

تأثير عزلتين من البكتيريا المحفزة لنمو النبات PGPR في نسبة وشدة وأعراض الإصابة على نباتات الفليفلة ضد فيروس التجعد البني على ثمار البندورة ToBRFV

د. ابراهيم العبيد *

أ. د. عماد اسماعيل **

سلام علي ***

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٤/١١/٤ . قُبِلَ للنشر في ٢٠٢٥/١/٢٨)

□ ملخص □

أجري البحث لدراسة تأثير معاملة نباتات الفليفلة بعزلتين من البكتيريا المحفزة لنمو النبات plant growth الإصابية، وشدة الإصابية، وأعراض إصابية نباتات الفليفلة بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة (ToBRFV) الإصابية، وشدة الإصابية، وأعراض إصابية نباتات الفليفلة بفيروس Tomato brown rugose fruit virus (Dallas – Bravo) لمدة ساعتين بالمعلق البكتيري بتركيز 10^9 CFU/ml لكل من العزلتين البكتيريتين حسب المعاملات المدروسة مع التحريك بين الحين والآخر، ومن ثم تمت معاملة الشتول بـ ١٠ مل بنفس التركيز وذلك بعد نقلها إلى البيت البلاستيكي، حيث أظهرت النتائج تخفيضاً في نسبة وشدة وأعراض الإصابية الظاهرية على هجيني الفليفلة المدروسين (دالاس – برافو)، ففي الهجين دالاس أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* والعدوى بالفيروس إلى تخفيض نسبة الإصابية بمقدار ٨٪، كما أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس إلى تخفيض نسبة الإصابية بمقدار ٢٠٪، بينما أدت المعاملة بخليط من البكتيريا *Bacillus subtilis* والبكتيريا *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس إلى تخفيض نسبة الإصابية بمقدار ١٥٪. أما بالنسبة للهجين برافو فقد أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* والعدوى بالفيروس إلى تخفيض نسبة الإصابية بمقدار ٢٠٪، كما أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس إلى تخفيض نسبة الإصابية بمقدار ٤٠٪، بينما أدت المعاملة بخليط من البكتيريا *Bacillus subtilis* والبكتيريا *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس إلى تخفيض نسبة الإصابية بمقدار ٢٥٪. وبالتالي نلاحظ أن العزلة البكتيرية *Bacillus sp.* كانت الأكثر تأثيراً في تخفيض نسبة الإصابية على كلا الهجينين المدروسين (دالاس – برافو).

الكلمات المفتاحية: PGPR ، *Bacillus* ، ToBRFV، نبات الفليفلة، أعراض الإصابية ، شدة ونسبة الإصابية.

(*) مدرس، قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة اللاذقية - اللاذقية - سورية. ibrahim.alabid@gmail.com

(**) أستاذ، قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة اللاذقية - اللاذقية - سورية. Imad.Ismail@Lattakia.edu.sy

(***) طالبة ماجستير، قسم وقاية النبات - كلية الهندسة الزراعية - جامعة اللاذقية - اللاذقية - سورية. Salamkhali43@gmail.com

Effect of two isolates of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the incidence, severity and symptoms of infection on pepper plants against Tomato brown rugose fruit (ToBRFV)

Dr. Ibrahim Alabid*
Prof. Dr. Imad Ismail**
Salam Ali***

(Received 4/11/2024 . Accepted 28/1/2025)

□ ABSTRACT □

The study was conducted to study the effect of treating pepper plants with two isolates of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp. strain (ABC3,cbs123) on the infection rate, severity of infection, and symptoms of infection of pepper plants with Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in protected cultivation conditions, where seeds of pepper hybrids (Dallas–Bravo) were soaked for two hours in bacterial suspension at a concentration of 10^9 CFU/ml for each of the two bacterial isolates according to the studied treatments with occasional stirring, and then the seedlings were treated with 10 ml of the same concentration after transferring them to the plastic house, where the results showed a reduction in the percentage, severity, and symptoms of apparent infection on the two studied pepper hybrids (Dallas–Bravo). In the Dallas hybrid, treatment with the bacterial isolate *Bacillus subtilis* and infection with the virus reduced the infection rate by 8%, while treatment with the bacterial isolate *Bacillus* sp. Infection with the virus reduced the infection rate by 20%, while treatment with a mixture of *Bacillus subtilis* and *Bacillus* sp. bacteria and infection with the virus reduced the infection rate by 15%. As for the Bravo hybrid, treatment with the *Bacillus subtilis* bacterial isolate and infection with the virus reduced the infection rate by 20%, while treatment with the *Bacillus* sp. bacterial isolate and infection with the virus reduced the infection rate by 40%, while treatment with a mixture of *Bacillus subtilis* and *Bacillus* sp. bacteria and infection with the virus reduced the infection rate by 25%. Thus, we note that the *Bacillus* sp. bacterial isolate was the most effective in reducing the infection rate on both hybrids studied (Dallas - Bravo).

Keywords: PGPR, *Bacillus*, ToBRFV, pepper plant, infection symptoms, severity and infection rate.

(*). Assistant professor, Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Lattakia University - Lattakia - Syria. ibrahim.alabid@gmail.com

(**). Professor, Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Lattakia University - Lattakia - Syria. Imad.Ismail@Lattakia.edu.sy

(***). Master Student, Department of Plant Protection - Faculty of Agricultural Engineering - Lattakia University - Lattakia - Syria. Salamkhali43@gmail.com

المقدمة:

تعد نباتات الفليفلة من محاصيل العائلة الباذنجانية الهامة، وتتعرض للإصابة بالعديد من أمراض النبات الفيروسية، ويطلق عليها اسم "لاقط الفيروسات" (Laemmlen, 2004)، ويمكن للأمراض الفيروسية التي تصيبها أن تخفض من إنتاجية النباتات بما يقارب ٩٠٪ بالإضافة لصعوبة مقاومتها (Reddick and Habera, 1999).

