تأثير سلالتين من الريزوبكتيريا المحفزة للنمو (PGPR) في كمية صبغات التركيب الضوئي وتركيز الفيروس في نباتات البندورة/الطماطم المصابة بفيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم تحت ظروف الزراعة المحمية

إنصاف حسن عاقل[1]*، قصي علي الرحية[1]، حنان نادر قواس[1] وعماد دأود اسماعيل[2]

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

*البريد الالكتروني للباحث المراسل: ensafakel5n4a@gmail.com

الملخص

عاقل، إنصاف حسن، قصي علي الرحية، حنان نادر قواس وعماد دأود اسماعيل. 2026. تأثير سلالتين من الريزوبكتيريا المحفزة للنمو (PGPR) في كمية صبغات التركيب الضوئي وتركيز الفيروس في نباتات البندورة/الطماطم المصابة بفيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم تحت ظروف الزراعة المحمية. مجلة وقاية النبات العربية، 44(1):95–102. https://doi.org/10.22268/AJPP-001381

يعدّ فيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم (Tomato spotted wilt virus, TSWV) مرضاً وبائياً تسبب بإحداث خسائر فادحة على العديد من محاصيل العائلة الباذنجانية، في الزراعات المحمية في مناطق مختلفة من العالم. هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير سلالتين من البكتيريا المحفزة للنمو *Pseudomonas chlororaphis* MA342 و *Bacillus subtillis* FZB27 في كمية صبغات التركيب الضوئي، وتركيز الفيروس في نباتات البندورة/الطماطم المعداة بفيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم (TSWV). نفذت تجربة حقلية ضمن بيت بلاستيكي تحت الظروف الطبيعية خلال خريف وشتاء 2019–2020. صُمّمت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، تضمنت 10 معاملات، 4 مكررات لكل معاملة، وتضمن كل مكرر 6 نباتات، ليصل عدد النباتات الكلي إلى 240 نباتاً. تمت إضافة البكتيريا عن طريق معاملة البذور وريّ الجذور، ورش المجموع الخضري. تم إجراء العدوى بالفيروس بواسطة حشرات التربس. قدرت كمية صبغات التركيب الضوئي (كلورفيل A، B)، الكاروتينات وتركيز الفيروس بعد 30 يوماً من العدوى. أظهرت النتائج أن كمية صبغة الكلوروفيل A في النباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس أعلى معنوياً (0.349–0.517 مل/غ) مقارنة بالشاهد المعدى (0.142 مل/غ)، كما كانت كمية صبغة الكلوروفيل B في النباتات المعاملة والمعداة أعلى (0.201–0.279 مل/غ) من معاملة الشاهد المعدى (0.166 مل/غ) ولكن دون وجود فرق معنوي، حيث زادت البكتيريا من كمية صبغة الكلوروفيل Aو B، وكانت أعلى نسبة زيادة 65.49 و 68.07%، على التوالي، مع السلالة B27 التي أضيفت بالطرائق الثلاث (معاملة البذور، ري الجذور ورش المجموع الخضري). أظهرت نتائج اختبار إليزا (DAS-ELISA) بعد 30 يوماً من العدوى بالفيروس، انخفاض تركيز TSWV معنوياً في النباتات المعداة والمعاملة مقارنة بالشاهد المعدى، حيث بلغت أعلى نسبة تثبيط للفيروس 68.55% عند استخدام السلالة البكتيرية B27 المضافة بالطرائق الثلاث.

كلمات مفتاحية: فيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم، البكتيريا المحفزة للنمو، صبغات التركيب الضوئي، DAS-ELISA.

المقدمة

تعدّ الأمراض الفيروسية المنقولة بواسطة الحشرات من أكثر التحديات التي تواجه إنتاج البندورة/الطماطم على مستوى العالم، ومن بينها فيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم (Tomato spotted wilt virus, TSWV)، جنس *Tospovirus*، فصيلة *Bunyaviridae*، الذي يسبب انخفاضاً كبيراً في الإنتاج والنوعية في جميع مناطق زراعتها في العالم، وقد تصل الخسائر في بعض الحالات إلى 100% (Peters, 1998). يصاحب الإصابة بالفيروس أعراض ظاهرية مميزة تتمثل بتلون الأوراق الحديثة باللون البرونزي، إضافة إلى التفافها، يلي ذلك ظهور بقع عديدة وصغيرة داكنة، وتدلي الأوراق الملتفة إلى أسفل النبات مما يعطي النبات مظهر الذبول الشبيه بأعراض الذبول المتسبب عن فطر الفيوزاريوم والفرتيسليوم (Tsompana *et al*., 2005).

