تقويم كفاءة رش خليط البكتريا *Pseudomonas fluorescenes* و *Bacillus subtilis* ومستحضر البيون على المجموع الخضري لنباتات الطماطة في مقاومة فيروس موزائيك الخيار

ميسر مجيد جرجيس
رقيب عاكف العاني
ليلى جبار صبر
جامعة بغداد/ كلية الزراعة

الخلاصة

هدف البحث الى تقويم كفاءة كلا من البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* ومستحضر البيون كعوامل استحثاث مقاومة نباتات الطماطة ضد فيروس موزائيك الخيار *Cucumber mosaic cucumovirus* عند استعمالهم رشاً على المجموع الخضري للنبات تحت ظروف البيت الزجاجي. أظهرت النتائج وجود تأثيرات معنوية للعوامل المذكورة في خفض نسبة وشدة الاصابة وزيادة في معايير النمو لنباتات الطماطة المدروسة قياساً بمعاملة المقارنة والمعداة بالفيروس بمفرده. بينت النتائج وجود كفاءة عالية لخليط نوعي البكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* عند رشه على المجموع الخضري قبل وبعد أربعة ايام من العدوى بالفيروس في خفض نسبة وشدة الاصابة إذ بلغت 12.50% و 17.50% على التوالي. وادت معاملة الخلط بنوعي البكتريا بطريقة الرش على المجموع الخضري والعدوى بالفيروس بعد أربعة ايام من الرش إلى اعلى نسبة منع لتضاعف الفيروس إذ بلغت 68.39% . تلت هذه المعاملات

معاملة الرش بمستحضر البيون حيث وصلت نسبة الاصابة 37.50% عند تركيز 1 ملغم/ مل بعد أربعة أيام من العدوى وشدة الاصابة 25.00%. واعطت معاملة العدوى بالفيروس ثم الرش بخليط نوعي البكتريا بعد يومين من العدوى زيادة في فعالية إنزيم Peroxidase حيث كان التغير في الامتصاص الضوئي / دقيقة/ غم وزن طري بعد 15 و30 يوما من العدوى بالفيروس 60.00 و48.83 على التوالي. في حين بلغ أعلى تغير في الانزيم بعد 15 و30 يوماً في معاملة الرش بالبيون تركيز 1ملغم/ مل بعد يومين من العدوى بالفيروس والتي بلغت 50.84 و36.06. أعطت معاملة الرش بالبيون تركيز 2ملغم / مل والعدوى بالفيروس بعد أربعة ايام من الرش أقل فعالية في إنزيم الـ PAL بعد 15 و30 يوماً من العدوى بالفيروس فبلغ 0.252 و 0.447 على التوالي.

المقدمة

يعد فيروس موزائيك الخيار *Cucumber mosaic cucumovirus* من الفيروسات المهمة أقتصاديا والتي تنتشر في جميع أنحاء العالم ولاسيما على العائلة القرعية والباذنجانية محدثاً خسائر كبيرة وفقد في الحاصل (Monghal واخرون، 1993 ؛ وفجلة وحسني،2003؛ Cerkanshas، 2004 ؛Malathrakis واخرون، 2007). يُنقل الفيروس ميكانيكياً بوساطة العصارة بسهولة (Cardin واخرين، 2003 ؛ صبر والعاني 2008 وAdhab وAl-Ani 2009). كذلك يُنقل بالعديد من أنواع حشرات المَن بطريقة غير باقية، فقد سجل Edwardson و Christie، (1991) و Zitter و Murphy،(2009) أكثر من 80 نوعاً من أنواع المَن تعود الى 33 جنساً ينقل الفيروس بطريقة غير باقية ومن أكثرها كفاءة مَن الخوخ الاخضر *Myzus persicae* Sulz. ومَن القطن Glover *Aphis gossypii*. ولهذا اتجهت الانظار الى البحث عن وسائل مقاومة تقوم بالاساس على استحثاث مقاومة النباتات ضد الفيروس والتي كان من ابرزها استعمال مركبات احيائية ولااحيائية.

أن المقاومة التي يكون فيها عامل الاستحثاث أحياء مجهرية غير ممرضة وتسبب زيادة في أنتاجية النباتات وتطور نموها أُطلق عليها Plant Growth Promoting

Rhizobacteria (PGPR) (Shoman واخرون، 2003؛ Han واخرون، 2005؛ Vanloon واخرون، 2006). والتي سُجلت لاول مرة من قبل Kloepper وSchroth (1978). وأُشير الى أن PGPR قادره على أستحثاث مقاومة ضد العديد من المسببات الفطرية والبكتيرية والفيروسية (Raupach واخرون، 1996؛ Murphy واخرون، 2000). ووجد أن معظمها يعود للجنسين *Pseudomonas* و*Bacillus* وتُعزى كفاءة هذه البكتريا الى التنافس مع المسببات المرضية على المواد الغذائية لقابليتها على النمو السريع وأنتاجها Siderophores وHCN وكذلك أنتاجها المضادات الحياتية ضد المسببات المرضية فضلاً عن أفرازها لأنزيمات محللة مثل Chitinase وB – 1,3 – glucanase وPeroxidase و PR – Proteins (Kloepper وSchroth، 1978؛ Lucas Garcia واخرون، 2004؛ Han واخرون، 2005).

ووجد أن المركب Lipopoly saccharide (Lps) المعزول من البكتريا *P. fluorescens* لا يقل فعالية عن البكتريا الحية في تحفيز المقاومة، ووجدت طفره في البكتريا *P. fluorescens* تفتقر الى السلسلة الانتيجية O-antigenic من Lps وفي الوقت ذاته فقدت قدرتها على تحفيز المقاومة الجهازية المستحثة ISR وهذه المعطيات تُشير الى أن مركب Lps يمثل أحد المحددات الرئيسية في تحفيزISR في النبات (Leeman واخرون، 1995). ويعد البيون مادة كيميائية تعمل على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات ، وهو ينتقل جهازياً في النبات ويعمل على تنشيط البروتينات المرتبطة بالامراضية PR-proteins ويزيد من مستوى الانزيمات وبعض المركبات الفينولية وبيروكسيد الهيدروجين والفايتولكسينات أوالدواحر (Thaler واخرون، 1999؛ Scarponi واخرون، 2001)، يستعمل هذا المستحضر على مستوى الحقل والبيوت الزجاجية وذلك لأنخفاض تاثيره السمي وسرعة تحلله في أنسجة النبات بالأضافة الى تاثيره البسيط على الانسان والبيئة (Soylu واخرون، 2003 ؛ Cao واخرون، 2011). وعمله مشابه لعمل الـ Salicylic acid (SA) في حث اشارة المقاومة الجهازية المكتسبة وذلك بتحفيز الجينات المتعلقة بالمقاومة وزيادة تراكم