انطلاقاً من أهمية الفليفلة، تم العمل على مقاومة الأمراض الفيروسية التي تصيبها، وقد لوحظ انتشار استخدام البكتيريا المحفزة لنمو النبات في مكافحة الحيوية للعديد من أمراض النبات الفيروسية، لما لها من آثار إيجابية لنباتاتها العائلة، بالإضافة للانتشار الواسع لفيروس التجعد البني على ثمار البندورة الذي يفتح المجال للاهتمام بدراسته، فقد اكتشف فيروس التجعد البني على ثمار البندورة لأول مرة في الأردن (Salem et al., 2016)، ثم اكتشف هذا الفيروس في فلسطين المحتلة، كاليفورنيا، والمكسيك والولايات المتحدة الأمريكية (Alkowni et al., 2019; Chitambar., 2018; EPPO., 2019; Ling et al., 2019; Camacho-Beltrán et al., 2019; Luria et al., 2017). وتم تسجيله في ألمانيا الاتحادية (Menzel et al., 2019)، وفي تركيا (Fidan et al., 2019)، كما تم تسجيل هذا الفيروس لأول مرة في سورية من قبل Hasan وآخرون (٢٠٢٢) على نباتات البندورة في البيوت المحمية، وسجل الفيروس في العديد من الدول الأخرى، وتم تصنيف هذا الفيروس كأفة حجرية، حيث تتمثل أعراض الإصابة بشكل عام على نبات البندورة بأعراض موزاييك شاحب متوسط إلى شديد (Luria et al., 2017)، مترافقاً بانتفاخات بلون أخضرغامق (Menzel et al., 2019)، وغالباً ما تتزامن مع اصفرار بين العروق وتشوه وثخانة الأوراق، بالإضافة إلى انخفاض في حجم الأوراق عن الحجم الطبيعي، ويلاحظ ذبول واصفرار كامل النبات يليه تخرب ملحوظ، أما بالنسبة للأعراض على الثمار فهي أكثر بروزاً حيث يلاحظ بقع صفراء يتحول لونها إلى اللون البني وتصبح مجعدة (Salem et al., 2016). إن هذا الفيروس سهل الانتقال بالوسائل الميكانيكية، ينتقل الفيروس على أغلفة البذور وأحياناً في الإندوسبرم ولا يتواجد أبداً في جنين البذرة (Caruso et al., 2022)، وينتقل عن طريق تداول وحدات الإكثار النباتية الملوثة بالفيروس (Panno et al., 2020)، كما ينتقل الفيروس عن طريق النحل الطنان *Bombus terrestris* عن طريق الملامسة أو التلوث ولكنه لا يعد ناقل حشري له (Levitzky et al., 2019)، ومنه فإن تعدد وسائل الانتقال يؤدي لانتشاره السريع داخل البيوت المحمية ومناطق إنتاج المحصول الذي يصيبه هذا الفيروس، وبالتالي يجب محاولة القضاء على وسائل انتشار العدوى من النباتات المصابة، وقد انتشر استخدام بكتيريا الجذور PGPR في مقاومة الأمراض الفيروسية حيث تعد هذه البكتيريا وسيلة لحماية المحصول، ويمكن تطبيقها على البذور أو تخلط مع التربة قبل الزراعة أو التشتيل، كما أن لها دوراً في السيطرة المباشرة على ممرضات التربة (Egamberdieva and Lugtenberg, 2014)، حيث تم إثبات دورها في الوقاية من عدد من الممرضات النباتية، واستخدمت كبداًل فعالة للمبيدات الكيميائية، تكمن الفائدة الأساسية من بكتيريا الجذور المحسنة لنمو النبات في تحفيز المقاومة الجهازية، حيث يتمثل دورها بشكل عام في هذا المجال من خلال التأثير غير المباشر للبكتيريا ومستقلباتها على الفيروسات النباتية حيث ترتبط بالجسيمات الفيروسية وتقوم بتخريبها (Sorokan et al., 2023)، كما تؤثر على آليات التضاد الحيوي وتحفز آليات الدفاع في النبات العائل (Rana et al., 2020).

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من أهمية نباتات الفليفلة في المنطقة الساحلية وأهمية مقاومة الأمراض الفيروسية التي تسببها، ومن الانتشار الواسع لفيروس التجعد البني على ثمار البندورة على نباتات البندورة الذي سبب أضراراً كبيرة، والذي سجل على نباتات الفليفلة في المنطقة كونها نبات عائل للفيروس، لذلك هدف البحث إلى دراسة تأثير البكتيريا *Bacillus subtilis* strain 'ABC3,cbs123) في الحد من إصابة هجن الفليفلة دالاس وبرافو بـ فيروس التجعد البني على ثمار البندورة.

مواد البحث وطرقه:

١- موقع تنفيذ البحث:

تم تنفيذ البحث في مخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية في قسم وقاية النبات، إضافة إلى بيت بلاستيكي (٤٠ × ٩,٢٥ × ٢,٥ متر) في مشتل الجامعة - كلية الهندسة الزراعية - جامعة اللاذقية.

٢- العائل النباتي:

تم استخدام اثنين من هجن نباتات الفليفلة، الهجين دالاس هجين فليفلة حلو، ثماره كروية الشكل، والهجين برافو هجين فليفلة معتدل الحرافة، ثماره متطاولة، نسبة النقاوة في الهجينين ٩٩٪، وكذلك نسبة الإنبات ٩٥٪، وتم إجراء تجربة مخبرية لدراسة حساسية هذه الهجن للإصابة بـ فيروس التجعد البني على ثمار البندورة.