تظهر على الثمار الخضراء بقع صفراء شاحبة بقطر 0.5 سم، وتصبح البقع بارزة وواضحة فيما بعد، كما تأخذ مظهر العين أو دوائر عديدة متحدة المركز بلون أصفر أو داكن متبادلة مع أخرى خضراء، لتصبح لاحقاً بلون ارجواني أو أحمر، بينما تتعرض الثمار الناضجة للتشوهات وتأخذ مظهر دوائر متحدة المركز، ويظهر على الساق والسويقات تقلم داكن (Zitter, 1991). تعدّ الأعشاب مصدراً مهمّاً ومخزناً للفيروس، كعشبة اللبلاب وعشبة الطير (ChamberllN *et a*l., 1993). تعدّ البندورة/الطماطم العائل الرئيسي للفيروس على الرغم من قدرته على إصابة أنواع أخرى تعود إلى أجناس مختلفة (Csinos *et al*., 2001؛

https://doi.org/10.22268/AJPP-001381
© 2026 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

Culbreath *et al*., 2003). وهو فيروس عالي الخطورة على نباتات الزينة داخل البيوت الزجاجية (Mandal *et al*., 2006). تُعدّ حشرات التربس الناقل الرئيسي لهذا الفيروس، حيث يسهم في نقله 11 نوعاً من التربس تتضمن: *Thrips palmi*، *T. tabaci*، *T. setosus*، *Frankliniella fusca*، *F. schultzei* و *F. occidentalis* بالطريقة المثابرة (Whitfield *et al*., 2005 ؛Sin *et al*., 2005)؛ كما ينتقل بالعدوى الميكانيكية. تمّ تسجيل الفيروس في سورية على عدة محاصيل، مثل: البندورة/الطماطم (عاقل وآخرون، 2012)؛ البندورة/الطماطم والفليفلة (Akel *et al*, 2019؛ اسماعيل، 2012)؛ الفول السوداني (قواس وآخرون، 2009)، وعلى البندورة/الطماطم وأعشاب تابعة للعائلة الباذنجانية (الحلبي وآخرون، 2014؛ Mohammad *et al*, 2014)

لا تعدّ المبيدات عنصراً فعالاً في الحدّ من انتشار فيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم الذي تنقله حشرات التربس، لأنها لا تستطيع قتل حشرات التربس بالسرعة الكافية، أي قبل تمكنها من نقل الفيروس . بالإضافة الى ذلك، أدى ظهور أنماط من التربس مقاومة للمبيدات إلى تفاقم المشكلة، مما زاد في صعوبة المكافحة الكيميائية، كما أن قلة وجود أصناف بندورة/طماطم مقاومة لفيروس TSWV تضيف تحدياً إضافياً في مكافحة هذا الفيروس. وعليه، تبرز المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) كخيار أكثر فاعلية لإدارة الامراض المنقولة بواسطة الحشرات، وذلك بعد إثبات دور أنواع مختلفة من البكتيريا الجذرية في تحسين نمو النباتات وتحفيز مقاومتها للعديد من الأمراض، ومنها الأمراض الفيروسية، وعلى محاصيل مختلفة حول العالم (Ryu *et al*., 2007؛ Kandan *et al*., 2005؛ Maurhofer *et al.,*1994؛ Shahwan 2010؛ van Peer *et al.,* 1991؛ Zehnder *et al*., 2001). وفي سورية، أثبتت التجارب السابقة فعالية هذه الطريقة على محصول البندورة/الطماطم ضدّ عدة فيروسات (الشامي وآخرون، 2018؛ عاقل وآخرون، 2020؛ قواس وآخرون، 2018).

بناءً على ذلك، هدف هذا البحث إلى تقييم إمكانية استخدام سلالتين من البكتيريا المحسنة لنمو النبات (PGPR) في تحفيز مقاومة هجين البندورة/الطماطم "أرجوان" في تخفيف تأثير فيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم، وتشجيع النمو النباتي في ظروف الزراعة المحمية.

مواد البحث وطرائقه

موقع وتصميم التجربة

نفذ البحث في الظروف الطبيعية خلال خريف وشتاء 2019–2020 في مركز البحوث الزراعية في اللاذقية في تجربة حقلية ضمن ظروف البيت البلاستيكي .صُمّمت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، تضمنت التجربة 10 معاملات، كررت كل معاملة 4 مرات، وتضمن كل مكرر 6 نباتات، ليصل إجمالي عدد نباتات التجربة إلى 240 نباتاً . استخدم في التجربة هجين البندورة/الطماطم "أرجوان"، معامل بالثيرام، نسبة الإنبات 85%، النقاوة 98%، وهو من الهجن الحساسة للفيروس.

العزلة الفيروسية

تم الحصول على عزلة محلية من فيروس TSWV من نباتات تبغ (صنف برلي) مزروعة حقلياً في منطقة بانياس. أبدت عينات التبغ أعراض نموذجية شبيهة بالأعراض المتسببة عن فيروس TSWV، وتضمنت تماوت عروق الأوراق، بقع دائرية متماوتة، ضعف عام للشتول المصابة وتقزم بالمقارنة مع النباتات السليمة ظاهريا. تمّ تعريف العزلة في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية، مختبر الفيروسات، حيوياً بالاعتماد على الأعراض الظاهرية المميزة لعوائل الفيروس عند نقلها مختبرياً إلى نباتات التبغ والبندورة/الطماطم والفليفلة الحلوة، بالتزامن مع التفاعل الايجابي لاختبار DAS-ELISA واستخدام المصل المضاد للفيروس من إنتاج شركة BIORIBA السويسرية.

المحافظة على العزلة الفيروسية ومستعمرات التربس

تمّت المحافظة على العزلة الفيروسية عن طريق نقل الاصابة بشكل مستمر إلى نباتات البندورة/الطماطم والفليفلة بواسطة حشرات التربس. تم إحضار عدد من الشتول المصابة بما عليه من حشرات التربس إلى مختبر الفيروسات، زرعت النباتات المصابة ضمن أصص بلاستيكية تحتوي على التورب الزراعي، ووضعت في أقفاص تمنع دخول وخروج الحشرات مع مجموعة من نباتات الفليفلة والبندورة/الطماطم والتبغ السليمة. تم نقل مجموعة من مستعمرات التربس إلى السطح السفلي للأوراق المصابة لاكتساب الفيروس منها ومن ثم نقلها إلى النباتات السليمة، وفي الوقت ذاته، الحصول على مستعمرات كافية من التربس للعدوى لاحقاً.