المواد الفينولية واللكنين كما يعمل ايضاً على زيادة فعالية انزيمات الـ Peroxidase ، Phenyl alanine ammoniolyase ، مشابهات الـ Chalcone وأنواع الأوكسجين النشطBaysal (وآخرون ، 2005 ؛ Zhang واخرون، 2011) . وأشارت نتائج رش المجموع الخضري لنباتات البطيخ الاصفر بمركب البيون الى تراكم البروتينات المرتبطة بالامراضية مثل Chitinase والتي بدورها أدت الى أعاقة أنتشار فيروس CMV في النباتات تحت ظروف تجارب البيوت الزجاجية (Smith – Becker واخرون، 2003). وأمكن أستحثاث مقاومة مكتسبة SAR في نباتات التبغ ضد فيروس Tomato spotted wilt virus (TSWV) عند رشها بمركب البيون وبمقدار (0.25، 0.5، 1.0، 2.0 و4.0 غم مادة فعالة / 7000 نبات) تحت ظروف البيت الزجاجي إذ قل عدد البقع الموضعية على نبات التبغ مع التراكيز العالية من البيون بعد تلقيحها بالفيروس ميكانيكياً. ونظراً لصعوبة السيطرة على فيروس موزائيك الخيار على الطماطة ولتقليل اضراره فقد هدفت هذه الدراسة الى تقويم كفاءة رش خليط نوعي البكتريا *Pseudomonas fluorescenes* و *Bacillus subtilis* والبيون على المجموع الخضري لنباتات الطماطة في استحثاث المقاومة ضد هذا الفيروس.

المواد وطرائق العمل

تقويم فعالية معاملة رش نباتات الطماطة ببعض عوامل الاستحثاث والمعداة بفيروس موزائيك الخيار تحت ظروف البيت الزجاجي :

استعمل في هذه التجربة ثلاثة عوامل هي *P. fluorescens* و*B. subtilis* ومستحضر البيون وبتركيز 4×10^{9} للبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و 5×10^{8} للـ *Bacillus subtilis* واستعمل مستحضر الـ Bion بالتراكيز 1 و2 ملغم/ مل. إذ رشت محاليل كل تركيز على المجموع الخضري لنباتات التجربة (الطماطة)باستعمال مرشة يدوية وحتى البلل التام لنباتات الطماطة التي كانت بعمر 30 يوماً بعد البزوغ (مرحلة خمسة اوراق حقيقية) قبل وبعد 2 و4 أيام من العدوى الصناعية بالفيروس. وقد تم تحضير اللقاح الفايروسي الذي استعمل في العدوى الصناعية من اوراق طماطة مصابة بفيروس موزائيك الخيار وذلك بسحق 1غم من الاوراق القمية لنبات الطماطة

المصاب بالفيروس مع 4 مل من محلول دارئ الاستخلاص الفوسفاتي المبرد بتركيز 0.01 مولاري وذي اس هيدروجيني مقداره 7 (Noordam، 1973). تم تمرير العصير المستخلص من خلال طبقتين من قماش الململ واعتماد الراشح لقاحاً للفيروس، ثم مسحت اوراق نباتات الاختبار باللقاح الفايروسي بعد تعفيرها بمادة الكاربوراندم 600 مش، ورشت النباتات الملقحة بالماء المقطر بعد 1 – 2 دقيقة من العدوى . نفذت التجربة في البيت الزجاجي التابع الى قسم وقاية النبات- كلية الزراعة – جامعة بغداد وباربعة مكررات وفق التصميم الاحصائي التام التعشية وحللت النتائج احصائيا ، وتمت متابعة التجربة وتسجيل البيانات الخاصة بالمعاملات والتي هي تطور اعراض الاصابة على النباتات والنسبة المئوية للاصابة وشدة الاصابة .

وجرت متابعة ظهور الاعراض وشدتها على النباتات المعاملة ومتابعة تضاعف الفيروس في النباتات المعاملة باستعمال اختبار تقنية اليزا Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)، وتم اعتماد مدرج من ستة درجات لتقييم تطور الاعراض الظاهرة على النباتات حسب ما اشار اليه الباحث Wang واخرون ، 2011 وعلى النحو الاتي:

0 = لا توجد اعراض 2 = موزائيك طفيف 4 = موزائيك شديد على الاوراق 6 = موزائيك والتفاف الاوراق 8 = موزائيك شديد والتفاف شديد الاوراق 10 = موزائيك شديد والتفاف الاوراق مع تشوهات

$$\text{\% شدة المرض Y (Disease severity)} = \frac{(\text{عدد النباتات في الدرجة0} \times 0) + (\text{عدد النباتات في درجة1} \times 1) + \ldots + (\text{عدد النباتات في الدرجة} (8 \times 8))}{(\text{عدد نباتات الكلي}) \times 10} \times 100$$

النتائج والمناقشة:

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول(1) أن جميع المعاملات أدت الى خفض في نسبة وشدة الاصابة بفيروس موزائيك الخيار في نباتات الطماطة عند رشها بعوامل احيائية ولااحيائية فقد أدت معاملة رش البكتريا *P. fluorescens* على نباتات الطماطة قبل يومين من إجراء العدوى بفيروس موزائيك الخيار،ورش البكتريا *B . subtilis* ، ورش

نوعي البكتريا المذكورين خلطاً مع بعضهما على نبات الطماطة أيضاً قبل يومين من العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس الى خفض نسبة الاصابة الى25،37.5، 25% على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت فيها نسبة الاصابة بالفيروس100% اما شدة الاصابة فقد بلغت وللمعاملات نفسها المذكورة أنفاً 37.5، 25 ، 20% على التوالي. في حين بلغت شدة الاصابة في معاملة المقارنة 80% أن هذا الخفض في نسبة وشدة الاصابة كان معنوياً. اما معاملات رش بالبكتريا *P. fluorescens* و البكتريا *B. subtilis* وخليطهما بعد يومين من إجراء العدوى الصناعية على نباتات الطماطة بفيروس موزائيك الخيار فقد أدت الى خفض معنوي في نسب وشدة الاصابة في النباتات المعاملة إذ بلغت نسب الاصابة 50 ،50، 37.5% وشدة الاصابة 27.5،22.5، 25% على التوالي وللمعاملات نفسها. واعطت معاملتي رش خليط معلق نوعي البكتريا أعلى خفض في نسبة وشدة الاصابة عند رشها قبل وبعد أربعة أيام من العدوى بفيروس موزائيك الخيار إذ بلغت 12.50 و 17.50% على التوالي إلا أن معاملات رش معلق نوعي البكتريا وخليطهما على نباتات الطماطة قبل وبعد اربعة ايام من العدوى الصناعية بالفيروس فلم تختلف معنوياً عن معاملات رشها قبل وبعد يومين من العدوى .

