استحثاث المقاومة ضد فايروس التقزم الشجيري للطماطة بالبايون والرايبوفلافين

*حميد حمود علي

نور صلاح احمد

قسم وقاية النبات/ كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل

*E-mail: hameedkanoo@yahoo.com

(أُستلم 26 / 6 / 2018 ؛ قُبِل 1 / 11 / 2018)

الملخص

هدفت هذه الدراسة الى تقييم كفاءة مستحضري البايون والرايبوفلافين كعوامل استحثاث للمقاومة ضد فايروس التقزم الشجيري للطماطة في صنف الطماطة جيبي تحت ظروف البيت البلاستيكي. وتضمنت التجربة معاملتين وهما، رش عوامل الاستحثاث على المجموع الخضري قبل وبعد 3،6 و 2،4 أيام من العدوى بالفايروس وبتريزين 1ملغم و 2 ملغم /مل للبايون، 5 و 10 ملي مول/ مل للرايبوفلافين. قيمت المعاملات بوساطة مجموعة معايير تضمنت حساب النسبة المئوية للأصابة والتقييم المصلي بوساطة اختبار الاليزا وحساب التغير في امتصاصية انزيم البيروكسيداز (POX) فضلا عن بعض معايير النمو. وحققت معاملة الرش بالبايون بتركيز 1ملغم/مل قبل ستة ايام من العدوى حماية عالية للنبات جراء العدوى اللاحقة بفايروس TBSV، إذ وصلت نسبة الاصابة الى 37,1 أسوة بمعاملة السيطرة. و بلغت اعلى نسبة منع تضاعف فايروس TBSV 70% وذلك بعد الاسبوع الثالث من العدوى بعد معاملة رش البايون بتركيز 1 ملغم/مل قبل ستة ايام من العدوى وكان مقدار الامتصاص عند الطول الموجي 405 نانوميتر 0,296 نانوميتر قياساً بمعاملة السيطرة المعدة بالفايروس فقط والتي وصلت 0,972 نانوميتر. وحققت معاملة الرش بالرايبوفلافين تركيز 10 ملي مول قبل العدوى بفايروس TBSV باربعة ايام اعلى نسبة في خفض نسبة المرض، فقد وصلت نسبة الاصابة بالفايروس 35%. أما في تقدير مستوى انزيم البيروكسيداز، فتبين بأن الانزيم كان متفوقا في معاملة الرش بمستحضر الرايبوفلافين بتركيز 10 ملي مول/مل قبل اربعة ايام من العدوى بالفايروس على معاملة المقارنة، إذ كان معدل التغير في امتصاص الضوء عند 420 نانوميتر من نباتات الطماطة المعاملة 71.172 وذلك بعد 14 يوم من العدوى بالفايروس، مقارنة بمعاملة السيطرة (فايروس + ماء مقطر).

الكلمات الدالة: فايروس التقزم الشجيري للطماطة، استحثاث المقاومة، البايون، الرايبوفلافين.

Induced of Systemic Resistance in Tomato Plant Against Tomato Bushy Stunt Virus by Bion and Riboflavin

Hameed H. Ali

Noor S. Ahmed

Department of Plant Protection/ College of Agriculture and Forestry/ University of Mosul

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the efficiency of abiotic agents Bion and Riboflavin in inducing resistance in tomato plant Geesy cultivar against Tomato bushy stunt virus (TBSV), under

plastic house conditions. The experiment was included two application with induce resistance agents: Bion & Riboflavin used by two concentration for foliar spray before and after 3,6 and 2,4 days artificial inoculation with virus. The treatment was evaluated by using several parameters such as estimation of percentage and severity of disease infection, serological evaluation by DAS-ELISA, estimation of peroxidase absorbance change and some of the plant growth parameters. The best treatment was foliar spray with Bion 1 mg/ml before 6 days of virus inoculation showed reduction in the percentage of disease infection which was 37.1% compare with control treatment, on the other hand above treatment was caused high inhibition activity of virus (TBSV) multiplication which was 70% as demonstrated by ELISA absorbance values 0.296 nm compare with control treatment which inoculated with virus only was 0.972 nm. Results also indicated that the treatment by spray Riboflavin concentration 10 mM before (4 days) the inoculation of virus was inhibition of percentage of disease was 35%. On the other hand the treatment was used of Riboflavin 10 mM spray gave significant increase in the activity of peroxidase after 14 days of virus inoculation which was give 71.172 absorbance compare with control treatment which was 28.193.

Keywords: *Tomato bushy stunt virus*, Induce resistance, Bion, Riboflavin.