نقل العدوى بالفيروس إلى نباتات التجربة

تم إجراء العدوى بالفيروس على الشتول قبل زراعتها في التربة الدائمة بعد ظهور ثلاثة أوراق حقيقية، بواسطة فرشاة ناعمة نقل بواسطتها 8–10 حوريات من التربس في العمر الثالث والرابع الحاملة للفيروس إلى كل نبات. تمت العدوى بالفيروس تحت التغطية الشبكية المانعة لدخول وخروج الحشرات، لمدة 3 أيام، بينما تم وضع نباتات الشاهد السليم في حجرة بعيدة عن مكان العدوى تحت تغطية شبكية ولنفس المدة. تمت معاملة جميع النباتات بالمبيد الحشري المناسب للتخلص من حشرات التربس قبل الزراعة في التربة الدائمة.

السلالات البكتيرية المستخدمة والتلقيح بالبكتيريا

استخدمت سلالتان من البكتيريا المحسنة لنمو النبات، مقدمة من قبل الزملاء في مختبر الأمراض الفطرية والبكتيرية، مركز بحوث اللاذقية، وهما *Pseudomonas chlororaphis* MA342 (MA) التي مصدرها السويد (Dr. M. Hokeberg)، والسلالة *Bacillus subtillis* FZB27(B27) مصدرها مركز البحوث في برلين، ألمانيا. تم حفظ السلالتين في محلول غليسرين 15% في المجمدة عند درجة حرارة 80°س، في مختبر الأمراض البكتيرية في مركز البحوث العلمية الزراعية في اللاذقية. تم استخدام البكتيريا بطريقة معاملة البذور قبل الزراعة باستخدام المعلق البكتيري الخاص بكل سلالة بكتيرية على حدة بتركيز 9×10^9 وحدة مكونة للمستعمرات/مل، لمدة 24 ساعة على هزاز ميكانيكي ضمن أنابيب بلاستيكية، وبعد الانبات وظهور 4–5 أوراق حقيقية، تمّ ريّ الجذور ورش المجموع الخضري بـ 10 مل/شتلة حسب معاملات التجربة.

المعايير المدروسة

تمّ تقدير كمية صبغات التركيب الضوئي (الكلوروفيل A و B)، والكاروتينويدات بعد 30 يوماً من العدوى بالفيروس، كما تم حساب تركيز الفيروس ونسبة تثبيطه بعد 30 يوماً من العدوى باستخدام اختبار DAS-ELISA وفقاً لتعليمات الشركة المنتجة.

استخلاص وتقدير كمية صبغة الكلوروفيل A و B والكاروتينويدات

تمّ استخلاص وتقدير كمية التركيب الضوئي (الكلوروفيل A و B)، والكاروتينويدات بعد 30 يوم من العدوى، وفقاً لطريقة Arnon (1949)، حيث تم وزن 1 غ من الأوراق الطازجة لكل مكرر بعد 30 يوماً من العدوى الفيروسية، وطُحنَت الأوراق في جفنة بورسلان مع إضافة 10 مل من أسيتون بتركيز 80% مع وجود رمل مجفف ومغسول وكمية قليلة من كربونات الكالسيوم 0.1 غ لمعادلة الأحماض العضوية في الأوراق الطازجة. تم ترشيح المستخلص من خلال قمع ترشيح، وتم غسل الباقي بإضافة الأسيتون عدة مرات حتى زوال اللون الأخضر من العينة النباتية وأكمل الحجم إلى 25 مل. تم تحديد الكثافة البصرية للمستخلص باستخدام جهاز الطيف الضوئي (Spectrophotometer) عند طولي الموجتين 645 و 663 نانومتر للكلوروفيل A و B، على التوالي، وعند موجة طولها 440 نانومتر للكاروتينويدات .وحُسِبَت الكمية المستخلصة وفقاً للمعادلات التالية (Kalaivani *et al*., 2013):

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = [12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = [22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg/g)} = [20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

حيث: A= الامتصاصية عند طول الموجة المحددة، V= الحجم النهائي للمستخلص بالأسيتون تركيز 80%، W= الوزن الطازج للنسيج النباتي المستخدم. كما تم حساب نسب الزيادة في كمية الصبغة التي حققتها البكتيريا من خلال المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الزيادة \%} = \frac{\text{كمية الصبغة في المعاملة} - \text{كمية الصبغة في الشاهد}}{\text{كمية الصبغة في الشاهد}} \times 100$$

وحسبت نسب الزيادة التي حققتها البكيتريا من خلال المعادلة السابقة نفسها على المحتوى الكلي. وتمّ حساب المحتوى الكلي لأصبغة التركيب الضوئي لكل معاملة مقدرة بالميلي غرام/غرام عينة نباتية من المعادلة التالية:

المحتوى الكلي للأصبغة = مجموع كمية الكلوروفيل A + كمية الكلوروفيل B + كمية الكاروتينويدات