٣- إنتاج الشتول:

تم ملء صواني إنبات (أبعادها ٥٤ × ٢٨ سم) بمادة التورب الزراعي المعقم، ووضعت بذرتان لكل من الهجينين دالاس وبرافو في كل حفرة، وبعد الإنبات تم تفريد النباتات، والإبقاء على بادرة واحدة في كل حفرة. بعد وصول البادرات إلى الطول المناسب ١٠-١٢ سم تم نقلها إلى أكياس بلاستيكية سوداء اللون سعة ٢ لتر مملوءة بخليط من التورب والتربة المعقمة شمسياً بنسبة ١:١، وتم إنتاج الشتول في مخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية في قسم وقاية النبات، إضافة إلى بيت بلاستيكي - كلية الهندسة الزراعية.

٤- العزلة الفيروسية:

استخدمت عزلة محلية مجموعة من منطقة الساحل السوري من نبات بندورة يشتبه بإصابته بـ فيروس التجعد البني على ثمار البندورة، وتم تعريف الإصابة من قبل Hasan وآخرون (٢٠٢٢) على أنها فيروس التجعد البني على ثمار البندورة، والتي عرفت سابقاً في مخبر الأمراض الفيروسية، وتم تصنيف العزلة جزئياً في الأردن. تم إعداء عدد من شتول هجيني الفليفلة (دالاس-برافو)، وتم الاحتفاظ بالنباتات تحت تغطية شبكية بعيداً عن الحشرات.

٥- تحضير اللقاح الفيروسي والعدوى الميكانيكية:

تم تحضير اللقاح الفيروسي حسب طريقة Jefferies (١٩٩٨) بسحق ١ غ من أوراق البندورة التي تبدي أعراض إصابة نموذجية بـ فيروس التجعد البني على ثمار البندورة مع ٥ مل ماء مقطر (١ غ: ٥ مل) في

جفنة بورسلان وهاون معقمين . وأجريت العدوى الميكانيكية على الورقة الحقيقية الثالثة لنباتات الفليفلة، وذلك بنثر مادة كربيد السيليكون Carborandum بشكل خفيف على الأوراق المراد إعدادها، ومن ثم تم مسح الأوراق بقطعة شاش مبللة باللقاح الفيروسي باتجاه واحد. وتم غسل الأوراق المعدة بالماء للتخلص من بقايا العصير الخلوي وكربيد السيليكون. أما بالنسبة للشاهد فتم إجراء العدوى عليه باتباع نفس الخطوات السابقة لكن مع ماء مقطر ومعقم فقط، لتوفير حالة حقيقية للمقارنة.

٦- العزلات البكتيرية:

تم استخدام عزلتين بكتيريتين للجنس *Bacillus* من البكتيريا المحسنة لنمو النبات، وهذه العزلات هي: *Bacillus subtilis* وهي عزلة محلية من نبات البندورة من قبل الدكتور ابراهيم العبيد، والثانية *Bacillus sp. strain* (ABC3,cbs123) عزلت من قبل الدكتورة لبنى رجب من نبات الخيار ثم صنفت مزرعياً وبيوكيميائياً في مخبر الأمراض البكتيرية والفيروسية - كلية الهندسة الزراعية - جامعة اللاذقية من قبل الدكتور ابراهيم العبيد، ثم صنفت جزيئياً من قبل الدكتور ابراهيم العبيد في ألمانيا.

٧- تحضير البيئات المغذية الخاصة بالبكتيريا:

تم تحضير البيئة الصلبة بإضافة 28 غ بودرة من بيئة الأغار المغذي (NA) Nutrient agar ثم تم إكمال الحجم إلى ليتر واحد بالماء المقطر، وتم خلطها بشكل جيد بواسطة هزاز ميكانيكي، ثم عمقت بالأوتوكلاف لمدة ٢٠ دقيقة عند درجة الحرارة 121 درجة مئوية ثم سكبت في أطباق بتري قطر ٩ سم وتركت لتبرد عند درجة حرارة الغرفة في جو معقم.

٨- تحضير المعلمات البكتيرية وطرائق تطبيقها:

تم تحضير المعلق البكتيري الذي تركيزه 10^9 CFU/ml (عدد الوحدات المشكلة للمستعمرة البكتيرية/مل) حيث قدرت كثافة البكتيريا في المعلق الأم باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند كثافة ضوئية OD=600 ، ومن ثم تم غمر البذور بهذا المعلق البكتيري لمدة ساعتين والشاهد بالماء المقطر مع الرج بين الحين والآخر، ثم وضع بذرة في كل حفرة إنبات في صينية الإنبات، ثم تركت البذور حتى تنبت، بعد إنبات البذور بأسبوعين تم نقل البادرات إلى أكياس بلاستيكية تحوي خليط من التربة والتورب بنسبة ١:١، بعد نقل البادرات إلى الأكياس البلاستيكية تم إضافة ١٠ مل من المعلق البكتيري إلى كل شتلة بواسطة سيرنج معقم حسب معاملات التجربة.

٩- المؤشرات التي تمت دراستها:

٩-١- مؤشرات الإصابة:

٩-١-١- أعراض الإصابة:

بعد إجراء العدوى الميكانيكية بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة، تمت مراقبة النباتات بشكل يومي ، وتم تسجيل الملاحظات والتغيرات التي طرأت على النباتات حتى ظهور أولى أعراض الإصابة بالفيروس موضوع الدراسة وذلك بعد ١٠ أيام من إجراء العدوى الميكانيكية على النباتات.

