تأثير غمر جذور شتلات الفلفل *capsicum annuum* المصابة بفايروس موزائيك الخيار بمعلق البكتريا *Azospirillum brasilense* والفطر *Trichoderma harzianum* T-22 على بعض الصفات الخضرية للنبات

سيلدا محمد بكر | نبيل عزيز قاسم | بسام يحيى إبراهيم

وزارة الزراعة / مديرية زراعة كركوك | قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات ــ جامعة الموصل

seldambc@gmail.com dr.nabel.aziz@uomosul.edu.iq bassamy1966@uomosul.edu.iq

- تاريخ استلام البحث 3/4/2022 وقبوله 28/4/2022
- البحث مستل من أطروحة الدكتوراه للباحث الأول

الخلاصة

أظهرت نتائج التشخيص المصلي وجود فايروس موزائيك الخيار في العينات النباتية للخيار ظهرت عليها اعراض موزائيك شديدة وتشوه الأوراق من الحقول نباتات الخيار باستعمال اختبار الاليزا الثلاثية TAS-ELISA. بينت نتائج استعمال عاملي الاستحثاث الجهازية للبكتريا *Azospirillum brasilense* والفطر *Trichoderma harzianum* T-22 وخليطهما في تحسين المعايير الخضرية لنباتات الفلفل المصابة بالفايروس . حيث اظهرت المعاملة بمعلق البكتريا تحسينا في الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجاف اذ بلغت ١٤.٣٢ و ٤.١١ غم و ١٦.٤٨ و ٥.٤٣ غم على التوالي بينما بلغت معاملة المقارنة ٩.٤٨ و ٢.٧٥ غم و ١٤.٨٩ و ٣.٧٢ غم على التوالي. وبلغت كمية الكلوروفيل ٢.٠٦٥ (ملغم . غم $^{-1}$ وزن رطب) اما في معاملة المقارنة فقد بلغ المتوسط ١.١٨٣ (ملغم . غم $^{-1}$ وزن رطب). فيما بلغ متوسط المساحة الورقية ١٣٣.١٧ سم ^{2} . نبات اما معاملة المقارنة فقد بلغ متوسط بقيمة ٩٥.٥١ سم^{2}. نبات . تفوقت معاملة البكتريا برفع مستوى فاعلية انزيم البيروكسديز والاوكسديز متعدد الفينول ومحتوى الفينولات في اليوم الثلاثين من معاملة النبات بالفايروس حيث بلغ مستوى فاعلية انزيم البيروكسديز ٢٨٥.٨٥ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) بينما كانت فاعلية الانزيم منخفضه في نباتات المقارنة بقيمة ١٠٧.٤٢ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$). وبلغ مستوى فاعلية انزيم اوكسديز متعدد الفينول ٢٨٦.٣٢ (وحدة.دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) مقارنة بقيمة ١٠٠.٩٨ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) في نباتات المقارنة . كما وتفوقت معاملة الخليط حيث بلغ مستوى الفينولات ٣.٠٧ (ملغم.غم وزن رطب$^{-1}$) بينما كانت ادنى قيمة لمعاملة المقارنة حيث بلغت١.١٥(وحدة .دقيقة .غم وزن رطب$^{-1}$).

الكلمات المفتاحية : *Azospirillum brasilense* و *Trichoderma harzianum T-22* وفايروس موزائيك الخيار.

The effect of immersing seedlings of *capsicum annuum that infected with cucumber mosaic virus* in suspensions of *Azospirillum brasilense* and *Trichoderma harzianum* T-22 on some plant qualities.

Selda Mohammed Baker | **Nabil Aziz Kassim** | **Bassam Yahya Ibrahim**

Ministry of Agriculture | **Department of Plant Protection**

Directorate of Agriculture of Kirkuk | **College of Agriculture and Forestry, University of Mosul**

seldambc@gmail.com dr.nabel.aziz@uomosul.edu.iq bassamy1966@uomosul.edu.iq

- **Date of research received 3/4/2022 and accepted 28/4/2022.**
- **Part of PhD. dissertation for the first author.**

Abstract

The results of serological diagnosis using TAS-ELISA test showed presence of cucumber mosaic virus in samples brought from the cucumber fields. Using systemic inducing resistance agents *Azospirillum brasilense, Trichoderma harzianum* T-22 , and their mixture improved pepper vegetative parameters. Seedlings treatment with A. *brasilense* improved in shoot, root wet and dry weight 14.32 , 4.11, 16.48 and 5.43 gm respectively, while it were 9.48 ,2.75,14.89 and 3.72 gm, respectively, in control treatment. The amount of chlorophyll was 2.065 mg. g^{-1} wet weight, while it was 1.183(mg. g^{-1} wet $weight^{-1}$) in control treatment. leaf area was 133.17cm^2, while it was 95.51 cm^2 control treatment. Pepper seedlings treatment with *A. brasilense* caused raising in peroxidase enzyme activity, polyphenol oxidase enzyme activity and total phenols after thirty days of treatment with the virus.Pepper seedlings treatment raising in peroxidase enzyme activity with 285.85($unit.min^{-1}$.g wet $weight^{-1}$), while it was 107.42($unit.min^{-1}$.g wet $weight^{-1}$) in control treatment. In polyphenol oxidase enzyme activity it was ٢٨٦.٣٢($unit.min^{-1}$.g wet $weight^{-1}$) ١٠٠.٩٨ respectively ($unit.min^{-1}$.g wet $weight^{-1}$) in control treatment .The highest amount of total phenols was recorded in pepper seedling treated with mixture of *T. harzianum* T-22 and *A. brasilense* with ٣.٠٧(mg^{-1}.g ww^{-1}) while it was 1.15 ($unit.min^{-1}$.g wet $weight^{-1}$) in control treatment .