نسبة تثبيط الفيروس

تم استخدام المصل المضاد لفيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم، من انتاج شركة Bioreba السويسرية، في اختبار DAS-ELISA بعد 30 يوماً من العدوى بالفيروس، تبعاً لتعليمات الشركة المنتجة. وتم تقدير نسبة تثبيط الفيروس تبعاً لمنهجية العاني وتوفيق (2011) وفق المعادلة:

$$\text{تثبيط الفيروس \%} = \frac{\text{الامتصاص عند طول موجة 405 نانومتر للشاهد المعدى الخاص بالتجربة - الامتصاص عند طول موجة 405 نانومتر للمعاملة}}{\text{الامتصاص عند طول موجة 405 نانومتر للشاهد المعدى الخاص بالتجربة}} \times 100$$

التحليل الإحصائي

نُفّذت الدراسة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) حيث تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي CO-STAT 6.4، وفق اختبار تحليل التباين ANOVA، واُختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات حسب أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

النتائج والمناقشة

تأثير البكتيريا في كمية صبغات الكلوروفيل A و B بعد 30 يوماً من العدوى

أشارت النتائج إلى أن المعاملة بالبكتيريا قد حسن من كمية صبغات الكلوروفيل في نباتات البندورة/الطماطم المعاملة بالبكتيريا سواء كانت معداة أو غير معداة بالفيروس. فقد كانت كمية صبغة الكلوروفيل A في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط 0.587–0.727 مغ/غ وأعلى منها في الشاهد السليم 0.586 مل/غ دون وجود فرق معنوي، وبلغت أعلى نسبة زيادة في كمية صبغة الكلوروفيل A 24.06% مع السلالة B27 المطبقة

بالطرائق الثلاثة (معاملة بذور وري جذور ورش مجموع خضري). أما بالنسبة لكمية صبغة الكلوروفيل B في النباتات المعاملة بالبكتيريا، ماعدا البكتيريا MA المطبقة بطريقة بذور +ري جذور (0.284 –0.603مغ/غ) أعلى مما هي في الشاهد السليم (0.299 مغ/غ) دون وجود فرق معنوي، وبالنسبة للنباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس كانت كمية صبغة الكلوروفيل A 0.349–0.517 مغ/غ وبالتالي أعلى مما هي في الشاهد المعدى 0.142 مغ/غ مع وجود فرق معنوي. وكانت كمية صبغة الكلوروفيل B في النباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس 0.201–0.279 مغ/غ (أعلى مما هي في الشاهد المعدى 0.166 مغ/غ) دون وجود فرق معنوي (جدول 1).

زادت البكتيريا من كمية صبغة الكلوروفيل A في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط وكانت أعلى نسبة الزيادة 24.06% مع السلالة B27 المطبقة بطريقة معاملة بذور وري شتول ورشّ المجموع الخضري. كما زادت البكتيريا من كمية صبغة الكلوروفيل A في النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكتيريا، وكانت أعلى نسبة زيادة 264.08 % مع السلالة B27 المطبقة بالطرائق الثلاث (معاملة بذور وري جذور ورش مجموع خضري). وزادت البكتيريا من كمية صبغة الكلوروفيل B في النباتات المعاملة بالبكتيريا فقط وكانت أعلى نسبة زيادة (101.67%) مع السلالة B27 المطبقة بطريقة معاملة بذور وري جذور ورش مجموع خضري. كما زادت البكتيريا من كمية صبغة الكلوروفيل B في النباتات المعداة بالفيروس والمعاملة بالبكيتريا وكانت أعلى نسبة زيادة (68.07%) مع السلالة B27 المطبقة بطريقة معاملة البذور و ري جذور ورش مجموع خضري.

وقد أشارت دراسة سابقة إلى دور البكتيريا PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية لدى نباتات البندورة/الطماطم من خلال زيادة كمية صبغات الكلوروفيل A، الكلوروفيل B والكاروتينويدات في أوراق نباتات البندورة/الطماطم في معاملات التجربة جميعها مما حسن من النمو الخضري للنبات وبالتالي ارتفعت مقاومته للمرض (الشامي، 2019). كما أشارت دراسة أخرى إلى زيادة محتوى أوراق نباتات البندورة/الطماطم المصابة بفيروس موزاييك الخيار والمعاملة برواشح الكمبوشا من صبغات الكلوروفيل A و B والكاروتينوئيدات، وبالتالي زيادة في النمو والانتاج، لدورها الأساسي في الاصطناع الحيوي للمواد الغذائية (Shahwan *et al.*, 2010). وأشار Park *et al.* (2006) إلى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل في نباتات البطاطا/البطاطس المعاملة بسلالة البكتيريا *Bacillus vallismortis* EXTN-1 مما سبب زيادة في كمية المحصول، وتفعيل مسارات المقاومة الجهازية داخل النباتات المعاملة بالبكتيريا. قد يعود تحسن محتوى الأوراق من الكلوروفيل بفعل البكتيريا إلى دور البكتيريا في تثبيط الفيروس وفي تحسين نمو نباتات البندورة/الطماطم، وبالتالي تحسين عمليتي التمثيل الضوئي والنتح، وزيادة كفاءة استخدام الماء، حيث تعمل البكتيريا على تخفيف الإجهاد الناتج عن تراكم الجذور الحرة أثناء عملية التمثيل الضوئي من خلال تنشيط بعض الأنزيمات المضادة للأكسدة حسب ما أشار إليه Stefan *et al.* (2013).