٩-١-٢- نسبة الإصابة:

تم حساب نسبة الإصابة بعد ٣٠ يوماً من العدوى وفق المعادلة التالية:

نسبة الإصابة (%) = عدد النباتات المصابة / العدد الكلي للنباتات × ١٠٠

وحسبت نسبة الانخفاض في نسبة الإصابة بالاعتماد على قيم معامل التصحيح حيث تم تصحيح الشاهد المعدي إلى ١٠٠ ومن ثم تم حساب معاملات التصحيح لباقي المعاملات وفق المعادلة المستخدمة من قبل Hammoudi (٢٠٠٧):

معامل التصحيح = نسبة الإصابة للمعاملة / نسبة الإصابة للشاهد المعدي $\times 100$
ومن ثم تم حساب نسبة الانخفاض في نسبة الإصابة من خلال إيجاد الفرق بين معامل التصحيح لمعاملة و معاملة تصحيح الشاهد المعدي.
نسبة الانخفاض في نسبة الإصابة % = معامل التصحيح لمعاملة - معامل التصحيح للشاهد المعدي (ويساوي ١٠٠).

١-٢-٩- شدة الإصابة:

تم حساب شدة الإصابة بعد ٣٠ يوماً من العدوى وفق معادلة Yang وآخرون (١٩٩٦):
شدة الإصابة (%) = مجموع (قيمة درجة الإصابة \times عدد النباتات في الدرجة المحددة) $\times 100$ مقسومة على العدد الكلي للنباتات \times قيمة أعلى درجة في سلم الإصابة.

وتم تقدير درجات الإصابة وفق سلم معدل عن سلم Murphy وآخرون (٢٠٠٣) بحيث:

- ٠: بدون أعراض إصابة.
- ٢: أعراض إصابة متوسطة الشدة على الأوراق.
- ٤: أعراض إصابة شديدة على الأوراق.
- ٦: أعراض إصابة شديدة وتشوه خفيف على الأوراق.
- ٨: أعراض إصابة شديدة وتشوه شديد على الأوراق.
- ١٠: أعراض إصابة شديدة وتشوه أوراق وثمار.

وتم حساب نسبة الانخفاض في شدة الإصابة بالاعتماد على قيم معامل التصحيح حيث تم تصحيح الشاهد المعدي إلى ١٠٠ ومن ثم تم حساب معاملات التصحيح لباقي المعاملات وفق المعادلة المستخدمة من قبل Hammoudi (٢٠٠٧):

معامل التصحيح = شدة الإصابة للمعاملة / شدة الإصابة للشاهد المعدي $\times 100$
ومن ثم تم حساب نسبة الانخفاض في شدة الإصابة من خلال إيجاد الفرق بين معامل التصحيح لمعاملة و معاملة تصحيح الشاهد المعدي.
نسبة الانخفاض في شدة الإصابة % = معامل التصحيح لمعاملة - معامل التصحيح للشاهد المعدي (ويساوي ١٠٠).

١٠- التحليل الإحصائي:

تم تنفيذ كافة تجارب البحث وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randomized Complete blocks Design (R.C.B.D) وتم تحليل نتائج التجارب إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي IBM SPSS Statistics 23 وفق اختبار تحليل التباين ANOVA، وتم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات حسب أقل فرق معنوي Least Significant Difference عند مستوى معنوية ٥% (LSD 5%).

١١ - معاملات التجربة:

جدول (١): معاملات التجربة.

| مع عدوى | بدون عدوى |
|--|---|
| ١- معاملة الشاهد مع العدوى بالفيروس (control +V) | ١-معاملة الشاهد (control) |
| ٢- معاملة بالعزلة البكتيرية الأولى <i>Bacillus subtilis</i> مع العدوى بالفيروس (<i>B.sub +V</i>) | ٢-معاملة بالعزلة البكتيرية الأولى (<i>B.sub</i>) <i>Bacillus subtilis</i> |
| ٣- معاملة بالعزلة البكتيرية الثانية <i>Bacillus sp.</i> مع العدوى بالفيروس (<i>B.sp +V</i>) | ٣-معاملة بالعزلة البكتيرية الثانية (<i>B.sp</i>) <i>Bacillus sp.</i> |
| ٤- معاملة بالعزلتين معاً مع العدوى بالفيروس (<i>B.sub+B.sp +V</i>) | ٤- معاملة بالعزلتين معاً (<i>B.sub+B.sp</i>) |

Bacillus sp. نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* ، *B.sp* : نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* strain (ABC3, cbs123) ، *B.sub+B.sp* : نباتات معاملة بخليط من العزلتين البكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Bacillus* *Bacillus subtilis* strain (ABC3, cbs123) ، *B.sub +V* : نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* ومعداة بالفيروس *Bacillus sp.* strain (ABC3, cbs123) ، *B.sp +V* : نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* strain (ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس *Bacillus sp.* strain (ABC3, cbs123) ، *B.sub+B.sp +V* : نباتات معاملة بخليط من العزلتين البكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Bacillus sp.* strain (ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس *Bacillus sp.* strain (ABC3, cbs123) ، *control +V* ، *ToBRFV* : نباتات الشاهد المعدى بالفيروس *ToBRFV* ، *control* ، *ToBRFV* : نباتات الشاهد السليم المعامل بالماء المقطر فقط.

احتوت كل معاملة على ثلاث مكررات و كل مكرر احتوى على خمس نباتات.