المقدمة

على الرغم من ان فكرة استحثاث المقاومة في النبات تبدو حديثة بعض الشيء إلا أنها في الحقيقة تعود الى عام 1901 عندما سجل Ray امكانية استحثاث المقاومة لمرض الصداً بتلقيح النباتات بلقاح مهجن من المسبب المرضي لكن هذه الفكرة لم تحظ باهتمام المختصين بأمراض النباتات بسبب عدم امتلاك النبات لنظام مناعي كالموجود في اللبائن. وفي الحقيقة تمتلك النباتات آليات دفاعية فعالة لمنع حدوث الإصابة كما يمكنها أن تنشأ دفاعات أخرى بعد حدوث الإصابة لمقاومة المسببات المرضية. اذ يتكون مستودع الدفاعات الكيميائية المستحدثة في النبات بشكل أساسي من مواد الأيض الثانوي التي من بينها الفايثو الكسينات أو ما تعرف بالدواحر والمركبات الفينولية التي نالت الجزء الأكبر من اهتمام المختصين في دراسة الأسس الأحياء كيميائية لمقاومة النبات، كما يحوي مستودع الدفاعات الكيميائية مجموعة من الأنزيمات المحللة مثل B-1,3 glucanase و Chitinase اللذين لهما القدرة على تحليل المكونات الأساسية للجدار الخلوي للفطريات (Abood, 1998). ويعد زيادة نشاط انزيم Phenyl alanine ammanian-lyase وأنزيم Peroxidase وما يرافقها من زيادة في أبيض المركبات الفينولية وبناء اللكتين ومن اهم الاسس الكيميائية لمقاومة النبات للمسببات المرضية. وخلال العقود الأخيرة شخّص عدد من البروتينات ذات الوزن الجزيئي الواطئ من عوائل نباتية مختلفة ارتبط وجودها بحدوث الإصابة تدعى ببروتينات متعلقة بال أمراضية Pathogenesis-Related Proteins وهي تؤدي دوراً كبيراً في التعبير عن مقاومة النبات للمسببات المرضية. ومما لا شك فيه بأن النباتات تمتلك ميكانيكيات متنوعة للدفاع عن نفسها ضد مهاجمة المسببات المرضية، وبعض هذه الميكانيكيات قابلة للتحفيز. وأكثر الأمثلة شيوعاً في هذا الحقل هو تنشيط المقاومة في النبات عقب إصابته بمسبب مرضي يسبب موتاً موضعياً للأنسجة إذ يجعل من اجزاء نباتية بعيدة عن منطقة دخول المسبب المرضي مقاومة لعدوى ثانية بنفس المسبب او مسببات أخرى مغايرة ويطلق على هذا النوع من المقاومة بالمقاومة الجهازية المكتسبة Systemic acquired resistance(SAR) وجزيئة الإشارة فيها اما جزيء دهون Lipids molecule أو حامض الساليسليك Salicylic acid(SA) وينتج عنها تكوين بروتينات متعلقة بالامراضية، أما النوع الآخر من المقاومة تحدث في منطقة قريبة من منطقة الاستحثاث وتؤدي الى موت مفاجئ وسريع للخلايا النباتية وجفافها وهو ما يطلق عليه بتفاعل الحساسية المفرطة Hypersensitive reaction.

المواد وطرائق العمل

تقييم كفاءة تراكيز مختلفة من مركب البايون وفيتامين B2 في مقاومة فايروس التقزم الشجيري للطماطة

أجريت هذه التجربة في البيت البلاستيكي التابع لقسم وقاية النبات/ كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل، استعملت فيها أصص بلاستيكية بقطر 15 سم وارتفاع 25 سم، ولقد استعمل مركب البايون وفيتامين B2 بتركيزين لكل منهما رشاً على المجموع الخضري، وتم إضافة 250 مايكرو ليتر من مادة توين-20 الناشرة لكل تركيز من تراكيز المواد المستعملة (Tween-20)، ورُشَّت جميع أوراق النبات بعمر 4 أسابيع باستعمال مرشة يدوية حتى البلل التام فضلاً عن ما يأتي:

- 1- رش نباتات الطماطة بعمر شهر بمركب البايون بتركيز (1ملغم و2ملغم / مل) قبل 3 و 6 يوم من العدوى وبعد 3 و 6 يوم من العدوى بالفايروس وتضمنت التجربة 10 معاملات بالإضافة إلى معاملي السيطرة الموجبة والسالبة
 - 2- رش نباتات الطماطة بعمر شهر بمركب الريبوفلافين بتركيز (5 ملي مول و 10 ملي مول) قبل 2 و 4 من العدوى وبعد 2 و 4 يوم من العدوى بالفايروس وتضمنت التجربة 10 معاملة بالإضافة إلى معاملي السيطرة الموجبة والسالبة.
- نُفذت التجريبتين (1، 2) بأربعة مكررات واستخدم تصميم القطاعات العشوائية الكامل في تجارب البيت البلاستيكي وحللت النتائج باستخدام برنامج SAS الإصدار التاسع وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار دنكن المتعدد المدى عند مستوى احتمال (0.05). وجرت متابعة الاعراض على النباتات المعاملة ومتابعة تضاعف الفايروس (تركيز الفايروس) في النباتات المعاملة باستعمال تقنية الاليزا ELISA، وتم اعتماد قيم الامتصاصية في تقدير كفاءة مركبات الاستحداث في مقاومة فايروس التقزم الشجيري للطماطة.
- تقييم معايير نمو المجموع الخضري:** تم تقييم معايير نمو المجموع الخضري للنباتات المعاملة بمركب الاستحداث البايون وذلك حسب المعطيات الآتية: 1-ارتفاع النبات: تم قياس اطوال النباتات المعاملة بمركبات الاستحداث، وهي ارتفاع المجموع الخضري بتأريخ 2014/5/25، بأخذ قياس النبات من القاعدة باتجاه القمة، بعد انتهاء التجربة، 2-عدد الافرع: تم حساب عدد الافرع للنباتات المعاملة على الساق الاساسي، 3-الوزن الطري: تم حساب الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري، 4-الوزن الجاف: تم حساب الوزن الجاف للنباتات المعاملة بعد قلعها ووضعها في الفرن الكهربائي لمدة ثلاثة ايام وبدرجة 60 ° سيليزية ، بعد وضعها في اكياس ورقية مثقبة.

تقدير فعالية أنزيم البيروكسيداز Peroxidase

اعتمدت طريقة الجراح (2011) في تقدير فعالية أنزيم البيروكسيداز وتلخصت هذه الطريقة بالآتي:

- 1- جُمعت عينات من أوراق الطماطة المعاملة بالريبوفلافين (B₂) حسب الجدول المذكور آنفاً وذلك بعد اسبوعين من آخر معاملة، وعُلمت ووضعوا في اكياس من النايلون داخل مجمدة حوضية، بعدها غسلت الاوراق جيداً بالماء المقطر عدة مرات لإزالة الاثرية.
- 2- تم اخذ 0.5 غم من اوراق العينات وقطعت الى قطع صغيرة، بعدها سحقوا بوساطة مدقة داخل هاون خزفي وبوجود المحلول المنظم الفوسفاتي (KH₂PO₄) ذو عيارية 0.02 مولاري/لتر ودالة حامضية $P^H = 7.5$ ، وحفظ المستخلص داخل انابيب بلاستيكية معقمة.
- 3- وزعت العينات في أنابيب طرد مركزي حجم 1.5 مل حرك الخليط في خلاط vortex لمدة دقيقة واحدة لتجانس المحتويات ثم عرضت لطرد مركزي بسرعة 6000 دورة /دقيقة ولمدة 5 دقائق.

4- تم وضع 3مل من محلول التفاعل في انبوبة الـ Cuvette الخاصة بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer، وتم اضافة 0.2 مل من الجزء الطافي للمستخلص النباتي المتحصل عليه من الخطوة رقم (3)، وقدر امتصاص العينة للضوء مباشرة بجهاز المطياف الضوئي من إنتاج شركة (UK) *Biotech Engineering Management CO.Ltd.*، وعلى طول موجي 420 نانوميتر كل 30 ثانية (تم اخذ ست قراءات)

5- حُسِبَ مقدار التغير بالامتصاص بالنسبة للزمن حسب معادلة (Whitakar and Berhard ، 1972) التي تنص على أن:

$$\frac{\Delta A}{\Delta T} = \text{فعالية انزيم البيروكسيداز}$$

غم وزن طري

ΔA = مقدار التغير في الامتصاصية ΔT Optical Density (O.D) = مقدار التغير بالزمن

النتائج والمناقشة

تقييم كفاءة مركب الاستحثاث البايون في فايروس التقزم الشجري للطماطة وبعض معايير النمو لمحصول الطماطة