جدول 1. تأثير السلالات البكتيرية *Pseudomonas chlororaphis* MA342 (MA) و *Bacillus subtillis* FZB2 (B27) في كمية صبغات الكلوروفيل A و B، كمية الكاروتينويدات، تركيز الفيروس ونسبة تثبيطه في نباتات البندورة/الطماطم بعد 30 يوماً من العدوى بفيروس TSWV.

Table 1. Effect of bacterial strains *Pseudomonas chlororaphis* MA342 (MA) and *Bacillus subtilis* FZB27 (B27) on the chlorophyll content (A and B pigments), carotenoids content, viral concentration and viral inhibition rate (%) in tomato plants, 30 days after inoculation with TSWV.

نسبة تثبيط الفيروس (%) Viral inhibition rate (%)	قراءة اختبار اليزا ELISA reading	نسبة الزيادة (%) Increase rate (%)	كمية الكاروتينات Quantity of carotenoids	نسبة الزيادة (%) Increase rate (%)	كلوروفيل B (مغ/غ) Chlorophyll B (mg/g)	نسبة الزيادة (%) Increase rate (%)	كلوروفيل A (مغ/غ) Chlorophyll A (mg/g)	Treatment*	المعاملة*
-	0.017 e	-	0.299 bc	-	0.299 a	-	0.586 ab	Healthy control	شاهد سليم
-	-	1.33	0.303 bc	-	0.284 a	1.36	0.594 ab	MA (s+i)	
-	-	8.02	0.323 bc	23. 41	0.369 a	0.17	0.587 ab	MA(s+i+l)	
-	-	19.39	0.357 ab	4.34	0.312 a	4.60	0.613 ab	B27 (s+i)	
-	-	31.43	0.393 a	101.67	0.603 a	24.06	0.727 a	B27 (s+i+l)	
-	1.202 a	-	0.206 d	-	0.166 a	-	0.142 d	TSWV-infected control	شاهد مصاب بـ TSWV
43.26	0.682 c	-	0.000 e	21.08	0.201 a	151.40	0.357 c	B27(s+i) + TSWV	
68.55	0.378 d	23.30	0.254 cd	68.07	0.279 a	264.08	0.517 b	B27(s+i+l) + TSWV	
24.45	0.908 b	18.93	0.245 cd	36.74	0.227 a	179.57	0.397 c	MA(s+i) + TSWV	
46.42	0.644 c	18.44	0.244 cd	49.39	0.248 a	145.77	0.349 c	MA(s+i+l)+TSWV	

* MA= *Pseudomonas chlororaphis* MA342, B27= *Bacillus subtillis* FZB27, TSWV= Tomato spotted wilt virus, (s+i)= seed treatment + irrigation, (s+i+l) = seed treatment +leaf treatment + irrigation

القيم التي يتبعها حروف متشابهة في نفس العمود 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.

تأثير البكتيريا في كمية الكاروتينويدات

أشارت النتائج إلى أن كمية الكاروتينويدات في النباتات المعاملة بالبكتيريا 0.303–0.393 مغ/غ (أعلى منها في الشاهد السليم 0.299 مغ/غ) دون وجود فرق معنوي، حيث زادت البكتيريا من كمية الكاروتينويدات، وبلغت أعلى نسبة زيادة 31.43% مع السلالة B27 المطبقة بالطرائق الثلاث (معاملة بذور وري جذور ورش مجموع خضري). أما بالنسبة للنباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس كانت كمية الكاروتينويدات في النباتات المعاملة بالبكتيريا 0.254–0.244 مغ/غ باستثناء النباتات المعاملة بالسلالة B27 بطريقة معاملة بذور وري جذور أعلى منها في الشاهد المعدى 0.206 مل/غ مع وجود فرق معنوي (جدول 1).

زادت البكتيريا من كمية الكاروتينويدات وبلغت أعلى نسبة زيادة 23.3% مع السلالة B27 المطبقة بطريقة معاملة البذور، ريّ الجذور ورش المجموع الخضري. توافقت نتائج هذه الدراسة مع ماتوصل إليه الشامي وآخرون (2018) بأن كمية الكاروتينويدات قد زادت في جميع النباتات المعاملة بعدة أنواع معزولة من البكتيريا المحسنة لنمو النبات بالمقارنة مع معاملتي الشاهد السليم والمعدى بالفيروس غير الملقحين بالبكتيريا. كما توافقت النتائج مع نتائج Radwan *et al.* (2007) بأنَّ إعداء نبات الكوسا بفيروس الموزاييك الأصفر للكوسا قد خفّض المحتوى الكلي للأصبغة النباتية بنسبة 48% بعد ثلاثة أسابيع من العدوى، كما أشار Shahwan *et al.* (2010) إلى زيادة في محتوى أوراق نباتات البندورة/الطماطم المصابة بفيروس موزاييك الخيار والمعاملة برواشح الكمبوشا من الكاروتينويدات، وبالتالي زيادة في النمو والانتاج، لدورها الأساسي في الاصطناع الحيوي للمواد الغذائية. وقد تعود هذه الزيادة إلى التأثير الإيجابي لهذه المعاملات في تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة وخفض تأثير العدوى بفيروس الذبول المتبقع للبندورة/الطماطم TSWV على وظائف البلاستيدات الخضراء وإحداث تغيرات بنيوية في تركيبها.