Key words: ***Azospirillum brasilense* ,*Trichoderma harzianum* T-22 , Cucumber Mosaic Virus.**

المقدمة

نظر لأهمية فايروس موزائيك الخيار في العراق وتطفله على العديد من المحاصيل الزراعية وخصوصا الخضروات مثل الطماطة والخيار والباذنجان والقرع والفلفل (قاسم واخرون ، ٢٠١٠ و الياسري واخرون ،٢٠١٦) ، وما يسببه من خسائر كبيرة سواء اكانت مباشرة متمثلة بفشل المحصول وتدني جودته او غير مباشرة متمثلة بالمبالغ التي تنفق على التشخيص وإدارة المرض. نال استخدام الاحياء المجهرية المعززة للنمو النباتي اهتماما متزايدا في العقود الأخيرة في مكافحة المسببات المرضية (Sastry و Zitter ، ٢٠١٤). استعمل الفطر *Trichoderma* في مكافحة الامراض النباتية، حيث تعد من الفطريات التي لها أهمية زراعية لما لها من اثار مفيدة على نمو النبات وتطوره وفضلا عن قدرته على حث استجابات دفاعية للنبات ضد طيف واسع من المسببات المرضية والاجهاد البيئي (Harman واخرون ، ٢٠٠٤ و Woo واخرون ٢٠٠٦). كما ان للبكتريا المعززة لنمو النبات Plant Growth-Promoting Rizobacteria(PGPR) دورا مهما في مكافحة الامراض النباتية ، فهي تتواجد في التربة و ذات تأثير إيجابي على صحة النبات وتحسين نموه (Lenin و Jayanthi ، ٢٠١٢). وتحرض هذه الكائنات اليات مقاومة مشابهة لألية تفاعل فرط الحساسية في النبات Hypersensitive reaction والمقاومة الجهازية systemic resistance(Benítez واخرون ، ٢٠٠٤ Harman واخرون ٢٠٠٤) .

مواد وطرائق العمل

تم جمع عينات نباتية للحصول على عزلة لفايروس موزائيك الخيار من حقول الموصل و كركوك وهي من المناطق المشهورة بزراعة الخضراوات . حيث جمعت النباتات التي ظهرت عليها اعراض موزائيك وتشوه الأوراق . واجري التشخيص المصلي لكافة العينات بتحضير عصير أوراق كل عينة بسحقها في هاون خزفي معقم بإضافة ١٠ مل من محلول الاستخلاص المنظم (pH٧)، ورشح العصير بطبقة من الموسلين ، واخضع الرائق لاختبار الاليزا الثلاثية باستعمال طقم الاليزا الثلاثية Triple Antibody Sandwich-ELISA (TAS-ELISA) الخاص بفايروس موزائيك الخيار والمستورد من شركة Agdia الامريكية وبالاعتماد على طريقة Clark و Adams (١٩٧٧). وكمايلي :

١. اضيف ١٠٠ مايكروليتر من محلول الاضداد اللاقطة (Capture Antibodies) لكل حفرة باستعمال الماصة الدقيقة مع إضافة ماء مقطر للعمود الأول والأخير للحفاظ على رطوبة الطبق
٢. اضيف ١٠٠ مايكروليتر من محلول الاضداد اللاقطة (Capture Antibodies).
٣. غسلت حفر الطبق بالمحلول المنظم بواسطة قنينة غسل وكررت العملية مرتين مع قلب الطبق على ورق تنشيف وضربه ضربات خفيفة للتخلص من المحلول المنظم.

٤. اضيف ١٠٠ مايكروليتر من العصير الفايروسي الى الحفر وبواقع حفرتين لكل عينة ، واضيف عصير نباتي سليم على احد الحفرة كمقارنة سالبة واضيف العصير الفايروسي كمقارنة موجبة والمجهز من قبل الشركة المنتجة لحفره في نفس العمود .

٥. وجضن الطبق في صندوق رطب داخل الثلاجة على درجة ٤ مْ لمدة ٢٤ ساعة.

٦. غسل الطبق بالمحلول المنظم وتكررت عملية الغسل هذا سبع مرات.

٧. اضيف ١٠٠مايكروليتر من خليط (٥٠ مايكروليتر من المحلول اضداد الارنب Detection antibody مع ٥٠ مايكروليتر من اضدادا اضداد الارنب المحضر في الفأر).

٨. وحفظ الطبق داخل صندوق رطب وترك على درجة حرارة الغرفه لمدة ٤ ساعات.

٩. غسل الطبق ثماني مرات .

١٠. اضيف ١٠٠ ميكروليتر من محلول المادة الأساسPNP لكل حفرة ووضع الطبق في صندوق رطب وحضن لمدة ساعة واحدة مع مراعاة عدم تعريض الطبق للضوء المباشر.

١١. اضيف ٥٠ ميكروليتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH عيارية ٣ مولر الى كل الحفر لايقاف التفاعل.

١٢. تم تقييم النتائج من خلال الفحص البصري لمشاهدة اللون الأصفر في حفر العينات التي تحتوي على العصير النباتي المصاب ،كما و فحص الطبق طيفيا بواسطة جهاز قارئ الاليزا على الطول الموجي ٤٠٥ نانومتر .

تثبيت عزلة الفايروس

تم تثبيت واكثار عزلة الفايروس بعد اجراء اختبارات التشخيص ، حيث حضر العصير النباتي الحاوي على الفايروس من الأوراق النباتية المصابة بسحق٣ غم من أوراق العينة، في هاون خزفي مع إضافة ٤ مل من المنظم الفوسفاتي KH_2PO_4 عيارية ٠.٠١ مولاري/ لتر ودالة حامضية pH ٧ ، ورشح العصير خلال طبقتين من قماش الموسلين ولقحت أوراق نباتات خيار بمرحلة نمو ٤-٦ أوراق بعد تعفيرها بمسحوق الكاربوراندم ٦٠٠ مش بمسحها بالعصير النباتي بالاصبع وباتجاه واحد من اعلى النصل الى النهاية الطرفية ، غسلت الاوراق بالماء المقطر لعدة ثواني وتركت في البيت البلاستيكي لمتابعة ظهور الاعراض.وتم تجديد العزلة كل شهرين .

اختبار كفاءة البكتريا *Azospirillum brasilense* في استحثاث المقاومة الجهازية في نبات الفلفل ضد فايروس موزائيك الخيار

استعمل معلق خلايا البكتريا *Azospirillum brasilense* بتركيز ١×١٠ ٦ خلية . مل-١ والمنتج من قبل شركة Bactogen ، بإضافة ٥غم من المعلق في نصف لتر ماء مقطر معقم وحسب تعليمات الشركة.

اختبار كفاءة الفطرT-22 *Trichoderma harzianum* في استحثاث المقاومة الجهازية في نبات الفلفل ضد فايروس موزائيك الخيار

استعمل مستحضر ابواغ الفطر *Trichoderma harzianum*T-22 بتركيز ٤×١٠ ٦ بوغ . مل-١ والمنتج من قبل شركة Bioglobal ، بإضافة ٥غم من المستحضر في نصف لتر ماء مقطر معقم وحسب تعليمات الشركة.