في حين وفرت المعاملة بمركب الاستحثاث البيون رشاً على المجموع الخضري حماية أقل للنباتات ضد فيروس موزائيك الخيار قياساً بمعاملة نباتات الطماطة بالبكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* سواء بشكل مفرد أو خليط. فقد أعطت معاملة الرش بمركب البيون تركيز1 ملغم/ مل على نباتات الطماطة قبل وبعد يومين من اجراء العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس خفضاً في نسبة الاصابة الى 50% قياساً بمعاملة المقارنة وبوجود الفيروس والتي بلغت 100%. اما شدة الاصابة فقد بلغت وللمعاملات نفسها بلغت 32.5،27.5%على التوالي. في حين بلغت شدة الاصابة في معاملة المقارنة 80%.وادت معاملة الرش بمركب الاستحثاث البيون تركيز 2 ملغم/ مل على نباتات الطماطة قبل وبعد يومين من اجراء العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس الى خفض نسبة الاصابة والتي بلغت 50، 62.5% على التوالي. وبلغت شدة

الاصابة للمعاملات نفسها 42.5 ، 32.5% على التوالي. ولم تختلف هذه المعاملات معنويا عن بعضها البعض. اما معاملات الرش بمركب البيون تركيز 1ملغم/ مل قبل وبعد اربعة ايام من العدوى بالفيروس فقد ادت الى خفض في نسبة الاصابة وللمعاملات نفسها والتي بلغت 62.5 ،37.5% على التوالي وشدة اصابة بلغت 25% لكل منها. في حين ادت معاملة الرش بالبيون تركيز 2ملغم/ مل قبل وبعد اربعة ايام من العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس على نباتات الطماطة الى خفض نسبة الاصابة والتي بلغت 50% لكل منها وبلغت شدة الاصابة فيها 42.5 ،40% على التوالي.

وهذه النتائج تتفق مع ماشار اليه Pappu واخرون،(2000) من ان استعمال مركب الاستحثاث البيون رشاً على أوراق نباتات الطماطة أسبوعياً وبتركيز 50 ملغم/ لتر والعدوى بفيروس موزائيك الخيار CMV بعد أول معاملة بالبيون في الحقل والبيت الزجاجي ادى الى خفض نسبة الاصابة بالفيروس الى 85% في النباتات المعاملة قياساً مع النباتات غير المعاملة. وكذلك وجد ان رش المجموع الخضري لنباتات البطيخ الاصفر بالبيون ادى الى تراكم البروتينات المرتبطة بالامراضية مثل Chitinase والتي بدورها أدت الى أعاقة أنتشار فيروس موزائيك الخيار في النباتات (Smith – Becker واخرون، 2003).

وأدى رش البكتريا *P. fluorescens* على نباتات الطماطة الى تحسين نمو النباتات إذ بلغ معدل ارتفاع النباتات 33.38سم في حين كان في معاملة المقارنة (من دون وجود الفيروس) 17.25سم (جدول ،1). وكذلك الحال عند رش خليط البكتريا *B. subtilis* على نباتات الطماطة في حين لم تظهر فروقات معنوية بين رش نوعي البكتريا. وحقق الرش بالبكتريا *P. fluorescens* و*B. subtilis* نتائج مماثلة إذ بلغ معدل ارتفاع النباتات 34.25 سم (جدول ،1) ولم يختلف معنوياً ارتفاع النباتات عند رش معلق كل نوع من البكتريا المستعملة بمفرده. وأدت معاملة رش البكتريا *P. fluorescens* على نباتات الطماطة قبل يومين من إجراء العدوى بالفيروس، ورش البكتريا *B. subtilis*، ورش نوعي البكتريا المذكورين خلطاًمع بعضهماعلى نباتات الطماطة ايضاً قبل يومين من العدوى بالفيروس الى زيادة في ارتفاع النبات والتي

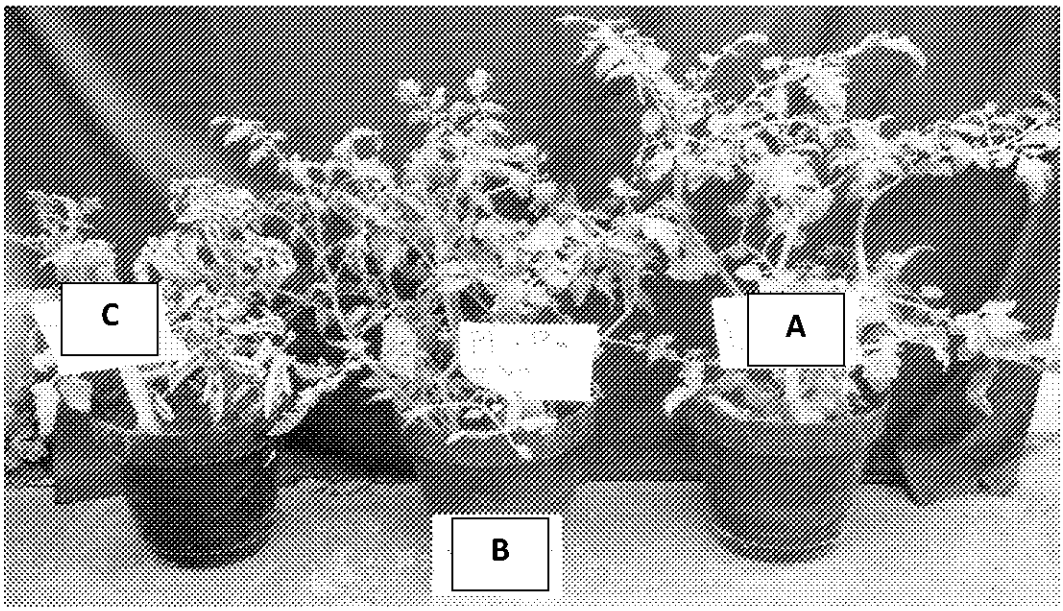
بلغت 27.88 ،28.25، 31.0 سم على التوالي. في حين بلغ في معاملة الفيروس بمفرده 15.13 سم .اما الزيادة في ارتفاع النباتات في معاملات الرش بالبكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* وخليطهما بعد يومين من إجراء العدوى بالفيروس فقد بلغت 25 .75، 30.0، 30. 38 سم على التوالي. اما معاملات الرش بالبكتريا المذكورة انفا قبل اربعة ايام من العدوى بالفيروس فبلغت ارتفاعات النباتات 32.0 ، 24.75، 33.5سم على التوالي. وبلغت في معاملات الرش بعد اربعة ايام من العدوى بالفيروس 27.13، 26.5، 31.88 سم على التوالي. ولم تختلف معاملات رش نوعي البكتريا وخليطهما على نباتات الطماطة قبل وبعد اربعة ايام من العدوى الصناعية بالفيروس معنوياً عن معاملات رشها قبل وبعد يومين من العدوى. وأدت المعاملة بمركب الاستحثاث البيون رشاً على المجموع الخضري تركيز 1 ملغم/ مل و2ملغم/ مل من دون العدوى بالفيروس الى زيادة ارتفاع النبات حيث بلغ 31.0 ،29.63 سم قياساً بمعاملة المقارنة بوجود الفيروس، في حين أعطى رش مركب الاستحثاث بتركيز 1،2 ملغم/ مل زيادة في ارتفاع النباتات قبل يومين من العدوى بالفيروس والتي بلغت 25.62، 23.38 سم على التوالي. وكذلك الحال عند رش البيون بعد يومين من العدوى إذ بلغ 27.5، 22.88سم على التوالي ومن دون فروقات معنوية بين معاملات الرش بالبيون قبل وبعد يومين واربعة ايام من العدوى. وأدى رش نوعي البكتريا *P. fluorescens* او *B. subtilis* او خليطهما معا على نباتات الطماطة ومن دون تلقيح النباتات بالفيروس الى زيادة في عدد افرع النبات إذ بلغت7.75، 8.63، 10.13 فرع / نبات قياساً بمعاملة المقارنة من دون وجود الفيروس والتي بلغت 6.63 فرع /نبات، في حين لم تختلف معاملات رش المجموع الخضري لنباتات الطماطة بالبكتريا *P. fluorescens*، *B. subtilis* وخليطهما معاً قبل وبعد اربعة ايام من تلقيح نباتات الطماطة بعصير النبات المصاب بالفيروس في عدد الافرع عن معاملات الرش قبل وبعد يومين من العدوى بالفيروس ولكنها اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة بوجود الفيروس والتي بلغ عدد الافرع فيها 2.88 فرع /نبات .

