: April 27, 2021; Accepted: October 10, 2021

تاريخ الاستلام: 2021/4/27؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2021/10/11