معاملة جذور الشتلات

زرعت بذور الفلفل *Capsicum annuum* في مستنبتات وبعد وصول الشتلات الى مرحلة نمو ٣ أوراق غسلت جذور النباتات بتيار ماء بحذر لأزالة التربة العالقة بها ثم عوملت بعاملي الاستحثاث وكما يلي :

١. غمرت جذور شتلات الفلفل بمعلق البكتريا بتركيز ١× ١٠ ٦ خلية لدة ٣٠ دقيقة.

٢. غمرت جذور شتلات الفلفل بمعلق الفطر بتركيز ٤×١٠ ٦ بوغ المضاف اليه السكر كمادة لاصقة بنسبة ٥% لمدة ٣٠ دقيقة .

٣. غمرت جذور شتلات الفلفل بخليط يحوي كمية متساوية من معلقي البكتريا والفطر.

نقلت شتلات المعاملات الثلاثة الى أصص تحوي على تربة مزيجية معقمة بمركب OXY وبتركيز ٥ مل . لتر-١ بواقع شتلة واحدة لكل اصيص

نفذت التجربة باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) وبواقع ستة قطاعات واحتوت كل وحدة تجريبية على نبات واحد

واختبرت المتوسطات باستخدام اختبار دنكن المتعدد المدى وفق نظام Duncan Multiple Range test SAS (الراوي وعبد العزيز ٢٠٠٠).

بعد انتهاء التجربة تم قلع جميع نباتات المعاملات بعد انتهاء التجارب حيث تم حساب معايير النمو التالية لتقييم تاثير عوامل الاستحثاث في الإصابة بفايروس موزائيك الخيار

١ـمعايير النمو

أـقياس الوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري (غم):-

تم حساب الوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري كل على انفراد باستعمال الميزان الحساس.

بـقياس الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري(غم):-

تم حساب معدل وزن المجموع الخضري والجذري الجاف لكافة العينات بعد ان تم وضع كل منها في كيس ورقي وقياس اوزانها باستعمال ميزان حساس وتجفيفها في فرن التجفيف على درجة حرارة ٧٠°م ليلة كاملة.

جـقياس المساحة الورقية

اخذت خمسة أقراص بثاقب فليني قطره ٠.٥ واحد عشوائيا من أوراق كل معاملة و وزنت ثم جففت الأقراص في فرن كهربائي في درجة حرارة ٧٠°م لمدة ٢٤ ساعة ثم حسب الوزن الجاف لكل عينة حسبت المساحة الورقية للنبات بطريقة النسبة والتناسب استنادا لقيم الوزن الجاف للأقراص والأوراق (Pierozan و Kawakami ، ٢٠١٣).

٢ـ دراسة تأثير عوامل الاستحثاث على شدة الاصابة بالفايروس

اخذت عينات عشوائية من أوراق نباتات المعاملة وقدرت شدة الإصابة بالفايروس باستخدام برنامج Imge J (Delgado-Martin واخرون، ٢٠٢٢) لحساب نسبة المساحات المصابة بالفايروس والتي ظهرت عليها اعراض الموزائيك ثم قدرت شدة الإصابة وفق المعادلة التالية:

شدة الإصابة المرض = (عدد النباتات من الدرجة ١ × ١ + .. + عدد النباتات من الدرجة n × n) / (مجموع النباتات المفحوصة × أعلى درجة)

٣ـتقدير الكلوروفيل

قدر الكلوروفيل أ و ب في الأوراق بالملغم.غرام-١ وزن رطب.وتم الاستخلاص تبعاً لطريقة Knudson وآخرون (١٩٧٧) . إذ أخذت عينة من الأوراق بوزن رطب مقداره ٠.١ غرام وأضيف إليها ١٥ مل من كحول المثيانول ٨٠:٢٠ ، ثم تركت لمدة ٢٤ ساعة في الظلام وأكمل الحجم إلى ١٠ مل بالكحول المثيلي.تم قياس قيمة الامتصاص على الطولين الموجبين ٦٦٥ و٦٥٢ نانوميتر باستخدام المطياف الضوئي وتم حساب كمية الكلوروفيل كالأتي :

١- كمية الكلوروفيل أ ملغم .مل-١ من المحلول = (16.82× قيمة الامتصاص عند الطول الموجي٦٦٥ نانوميتير)-(9.28 × قيمة الامتصاص عند الطول الموجي 652 نانوميتير).

٢- كمية الكلوروفيل ب ملغم .مل-١ من المحلول = (36.92× قيمة الامتصاص عند الطول الموجي 652 نانوميتير)- (١٦.٥٤× قيمة الامتصاص عند الطول الموجي ٦٦٥ نانوميتير).

الكلوروفيل الكلي في الأوراق (ملغم/غرام)= كمية الكلوروفيل أ + كمية الكلوروفيل ب .

٤ـ تقدير فعالية إنزيمي البروكسيديز و اوكسديز متعدد الفينول

أ-تحضير مستخلص الانزيم الخام

تم هرس ٠.٥ غم من جذور نباتات الفلفل بعد تنظيفها من الأتربة العالقة وتقطيعها بواسطة مقص نظيف إلى قطع صغيرة مع اضافة ١٠ سم٣ من دارئ فوسفات البوتاسيوم البارد عيارية (٠.١ مولر) ذو أس هيدروجيني (pH 7) في هاون خزفي معقم وبعد الترشيح من خلال ورق الترشيح اخضع الراشح لعملية الطرد المركزي باستخدام جهاز طرد مركزي بسرعة ٤٠٠٠ دورة.دقيقة-١ لمدة ١٠ دقائق أخذ الراشح وتم حفظه تحت ظروف التجميد لحين تقدير الفعالية الإنزيمية (Pitotti واخرون، ١٩٩٤) .

ب- تقدير فعالية إنزيم البروكسيديز(وحدة.دقيقة.غرام وزن طري-١):

المواد والمحاليل المستخدمة:

١ – محلول كوايكول Guaiacol : حضر بوضع ١.٣٦ مل من الكوايكول في دورق حجمي سعة ٢٥٠ مل ثم أكمل الحجم باستخدام الماء المقطر.

٢ – محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 1،0 % .