ومن جانب اخر حققت معاملات الرش بنوعي البكتريا بشكل مفرد او خليط الى زيادة الوزن الطري والجاف لنباتات الطماطة (الشكل 1،) ، فقد بلغ الوزن الطري لنباتات الطماطة عند رشها بالبكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* وخليطهما معا ثم العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس بعد يومين 8.55،9.64 ، 11.05 غم /نبات على التوالي. وبلغ الوزن الجاف وللمعاملات نفسها 2.89، 3.05 ،3.48 غم / نبات على التوالي. والتي لم تختلف معنويا عن معاملات رش نوعي الكتريا بشكل مفرد او خليط لنباتات الطماطة بعد يومين من العدوى بالفيروس ولكنها اختلفت معنوياً عن معاملة العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس بمفرده اذ بلغ الوزن الطري والجاف فيها 4.27 غم /نبات و 1.28 غم/ نبات. اما معاملات العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس قبل اربعة ايام من رش المجموع الخضري بنوعي البكتريا كلا على انفراد او بخليطهما معا لم تختلف نتائجها معنويا عن معاملات الرش قبل العدوى باربعة ايام في الوزن الجاف والطري. كما لوحظ وجود فروقات معنوية عند رش كلا من نوعي البكتريا او خليطهما معا ومن دون تلقيح النباتات بالفيروس والتي كان فيها الوزن الطري 11.41, 14.32 , 12.76 غم/ نبات على التوالي. وبلغ الوزن الجاف للمعاملات نفسها 3.59 , 4.18 , 3.86 غم/ نبات على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة ومن دون وجود الفيروس.

كما أدت معاملة الرش بالبيون تركيز 1 ملغم/ مل و2 ملغم/ مل على المجموع الخضري لنباتات الطماطة من دون التلقيح بالفيروس الى رفع معنوي في الوزن الطري والجاف إذ بلغ الوزن الطري فيها9.82، 9.59 غم/ نبات على التوالي. وبلغ الوزن الجاف 3.51، 3.35 غم/نبات قياساً بمعاملة المقارنة من دون وجودالفيروس فقد كان الوزن الطري8.11غم / نبات، وبلغ الوزن الجاف 1.60 غم/نبات، في حين ادت معاملة الرش بمركب البيون تركيز 1ملغم/ مل قبل وبعد يومين من العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس الى زيادة الوزن الطري والذي بلغ 6.95، 8.0 غم/ نبات على التوالي في حين بلغ الوزن الجاف للمعاملات نفسها 2.47 ، 2.50 غم/ نبات على التوالي. كما ادت المعاملة بالبيون تركيز 2 ملغم / مل قبل وبعد يومين من العدوى بالفيروس الى زيادة الوزن الطري والذي بلغ 6.77، 6.64غم/ نبات على التوالي وادت

المعاملات نفسها الى زيادة الوزن الجاف إذ بلغ 1.94، 1.77غم /نبات على التوالي. ولم تختلف معاملات الرش بالبيون تركيز 1ملغم/ مل قبل وبعد يومين من تلقيح نباتات الطماطة بعصير النبات المصاب معنوياً عن معاملات رش البيون بتركيز 1ملغم/ مل قبل وبعد اربعة ايام من العدوى بالفيروس في الوزن الطري والذي بلغ 6.80،8.41 غم/نبات على التوالي. وبلغ الوزن الجاف 2.24، 3.18غم/نبات على التوالي. وكذلك الحال لمعاملات الرش بالبيون تركيز2 ملغم/ مل قبل وبعد يومين من العدوى عن معاملات الرش قبل وبعد اربعة ايام من التلقيح بعصير النبات المصاب بالفيروس، ولكنها اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة بوجود الفيروس والذي بلغ فيها الوزن الطري 4.27غم /نبات والوزن الجاف 1.28 غم/نبات.

وقد فسرت الية عمل البيون من خلال تحفيزه الآليات الدفاعية الفيزيائية والبيوكيمياوية في النبات وهذا يتفق مع ماوجده (Smith-Becker واخرون ، 2003) من تراكم PR-proteins مثل chitinase وB-1,3 glucanase في نباتات البطيخ الاصفر عند معاملتها بالبيون رشاًعلى المجموع الخضري والتي أدت الى خفض الاصابة بفيروس موزائيك الخيار تحت ظروف البيت الزجاجي. إن تفوق المعاملات المضاف لها البكتريا *B . subtilis*، *P. fluorescens* في خفض معدلي نسبة وشدة الاصابة عند رشها على المجموع الخضري ربما يعزى لقدرتها على النمو السريع وإنتاجها Siderophores و HNC وافرازها المضادات الحيوية التي تعمل على كبح الممرض (Lucas Garcia واخرون 2004 وHan واخرون، 2005). فضلاً عن إنتاج البكتريا للانزيمات المحللة مثل Chitinase وB −1,3−glucanase وPeroxidase و PR – Proteins (، Harish واخرون، 2009؛ EL- Borollosy و Oraby، 2012).