أظهرت النتائج الموضحة في (الجدول 1) بأن المعاملة بمركب الاستحثاث البايون رشاً على المجموع الخضري وُقِرَ حماية لنباتات الطماطة ضد فايروس التقزم الشجري للطماطة، قياساً بالنباتات الغير معاملة والمعدة بالفايروس، فقد اعطت معاملة الرش بمركب الاستحثاث البايون تركيز 1 ملغم/مل على نباتات الطماطة قبل ثلاثة ايام من العدوى خفض في نسبة الاصابة التي بلغت 49.2% قياساً بمعاملة المقارنة بوجود الفايروس فقط والتي وصلت الى 100%. وأدت معاملة الرش بمركب الاستحثاث البايون تركيز 1 ملغم/مل بعد ثلاثة ايام من اجراء العدوى الى 66% مقارنة بمعاملة السيطرة. أما معاملات الرش بمركب البايون تركيز 2 ملغم/مل قبل ثلاثة ايام من العدوى بالفايروس فقد وصلت نسبة الاصابة الى 45% مقارنة بمعاملة السيطرة 100%، أما نسبة الاصابة في معاملة الرش بالبايون تركيز 2 ملغم/مل بعد ثلاثة ايام من العدوى هي 60% مقارنة بمعاملة السيطرة 100%. بينما وفرت معاملات الرش بمركب البايون تركيز 1 ملغم/مل قبل ستة ايام من العدوى حماية للنبات جراء العدوى اللاحقة بالفايروس حيث أعطت افضل نسبة خفض بالاصابة بالفايروس 37.1% مقارنة بمعاملة السيطرة 100%، بينما كانت نسبة الاصابة 70% عند رش النباتات بمركب الاستحثاث البايون تركيز 1 ملغم/مل بعد ستة ايام من العدوى. في حين كانت نسبة الاصابة الى 40% وذلك بعد معاملة النبات بمركب الاستحثاث البايون تركيز 2 ملغم/مل قبل العدوى بالفايروس بستة ايام، أما معاملة الرش للنباتات بالبايون تركيز 2 ملغم/مل وذلك بعد العدوى بستة ايام اعطت خفضاً في نسبة الاصابة الى 49.2% مقارنة بمعاملة السيطرة 100%. وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار اليه (Pappu et al., 2000) من ان استعمال مركب الاستحثاث البايون رشاً على اوراق نباتات الطماطة وبتركيز 50 ملغم/لتر وتلقيحها بفايروس موزائيك الخيار CMV بعد أول معاملة سواء في الحقل أو البيت الزجاجي، أدى الى خفض نسبة الإصابة بالفايروس الى 85% في النباتات المعاملة قياساً مع النباتات غير المعاملة. وأشارت النتائج الى ان نباتات الطماطة المرشوشة بمركب الاستحثاث البايون تركيز 1 ملغم/مل اعطت نتائج افضل من استعماله بتركيز 2 ملغم/مل في تخفيض نسبة الاصابة بفايروس التقزم الشجري، بينما وجد (Ishii et al. 1999) بأن معاملة نباتات الخيار بتركيز واطئة من مركب الاستحثاث البايون وصلت الى 0.2 ملغم/مل ادى الى احداث سمية بالنبات. فيما اختلفت هذه مع نتائج (Sequeria, 1983) التي أشارت الى ان التراكيز العالية لبعض مركبات الاستحثاث ومنها البايون تعطي نتائج افضل من الواطئة في حماية النباتات من الاصابة بالمسببات المرضية. بينما أشار (Oostendrop et al., 2001) بأن البايون يمتاز باستخدامه في تراكيز واطئة في استحثاث المقاومة ضد طيف واسع من الممرضات الفطرية والبكتيرية والفيروسية. ومن جانب آخر حققت معاملة الرش بمركب الاستحثاث البايون على المجموع الخضري تركيز 1 و 2

ملغم/مل على المجموع الخضري لنباتات الطماطة دون التلقيح بالفايروس الى زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف، إذ بلغ الوزن الطري فيها 10 ، 9.5 غم/نبات على التتابع، في حين بلغ الوزن الجاف 3.8 ، 3.4 غم/نبات قياساً بمعاملة السيطرة من دون وجود الفايروس فقد كان الوزن الطري 7.8 غم /نبات، أما الجاف فبلغ 2.5 غم /نبات. بينما أدت معاملة الرش بمركب الاستحثاث البايون تركيز 1 ملغم/مل قبل ثلاثة أيام من العدوى بالفايروس وبعدها الى زيادة الوزن الطري بمقدار 6.8، 6.9 غم/نبات على التتابع، في حين وصل الوزن الجاف لنفس المعاملات 2.1 ، 2.2 غم/نبات على التتابع. وأثرت معاملة الرش بمركب الاستحثاث البايون تركيز 2 ملغم/مل قبل ثلاثة أيام من العدوى بالفايروس وبعدها في زيادة الوزن الطري والجاف إذ بلغت 6.5 ، 6.3 ، 2 ، 1.9 غم /نبات على التوالي. ولم تختلف معاملات الرش بالبايون تركيز 1 ملغم/مل قبل ثلاثة أيام من العدوى بالفايروس وبعدها معنوياً عن معاملات الرش بالبايون تركيز 1 ملغم/مل قبل ستة أيام وبعدها، وكذلك الحال بالنسبة لمعاملات الرش بالبايون تركيز 2 ملغم/مل قبل ثلاثة وستة أيام من العدوى بالفايروس وبعدها، ولكنها اختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة بوجود الفايروس والذي بلغ الوزن الطري فيها 5 غم/نبات، وبلغ الوزن الجاف 1.4 غم/نبات (الجدول 1). ويرجع دور فعالية مركب الاستحثاث البايون في زيادة معايير النمو الى قدرته في تحفيز المقاومة الجهازية في النباتات وذلك نتيجة تراكم مواد بروتينية مرتبطة بالدفاعات النباتية مثل الـ Chitinase و B,1-3 Glucanase و PAL بالإضافة الى زيادة تركيز حامض السلسليك في النبات بينما يعود تأثيره في خفض نسبة وشدة الإصابة بالمرض الى تجمع بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 ، وكذلك استخدامه في نباتات الفلقة الواحدة إذ أعطى نتائج أفضل من استخدامه في نباتات ذوات الفلقتين (Oostendrop *et al.*, 2001 ؛ Smith-Becker *et al.*, 2003).