٣ – مزيج التفاعل حضر من مزج 1 مل من H_2O_2 مع 1 مل من كوايكول.(يحضر انيا)

٤ – قدرت الفعالية الإنزيمية بإضافة ٢ مل من مزيج التفاعل في خلية المطياف الضوئي spectrophotometer ثم أضيف ٠.١ مل من العينة وتمت متابعة التغير في إمتصاص الضوء كل ٣٠ ثانية ولمدة ٣ دقائق عند طول موجي 420nm. وتم حساب فعالية الإنزيم من المعادلة الآتية

(عدد وحدات الإنزيم / مل) = $\frac{\Delta \text{أ قراءة الجهاز} \times ٣}{\Delta \text{ن} \times ٠.٠٠١}$

Δ أ: التغيير في امتصاص الضوء .

Δ ن: المدة الزمنية المستغرقة للتغيير في الامتصاص.

الوحدة الواحدة من الإنزيم (كمية الإنزيم التي تسبب زيادة في إمتصاص الضوء مقدارها ٠.٠١ وحدة في الدقيقة الواحدة عند طول موجي مقداره ٤٢٠ نانوميتر). تم تقدير فعالية إنزيم البروكسيديز وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل (Muftugil، 1985) .

ج- تقدير فعالية إنزيم اوكسديز متعدد الفينول (وحدة.دقيقة.غرام وزن طري-١)

المواد والمحاليل المستخدمة:

١ـ محلول دارئ فوسفات البوتاسيوم عيارية (٠,٢ مولر) والأس الهيدروجيني pH 7

٢ـ محلول كاتيكول Catechol بتركيز(٢٠ ملليمولر) الذي حضر من إذابة ٠,٢٤٨ غم من الكاتيكول في كمية من محلول فوسفات البوتاسيوم الدارىء وإكمال الحجم إلى ١٠٠ مل .

قيست فعالية إنزيم بولي فينول اوكسيديز باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer بوضع خليط مكون من ١ مل محلول فوسفات البوتاسيوم الدارئ و١ مل من المحلول كاتيكول و١مل من مستخلص الجذور الخام في خلية الجهاز بعد ذلك تم تسجيل التغير الحاصل في امتصاص الضوء عند الطول الموجي٤٢٠ نانوميتير . وتم حساب فعالية الإنزيم من المعادلة الآتية

من المعادلة الآتية:

(عدد وحدات الإنزيم / مل) = $\frac{\Delta \text{أ قراءة الجهاز} \times ٣}{\Delta \text{ن} \times ٠,٠٠١}$

Δ أ: التغيير في امتصاص الضوء .

Δ ن: المدة الزمنية المستغرقة للتغيير في الامتصاص.

الوحدة الواحدة من الإنزيم (كمية الإنزيم التي تسبب زيادة في امتصاص الضوء مقدارها ٠,٠١ وحدة في الدقيقة الواحدة عند طول موجي مقداره ٤٢٠ نانوميتر). تم تقدير الفعالية لأنزيم بولي فينول اوكسيديز وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل حمزة (٢٠٠٧).

٥-تقدير الفينولات الكلية (ملغرام .غرام وزن طري$^{-1}$)

استخدمت طريقة الاستخلاص بالميثانول: ماء ٨٠:٢٠ وفق ما ذكره Aberoumand و Deokule (٢٠٠٨) و Chandra وآخرون (٢٠١٤). تم هرس ٠.٥ غم من جذور نبات الحمص بوجود ١٠ مل من محلول الاستخلاص في هاون خزفي لحين الحصول على خليط متجانس وبعد الترشيح من خلال ورق ترشيح اخضع الراشح لعملية الطرد المركزي باستخدام جهاز طرد مركزي بسرعة ٤٠٠٠ دورة.دقيقة$^{-1}$ لمدة ١٠ دقائق أخذ الراشح وتم حفظه تحت ظروف التجميد لحين الاستخدام

قدرت الفينولات الكلية بطريقة Singleton and Rossir والمستخدم فيها Folin- Ciocalteu Phenol Reagent وكما يلي :

١-يؤخذ٠.٢ مل من المستخلص الفينولي- الكحولي في أنبوبة اختبار

٢- يضاف له ٠.٦ مل ماء مقطر

٣- يضاف له ٠.١ مل من الدليل Folin-Ciocalteu Reagent

٤-تترك لمدة خمس دقائق في جو المختبر ثم يضاف للخليط ١ مل من٨% كاربونات الصوديوم وتخلط جيدا بالتحريك وتترك في جو مظلم لمدة نصف ساعة

٥-يكمل الحجم الى ٣ مل بالماء المقطر

١- تقرا الامتصاصية على طول موجي 750nm .

قدرت الفينولات الكلية بالاسقاط على منحنى ألـ Gallic Acid والمحضر بنفس الطريقة بكميات من ٥٠ - ٢٥٠ ميكروغرام مل$^{-1}$ في المستخلص الكحولي للميثانول. وحسبت بعدها كمية الفينولات (ملغ .غم وزن طري$^{-1}$).

النتائج والمناقشة

بينت نتائج التشخيص المصلي باستعمال اختبار الاليزا ذو الاحتواء الثلاثي TAS-ELISA لكافة العينات الحقلية التي جلبت من الحقول على وجود فايروس موزائيك الخيار نتيجة لظهور اللون الأصفر في حفر العينات الموجبة. اثبت اختبار الاليزا الثلاثية كفاءة في تشخيص فايروس موزائيك الخيار في العينات الحقلية وبحساسية عالية ، ويعد من الاختبارات الكفوء في تحديد تركيز الفايروس استنادا الى قيم الامتصاصية. وأستخدم من Arslan و اخرون (٢٠٢٠) في دراسة لتشخيص سبب اعراض الاصفرار الشديد على أوراق النباتات العائلة القرعية (القرع والخيار والرقي) اختبار الاليزا ذو الاحتواء الثلاثي (TAS-ELISA) متبوعا تفاعل البلمرة المتسلسل بالنسخ العكسي (RT-PCR) حيث سجل وجود الفايروس اصفرار القرعيات المحمول بالمن في ١١٧ عينة من اصل ٢٨١ لنباتات الخيار و ٣٠ عينة موجبة من اصل ٩٥ لنباتات الرقي و ٨١ عينة موجبة من اصل ٨٤ من نباتات القرع. واستخدمه Ahsan و اخرون (٢٠٢١) في الباكستان لدراسة التباين الوراثي لعزلات فيروس موزاييك الخيار التي تصيب خضراوات البزاليا والسبانخ حيث بينت النتائج أن جميع عزلات فيروس موزاييك الخيار التي أحدثت إصابة لخضراوات البزاليا والسبانخ تنتمي إلى المجموعة الفرعية CMV II .