تأثير البكتيريا في تركيز الفيروس ونسبة تثبيطه

أظهرت نتائج اختبار إليزا (DAS-ELISA) بعد 30 يوماً من العدوى بالفيروس وجود فيروس TSWV في جميع نباتات البندورة/الطماطم المعداة في التجربة، وبتراكيز مختلفة وفقاً للمعاملات المختلفة، وأدت جميع المعاملات بالبكتيريا إلى خفض تركيز الفيروس (ممثلاً بالامتصاصية عند طول موجة 405 نانومتر) في نبات البندورة/الطماطم المعداة بالفيروس وبفروق معنوية بالمقارنة مع تركيزه في نبات الشاهد المعدى. أظهرت النتائج انخفاض تركيز فيروس TSWV في النباتات المعداة والمعاملة (0.908–0.378) مقارنة بالشاهد المعدى 1.202 مع وجود فرق معنوي، وكانت أعلى نسبة تثبيط 68.55% مع السلالة B27 المطبقة بالطرائق الثلاث (معاملة بذور وري جذور ورش مجموع خضري) (جدول 1).

قد يعود تثبيط الفيروس بفعل البكتيريا إلى دور البروتينات المرتبطة بالإمراضية في ترسيب الفيروس من خلال الارتباط بغطائه البروتيني، أو تعطيل تضاعفه من خلال تثبيط عمل الريبوزومات، أو التنافس بين البكتيريا وبين البروتينات المرتبطة بالإمراضية وبالتالي تعطيل تصنيع بروتين الفيروس، وهذا ما أشارت له بعض الدراسات بأن تأثير البكتيريا على الفيروس هو تأثير غير مباشر لعدم وجود تماس مباشر بين البكتيريا والفيروس (Walters *et al.,* 2005؛ van Loon *et al*., 1998)، وتوافقت نتائج هذه الدراسة مع ما أشارت إليه دراسات سابقة (Murphy *et al.,* 2003؛ Zehnder *et al*., 2000).

نستخلص مما سبق الدور المهم للمعاملة بالبكتيريا المحفزة المستخدمة B27 و MA في تحفيز المقاومة الجهازية وخفض تركيز الفيروس TSWV في البندورة/الطماطم "هجين إرجوان" بعد 30 يوماً من العدوى، والذي ترافق بزيادة كمية صبغات التركيب الضوئي كلوروفيل A و B والكاروتينويدات وتحسن النمو والحدّ من تأثير للفيروس في النبات. وبالتالي، ينصح بمتابعة دراسة تأثير السلالتين البكتيريتين المدروستين على هجن أخرى من البندورة/الطماطم المرغوبة زراعتها في الساحل السوري، وإدخال سلالات بكتيرية محلية للمقارنة في قدرتها على تحفيز مقاومة نباتات البندورة/الطماطم تجاه فيروس TSWV بطرائق مختلفة، بغية اعتمادها كعنصر مهم في المكافحة المتكاملة لهذا الفيروس في سورية.

Abstract

Akel, E.H., Q.A. Al-Rhayeh, H.N. Kawas and I.D. Ismail. 2026. Effect of Two Strains of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on the Chlorophyll Content and Virus Concentration in Tomato Plants Infected with Tomato Spotted Wilt Virus Under Protected Cultivation. Arab Journal of Plant Protection, 44(1):95-102.
https://doi.org/10.22268/AJPP-001381

Tomato spotted wilt virus (TSWV) is considered an epidemic disease of solanacious crops, causing severe losses in protected cultivations at different regions of the world. This study was conducted to evaluate the efficiency of two strains of plant growth promoting rhizobacteria, *Pseudomonas chlororaphis* MA342, and *Bacillus subtillis* FZB27, in the induction of systemic acquired resistance in tomato plants against TSWV, in greenhouses, by estimating the photosynthetic chlorophyll and virus concentration. The research was carried out on tomato plants grown under protected agriculture, at the Agricultural Research Centre in Lattakia, during the fall and winter of 2019-2020 growing season. The experiment was designed following a randomized complete block design, with 10 treatments and 4 replications of 6 plants for each replicate, making the total number of plants in the experiment 240 plants. The bacteria were applied by seed treatment, root irrigation and foliage spray. Virus inoculation was carried out by thrips, the common vector of TSWV. The following parameters were estimated: Content of photosynthetic pigments (chlorophyll A, B, and carotenoids), viral concentration, and viral inhibition rate (%), 30 days after virus

inoculation. Results obtained showed an increase in the amount of chlorophyll A, in plants inoculated with TSWV and treated with PGPR bacteria (0.349-0.517 mg/g), and this was significantly higher than the control treatment (0.142 mg/g). The amount of chlorophyll B in plants inoculated with TSWV and treated with the bacteria (0.201-0.279 mg/g) was also higher than the control treatment (0.166 mg/g), but the difference was not significant. The application of the bacteria increased the amount of chlorophyll A and B, with highest rate of increase reached 265.49 and 68.07 %, respectively, when the strain B27 was used by the three application methods (seed treatment, root irrigation, and foliage spray). DAS-ELISA readings showed significantly lower concentration of viral antigen in PGPR treated tomato leaves (0.378-0.908), compared with the control treatment (1.202), 30 days after virus inoculation.
Keywords: TSWV, PGPR, photosynthetic pigments, viral concentration, DAS- ELISA.