شكل (1) كفاءة عوامل الاستحثاث في مقاومة فيروس موزائيك الخيار بطريقة الرش على المجموع الخضري

A: Pf +Bs+virus B: Bs+virus C: Virus

جدول(1). تقويم فعالية رش نباتات الطماطة ببعض عوامل استحثاث المقاومة لنباتات الطماطة والمعداة بفيروس CMV قبل وبعد 2و4 يوم في نسبة وشدة الاصابة تحت ظروف البيت الزجاجي

المعاملة	نسبة الاصابة / %	شدة الاصابة %/	ارتفاع النبات /سم	عدد الافرع /نبات	الوزن الطري للمجموع الخضري(غم/نبات)	الوزن الجاف للمجموع الخضري(غم/نبات)
1- الرش Pf بمفردها	0.00	0.00	33.38	7.75	11. 41	3.59
2- الرش Bs بمفردها	0.00	0.00	34.13	8.63	14.32	4.18
3- الرش Pf و Bs بمفردها	0.00	0.00	34.25	10.13	12.76	3.86
4- الرش Pf + العدوى بعد 2 يوم	25. 00	37.50	27.88	7.13	8.55	2.89
5- الرش Bs + العدوى بعد 2 يوم	37.50	25.00	28.25	6.88	9.64	3.05
6- الرش Pf وBs + العدوى بعد 2 يوم	25.00	20.00	31.00	8.88	11.05	3.48
7- العدوى+ الرش Pf بعد 2 يوم	50. 00	27.50	25.75	6.13	7.39	2.68
8- العدوى+ الرش Bs بعد 2 يوم	50.00	22.50	30.00	8.25	10.35	3.33
9- العدوى+ الرش PfوBs بعد 2 يوم	37.50	25.00	30.38	7.00	10.59	3.35
10- الرش Pf + العدوى بعد 4 يوم	37.50	25.00	32.00	7.75	11.29	3.44

2.39	6.91	4.88	24.75	40.00	50.00	11- الرش Bs + العدوى بعد 4 يوم
3.60	10.87	9.00	33.500	17.50	12.50	12- الرش Pf وBs + العدوى بعد 4 أيام
2.73	8.41	6.88	27.13	27.50	37.50	13- العدوى+ الرش Pf بعد 4 أيام
2.70	7.64	6.00	26.500	30.00	50.00	14- العدوى+ الرش Bs بعد 4 أيام
3.30	10.00	7.13	31.88	17.50	12.50	15- العدوى+ الرش Pf وBs بعد 4 أيام
3.51	9.82	10.00	31.00	0.00	0.00	16- الرش بالبيون تركيز 1 ملغم / مل بمفرده
3.35	9.59	6.38	29.63	0.00	0.00	17- الرش بالبيون تركيز 2 ملغم / مل بمفرده
2.47	6.95	5.00	25.62	32.50	50.00	18- الرش بالبيون تركيز 1 ملغم/ مل+ العدوى بعد 2 يوم
1.94	6.77	4.63	23.38	42.50	50.00	19- الرش بالبيون تركيز 2 ملغم/ مل+ العدوى بعد 2 يوم
2.50	8.00	6.25	27.500	27.50	50.00	20- العدوى +الرش بالبيون تركيز 1 ملغم / مل بعد 2 يوم
1.77	6.64	4.88	22.88	32.50	62. 50	21- العدوى +الرش بالبيون تركيز 2 ملغم /مل بعد 2 يوم
2.24	6.80	6.00	24.500	25.00	62.50	22- الرش بالبيون تركيز 1 ملغم/ مل+ العدوى بعد 4 أيام
2.59	7.26	6.88	26.00	42.50	50.00	23- الرش بالبيون تركيز 2 ملغم/ مل+ العدوى بعد 4 أيام
3.18	8.41	8.00	28.63	25.00	37.50	24- العدوى +الرش بالبيون تركيز 1 ملغم / ملبعد 4 أيام
2.84	6.82	8.25	26.38	40.00	50.00	25- العدوى +الرش بالبيون تركيز 2 ملغم / ملبعد 4 أيام
1.28	4.27	2.88	15.13	80.00	100.00	26- مقارنة / بوجود الفيروس
1.60	8.11	6.63	17.25	0.00	0.00	27- مقارنة / من دون الفيروس
1.185	4.408	3.074	5.591	21.147	53.443	L.S.D.

Pf= *Pseudomonas fluorecens*، Bs = *Bacillus subtilis*، الفيروس = فيروس موزائيك الخيار
Cucumber mosaic virus ، * كل رقم في الجدول يمثل معدل 3مكررات

جدول(2): قيم امتصاص اليزا لنباتات الطماطة المرشوشة بالعوامل الاحيائية والمعداة بفيروس موزائيك الخيار.

المعاملة	قيم امتصاص اختبار اليزا/ موعد القراءة (يوم بعد العدوى)		
	2 يوم	6 يوم	10 يوم
رش النباتات بالبكتريا Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	0.379	0.474	0.360
رش النباتات بالبكتريا Bs ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	0.488	0.334	0.396
رش النباتات بالبكتريا Bs, Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	0.527	0.468	0.377
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Pf بعد 2 يوم	0.431	0.478	0.520
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات Bs بالبكتريا بعد 2 يوم	0.476	0.351	0.433
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Bs, Pf بعد 2 يوم	0.400	0.394	0.500
رش النباتات بالبكتريا Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	0.446	0.560	0.311
رش النباتات بالبكتريا Bs ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	0.511	0.449	0.614
رش النباتات بالبكتريا Bs, Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	0.395	0.501	0.460
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Pf بعد 4 أيام	0.463	0.387	0.445
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات Bs بالبكتريا بعد 4 أيام	0.451	0.580	0.600
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Bs, Pf بعد 4 أيام	0.449	0.300	0.387
رش النباتات بالبيون تركيز 1ملغم/مل ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	0.564	0.517	0.636
رش النباتات بالبيون تركيز 2ملغم/مل ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	0.064	0.660	0.700
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 1ملغم/مل بعد 2 يوم	0.528	0.635	0.556
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 2ملغم/مل بعد 2 يوم	0.580	0.573	0.680
رش النباتات بالبيون تركيز 1ملغم/مل ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	0.478	0.600	0.674
رش النباتات بالبيون تركيز 2ملغم/مل ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	0.573	0.564	0.611
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 1ملغم/مل بعد 4 أيام	0.600	0.593	0.723
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 2ملغم/مل بعد 4 أيام	0.421	0.480	0.588
مقارنة بوجود الفيروس	0.607	0.681	0.984
مقارنة من دون الفيروس	0.560	0.071	0. 066
L.S.D.	0.052	0.038	0.017

Pf: *Pseudomonas fluorecens*، ***Bs***: *Bacillus subtilis*، الفيروس : فيروس موزائيك الخيار (CMV)
Cucumber mosaic virus، اليزا: Enzyme – Linked Immunosorbent Assay

جدول (3) تأثير رش نباتات الطماطة بالعوامل الاحيائية والبيون في تثبيط فيروس موزائيك الخيار إعتمادا على قيم امتصاص اختبار اليزا