تاثير معاملة شتلات قبل الزراعة بالفطر *T.harzianum T-22* والبكتريا*A. brasilense* وخليطهما في المعايير الخضرية لنباتات الفلفل المصابة بفايروس موزائيك الخيار

بينت النتائج في الجدول (١) تاثير معاملة جذور الشتلات لنباتات الفلفل بالبكتريا *A. brasilense* والفطر *T.harzianum T-22* وخليطهما في تحسين المعايير الخضرية لنباتات الفلفل المصابة بالفايروس.

وتحققت افضل النتائج في النباتات التي عوملت جذورها بمعلق البكتريا *A. brasilense* مع كافة المعايير النباتية وكانت قيمها اعلى معنويا حتى مع بقية المعاملات فضلا عن المقارنة حيث كانت قيمتي الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري ١٤.٣٢ و

٤.١١ غم على التوالي مقارنة بقيمة ٩.٤٨ و ٢.٧٥ غم على التوالي في معامة المقارنة .وكانت قيمتي الوزن الرطب والجاف للمجموع الجذري ١٦.٤٨ و ٥.٤٣ غم على التوالي مقارنة بقيمتي ١٤.٨٩ و ٣.٧٢ غم على التوالي في معاملة المقارنة .

وبلغت كمية الكلوروفيل ٢.٠٦٥ (ملغم . غم . وزن رطب-١) مقارنة بقيمة ١.١٨٣(ملغم. غم . وزن رطب-١) لمعاملة المقارنة فيما بلغت قيمة المساحة الورقية ١٣٣.١٧ سم٢ مقارنة بقيمة ٩٥.٥١ سم٢ في معاملة المقارنة.

الجدول (١): تأثير معاملة شتلات الفلفل قبل الزراعة بالبكتريا *A. brasilense*

والفطرT-22 *T. harzianum* وخليطهما في المعايير الخضرية لنباتات الفلفل المصابة بفايروس موزائيك الخيار

المعاملات	المجموع الخضري		المجموع الجذري		كمية الكلوروفيل (ملغم . غم-١وزن رطب)	المساحة الورقية (سم٢)
	الوزن الرطب (غم)	الوزن الجاف (غم)	الوزن الرطب (غم)	الوزن الجاف (غم)		
المقارنة	٩.٤٨ ح	٢.٧٥ ج	١٤.٨٩ ب	٣.٧٢ ج	١.١٨٣ ج	٩٥.٥١ ج
T.harzianum T-22 + CMV	١٢.٤٣ ب	٣.٧٦ ب	١٦.٣١ أ	٥.٨٧ أ	١.٩٩٥ أ	١٣٠.٤ أ
A. brasilense + CMV	١٤.٣٢ أ	٤.١١ أ	١٦.٤٨ أ	٥.٤٣ أ	٢.٠٦٥ أ	١٣٣.١٧ أ
T.harzianum T-22+ CMV *A. brasilense*	١٤.٦٩ ب	٤.١٣ أ	١٦.٦٨ أ	٥.٠٠ ب	١.٦١٣ ب	١٠٨.٧٥ ب

*المتوسطات ذات الأحرف المتشابهة لكل عمود لاتختلف معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال ٥%.

بينت النتائج تفوق معاملة غمر جذور نباتات الفلفل بمعلق البكتريا *A. brasilense* على بقية المعاملات ومعاملة المقارنة في تحسين الصفات النباتية للنباتات المصابة بفايروس موزائيك الخيار مقارنة بناتات الفلفل المصابة بالفايروس وغير المعاملة بعوامل الاستحثاث.

ويفسر ذلك ان وجود البكتريا *A. brasilense* حول جذور النبات يحفز المقاومة الجهازية للنبات، إضافة الى قدرتها على تثبيت النتروجين الجوي بشكل غير تكافلي ، كما ولها أهمية في تحسين نمو النبات من خلال إنتاج المواد المنظمة للنمو التي تؤدي الى زيادة المساحة السطحية وانتشار الجذور. ويؤدي التلقيح بالبكتريا *A. brasilense* الى زيادة انتشار الجذور بالتالي يزيد من امتصاص العناصر الغذائية والماء إذ أن أفرازات جذور هذه النباتات تُهيء وسطاً ملائماً لنموها وفي الوقت نفسه فإن البكتريا تفرز بعض المركبات التي تُحسن صفات النمو في النباتات وتحميه من الاصابة بالعديد من المسببات المرضية من خلال المنافسة على المواد العضوية اللازمة للنمو أو عن طريق أفراز مضادات لهذه المسببات (Saharan وNehra، ٢٠١١ وAbdel Latef واخرون، ٢٠٢٠). وكذلك تفعيل مسار الاستحثاث في النبات عبر مسارISR (فهمي ، ٢٠٠٦) . قد تعزى زيادة المساحة الورقية للنباتات الملقحة بالبكتريا PGPR الى دورها في تحسين خصوبة التربة وزيادة امتصاص العناصر الغذائية من قبل النبات (Yang واخرون، ٢٠٠٩) وإنتاج اندول حامض الخليك وبعض مركبات الأخرى مثل السايدروفورات التي تساهم في زيادة النمو الخضري للنباتات(Dastager واخرون، ٢٠١١)

تقدير فعالية انزيم البيروكسديز عند معاملة جذور الشتلات

يبين الجدول (٢) تاثير مواعيد المعاملات بعوامل الاستحثاث البكتريا *A. brasilense* والفطر *T. harzianum* T- 22 وخليطهما على فاعلية انزيم البيروكسديز في معاملة الشتلات لنباتات الفلفل. حيث بينت النتائج المعاملة بالبكتريا *A. brasilense* على بقية المعاملات وذلك بعد ٣٠ يوم من المعاملة بعامل الاستحثاث اذ بلغت ٣٨٧.١ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب-١) بينما سجلت ادنى مستوى لفاعلية الانزيم في معاملة المقارنة اذ بلغت ١١٨.٩(وحدة .دقيقة.غم وزن رطب-١) . وبالنسبة لتاثير العام لموعد تقييم فاعلية الانزيم حيث بلغت اعلى فاعلية للانزيم بعد ٣٠ يوما من معاملة النباتات بالفايروس اذا بلغت ٢٤٦.٢ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب-١) وبفرق معنوي عن بقية المواعيد حيث سجلت ادنى مستوى لفاعلية الانزيم بعد ٢٤ ساعة من معاملة النباتات بالفايروس