Affiliation of authors: *E.H. Akel[1*], Q.A. Al-Rhayeh[1], H.N. Kawas[1] and I.D. Ismail[2]. (1) General Council for Scientific Agricultural Research, Latakia, Syria; (2) Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Latakia University, Latakia, Syria. *Email address of the corresponding author: ensafakel5n4a@gmail.com*

المراجع

الحلبي، محمد حسام، إنصاف حسن عاقل وعماد اسماعيل. 2014. التحرّي عن عوائل فيروس الذبول المُتبقع للبندورة ضمن محاصيل العائلة الباذنجانية والأعشاب المرافقة لها في محافظة اللاذقية .مجلة جامعة تشرين للبحوث والدارسات العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية، 36(4):195-205.

*[**El-Halabi, M.H., I.H. Akel and I. Ismail.** 2014. Survey of tomato spotted wilt tospovirus on solanaceous crops and associated weeds in Lattakia provinces. Tishreen University Journal for Research and scientific Studies-Biological Sciences Series, 36 (4):195-205. (In Arabic)].*

الشامي، رامز، ياسر حماد وعماد داؤد اسماعيل. 2018. تأثير ثلاثة أنواع من البكتريا المحفزة للنمو PGPR في تحريض المقاومة الجهازية ضد فيروس موزاييك الخيار لدى نباتات البندورة .مجلة البحوث العلمية الزراعية، 5(4):227-239.

*[**Al Shame. R., H. Yasser and I. D. Ismail.** 2018. Effect of three species of Rhizobacteria (PGPR) in of stimulating systemic resistance against cucumber mosaic virus (CMV) of tomato plants. Syrian Journal of Agricultural Research, 5(4):227-239. (In Arabic)].*

الشامي، رامز. 2019. تأثير بعض الأنواع البكتيرية (PGPR) في الحد من الإصابة بفيروس موزاييك الخيار على البندورة .رسالة دكتوراه، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. 157 صفحة.

*[**Al Shame, R.** 2019. Effect of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the reduction of cucumber mosaic virus infection of tomato plants. Ph. D. thesis, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Engineering, Tishreen University, Latakia, Syria. 157 pp. (In Arabic)].*

اسماعيل، فايز محمد. 2012. توصيف عزلات فيروسي موزاييك البندورة والذبول المتبقع للبندورة وتقييم أداء بعض أصناف البندورة إزاءهما في سورية. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة حلب، سورية. 134 صفحة.

*[**Ismail, F.M.** 2012. Characterization of tomato mosaic virus isolates and tomato spotted wilt virus and evaluation of the performance of some tomato varieties against both viruses in Syria. Ph.D. thesis, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Engineering, Aleppo University, Syria. 134 pp. (In Arabic)].*

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

References

*[**AL-Ani, R.A. and L.K. Tawfik.** 2011. Induced of systemic resistance in cucumber plants against cucumber mosaic virus (CMV) by Pseudomonas fluorescens Migula. Arab Journal of Plant Protection, 29:3-42. (In Arabic)].*

عاقل، إنصاف حسن، قصي علي الرحية، حنان نادر قواس وعماد داوود اسماعيل. 2020. تأثير سلالتين من بكتيريا الجذور المحفزة للنمو في نسبة وشدة الإصابة بفيروس تجعد واصفرار أوراق البندورة /الطماطم وفي بعض مؤشرات النمو لنبات البندورة/الطماطم تحت ظروف البيوت المحمية. مجلة وقاية النبات العربية، 38(2):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 (PGPR) on the incidence and severity of infection with tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) 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

عاقل، إنصاف، عماد داود اسماعيل، إشراق علي ووطفة الإبراهيم. 2012. تقصي انتشار بعض الفيروسات التي تصيب محصول البندورة داخل البيوت المحمية في الساحل السوري .مجلة جامعة تشرين للبحوث والدارسات العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية، 34(6):64-74.

*[**Akel E.H., I.D. Ismail, E. Ali and W. AL-Ibrahim.** 2012. Detection and distribution of some tomato viruses inside green houses along the Syrian coast. Tishreen University Journal for Research and scientific Studies-Biological Sciences Series, 34(6):64-74. (In Arabic)].*

قواس، حنان. 2018. دراسة تأثير بعض السلالات من بكتريا الجذور المنشطة 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 صفحة.

*[**Kawas. H.** 2018. Study the effect of some strains of improved plant growth promoting rhizobacter (PGPR) in inducing systemic resistance against Cucumber mosaic virus on tomato plant in green houses. Ph. D. thesis, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Engineering, Tishreen University, Lattakia, Syria. 103 pp. (In Arabic)].*

قواس، حنان، حسن خليل وصلاح الشعبي. 2009. التحرّي عن بعض فيروسات محصول الفول السوداني في المنطقتين الساحلية

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(10):1301-1307. https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.10.1301

Park, K., D. Paul, K.R. Ryu, E.Y. Ryu and Y.K. Kim. 2006. *Bacillus vallismortis* strain EXTN-1 mediated systemic resistance against Potato virus Y and X in the field. Plant Pathology Journal, 22(4):360-363. http://dx.doi.org/10.5423/PPJ.2006.22.4.360

Peters, D. 1998. An updated list of plant species susceptible to tospoviruses. Pp. 107-110. In: Recent Progress in Tospovirus and Thrips Research. D. Peters and R.W. Goldbach (eds.). Wageningen Agricultural University, Wageningen, the Netherlands.