المعاملة	%لمنع تضاعف الفايروس موعد القراءة (يوم بعد العدوى)		
	2 يوم	6 يوم	10 يوم
رش النباتات بالبكتريا Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	37.56	30.40	59.76
رش النباتات بالبكتريا Bs ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	19.60	50.95	63.41
رش النباتات بالبكتريا Bs , Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	13.18	31.28	61.69
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Pf بعد 2 يوم	29.00	29.81	47.15
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Bs بعد 2 يوم	21.58	48.46	56.00
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Bs , Pf بعد 2 يوم	34.10	42.14	49.19
رش النباتات بالبكتريا Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	26.52	17.77	53.25
رش النباتات بالبكتريا Bs ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	15.82	34.07	37.60
رش النباتات بالبكتريا Bs,Pf ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	34.93	26.43	68.39
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Pf بعد 4 أيام	23.72	43.17	54.78
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Bs بعد 4 أيام	25.70	14.83	39.02
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبكتريا Bs , Pf بعد 4 أيام	26.03	55.95	60.67
رش النباتات بالبيون تركيز 1 ملغم / مل ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	7.08	24.08	35.37
رش النباتات بالبيون تركيز 2 ملغم / مل ثم العدوى بالفيروس بعد 2 يوم	0.49	3.08	28.86
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 1 ملغم / مل بعد 2 يوم	13.01	6.75	43.50
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 2 ملغم / مل بعد 2 يوم	4.45	15.86	30.89
رش النباتات بالبيون تركيز 1 ملغم / مل ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	21.25	11.89	31.50
رش النباتات بالبيون تركيز 2 ملغم / مل ثم العدوى بالفيروس بعد 4 أيام	5.60	17.18	37.91
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 1 ملغم / مل بعد 4 أيام	1.15	12.92	26.52
العدوى بالفيروس ثم رش النباتات بالبيون تركيز 2 ملغم / مل بعد 4 أيام	30.64	29.52	40.24
مقارنة من دون الفيروس	90.86	89.57	93.29
أقل فرق معنوي L.S.D. عند مستوى P=0.05	3.35	4.45	4.57

Pf: *Pseudomonas fluorecens*، ***Bs***: *Bacillus subtilis*، الفيروس : فيروس موزائيك الخيار (CMV) *Cucumber mosaic cucumovirus*، اليزا: Enzyme – Linked Immunosorbent Assay ،

إن دور البكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* المستعملة في مجال المكافحة الاحيائية يتعدى التأثير المباشر على المسببات المرضية ليشمل تحسين ونمو النبات وزيادة جاهزية العديد من العناصر الغذائية لمقدرتها على إنتاج مواد أيضية محفزة لانبات البذور وتعزيز نمو الجذور وزيادة مقاومة النبات للاجهادات البيئية (Klopper واخرون، 1999 و Lucus Garcia واخرون، 2004). تنتج البكتريا *P. fluorescens* العديد من المضادات الحيوية مثل Pyoluteorscens ومركبات Siderophores التي تقوم بتثبيت النتروجين الجوي بصورة غير تكافلية وتزيد من جاهزية العناصر الغذائية وفي مقدمتها عنصر الحديد (Mavrodi واخرون ،2001 و Sharma و Johri، 2003).

وربما تعود الزيادة في معاملات البكتريا لمعظم معايير نمو نبات الطماطة الى خصائص البكتريا *B. subtilis* الحياتية في إفرازها منظمات نمو كالجبرلينات Gibberellins والاوكسينات Auxin والسايتوكاينينات Cytokinins، الأمر الذي يزيد من مقدرة النبات على أمتصاص الماء والعناصر الغذائية من محلول التربة المحيط بجذور النباتات ومن ثم التأثير غير المباشر في زيادة ارتفاع النبات وفروعه ووزنه الطري والجاف (Dobbelaere واخرون؛ 2003 وIdris واخرون، 2004؛ Soleimani واخرون، 2011). وإن الزيادة في الوزن الجاف للمجموع الخضري في معاملات الخلط تعود الى مقدرة كل من نوع البكتريا *P . fluorescens* و *B. subtilis* على تثبيت النتروجين الجوي بصورة حرة وهذا يلبي بعض حاجة النبات من هذا العنصر الغذائي المهم والذي يدخل في بناء جزيئة الكلوروفيل وتركيبة الاحماض الامينية والبروتينات مما يسهم في زيادة المادة الجافة للنبات أو نمو المجموع الخضري(Ryu واخرون، 2004).

ويعتقد إن دور فعالية مركب البيون في زيادة معايير النمو تكمن في مقدرته على تحفيزالمقاومة الجهازية في نباتات الطماطة نتيجة تراكم البروتينات المرتبطة بدفاعات النبات مثل انزيمChitinase وB-1,3 glucanase و phenyl (PAL alanine ammonia lyase) وزيادة تركيز حامض السالسيلك في النبات وان آلية

تأثيره في خفض نسبة وشدة الاصابة بالممرض تأتي بسبب تجمع بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (Thaler واخرون؛ 1999 وOostendorp واخرون، 2001).

إلا انه في نتائج الدراسه الحالية كانت فعالية مركب الاستحثاث البيون أقل مما هوعليه في المعاملات البكتيرية سواء كانت بشكل مفرد اوخليط. وهذه النتائج تؤكد ماوجده Ryu واخرون، (2004) وRyu واخرون ، (2007) .

وقد تفوقت معاملة الرش بخليط نوعي البكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* على نباتات الطماطة ثم العدوى بالفيروس بعد أربعة أيام من الرش إذ بلغت قيمة الامتصاص لاختبار اليزا 0.311. وكانت نسبة منع تضاعف الفيروس 68.39%. تلتها معاملة الرش بالمعلق البكتيري *B. subtilis* ثم العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس بعد يومين ومعاملة الرش بخليط *P. fluorescens* و *B. subtilis* ثم العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس بعد يومين ومعاملة الرش بالخليط *P. fluorescens* و *B. subtilis* ثم العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس قبل أربعة أيام من الرش حيث بلغت قيم الامتصاص لاختبار اليزا فيها 0.396 و 0.377 و0.387 على التوالي. ونسب منع تضاعف الفيروس63.41% و61.69% و60.67%. وأعطت معاملات الرش بمركب الاستحثاث البيون تأثيرا تثبيطا للفيروس اقل مما هو عليه في معاملات الرش بالبكتريا . فكانت أعلى نسبة منع تضاعف الفيروس في المعاملة بمستحضر البيون تركيز 1ملغم/ مل والعدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس قبل يومين 43.50% وبقيمة امتصاص 0.556 (جدول،2و3).

بلغت اعلى فعالية للانزيم في معاملة الرش على المجموع الخضري بخليط نوعي البكتريا *P. fluoresecens* و*B. subtilis* بعد أربعة أيام من العدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس 60.0 بعد 15يوما من العدوى بالفيروس وبلغ التغير 48.827 بعد 30 يوما من العدوى. وكانت فعالية انزيم البيروكسيديز عند الرش بمستحضر البيون تركيز 1 ملغم/ مل و2 ملغم / مل ادنى فعاليةمن معاملات الرش بنوعي البكتريا بشكل مفرد او خليط اذ بلغت فعالية الانزيم في معاملتي الرش بمستحضر البيون تركيز 1 ملغم/ مل بعد يومين من العدوى بالفيروس والرش بتركيز 2 ملغم/ مل قبل أربعة أيام

من العدوى بالفيروس50.843 و 46.487 على التوالي بعد 15 يوماً من العدوى بالفيروس وبلغ التغير36.063 و26.457 على التوالي بعد 30 يوما من العدوى.