حيث بلغت ١٤٠.٥٠ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) . اما بالنسبة لتاثير العام لعوامل الاستحثاث تفوق معاملة البكتريا *A. brasilense* حيث بلغت قيمة فاعلية الانزيم ٢٨٥.٨٥ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) وبفرق معنوي عن بقية المعاملات ، وسجلت ادنى قيمه للانزيم في معاملة المقارنة اذ بلغت ١٠٧.٤٢ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) .**الجدول(٢): تاثير المواعيد والمعاملات بالعوامل الاستحثاث على مستوى فعالية انزيم بيروكسديز (وحدة . دقيقة$^{-1}$.غم وزن رطب$^{-1}$) في شتلات الفلفل**

مواعيد تقييم فاعلية الانزيم	المعاملات	فاعلية الانزيم	التاثير العام لموعد تقييم فاعلية الانزيم
٢٤ ساعة	المقارنة	١٠٦.١ ج ط	١٤٠.٥٠ د
	T.harzianum + CMV	١٤٣ ز ح	
	A. brasilense + CMV	١٧٦.١ و ح	
	A. brasilense + CMV *T.harzianum* +	١٣٦.٤ ز ح	
٧ أيام	المقارنة	٩٨.١ ط	٢٠٢.٩٧ ج
	T.harzianum + CMV	١٩٣.٤ و ز	
	A. brasilense + CMV	٢٢٦.٢ هـ	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢٩٤.٢ ج د	
١٥ يوم	المقارنة	١٠٦.٦ ح ط	٢٢٢.١ ب
	T.harzianum + CMV	١٤٦.٣ ز ح	
	A. brasilense + CMV	٣٥١ ب	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢٨٤ ج د	
٣٠ يوم	المقارنة	١١٨.٩ ح ط	٢٤٦.٢ أ
	T.harzianum + CMV	١٩٣.٤ و ز	
	A. brasilense + CMV	٣٨٧.١ ا	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢٨١ د	
التاثير العام لعوامل الاستحثاث	المقارنة	107.42 هـ	
	T.harzianum + CMV	١٦٩.١٠ ج	
	A. brasilense + CMV	285.85 أ	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	249.65 ب	

*المتوسطات ذات الأحرف المتشابهه لكل عمود لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال ٥%.

تقدير فعالية انزيم اوكسديز متعدد الفينول عند معاملة جذور الشتلات

يبين الجدول (٣) تفوق المعاملة بالفطر *T. harzianum* T-22 على معاملة المقارنة بعد ٣٠ يوم من المعاملة بالفايروس حيث بلغت فاعلية الانزيم ٣٣٤.٣٧ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) وبفارق معنوي عن بقية المعاملات بينما سجلت ادنى مستوى لفاعلية الانزيم في معاملة المقارنة اذ بلغت ١١٠.٥٨ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$).

وبالنسبة لتاثير العام لموعد تقييم فاعلية الانزيم حيث بلغت اعلى فاعلية للانزيم بعد ٣٠ يوما من معاملة النباتات بالفايروس اذا بلغت ٢٥٧.٨٤ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) وبفرق معنوي عن بقية المواعيد حيث سجلت ادنى مستوى لفاعلية الانزيم بعد ٢٤ ساعة من معاملة النباتات بالفايروس حيث بلغت ١٦٣.٠٤ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب$^{-1}$) .

اما بالنسبة لتاثير العام لعوامل الاستحثاث حيث تفوق معاملة البكتريا *A. brasilense* حيث بلغت قيمة فاعلية الانزيم ٢٨٦.٣٢ (وحدة.دقيقة.غم وزن رطب-١) وبفرق معنوي عن بقية المعاملات ، وسجلت ادنى قيمه للانزيم في معاملة المقارنة اذ بلغت ١٠٠.٩٨ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب-١). **الجدول رقم (٣) : تاثير المواعيد والمعاملات بالعوامل الاحيائية على مستوى فاعلية انزيم الاوكسديز متعدد الفينول (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب-١) عند معاملة جذور الشتلات الفلفل**

مواعيد تقييم فاعلية الانزيم	المعاملات	فاعلية الانزيم	التأثير العام لموعد تقييم فاعلية الانزيم
٢٤ ساعة	المقارنة	٨٤.١٧ ح	١٦٣.٠٤ د
	T.harzianum + CMV	١٨٣.٦٦ و	
	A. brasilense + CMV	٢٦٩.٢٩ ج هـ	
	A. brasilense + CMV *T.harzianum* +	١١٥.٠١ ز	
٧ أيام	المقارنة	١٠٢.٣٩ ز	١٩٩.٤١ ج
	T.harzianum + CMV	٢١٧.٩٤ هـ	
	A. brasilense + CMV	٢٨٦.٥٢ ج د	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	١٩٠.٦٣ و	
١٥ يوم	المقارنة	١٠٦.٧٨ ز	٢٣٦.٢٠ ب
	T.harzianum + CMV	٢٦٢.٩١ د هـ	
	A. brasilense + CMV	٢٨٩.٠١ ج د	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢٨٥.٩٤ ج د	
٣٠ يوم	المقارنة	١١٠.٥٨ ز	٢٥٧.٨٤ أ
	T.harzianum + CMV	٣٣٤.٣٧ أ	
	A. brasilense + CMV	٣٠٠.٤٧ ب	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢٨٦.٥ ج د	
التاثير العام لعوامل الاستحثاث	المقارنة	١٠٠.٩٨ د	
	T.harzianum + CMV	٢٤٩.٧٢ ب	
	A. brasilense + CMV	٢٨٦.٣٢ أ	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢١٩.٥٢ ج	

*المتوسطات ذات الأحرف المتشابهة لكل عمود لاتختلف معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال ٥%.

التقدير الكمي للفينولات الكلية عند معاملة جذور الشتلات

تبين النتائج في جدول(٤) تفوق النباتات المعاملة بخليط عاملي الاستحثاث اذ بلغت ٤.٧٢ (ملغم.غم وزن رطب-١) وبفرق معنوي عن بقية المعاملات بعد ٣٠ يوم من تلقيح النبات بالفايروس بينما سجلت ادنى مستوى للفينولات بمعاملة المقارنة اذا بلغت ١.٢ (ملغم.غم وزن رطب-١).

وبالنسبة لتاثير العام لموعد تقييم الفينولات حيث بلغت اعلى فاعلية لها بعد ٣٠ يوما من معاملة النباتات بالفايروس اذا بلغت ٢.٥٢ (ملغم.غم وزن رطب-١) وبفرق معنوي عن بقية المواعيد حيث سجلت ادنى مستوى للفينولات بعد ٢٤ ساعة من معاملة النباتات بالفايروس حيث بلغت ١.٦٧ (ملغم.غم وزن رطب-١) .