النتائج والمناقشة:

١- أعراض الإصابة:

تمت ملاحظة أعراض الإصابة الظاهرية التالية على النباتات بعد إجراء العدوى الميكانيكية بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة كما هو موضح في اللوحة (١) حيث: بدأ ظهور الأعراض بعد ١٠ أيام من العدوى بالفيروس موضوع الدراسة، وتمثلت أولى أعراض المرض بظهور انتفاخات بلون أخضر غامق بين عروق أوراق نباتات الفليفلة على نباتات الشاهد المعدى من الهجين دالاس مع تجعد شديد في نصل الورقة (شكل ٢)، وخاصة على الأوراق السفلية من النبات، مع اصفرار عام للنبات (شكل ١)، أما بالنسبة للأوراق العلوية فقد ظهرت الأعراض عليها بشكل تجعد حواف الأوراق واصفرار عام للنبات (شكل ٨). بينما ظهرت الأعراض بشكل تجعد شديد على الأوراق العلوية عند نباتات الهجين دالاس المعامل بالبكتيريا *Bacillus subtilis* والمعدى بالفيروس مع ملاحظة تفتح براعم زهرية جديدة على هذه النباتات برغم وجود الإصابة الفيروسية فيها (شكل ٦)، وعند نباتات الهجين دالاس المعامل بالبكتيريا *Bacillus sp.* والمعدى بالفيروس ونباتات الهجين دالاس المعامل بخليط من البكتيريا *Bacillus sp.* والبكتيريا *Bacillus subtilis* والمعدى بالفيروس ظهرت الأعراض بشكل تجعد شديد على الأوراق العلوية، وعند المعاملة بالبكتيريا فقط تمت ملاحظة أن العزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* تحفز الإزهار والإثمار أكثر من العزلة البكتيرية *Bacillus sp.* على نباتات الهجين دالاس، فقد لوحظ على نباتات الهجين دالاس المعامل بالبكتيريا *Bacillus subtilis* فقط أن النباتات تنتج ثماراً كبيرة سليمة (شكل ٧) بنسبة ٤:٥، بينما أنتجت نباتات الشاهد من الهجين دالاس ثماراً كبيرة سليمة بنسبة ١:٢، وقد تمت ملاحظة التأثير الإيجابي للبكتيريا على الإزهار والإثمار حتى مع وجود الإصابة الفيروسية

على النباتات بنفس النسب، ولوحظ في جميع المعاملات حدوث تساقط لبتلات بعض الأزهار عند الإصابة بالعدوى الفيروسية سواء بوجود البكتيريا النافعة أو عدمه، ولم يلاحظ أي تأثير للإصابة الفيروسية على الثمار مكتملة النمو والنضج، بل تمثل التأثير بأخذ الثمار لشكل شبه دائري ومجد فقط لدى الثمار التي قد بدأت بالتشكل (شكل ٩) سواء بوجود البكتيريا النافعة أو عدمه. أما بالنسبة للهجين برافو فقد تمثلت أعراض الإصابة على نباتات الشاهد المعدى بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة بظهور انتفاخات بلون أخضرغامق بين العروق، وتجدد شديد على الأوراق العلوية، واصفرار عام للنبات، مع ملاحظة تجدد أوراق القمة النامية بشكل شديد (شكل ٤)، وتمت ملاحظة نفس الأعراض على نباتات الهجين برافو المعاملة بالبكتيريا *Bacillus subtilis* والمعدى بالفيروس، وأيضاً على نباتات الهجين برافو المعامل بالبكتيريا *Bacillus sp.* والمعدى بالفيروس، ونباتات الهجين برافو المعامل بخليط من البكتيريا *Bacillus sp.* والبكتيريا *Bacillus subtilis* والمعدى بالفيروس بنسب متفاوتة، وبالتالي نلاحظ أن الهجين برافو أكثر حساسية للإصابة الفيروسية من الهجين دالاس سواء بوجود البكتيريا النافعة أو عدمه، وبذلك نلاحظ تباين أعراض الإصابة بنفس العزلة الفيروسية على هجيني الفليفلة المدروسين (دالاس - برافو) حيث يفسر هذا التباين في أعراض الإصابة باختلاف الهجين المدروس من نبات الفليفلة. تتشابه هذه النتائج مع ما توصل إليه Abou Kubaa وآخرون (٢٠٢٢) حيث تم تأكيد الإصابة بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة في ٤٤ عينة نباتية من نبات الفليفلة الحلوة، أظهرت النتائج تشابهاً بنسبة (٩٩.٧٨%) بين العزلات السورية واللبنانية وبنسبة (٩٩.٥٦%) مع العزلة Ant-Pep TBRFV (MT002973.1) من تركيا. وكان هذا التسجيل الأول لإصابة نباتات الفليفلة الحلوة في سورية ولبنان بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة، حيث تمثلت الأعراض باصفرار عام للنبات وموزاييك وتغير لون الأوراق مصحوبة بتلون ساق النبات باللون البني وتشوه شكل الثمار على نباتات الفليفلة الحلوة المزروعة في البيوت المحمية في المناطق الساحلية في سورية (طرطوس) ولبنان (جبيل). كما تبين دراسة Hasan وآخرون (٢٠٢٢) التي تم فيها إجراء العدوى الاصطناعية على ١٠ من نباتات البندورة من صنف مندلون F1 باستخدام عزلة بندورة مصابة بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة، فأعطت النباتات المعداة أعراض الإصابة بعد ١٣ يوماً من إجراء العدوى الاصطناعية على نباتات البندورة المعداة، وتم تأكيد الإصابة بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة في جميع النباتات المعداة اصطناعياً من خلال نتائج اختبار DAS-ELISA ، وكان هذا التسجيل الأول لإصابة نباتات البندورة في سورية بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة، في حين ظهرت أعراض الإصابة بنفس العزلة الفيروسية على هجيني الفليفلة في هذه الدراسة (دالاس - برافو) بعد ١٠ أيام، وقد يعود التكبير في ظهور أعراض الإصابة إلى اختلاف النوع النباتي، أو لاختلاف الظروف البيئية المحيطة في وقت إجراء العدوى بالفيروس، أو لاختلاف المرحلة الفينولوجية للنبات في وقت إجراء العدوى بالفيروس.