حققت معاملة الرش على المجموع الخضري بالبكتريا *B. subtilis* والعدوى بعصير النبات المصاب بالفيروس بعد يومين من الرش بالبكتريا زيادة في فعالية انزيم PAL والتي بلغت 0.850 و 0.478 مايكروغرام/ حامض سينماميك / ساعة / غم وزن طري بعد 15و 30 يوما من العدوى بالفيروس على التوالي دون وجود فروق معنوية بينها وبين معاملتي الرش بخليط نوعي البكتريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* بعد يومين من العدوى بالفيروس ومعاملة الرش بالبكتريا *P. fluorescens* والعدوى بالفيروس بعد اربعة ايام من الرش حيث بلغت فعالية الانزيم 0.657 و0.584 مايكروغرام/ حامض سينماميك / ساعة / غم وزن طري بعد 15 يوماً من من العدوى على التوالي. وبلغت 0.611 و0.452 مايكروغرام/ حامض سينماميك / ساعة / غم وزن طري بعد 30 يوما من العدوى بالفيروس. وأعطت معاملتي الرش بمستحضر البيون بتركيز 1ملغم/ مل بعد أربعة أيام من العدوى بالفيروس زيادة في فعالية الانزيم والتي بلغت0.554 مايكروغرام حامض سينماميك / ساعة / غم وزن طري بعد 15 يوما من العدوى في حين بلغ الانزيم بعد 30 يوما من العدوى بالفيروس0.367 مايكروغرام / حامض سينماميك / ساعة / غم وزن طري ولم تختلف هذه المعاملة معنويا عن معاملتي الرش على المجموع الخضري بمستحضر البيون تركيز 1ملغم/ مل بعد يومين من العدوى بالفيروس ومعاملة الرش بمستحضر البيون تركيز 2ملغم / مل والعدوى بالفيروس بعد اربعة ايام وللمدة نفسها ولكنها اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة من دون وجود الفيروس والتي بلغ عندها إنزيم الـPAL بعد15 و30 يوماً من العدوى والتي كانت0.091 و0.042 مايكروغرام حامض سينماميك / ساعة / غم وزن طري.

وان هذه النتائج تتفق مع ما اشار اليه عدد من الباحثين الى ارتباط مقاومة النباتات المختلفة مع زيادة فعالية أنزيمي Peroxidase وPhenyl Alanine نتيجة لاستحثاث المقاومة فيها بعوامل مختلفة (احيائية ولا احيائية) (Ryu واخرون 1999 و Harish واخرون، 2009).

المصادر العربية:

صبر، ليلى جبار، رقيب عاكفالعاني. (2008). تحديد اربع سلالات لفايروس موزائيك الخيار مصلياً وبايولوجياً وعلاقتها بالامراضية . مجلة العلوم الزراعية العراقية .39(1):59-68.

فجلة، جابر ابراهيم عبد السلام السمرة وحسني علي يونس.(2003). المدى العوائلي ، النقل الحشري ، التنقية والاختبارات السيرولوجية لعزلة من فيروس موزائيك الخيار معزولة من دفيئات بندورة /طماطم في شمال مصر . مجلة وقاية النبات العربية ،21: 145.

المصادر الأجنبية:

Adhab, M.A., and R.A. Al-Ani. (2009). Evaluation of Immunostrip-ELISA Test for Identification of TMV and CMV Viruses in IRAQ. Al-Anbar Journal of Agricultural Sciences 7(3): 219- 231.

Baysal,O. ; Turgut, C. and Mao, G. (2005). Acibenzolar-s-methyl induced resistance to *Phytophthora capsici* in pepper leaves . Biologia Plantarum 49(4): 599-604.

Cao, S., Hu, Z.; Zheng, Y.; Yang, Z. and Lu, B. (2011). Effect of BTH on antioxidant enzymes, radical-scavenging activity and decay in strawberry fruit. Food Chemistry, 125, 145-149.

Cardin, L.; Poupet A. and Onesto J.P. (2003). First report of cucumber mosaic virus in *Tencrium fruticans*. Plant Disease 87: 200.

Cerkauskas, R. (2004). Cucumber Mosaic Virus. Fact Sheet. AVRDS-TheWorld Vegtable Center. www: www.avrdc.org.

Dobbelaere, S.; Vanderleyden, J. and Okon, Y. (2003). Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Crit Rev Plant Sci 22:107–149.

Edwardson, J.R. and R.G. Christie. (1991). CRC Handbook of viruses infecting legumes. CRC Press, Boca Raton, University of Florida, USA. 293. pp.

El-Borollosy,A.M. and Oraby,M.M.(2012). Induced systemic resistance against Cucumber mosaic cucumovirus and promotion of cucumbergrowth by some plant growth – promoting rhizobacteria .Annals of Agricultural Science.57(2):91-97.

Elshafie, E., Daffalla, G.; Gebre K. and Marchoux , G. (2005). Mosaic –inducing viruses and virus like –agents infecting tomato and pepper in Sudan . International Journal of Virology 1:28.

Han, J., Sun L.; Dong, X.; Cai,Z. X.; Yang,H. ;Wang Y. and Song,W. (2005). Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. Syst. Appl. Microbiol., 28: 66-76.

Harish, S.; Kavino, M.; Kumar, N.; Balasubramanian, P. and Samiyappan, R. (2009). Induction of defense-related proteins by mixtures of plant growth promoting endophytic bacteria against Banana bunchy top virus. Biological Control, 51 (1): 16-25

Idris ,E.E.; Bochow, H.; Ross, H. and Borriss, R. (2004). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. VI. Phytohormone like action of culture filtrates prepared from plant growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, FZB42, FZB45 and *Bacillus subtilis* FZB37. Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 111:583–597.

Kloepper, J. W. and Schroth, M. N., (1978). Plant growth promoting rhizobacteria on radish. In : Proc. of the Fourth Int. Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Vol. 2, Angers, A. B. and Gibert, Tennesse, USA, pp. 879-882.

Kloepper,K.W.;R. Rodiguez-Kabana ,G.W.; Zehnder ,J.;Murphy ,E.; Sikora and C. Fernandez. (1999). Plant root –bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extention to systemic and foliar disease . Australasian Plant Pathology .28:27-33.

Leeman, M.; Van Pelt, J.A.; Den Ouden, F.M.; Heinsbroek, M. ; Bakker P.A.H.M. and Schippers. B. (1995). Induction of systemic resistance against Fusarium wilt of

radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathology, 85: 1021-1027.

Lucas Garcia, J.A.; Probanza, A.; Ramos, B.; Barriuso, J. and Gutierrez Manero, F.J. (2004). Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) and *Sinorhizobium fredii* on biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Glycine max* cv. Osumi. Plant and Soil, 267: 143-153.

Malathrakis, N.; Goumas, D. and Augelis, A. (2007). Tomato diseases. Typokreta, BIPE Heraklion, Crete, 54-59.