اما بالنسبة لتاثير العام لعوامل الاستحثاث حيث تفوق معاملة الخليط حيث بلغت مستوى الفينولات ٣.٠٧ (ملغم.غم وزن رطب-١) وبفرق معنوي عن بقية المعاملات ، وسجلت ادنى مستوى للفينولات في معاملة المقارنة اذ بلغت١.١٥ (وحدة .دقيقة.غم وزن رطب-١) .

الجدول رقم (٤) : تاثير المواعيد والمعاملات بالعوامل الاحيائية على محتوى الفينولات الكلي (ملغم. غم وزن رطب-1) عند معاملة جذور شتلات الفلفل

مواعيد تقييم فاعلية الانزيم	المعاملات	فاعلية الانزيم	التاثير العام لموعد تقييم فاعلية الانزيم
٢٤ ساعة	المقارنة	1.05 و	١.٦٧ ج
	T.harzianum + CMV	١.٦٦ د	
	A. brasilense + CMV	٢.٠٢ ج د	
	A. brasilense + CMV *T.harzianum* +	٢.٣٤ ب ج	
٧ ايام	المقارنة	١.١٧ هـ	١.٩٠ ب
	T.harzianum + CMV	١.٧ د	
	A. brasilense + CMV	٢.٢ ب د	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢.٥٣ ب ج	
١٥ يوم	المقارنة	١.١٩ هـ	١.٩٩ ب
	T.harzianum + CMV	١.٨٢ ج د	
	A. brasilense + CMV	٢.٢٥ ب ج	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٢.٧ ب	
٣٠ يوم	المقارنة	١.٢ هـ	٢.٥٢ أ
	T.harzianum + CMV	١.٩ ج د	
	A. brasilense + CMV	٢.٢٩ ب ج	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٤.٧٢ أ	
التاثير العام لعوامل الاستحثاث	المقارنة	١.١٥ د	
	T.harzianum + CMV	١.٧٧ ج	
	A. brasilense + CMV	٢.١٩ ب	
	T.harzianum + *A. brasilense* + CMV	٣.٠٧ أ	

*المتوسطات ذات الأحرف المتشابهة لكل عمود لاتختلف معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى احتمال ٥%.

اكدت نتائج الدراسة تفوق عامل الاستحثاث البكتريا *Azospirillum brasilense* في معاملة غمر جذور الشتلات قبل العدوى بفايروس موزائيك الخيار . وقد بينت النتائج وجود زيادة في فاعلية كل من انزيم البيروكسديز وانزيم اوكسديز متعدد الفينول و زيادة في كميات الفينولات الكلية حيث اقترنت تلك الزيادة مع زيادة مستوى فعالية انزيمي بيروكسديز واوكسديز متعدد الفينول نتيجة للمعاملة بعاملي الاستحثاث البكتريا *A.brasilense* و الفطر *T.harizanum* في نباتات الفلفل المصابة بفايروس موزائيك الخيار ، وتعد هذه الانزيمات احد عناصر نظام الدفاع المستحث عند تعرض النبات للإصابة بالمسببات المرضية وتلعب دورا في الدفاعات النباتية وفي عملية البناء. اشار Kandan واخرون (٢٠٠٢) الى فعالية معاملة نباتات الطماطة بعدة عزلات من البكتريا

P. fluorescens في زيادة فعالية الاوكسديز متعدد الفينول في اوراق النباتات بعد التلقيح بفايروس الذبول المتبقع في الطماطة بمدة ٢٤ ساعة مقارنة بالنباتات غير المعاملة ، وارتفعت فعالية الانزيم بشكل أكبر وظل بشكل ملحوظ أعلى لغاية ١٦٨ ساعة بعد التلقيح.

وذكرKumar وأخرون(٢٠١٦) ان استخدام البكتريا *P. lentimorbus* B-30488 كمعاملة سقي لنباتات التبغ قلل بشكل ملحوض من ضراوة فايروس موزائيك الخيار وادى الى انخفاض في مستوى تراكم الفايروس في خلايا الأوراق المعاملة بمقدار الثلث عن معاملة المقارنة إضافة الى زيادة مستوى فعالية انزيم الاوكسديز متعدد الفينول .

وأشار القواس (٢٠١٨) ان معاملة نباتات الفلفل بالبكتريا المعززة لنمو النبات PGPR أدى الى زيادة في نشاط انزيم البيروكسديز حيث سجل زيادة في نشاط انزيم البيروكسديز في نباتات المعاملة بالبكتريا *B. subtillis* FZB27 بنسبة ٢١.٧% وفي نباتات الفلفل الملقحة بفايروس موزائيك الخيار والمعاملة بالبكتريا *B. subtillis* FZB27 بواقع ٢٨.٢٦% . وذكرت معلا واخرون (٢٠٢٠) ان معاملة نباتات الفلفل بالبكتريا *B. subtillis* FZB27 ادت الى تخفيز المقاومة الجهازية ضد فايروس موزائيك الخيار والتي انعكست في خفض معنوي لشدة الإصابة وزيادة فعالية انزيم البيروكسديز .

وأشار Al-Zahrani واخرون (٢٠١٨) الى حدوث تراكم بالمركبات الفينولية في نبات عين البزون المصابة بفايروس موزائيك الخيار عند معاملتها بالبكتريا *B. pumilus* *B. subtilis* حيث ظهرت زيادة معنوية عالية في الفينولات والفلافونويدات في النباتات المصابة والسليمة وكان تراكم الفينولات والفلافونيدات أقل في النباتات السليمة مقارنة بالنباتات المصابة بالفايروس وهذه المركبات من نواتج الايض الثانوي المهمة الموجودة في النباتات وتمتلك أنشطة عالية كمضادات أكسدة والتي يمكن أن تساعد في كبح شدة المرض وادى استخدام البكتريا الى استحثاث انتاج هذه المركبات مما أدى الى خفض شدة الإصابة بالمرض بنسبة ٨٥.١٨٪. وهذا يتفق مع ما ذكره Kingkampang في(٢٠٢٠) زيادة في محتوى نباتات الفلفل من المركبات الفينولية الكلي في الأسبوع الثاني بعد تلقيح النباتات بفايروس تجعد واصفرار اوراق الفلفل.