Radwan, D.E.M., K.A. Fayez, S.Y. Mahmoud, A. Hamad and G. Lu. 2007. Physiological and metabolic changes of *Cucurbita pepo* leaves in response to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments. Plant Physiology and Biochemistry, 45(6-7):480-489. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.03.002

Ryu, C.-M., B.R. Kang and Y.C. Kim. 2007. Tobacco cultivars vary in induction of systemic resistance against Cucumber mosaic virus and growth promotion by Pseudomonas chlororaphis O6 and its gacS mutant. European Journal of Plant Pathology, 119(4):383-390. https://doi.org/10.1007/s10658-007-9168-y

Shahwan, E.S.M. 2010. Inducing systemic resistance against some tomato virus diseases. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture, Moshtohor Banha University, Egypt. 256 pp.

Sin, S.H., B.C. McNulty, G.G. Kennedy and J.W. Moyer. 2005. Viral genetic determinants for thrips transmission of Tomato spotted wilt virus. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102:5168-5173. https://doi.org/10.1073/pnas.0407354102

Stefan, M., N. Munteanu, V. Stoleru and M. Mihasan. 2013. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on photosynthesis, antioxidant status and yield of runner bean. Romanian Biotechnological Letters, 18(2):8133-8143.

Tsompana, M., J. Abad, M. Purugganan and J.W. Moyer. 2005. The molecular population genetics of the Tomato spotted wilt virus (TSWV) genome. Molecular Ecology, 14(1):53-66. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02392.x

van Loon, L.C., P.A.H.M. Bakker and C.M.J. Pieterse. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology, 36(1):453-483. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453

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, 81:728-734. https://doi.org/10.1094/Phyto-81-728

Walters, D.R., D.J. Walsh, A.C. Newton and G.D. Lyon. 2005. Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors.

والوسطى من سورية وتقدير نسب انتقالها بالبذور. أطروحة ماجستير، 47 صفحة.

***[Kawas, H.** 2009. Survey of some peanut viruses in the coastal and central regions of Syria and estimating their transmission rates in seeds. MSc thesis, AL-Baath University, Homs, Syria 47 pp. (In Arabic)].*

Akel, E.A., R. Qusayi, A. Nadine and I.D. Ismail. 2019. First report of a mixed infection of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) with 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

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24(1):1-15. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1

ChamberllN, J.R., A.K. Culbreath, J.W. Todd and J.W. Demski. 1993. Detection of Tomato spotted wilt virus in tobacco thrips (Thysanoptera: Thripidae) overwintering in harvested peanut fields. Journal of Economic Entomology, 86(1):40-45. https://doi.org/10.1093/jee/86.1.40

Csinos, A.S., H.R. Pappu, R.M. McPherson and M.G. Stephenson. 2001. Management of Tomato spotted wilt virus in flue-cured tobacco with acibenzolar-S-methyl and imidacloprid. Plant Disease, 85(3):292-296. https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.3.292

Culbreath, A.K., J.W. Todd and S.L. Brown. 2003. Epidemiology and management of tomato spotted wilt in peanut. Annual Review of Phytopathology, 41:53-75. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.41.052002.095522

Kalaivani, M., A.S. Jebaesan, B. Maragathavalli, B. Annadurai and S.K. Gangwar. 2013. Studies on chlorophyll content, soluble protein, carbohydrates and moisture content of Morus alba Linn. International Journal of Science and Nature, 4(1):131-137.

Kandan, A., V.J.R. Ramiah, R. Vasanthi, R. Radjacommare, A. Nandakumar, Ramanathan and R. Samiyappan. 2005. Use of Pseudomonas fluorescens-based formulations for management of tomato spotted wilt virus (TSWV) and enhanced yield in tomato. Biocontrol Science and Technology, 15:553-569. https://doi.org/10.1080/09583150500088546

Mandal, B., H.R. Pappu, A.S. Csinos and A.K. Culbreath. 2006. Response of peanut, pepper, tobacco, and tomato cultivars to two biologically distinct isolates of Tomato spotted wilt virus. Plant Disease, 90(9):1150-1155. https://doi.org/10.1094/PD-90-1150

Maurhofer, M., C. Hase, P. Meuwly, J.-P. Métraux and G. Défago. 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing Pseudomonas fluorescens strain CHA0: Influence of the gacA gene and of pyoverdine production. Phytopathology, 84:139-146. https://doi.org/10.1094/Phyto-84-139

Mohammad, H.H., I. Ismail and E. Akel. 2014. First report of Tomato spotted wilt virus on tobacco, eggplant and some weeds in Syria. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 8(10):1626-1627.

Zehnder, G.W., J.F. Murphy, E.J. Sikora and J.W. Kloepper. 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. European Journal of Plant Pathology, 107:39-50. https://doi.org/10.1023/A:1008732400383

Zitter, T.A. 1991. Tomato spotted wilt. Pp. 40. In: Compendium of Tomato Diseases. J.B. Jones, J.P. Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter (eds.). APS Press, St. Paul, MN, USA.

Phytopathology, 95(12):1368-1373. https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1368

Whitfield, A.E., D.E. Ullman and T.L. German. 2005. Tospovirus–thrips interactions. Annual Review of Phytopathology, 43:459-489. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.140017

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. BioControl, 45:127-137. https://doi.org/10.1023/A:1009923702103

Received: August 14, 2024; Accepted: November 12, 2024

تاريخ الاستلام: 2024/8/14؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2024/11/12