Mavrodi,O.V.;Mespadden,B.B.;Thomashow,L.S.;Mavrodi,D.V.;Bonsall,R.F. and Weller, D.M.(2001). Diacetyl phloroglucinol production fluorescent *Pseudomonas spp.* Phytopathology 91:35-43.

Moghal, S.; Shivanathan, P.; Mani, A. Al-Zadjali , A.D.; AlZadjali T.S. and Al-Raeesy, Y.M. (1993). Status of Pests and Diseases in Oman : Series 1:PlantDiseases in the Batinah .Mazoon Printing Press , Directorate General of Agricultural Research , Rumais , Sultanate of Oman Document No.6/93/22.105 pp.

Murphy, J. F.; Zehnder, G. W.; Schuster, D. J.; Sikora, J. E.; Polston and Kloepper, J. W. (2000). Plant growth promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against tomato mottle virus. Plant Disease, 84 : 779-784.

Noordam, D. (1973). Identification of plant viruses. Methods and Experiments. Center for Agriculture Publishing and Documentation, Wageningen the Nethelands , pp: 207.

Oostendorp, M.; Kunz, W.; Dietrich, B. and Staub, Th. (2001). Induced disease resistance in plants by chemicals. European Journal of Plant Pathology, 107: 19-20.

Pappu, H.; Csinos, A.; McPherson, R.; Jones, D. and Stephenson, M. (2000). Effect of acibenzolar-S-methyl and imidacloprid on suppression of tomato spotted wilt Torspovirus in flue-cured tobacco. Crop Protection, 19, 349-354.

Raupach, G.S.; Liu, L.; Murphy, J.F.; Tuzun, S. and Kloepper, J.W. (1996). Induced systemic resistance in cucumber and tomato against Cucumber mosaic cucumovirus using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Plant Dis. 80, 891–894.

Ryu, C. M.; Murphy, J. F.; Mysore, K. S. and Kloepper, J. W. (2004). Plant growthpromoting rhizobacteria systemically protect *Arabidopsis thaliana* against Cucumber mosaic virus by a salicylic acid and NPR1- independent and jasmonic acid-dependent signaling pathway. Plant Journal, 39, 381-392.

Ryu,C.M.; Kang,R.B.; Han,S.H.; Song, Mi.; Cho,S.M.; Kloepper,J.W.; Anderson J. A.and Kim,A.Y.C.(2007). Tobacco cultivars vary in induction of systemic resistanceagainst Cucumber mosaic virus and growth promotion by *Pseudomonas chlororaphis* O6 and its gacS mutant. Eur J Plant Pathol.119:383–390

Scarponi, L.; Buonaurio, R. and Martinetti, L. (2001). Persistence and translocation of a benzothiadiazole derivative in tomato plants in relation to systemic acquired resistance against *Pseudomonas syringae* pv. tomato. Pest Management Science, 57, 262-268.

Sharma,A. and Johri,B.N. (2003).Combat of iron depravation through aplant growth promoting fluorescent *Pseudomonas* strain GRP3A in mung bean (*Vigna radiatal Wilzeck*). Microbial .Res. 158:77-81.

Shoman, S.A.; Abd-Allah, Nagwa.A.and El-Baz, A.F. (2003). Induction of resistance to tobacco necrosis virus in bean plants by certain microbial isolates. Egypt. J. Biol. 5, 10–18.

Smith-Becker, J.; Keena, N. T. and Becker, J. O. (2003). Acibenzolar-S-methyl induces resistance to *Colletotrichum lagenarium* and Cucumber mosaic virus in cantaloupe. Crop Protection, 22, 769-774.

Soleimani, P.; Mosahebi, G. and Habibi, M.K. (2011). Identification of some viruses causing mosaic on lettuce and characterization ofLettuce mosaic virus from Tehran Province in Iran. Afr. J. Agric. Res. 6 (13), 3029–3035.

Soylu, S.; Baysal, Ő. and Soylu, E. M. (2003). Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter*

michiganensis subsp. michiganensis) in tomato seedlings. Plant Science, 165, 1069-1075.

Thaler, J. S.; Fidantsef, A. L.; Duffey, S. S. and Bostock, R. M. (1999). Trad offs in plant defence against pathogens and herbivores : a field demonstration of chemical elicitors of induced resistance. Journal of Chemical Ecology of Induced Resistance, 25, 1597-1609

vanLoon, L. C.; Geraats, B. P. J. and Linthorst, H. J. M. (2006). Ethylene as amodulator of disease resistance in plants. Trends Plant Sci. 11:184- 191.

Wang,S.; Wu,H.; Zhan,J.; Xia,Y.; Gao.S.; Wang,W.; Xue,P. and Gao,X.(2011). The role of synergistic action and molecular mechanism in the effect of genetically engineered strain *Bacillus* subtilis OKBHF in enhancing tomato growth and Cucumber mosaic virus resistance for Biological Control.56:113–121

Zhang,Z. ; Ge,B.,Y.; Wang,J.; Deng,J.; Xie,D. and Wang , Y. (2011). Muitiple pre -harvest treatments with a cibenzolar-s- methyl reduce latent infection and induce resistance in muskmelon fruit. Scientia Horticulturae 130(1):126-132.

Zitter, T. A. and Murphy, J. F. (2009). Cucumber mosaic virus. The Plant Health Instructor, 10, 1094.

Evaluation of foliage sprayof mixture of *Pseudomonas fluorescenes* , *Bacillus subtilis* and Bion of tomato plants for resistance *cucumber mosaic cucumovirus*

Mysir M.Jarjees , Rakib A. Al-Ani Layla J. Sabier
College of Agriculture, University of Baghdad

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the efficiency of biotic agents *Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis* and abiotic agent Bion in inducing resistance in tomato plants against *cucumber mosaic cucumovirus (*cmv) under greenhouse conditions were used as foliar spray. Results of this experiment indicated that there was a significant effects of both bacteria in deceeasing the disease percentage and severity, while the growth parameters were increased compare with control treatment which inoculated with the virus only. The use of mixture of *P. fluorescence* and *B.subtilis* by the means of foliar application before and after 4 days of virus inoculation showed reduction in percentage and severity of disease infection which were 12.50% and 17.50% respectively. The best treatment was foliar spray and then plants inoculated with virus after 4 days of spray which was caused high Inhibition activity of virus (cmv) multiplication 68.39%, followed by spray treatment with Bion 1 mg/ ml after 4 days of virus inoculation showed reduction in the percentage and severity of disease infection which was 37.50% and 25.00% respectively . The results also indicated that mixture of both bacteria were significantly increased the activity of peroxidase enzyme for foliar application after 2 days of virus inoculation which was giving 48.83 and 60.00 after 15 and 30 days of virus inoculation. Bion 1 mg/ ml showed highest change in peroxidase absorbance when it was used as foliar spray after 2 days from virus inoculation which was 50.84 and 36.06 after 15 and 30 days respectively. . Bion 2 mg/ ml sprayed of plants and virus inoculation after 4 days of spraying showed less change in PAL absorbance after 15 and 30 days of virus inoculation which gave 0.447and 0.252 respectively.