المصادر

- **حمزة، سروه رمضان (٢٠٠٧) دراسة خصائص الاوكسديز متعدد الفينول المعزول من بعض الفواكه والخضار ودراسة تاثير بعض العمليات التصنيعية عل استقراره** . رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة الموصل .
- **فهمي ، فكري جلال محمد(٢٠٠٦) علم الفايروسات النباتية Phytovirology** . دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع ، مصر ٢٢٤ صفحة .
- **قاسم ، نبيل عزيز و نضال يونس محمد ال و مراد سعاد يحيى محمد و هبة عبدالله احمد(٢٠١٠).** تأثير الإصابة المشتركة بفيروس موزائيك الخيار والذبول الفيوزاريومي على الفلفل. مجلة زراعة الرافدين، لمجلد (٣٨) العدد (ملحق ٢).
- **القواس ، حنان نادر (٢٠١٨) دراسة تاثير بعض السلالات من بكتريا الجذور المحسنة لنمو النبات PGPR في تحفيز المقاومة الجهازية ضد فايروس موزائيك الخيار عل نبات البندورة في الزراعة المحمية**. جامعة تشرين كلية الهندسة الزراعية قسم وقاية النبات أطروحة دكتوراه.
- **معلا ، مي و احمد احمد و عمر حمودي و عماد داود إسماعيل (٢٠٢٠) تأثير السلالة البكتيرية *Bacillus subtillis* FZB27 في تحفيز المقاومة الجهازية في نبات الفليفلة إزاء فايروس موزائيك الخيار (CMV) تحت ظروف الزراعة المحمية** . المجلة السورية للبحوث الزراعية ٧(٤) ٤٣٣-٤٤٥.
- **الياسري، حوراء إسماعيل عباس و فضل عبد الحسين الفضل و عبدالله عبيس الحاتمي (٢٠١٦) استحثاث المقاومة الجهازية في نبات الخيار.*Cucumis sativus*L ضد فايروس موزائيك الخيار CMV باستخدام بعض أنواع العوامل الحيوية البكتيرية.** مجلة الكوفة للعلوم الزراعية ٨ (٤): ٤٩-٨٥ .
- **الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (٢٠٠٠).** تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، جامعة الموصل ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جمهورية العراق

- **Abdel Latef, A. A. H., Abu Alhmad, M. F., Kordrostami, M., Abo–Baker, A. B. A. E., & Zakir, A. (2020).** Inoculation with *Azospirillum lipoferum* or *Azotobacter chroococcum* reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, *39*(3) :1293-1306.

- **Aberoumand, A., & Deokule, S. S. (2008).** Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. *Pakistan Journal of Nutrition*, *7*(4):582-585.
- **Ahsan, M., Ashfaq, M., Riaz, H., Khan, Z., Hamza, M. Z., & Asad, Z. (2021**). Genetic diversity and molecular characterization of Cucumber mosaic cucumovirus (CMV) subgroup II infecting Spinach (Spinacia oleracea) and Pea (Pisum sativum) in Pothwar region of Pakistan. *Brazilian Journal of Biology*, *83*
- **Al-Zahrani, H. S. M., Elbeshehy, E. K. F., Aldhebiani, A. Y., & Elbeaino, T. (2018).** Effect of Cucumber mosaic virus (CMV) infection on antineoplastic alkaloids from periwinkle (Catharanthus roseus L.) cultured in the Mecca region and resistance induction by plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *32*(1), 49-57.
- **Arslan, S., Yardimci, N., & Kilic, H. (2020).** Serological and molecular characterization of the cucurbit aphid-borne yellows virus affecting cucurbits in Southern Turkey. *Fresenius Environ Bull*, *29*(9) :7239-7245.
- **Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codon, A. C. (2004).** Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. *International microbiology*, *7*(4) :249-260.
- **Clark, M. F., & Adams, A. N. (1977**). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of general virology*, *34*(3), 475-483.
- **Dastager, S. G., Deepa, C. K., & Pandey, A. (2011).** Plant growth promoting potential of Pontibacter niistensis in cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.). *Applied Soil Ecology*, *49*, 250-255
- **Delgado-Martín, J., Garcia, L. R., Janssen, D., & Velasco, L. (2022).** Exogenous application of dsRNA for the control of viruses in cucurbits. *bioRxiv*
- **Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004).** Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, *2*(1) :43-56.
- **Kandan, A., Commare, R. R., Nandakumar, R., Ramiah, M., Raguchander, T., & Samiyappan, R. (2002).** Induction of phenylpropanoid metabolism by Pseudomonas fluorescens against tomato spotted wilt virus in tomato. *Folia microbiologica*, *47*(2) :121-129.
- **Kingkampang, H., Teerarak, M., Kramchote, S., Techawongstien, S., & Suwor, P. Phenols and peroxidase activity in Pepper yellow leaf curl Thailand virus (PepYLCThV) resistant and susceptible chili (Capsicum annuum L.) genotypes. *International Journal of Agricultural Technology*** . 16(4):845-854.
- **Knudson, L. L., Tibbitts, T. W., & Edwards, G. E. (1977**). Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. *Plant physiology*, *60*(4) :606-608.
- **Kumar, S., Chauhan, P. S., Agrawal, L., Raj, R., Srivastava, A., Gupta, S., ... & Nautiyal, C. S. (2016).** *Paenibacillus lentimorbus* inoculation enhances tobacco growth and extenuates the virulence of Cucumber mosaic virus. *PLoS One*, *11*(3), e0149980.
- **Lenin, G., & Jayanthi, M. (2012).** Indole acetic acid, gibberellic acid and siderophore production by PGPR isolates from rhizospheric soils of *Catharanthus roseus*. *Int J Pharmacy Biol Arch*, *3*, 933-8.
- **Pierozan Junior, C., & Kawakami, J. (2013).** Efficiency of the leaf disc method for estimating the leaf area index of soybean plants. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35(4), 487-493.
- **Pitotti, A., Elizalde, B. E., & Anese, M. (1994).** Effect of caramelization and Maillard reaction products on peroxidase activity. *Journal of Food Biochemistry*, *18*(6): 445-457.

- **Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011).** Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res*, *21*(1), 30.
- **Sastry, K. S., & Zitter, T. A. (2014).** Management of virus and viroid diseases of crops in the tropics. In *Plant virus and viroid diseases in the tropics* (pp. 149-480). Springer, Dordrecht.
- **Woo, S. L., Scala, F., Ruocco, M., & Lorito, M. (2006**). The molecular biology of the interactions between Trichoderma spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*, *96*(2): 181-185.
- **Yang, J., Kloepper, J. W., & Ryu, C. M. (2009).** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in plant science*, *14*(1)،14.