(الشكل ٣)



(الشكل ٢)



(الشكل ١)



(الشكل ٦)



(الشكل ٥)



(الشكل ٤)



(الشكل ٩)



(الشكل ٨)



(الشكل ٧)

اللوحة (١): أعراض الإصابة بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة على هجين الفليفلة (دالاس - برافو) في ظل ظروف الزراعة المحمية.

٢- نسبة الإصابة:

بينت نتائج تقدير نسبة الإصابة بعد ١٥ يوماً من العدوى بالفيروس ما يلي:

نسبة الإصابة للهجين دالاس:

يوضح الجدول التالي قيم نسبة الإصابة ونسبة التخفيض في نسبة الإصابة لنباتات الهجين دالاس:

الجدول (٢): نسبة الإصابة ونسبة التخفيض في نسبة الإصابة للهجين دالاس بعد ١٥ يوماً من العدوى بالفيروس.

| المعاملة | نسبة الإصابة % | نسبة التخفيض في نسبة الإصابة % |
|-------------------------------|----------------|--------------------------------|
| <i>B.sub</i> +V | ٩٢ | ٨ |
| <i>B.sp</i> +V | ٨٠ | ٢٠ |
| <i>B.sub</i> + <i>B.sp</i> +V | ٨٥ | ١٥ |
| control +V | ١٠٠ | |

B.sub +V : نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* ومعداة بالفيروس ToBRFV ، *B.sp* +V :

نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية (*Bacillus sp. strain* (ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس ToBRFV ،

B.sub+*B.sp* +V : نباتات معاملة بخليط من العزلتين البكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Bacillus sp. strain*

(ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس ToBRFV ، control +V : نباتات الشاهد المعدى بالفيروس ToBRFV.

بالنسبة للنباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس عند الهجين دالاس فقد بينت النتائج ما يلي: أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في نسبة الإصابة حوالي (٨٪)، كما أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في نسبة الإصابة حوالي (٢٠٪)، بينما أدت المعاملة بخليط من البكتيريا *Bacillus subtilis* والبكتيريا *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس فقد بلغت نسبة التخفيض في نسبة الإصابة حوالي (١٥٪).

نسبة الإصابة للهجين برافو:

يوضح الجدول التالي قيم نسبة الإصابة ونسبة التخفيض في نسبة الإصابة لنباتات الهجين برافو:

الجدول (٣): نسبة الإصابة ونسبة التخفيض في نسبة الإصابة للهجين برافو بعد ١٥ يوماً من العدوى بالفيروس.

| المعاملة | نسبة الإصابة % | نسبة التخفيض في نسبة الإصابة % |
|-------------------------------|----------------|--------------------------------|
| <i>B.sub</i> +V | ٨٠ | ٢٠ |
| <i>B.sp</i> +V | ٦٠ | ٤٠ |
| <i>B.sub</i> + <i>B.sp</i> +V | ٧٥ | ٢٥ |
| control +V | ١٠٠ | |

B.sub +V : نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* ومعداة بالفيروس ToBRFV ، *B.sp* +V :

نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية (*Bacillus sp. strain* (ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس ToBRFV ،

B.sub+*B.sp* +V : نباتات معاملة بخليط من العزلتين البكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Bacillus sp. strain*

(ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس ToBRFV ، control +V : نباتات الشاهد المعدى بالفيروس ToBRFV.

بالنسبة للنباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس عند الهجين برافو فقد بينت النتائج ما يلي: أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في نسبة الإصابة حوالي (٢٠٪)، كما أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة

التخفيض في نسبة الإصابة حوالي (٤٠٪)، بينما أدت المعاملة بخليط من البكتيريا *Bacillus subtilis* والبكتيريا *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس فقد بلغت نسبة التخفيض في نسبة الإصابة حوالي (٢٥٪). وبالتالي نلاحظ أن العزلة البكتيرية *Bacillus sp.* كانت الأكثر تأثيراً في تخفيض نسب الإصابة على كلا الهجينين المدروسين (دالاس - برافو).

في دراسة Moalla وآخرون (٢٠٢٠) باستخدام السلالة البكتيرية *Bacillus subtilis* FZB27 على نباتات الفليفلة ضد فيروس موزايك الخيار، أشارت النتائج إلى انخفاض نسبة الإصابة لدى النباتات المعاملة بطريقة بذور + ري، دون وجود فروق معنوية بين طرائق تطبيق البكتيريا المستخدمة (معاملة البذور، ري الشتول ومعاملة البذور، و ري الشتول)، كما بينت النتائج انخفاض نسبة الإصابة بشكل معنوي في النباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالشاهد المعدي حيث تراوحت بين (٥٠,٧٢٪-٥٧,١٦٪) للنباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالشاهد المعدي الذي بلغ (٩٣,٣٣٪).

قد يعود الانخفاض في نسبة الإصابة إلى دور البكتيريا النافعة في تحسين نمو النبات، وبالتالي يصبح نمو النبات أسرع من انتشار الإصابة الفيروسية في النبات، بالإضافة لدور البكتيريا النافعة في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات.