تأثير عوامل الاستحثاث في منع تضاعف الفايروس

اشارت نتائج الاليزا إلى وجود تفاعل موجب متمثل باللون الاصفر في حفر اطباق الاليزا الحاوية على مستخلصات عينات الطماطة والمعاملة بعوامل الاستحثاث قبل العدوى بفايروس التقزم الشجيري للطماطة وبعدها، حيث بلغت اعلى نسبة منع لتضاعف الفايروس 70% وذلك بعد الاسبوع الثالث من العدوى بعد معاملة رش البايون بتركيز 1 ملغم/مل قبل ستة ايام من العدوى بفايروس التقزم الشجيري للطماطة وكان مقدار الامتصاص Absorbance عند الطول الموجي 405 نانوميتر 0.290 (الجدول 2)، قياساً بمعاملة المقارنة المعدة بالفايروس فقط والتي وصلت الى 0.972 نانوميتر. بينما بلغت نسبة منع تضاعف فايروس TBSV في معاملة رش البايون تركيز 1 ملغم/مل قبل ثلاثة ايام من العدوى 59% ووصلت قيمة الامتصاص 0.404 نانوميتر. في حين وصلت قيم الامتصاص الموجي وذلك بعد رش البايون تركيز 1 ملغم/مل بعد ثلاثة وستة ايام من العدوى بالفايروس 0.612 و 0.598 نانوميتر ونسبة منع تضاعف للفايروس بلغت 37% و 39% على التوالي، أما معاملات الرش بمركب البايون تركيز 2 ملغم/مل قبل ثلاثة ايام من العدوى فقد ادت الى خفض في نسبة تضاعف الفايروس الى 62% بينما وصلت قيمة الامتصاص الى 0.373 نانوميتر، وكان رش البايون بتركيز 2 ملغم/مل وبعد ثلاثة ايام من العدوى اعطت نسبة من تضاعف لفايروس TBSV وصلت الى 31% وكانت قيمة الامتصاص الموجي 0.688 نانوميتر، في حين وصلت نسبة من التضاعف الى 60% عند معاملة النباتات بمركب الاستحثاث البايون رشاً بتركيز 2 ملغم/مل قبل العدوى بستة ايام ووصلت قيمة الامتصاص 0.392 نانوميتر، بينما وصلت قيمة الامتصاص الموجي 0.474 عند معاملة النباتات بالبايون تركيز 2 ملغم/مل بعد ستة يوم من العدوى وبلغت نسبة التضاعف الى 52%. ولقد بين Friedrich *et al.* (1996) بأن مركب البايون يعمل على منع تراكم الرنا الفيروسي لفايروس موزائيك التبغ ونسبة 98% في نباتات التبغ. بينما أشار Anfoka (2000) أن مركب الاستحثاث البايون يُعدّ من مستحثات المقاومة الجهازية المكتسبة SAR وأدى الى خفض نسبة وشدة الإصابة في نباتات الطماطة ضد فايروس موزائيك الخيار سلالة واي CMV-Y المنقولة بحشرة من القطن *Aphis*

gossypii إلى 12.5%، وذلك عند معاملة نبات الطماطة بمركب البايون قبل سبعة أيام من التلقيح بالفايروس مقارنة بمعاملة النباتات المصابة بالفايروس بمفرده التي كانت فيها نسبة الاصابة 91.7%.

الجدول 1 : تأثير تراكيز مختلفة من مركب الاستحاثات البايون في فيروس التفرد الشجري للظامة المعاملة

ت	المعاملة	نسبة الإصابة %	عدد الأهر/أبات	الوزن الطري للمجموع الخضري/أبات	الوزن الجاف للمجموع الخضري/أبات
1	رش نباتات الظامة والبايون بتركيز 1 ملغم/أمل	00	11,3	10,0	3,8
2	رش نباتات الظامة والبايون بتركيز 2 ملغم/أمل	00	11,0	9,5	3,4
3	رش البايون بتركيز 1 ملغم/أمل + العدوى بالتايروس بعد ثلاثة أيام من الرش	49.2	9,6	6,8	2,1
4	رش البايون بتركيز 1 ملغم/أمل + العدوى بالتايروس بعد ستة أيام من الرش	37.1	10,2	7,0	2,3
5	العدوى بالتايروس + رش النباتات والبايون بتركيز 1 ملغم/أمل بعد ثلاثة أيام من العدوى	66	7,8	6,9	2,2
6	العدوى بالتايروس + رش النباتات والبايون بتركيز 1 ملغم/أمل بعد ستة أيام من العدوى	70	7,9	6,6	2,2
7	رش البايون بتركيز 2 ملغم/أمل + العدوى بالتايروس بعد ثلاثة أيام من الرش	45	8,4	6,5	2,0
8	رش البايون بتركيز 2 ملغم/أمل + العدوى بالتايروس بعد ستة أيام من الرش	40	9,2	6,7	2,1
9	العدوى بالتايروس + رش النباتات والبايون بتركيز 2 ملغم/أمل بعد ثلاثة أيام من العدوى	60	8,9	6,3	1,9
10	العدوى بالتايروس + رش النباتات والبايون بتركيز 2 ملغم/أمل بعد ستة أيام من العدوى	50	8,8	6,1	1,8
11	مقارنة بوجود التايروس *	100	4,7	5,0	1,4
12	مقارنة من دون التايروس	00	8,0	7,8	2,5

• كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات، التايروس Tomato bushy stunt virus

الجدول 2: تأثير مركب الاستحثاث البايون في النسبة المئوية لمنع تضاعف فايروس

الامتصاص الموجي عند 405 نانومتر بعد 3 أسابيع من المعاملة	منع تضاعف الفايروس %	المعاملة
0.404 ج ، د	59	رش نباتات الطمطة بالبايون بتركيز 1ملغم/مل ، ثم العدوى بالفايروس بعد 3 يوم
0.296 د	70	رش نباتات الطمطة بالبايون بتركيز 1ملغم/مل ، ثم العدوى بالفايروس بعد 6 يوم
0.612 ب	37	عدوى نباتات الطمطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالبايون بتركيز 1ملغم/مل بعد 3 يوم
0.598 ب	39	عدوى نباتات الطمطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالبايون بتركيز 1ملغم/مل بعد 6 يوم
0.373 ج ، د	62	رش نباتات الطمطة بالبايون بتركيز 2ملغم/مل ، ثم العدوى بالفايروس بعد 3 يوم
0.392 ج ، د	60	رش نباتات الطمطة بالبايون بتركيز 2ملغم/مل ، ثم العدوى بالفايروس بعد 6 يوم
0.688 ب	31	عدوى نباتات الطمطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالبايون بتركيز 2ملغم/مل بعد 3 يوم
0.474 ج	52	عدوى نباتات الطمطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالبايون بتركيز 2ملغم/مل بعد 6 يوم
0.972 أ	0.5	مقارنة بوجود الفايروس
0.014 هـ	90	مقارنة من دون الفايروس

كفاءة فيتامين B₂ الريبوفلافين في استحثاث المقاومة لنباتات الطمطة ضد فايروس التفزم الشجيري للطمطة

تبين من خلال النتائج الموضحة في (الجدول 3) أن معاملة نباتات الطمطة بالريبوفلافين رشاً على المجموع الخضري وفّر حماية لنباتات الطمطة ضد فيروس التفزم الشجيري للطمطة، قياساً بالنباتات غير المعاملة والمعدة بالفايروس، فقد اعطت معاملة الرش بالريبوفلافين تركيز 5 ملي مول/مل على نباتات الطمطة قبل يومين من العدوى خفض في نسبة الاصابة وصلت الى 50% قياساً بمعاملة السيطرة بوجود الفايروس 100%. في حين وصلت 66% عند اجراء المعاملة بعد يومين من العدوى بالفايروس. بينما اعطت معاملة الرش بالريبوفلافين 10 ملي مول/مل قبل يومين من العدوى بالفايروس فارقاً معنوياً في نسبة الاصابة إذ بلغت 45% مقارنة بمعاملة السيطرة 100%، في حين وصلت الى 67% عند اجراء المعاملة بعد يومين من العدوى بالفايروس. وقد وفرت معاملات الرش بالريبوفلافين تركيز 5 ملي مول/مل قبل اربعة أيام من العدوى حماية للنبات جراء العدوى اللاحقة بالفايروس حيث وصلت نسبة الاصابة الى 40% مقارنة بمعاملة السيطرة 100%، في حين وصلت الى 63% عند اجراء المعاملة بعد اربعة أيام من العدوى بالفايروس. في حين وصلت نسبة الاصابة الى 35% وذلك بعد معاملة النبات بالريبوفلافين تركيز 10 ملي مول/مل قبل العدوى بالفايروس بأربعة أيام، أما معاملة الرش للنباتات بالريبوفلافين تركيز 10 ملي مول/مل وذلك بعد العدوى بأربعة أيام فقد وصلت نسبة الاصابة الى 56%. وفي تقدير كفاءة فيتامين B₂ ريبوفلافين في استحثاثه للمقاومة في نباتات العنب ضد مسبب مرض البياض الزغبى *Plasmopara viticola* إذ أشار Boubarki et al., (2013) بأن رش شتلات العنب بفيتامين B₂ وبمقدار 2 ملي مول قبل ثلاثة ايام من تلقيحها بالمسبب المرضي قد خفّض المرض بنسبة 86%. وأشار Azami-Sardoei et al. (2010) بأن استعمال الريبوفلافين B₂ رشاً على اوراق نباتات الفاصوليا والطمطة قد أضاف مقاومة تلك النباتات للفطر *Botrytis cinerea* ، إذ خفض معدل انتشار البقع المتسببة عن الفطر *B. cinerea* بمقدار 25% عند رش نباتات الفاصوليا بال B₂ مقارنة بالنبات غير المعاملة. وتم ملاحظة تراكم بيروكسيد الهيدروجين وتحفيز في نشاط انزيم Lipxygenase في اقرص اوراق الفاصوليا المعاملة بال B₂ مبكراً وذلك بعد اربع ساعات من التلقيح بالفطر المسبب.