٣- شدة الإصابة:

بينت نتائج تقدير شدة الإصابة بعد ١٥ يوماً من العدوى بالفيروس ما يلي:

شدة الإصابة للهجين دالاس:

يوضح الجدول التالي قيم شدة الإصابة ونسبة التخفيض في شدة الإصابة لنباتات الهجين دالاس:

الجدول (٤): شدة الإصابة ونسبة التخفيض في شدة الإصابة للهجين دالاس بعد ١٥ يوماً من العدوى بالفيروس.

| المعاملة | شدة الإصابة % | نسبة التخفيض في شدة الإصابة % |
|-------------------------------|---------------|-------------------------------|
| <i>B.sub</i> +V | ٦٠ | ١٦ |
| <i>B.sp</i> +V | ٤٤ | ٣٢ |
| <i>B.sub</i> + <i>B.sp</i> +V | ٦٤ | ١٢ |
| control +V | ٧٦ | |

B.sub +V: نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* ومعداة بالفيروس ToBRFV ، *B.sp* +V: نباتات

معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp. strain* (ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس ToBRFV ، *B.sub*+*B.sp* +V: نباتات

معاملة بخليط من العزلتين البكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Bacillus sp. strain* (ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس

ToBRFV ، control +V: نباتات الشاهد المعدي بالفيروس ToBRFV.

بالنسبة للنباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس عند الهجين دالاس فقد بينت النتائج ما يلي:

أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في شدة الإصابة حوالي (١٦٪)، كما أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في شدة الإصابة حوالي (٣٢٪)، بينما أدت المعاملة بخليط من البكتيريا *Bacillus subtilis* والبكتيريا *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في شدة الإصابة حوالي (١٢٪).

شدة الإصابة للهجين برافو:

يوضح الجدول التالي قيم شدة الإصابة ونسبة التخفيض في شدة الإصابة لنباتات الهجين دالاس: الجدول (٥): شدة الإصابة ونسبة التخفيض في شدة الإصابة للهجين برافو بعد ١٥ يوماً من العدوى بالفيروس.

| المعاملة | شدة الإصابة % | نسبة التخفيض في شدة الإصابة % |
|----------------------|---------------|-------------------------------|
| <i>B.sub</i> +V | ٤٤ | ٢٨ |
| <i>B.sp</i> +V | ٤٠ | ٣٢ |
| <i>B.sub+B.sp</i> +V | ٣٦ | ٣٦ |
| control +V | ٧٢ | |

B.sub +V: نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* ومعداة بالفيروس ToBRFV ، *B.sp* +V:

نباتات معاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp. strain* (ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس ToBRFV ،

B.sub+B.sp +V: نباتات معاملة بخليط من العزلتين البكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Bacillus sp. strain*

(ABC3, cbs123) ومعداة بالفيروس ToBRFV ، control +V: نباتات الشاهد المعدى بالفيروس ToBRFV.

بالنسبة للنباتات المعاملة بالبكتيريا والمعداة بالفيروس عند الهجين برافو فقد بينت النتائج ما يلي:

أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus subtilis* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في شدة الإصابة حوالي (٢٨٪)، كما أدت المعاملة بالعزلة البكتيرية *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في شدة الإصابة حوالي (٣٢٪)، بينما أدت المعاملة بخليط من البكتيريا *Bacillus subtilis* والبكتيريا *Bacillus sp.* والعدوى بالفيروس بلغت نسبة التخفيض في شدة الإصابة حوالي (٣٦٪). وبالتالي نلاحظ أن العزلة البكتيرية *Bacillus sp.* كانت الأكثر تأثيراً في تخفيض شدة الإصابة على كلا الهجينين المدروسين (دالاس - برافو)، كما نلاحظ تحسن في تأثير المعاملة بخليط من البكتيريا *Bacillus subtilis* والبكتيريا *Bacillus sp.* على تخفيض شدة الإصابة لدى الهجين برافو .

أشارت نتائج دراسة Moalla وآخرون (٢٠٢٠) باستخدام السلالة البكتيرية *Bacillus subtilis* FZB27 على نباتات الفليفلة ضد فيروس موزايك الخيار، إلى انخفاض شدة الإصابة بشكل معنوي في النباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالشاهد المعدى حيث تراوحت بين (٤٨,٢٪-٦٠,١٧٪) للنباتات المعاملة بالبكتيريا مقارنة بالشاهد المعدى الذي بلغ (٨٣,٦٦٪)، وكان أعلى انخفاض في شدة الإصابة في طريقة معاملة البذور وري الشتول دون وجود فروق معنوية بين معاملات البكتيريا.

قد يعود الانخفاض في شدة الإصابة إلى دور البكتيريا النافعة في تحسين نمو النبات، وبالتالي يصبح نمو النبات أسرع من انتشار الإصابة الفيروسية في النبات، بالإضافة لدور البكتيريا النافعة في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات.

الاستنتاجات:

وجد أن لكلا السلالتين البكتيريتين *Bacillus subtilis* و *Bacillus sp. strain* (ABC3,cbs123) دوراً في الحد من إصابة نباتات الفليفلة بفيروس التجعد البني على ثمار البندورة من خلال تخفيض نسبة وشدة الإصابة، كما تمت ملاحظة أن العزلة البكتيرية *Bacillus sp. strain* (ABC3,cbs123) كانت أفضل من العزلة *Bacillus subtilis* في تخفيض نسبة وشدة الإصابة.

التوصيات:

متابعة دراسة تأثير كل من العزلتين البكتيريتين على نشاط أنزيم البيروكسيداز، ومحتوى الكلوروفيل الكلي، ومعايير النمو والإنتاجية على نباتات الفليفلة في ظروف الزراعة المحمية وفي ظروف الحقل.