الجدول 3: فعالية أنزيم البيروكسيداز بعد اسبوعين من الاصابة بفايروس التقزم الشجيري للطماطة، في نباتات طماطة معاملة بتركيز مختلفة بالرايبوفلافين B2

المعاملة	نسبة الإصابة %	قيم امتصاص انزيم POX عند 420 نانوميتر بعد 14 يوم من العدوى
رش نباتات الطماطة بالرايبوفلافين B2 بتركيز 5ملغم/مل ، ثم العدوى بالفايروس بعد 2 يوم من الرش	50	43.210 د
رش نباتات الطماطة بالرايبوفلافين B2 بتركيز 5ملغم/مل ، ثم العدوى بالفايروس بعد 4 ايام من الرش	40	59.223 ب
عدوى نباتات الطماطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالرايبوفلافين B2 بتركيز 5ملغم/مل بعد 2 يوم من العدوى	66	34.238 و
عدوى نباتات الطماطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالرايبوفلافين B2 بتركيز 5ملغم/مل بعد 4 ايام من العدوى	63	38.651 هـ
رش نباتات الطماطة بالرايبوفلافين B2 بتركيز 10ملغم/مل، ثم العدوى بالفايروس بعد 2 يوم من الرش	45	51.034 ج
رش نباتات الطماطة بالرايبوفلافين B2 بتركيز 10ملغم/مل، ثم العدوى بالفايروس بعد 4 ايام من الرش	35	71.172 أ
عدوى نباتات الطماطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالرايبوفلافين B2 بتركيز 10ملغم/مل بعد 2 يوم من العدوى	67	33.491 و
عدوى نباتات الطماطة بالفايروس، ثم رش النباتات بالرايبوفلافين B2 بتركيز 10ملغم/مل بعد 4 ايام من العدوى.	56	41.091 د
المقارنة (الفايروس فقط)	100	28.193 ز

تقدير أنزيم البيروكسيداز: أظهرت نتائج تقدير فعالية انزيم البيروكسيداز في نباتات الطماطة المعاملة بالرايبوفلافين والمعدة بفايروس التقزم الشجيري للطماطة (الجدول 3) أنّ مستوى انزيم البيروكسيداز كان متقوفاً في معاملة الرش بمستحضر الرايبوفلافين تركيز 10 ملي مول/مل وذلك قبل اربعة ايام من العدوى، على معاملة السيطرة، إذ كان معدل التغير في امتصاص الضوء عند 420 نانوميتر من نباتات الطماطة المعاملة 71.172 وذلك بعد 14 يوم من العدوى بالفايروس، في حين كان التغير في معاملة السيطرة (فايروس فقط + ماء مقطر) 28.193. في حين وصل مقدار التغير في انزيم البيروكسيداز عند معاملة نباتات الطماطة بالرايبوفلافين بتركيز 5 ملي مول/مل قبل يومين واربعة ايام من العدوى وكذلك معاملة الرايبوفلافين تركيز 10 ملي مول/مل قبل يومين من العدوى بالفايروس رشاً على نباتات الطماطة بعد 14 يوم من العدوى الى 43.210 ، 59.223 و 51.031 على التتابع مقارنة بمعاملة السيطرة.

أما بالنسبة لمعاملات الرش بالرايبوفلافين تركيز 5 ملي مول/مل بعد العدوى بيومين واربعة ايام فقد كانت فعالية انزيم البيروكسيداز في ادنى مستوياتها إذ وصلت 34.238 و 38.651 على التوالي وذلك بعد 14 يوم من آخر معاملة. في حين بلغ التغير في مقدار انزيم البيروكسيداز 33.491 و 41.091 وذلك عند رش نباتات الطماطة بالرايبوفلافين (B₂) تركيز 10 ملي مول/مل وذلك بعد يومين واربعة ايام من العدوى بالفايروس على التتابع. وكانت نتيجة هذه التجربة قدرة مادة الرايبوفلافين (B₂) كمادة منشطة في استحثاث البيروكسيداز داخل النباتات المعاملة به تعمل بتضاد مع المسببات الفايروسية الغازية لأنسجته، وكذلك انتاج مركبات دفاعية متخصصة ضد المسبب المرضي وهذا يتوافق مع ما ذكره Brown *et al.*, (1998) ؛ (Faoro and Iriti, 2003) من دور هذه المنشطات في استحثاث المقاومة للنباتات ضد طيف واسع من المسببات المرضية، عن طريق آليات (ميكانيكيات) دفاعية

مختلفة، مثل الانفجار التأكسدي Oxidative burst، أو عن طريق منتجات الأيض الثانوية. ومن هذه المواد أنزيم البيروكسيداز، إذ يعتبر هذا الانزيم من البروتينات المرتبطة بالدفاع ويدعى PR-9 (VanStrien and VanLoon, 1999). بينما ذكر (Ride, 1975) بأن أنزيم البيروكسيداز يسهم في عملية تصنيع وترسيب اللكتين وبيروكسيد الهيدروجين التي بدورها تؤدي الى تقوية جدران الخلايا ضد غزو المسبب المرضي لها.

المصادر العربية

الجراح، نيران سالم احمد (2011). تأثير الخليط الحيوي EM1 والمجال المغناطيسي في حماية نباتات الخيار من الإصابة بمسببات التعفن وسقوط البادرات. اطروحة دكتوراه. قسم وقاية النبات، كلية الزراعة والغابات، جامعة بغداد.

رمضان، نديم احمد ؛ قاسم، نبيل عزيز؛ البرزنجي، خالد احمد (2018). فايروس التبغ الحلقى التماوتي للأجاص، انتقاله بالبذور وحركته في انسجة اشجار اللوزيات. مجلة علوم الرافدين، 27 (2)، 1-11.

المصادر الأجنبية

- Abood, H.M. (1998). Utilization of chitosan to induce systemic resistance to Fusarium wilt and root knot diseases in tomato. Ph. D. thesis, College of Agriculture, University of Baghdad.
- Anfoka, GH. (2000). Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. c.v *Volledung*) to cucumber mosaic virus. *Cr. Pro.* **19**, 401-5.
- Azami- Sardoei, Z.; Franca, S.C.; De Vleeschauwer, D.; Hofte, M. (2010). Riboflavin induces resistance against *Botrytis cinerea* in bean, by priming for a hydrogen peroxide- fueled resistance response. *Physiol. and Mo. Plant Path.* **75**, 23-29.
- Boubakri, H.; Chong, J.; Poutaraud, A.; Schmitt, C.; Bertsch, C.; Mliki, A.; Masson, J.E.; Soustse Gacougnolle, I. (2013). Riboflavin (vitamin B2) induces defence responses and resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine . *Eu. J. Plant path.* **136**, 837-855.
- Brown, I.; Trethowan, J.; Kerry, M.; Mansfield, J.; Bolwell, G.P. (1998). Localization of components of the oxidative cross-linking of glycoproteins and of callose synthesis in papillae formed during the interaction between non-pathogenic strains of *Xanthomonas campestris* and French bean mesophyll cells. *Plant J.* **15**, 333-343.
- Fridrich, L.K.; Ruess, W.; Masner, P.; Specker, N.; Gut-Rella, M. (1996). A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *Plant J.*, **10**, 61-70.
- Iriti, M.; Faoro, F. (2003). Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. *J. Phytopathol.* **151**, 171-180.
- Ishii, H.; tomita, Y.; Horio, T.; Narusakay; Nakazawa, Y.; Nishimura, K.; Iwamoto, S. (1999). Induced resistance of acibenzolar-S-methyl (CGA 245704) to cucumber and Japanese pear disease. *Eu. J. Plant Path.* **105**, 77-85.
- Oostendorp, M.; Kunz, W.; Dietrich, B.; Staub, T. (2001). Induced disease resistance in plants by chemicals. *Eu. J. Plant Path.* **107**, 19-28.
- Ride, J.P. (1975). Lignification in wounded wheat leaves in response to fungi and its Possible role in resistance. *Physiol. Plant Pathol.*, **5**, 125-134.
- Pappu, H.R.; Csinos, A.S.; McPherson, R.M.; Jones, D.C.; Stephenson, M.G. (2000). Effect of acibenzolar-S-methyl and imidacloprid on suppression of tomato spotted wilt tospovirus in flue-cured tobacco. *Cr. Prot.*, **19**, 349-354.
- Sequeira, L. (1983). Mechanisms of induced resistance in plants. *Ann. Rev. Microbiol.*, **37**, 51-79.

- Smith- Backer, J.; Keena, N.T.; Backer, J.O. (2003). Acibenzolar-s-methul induces resistance to *Golletotrichum lagenatium* and Gucumber mosaic virus in cantaloupe. *Cr. Prot.*, **22**, 769-774.
- Vanloon, L.C.; Vanstrin, E.A. (1999). The families of pathogenesis related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type. *Proteins, Physiol. and Mo. Plant Pathol.*, **55**, 85-97.