المراجع:

1. ABOU KUBAA, R., CHOUEIRI, E., HEINOUN, K., CILLO, F. and SAPONARI, M. First report of tomato brown rugose fruit virus infecting sweet pepper in Syria and Lebanon. *Journal of Plant Pathology*, 2022. 104(1), 425-425.
2. ALKOWNI, R., ALABDALLAH, O., and FADDA, Z. Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine. *Journal of Plant Pathology*, 2019. 101(3), 719–723.
3. CAMACHO-BELTRÁN, E., PÉREZ-VILLARREAL, A., LEYVA-LÓPEZ, N., RODRÍGUEZ-NEGRETE, E., CENICEROS-OJEDA, E., MÉNDEZ-LOZANO, J. Occurrence of Tomato brown rugose fruit virus infecting tomato crops in Mexico. *Plant Dis.*, 2019.103, 1440.
4. CARUSO, A.G., BERTACCA, S., PARRELLA, G., RIZZO, R., DAVINO, S., PANNO, S. Tomato brown rugose fruit virus: A pathogen that is changing the tomato production worldwide. *Ann. Appl. Biol.* 2022, 23, 1262–1277.
5. CHITAMBAR, J. Tomato Brown Rugose Fruit Virus. <https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/?p=5843>.2018.accessed on 04.06.2019.
6. EGAMBERDIEVA, D. and B. Lugtenberg. 2014. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to alleviate salinity stress in plants. Pages 73-96. In: *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses*. M. Miransari (ed.). Springer, New York. 162 pp. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9466-9>.
7. EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. EPPO Reporting Service (01), 2019/013, accessed on 04.06.2019.
8. FIDAN, H., SARIKAYA, P., CALIS, O. First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Turkey. *New Dis. Rep.* 2019, 39, 18.
9. HAMMOUDI, O. Einfluss mikrobieller Antagonisten auf den Befall napus L.var.napus mit Phoma lingam und Vereticillium dahlia var. longisporum an Raps (Brassica). Dissertation Univ.Kiel.2007. 123 pp

10. HASAN, Z.M., SALEM, N.M., ISMAIL, I.D., AKEL, E.H. and AHMAD, A.Y. First report of Tomato brown rugose fruit virus on greenhouse tomato in Syria. *Plant Disease*, 2022. 106-772.
11. JEFFRIES, C.J. Potato. FAO/IPGRI *technical guidelines for the safe movement of germplasm Potato*. Publication Type, Book. 1998. Vol 19, 62–63.
12. LAEMMLEN, F. *Viruses in peppers*. <http://cesantabarbara.ucdavis.edu/ccah604.pdf>.2004.
13. LING, K. S., TIAN, T., GURUNG, S., SALATI, R. and GILLIARD, A. First report of tomato brown rugose fruit virus infecting greenhouse tomato in the United States. *Plant Disease*, 2019. 103(6), 1439.
14. LEVITZKY, N., SMITH, E., LACHMAN, O., LURIA, N., MIZRAHI, Y., BAKELMAN, H., SELA, N., LASKAR, O., MILROT, E., DOMBROVSKY, A. The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes. *PLoS ONE* 14(1):e0210871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210871>.2019.
15. LURIA, N., SMITH, E., REINGOLD, V., BEKELMAN, I., LAPIDOT, M., LEVIN, I., ELAD, N., TAM, Y., SELA, N., ABU-RAS, A., EZRA, N., HABERMAN, A., YITZHAK, L., LACHMAN, O., DOMBROVSKY, A. A new Israeli Tobamovirus isolate infects tomato plants harboring Tm-22 resistance genes. *PLOS One* 12:e0170429. doi: 10.1371/journal.pone.0170429.2017.
16. MOAALLA M., AHMAD A., HAMMOUDI O. and ISMAEIL I. The Effect of Bacterial Strain *Bacillus subtilis* FZB27 to Induce Systemic Resistance Against Cucumber mosaic virus (CMV) in Pepper Plants Under Green House Conditions. *Syrian Journal of Agricultural Research – SJAR* 7(4): 433-445.2020.(In Arabic).
17. MENZEL, W., KNIERIM, D., WINTER, S., HAMACHER, J., HEUPEL, M. First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Germany. *New Dis. Rep.* 39:1. doi: 10.5197/j.2044-0588.2019.039.001.2019.
18. MURPHY, J.F., M.S. REDDY., RYU, C.M., KLOEPPER, J.W. and LI. R. Rhizobacteriamediated growth promotion of tomato leads to protection against Cucumber mosaic virus. *Phytopathology*.2003. 93: 1301-1307.
19. PANNO, S., CARUSO, A.G., BLANCO, G., DAVINO, S. First report of tomato brown rugose fruit virus infecting sweet pepper in Italy. *New Dis Rep* 41:588–2044. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.041.020>.
20. RANA, K. L., KOUR, D., KAUR, T., DEVI, R., YADAV, A. N., YADAV, N., DHALIWAL, H. S. and SAXENA, A. K. Endophytic microbes: Biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie Leeuwenhoek*, 2020. 113, 1075–110.

21. REDDICK, B. B. and HABERA, L. F. New Resistance to Plant Viruses in Pepper. The University of Tennessee, Knoxville, TN, USA.1999.
22. SALEM, N., MANSOUR, A., CIUFFO, M., FALK, B.W., TURINA, M. A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. Arch Virol, 2016. 161:503–506. doi: 10.1007/s00705-015-2677-7.
23. SOROKAN, A. V., BURKHANOVA, G. F., VESELOVA, S. V., SINGH, B. P., UPADHYAYA, K., KHAIRULLIN, R. M. and MAKSIMOV, I. V. Endophytic bacteria to control plant viruses: an overview. Microbial Endophytes and Plant Growth, .٢٠٢٣51-66.
24. YANG, X., LIANGYI, K. and TIEN, P. Resistance of tomato infected with cucumber mosaic virus satellite RNA to potato spindle tuber viroid. Annals of Applied Biology.1996. 129:543- 551.