تأثير رش نباتات قرع الكوسا نوع زكيني.*Cucurbita pepo*L بحامض البيتا امينوبيوتيرك β-Amino Butyric Acid في استحثاث المقاومة الجهازية ضد فيروس الموزائيك الاصفر(ZYMV)*Zucchini yellow mosaic virus*

نزار راشد مرزه* ميسر مجيد جرجيس**

الملخص

اجريت هذه الدراسة لتقويم كفاءة حامض البيتا امينوبيوتيركβ-Amino Butyric Acid في استحثاث المقاومة الجهازية في نباتات قرع الكوسا نوع Zucchini (*Cucurbita pepo L.*) صنف امجد Amjadضد فيروس الموزائيك الاصفر لقرع الكوسا زكيني *Zucchini yellow mosaic virus*. استخدم الحامض بتركيز 6000جزء بالمليون رشاً على المجموع الخضري. قيمت كفاءته من خلال تقدير قيمة الامتصاص لإختبار اليزا ELISA لعصير النباتات المعاملة بالحامض ومقدار النسبة المئوية لتثبيط تضاعف الفيروس وتحفيز نشاط إنزيم البيروكسديز. أظهرت النتائج تفوق معاملة الرش بحامض البيتا امينوبيوتيرك واجراء عدوى بفيروس ZYMV للنباتات ثم إعادة الرش بالحامض، اذ بلغت قيمة امتصاص اختبار اليزا 0.785 على طول موجي 405 نانومتر ونسبة تثبيط تضاعف الفيروس كانت 63.18% فيما بلغ التغيير في امتصاص انزيم البيروكسديز مقدار 56.53 و46.93 بعد 7و21 يوماً على التوالي وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة (عدوى بالفيروس والرش بالماء المقطر فقط) والتي كانت فيها قيمة اختبار اليزا 2.132 ونسبة تثبيط تضاعف الفيروس 0% وقيمة امتصاص انزيم البيروكسديز كانتا 42.06 و45.73 بعد 7و21 يوماً على التوالي. واظهرت النتائج ان لحامض البيتا امينوبيوتيرك تاثير ايجابي في تحسين انتاجية النباتات من الثمار من خلال تأثيرهفي فيروس ZYMV وتقليل اضراره على انتاج الثمار في النباتات المدروسة.

المقدمة

يعد قرع الكوسا واحداًمن اهم محاصيل الخضراوات التابعة للعائلة القرعية Cucurbitaceae، إذ يزرع في العراق في فصلي الخريف والربيع فضلاً عن زراعته في البيوت المحمية في فصل الشتاء وتأتي اهمية القرع لأنه غذاءً للإنسان لقيمته العالية (11).إذ يحتوي لب الثمار على كاربوهدرات،بروتين ،كالسيوم ،حديد،فسفور وعدد من الفيتامينات فضلاً عن بذوره التي تحتوي على 30% زيت ثابت،فيتامينات،معادن وبشكل خاص الزنك،ومصدر مهم للبروتين، فضلاً عن استعمالاته الطبية إذ وجد بأن له فعالية في علاج الكثير من الأمراض منها داء السكر، أورام الغدة، أمراض المجاري والمثانة، سرطان (العين، الكبد، الفم والرئة) (24).بلغ انتاج محصول قرع الكوسا لعام 2012 في محافظات العراق 167576طن والمساحة المزروعة بلغت 39836 دونم وكان متوسط الانتاجية 4206.6 كغم/دونم (3). يصاب قرع الكوسا بعدد من الامراض النباتية المهمة والتي تسبب خسائر معنوية في الحاصل ومن بين الامراض النباتية التي تصيب هذا المحصول وتحد من نتجاح زراعته هي تلك الامراض التي تسببها الفيروسات (32). والفيروسات التي تعد الأكثر أهمية هي التي تصيب القرعيات وتسبب لها خسائراً اقتصادية كبيرة هي: فيروس الموزائيك الأصفر للزكيني *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) وفيروس موزائيك الخيار

جزء من رسالة ماجستير للباحث الاول.

* دائرة وقاية المزروعات – وزارة الزراعة – بغداد، العراق.

** كلية الزراعة – جامعة بغداد – بغداد ، العراق.

تاريخ تسلم البحث: نيسان/2015

اريخ قبول البحث: اب/ 2015

(CMV) *Cucumber mosaic virus* وفيروس موزائيك الكوسا *Squash mosaic virus* (SqMV) وفيروس موزائيك الرقي *Watermelon mosaic virus* (WMV) وفيروس التبقع الحلقي للبابايا *Papaya ringspot virus* (PRSV) (13،16،29).

تعد تقانة حث آليات المقاومة في العوائل الحساسة بما يلائم او يتفق مع فعاليتها في العوائل المقاومة تقانة إحيائية جديدة ابتكرت لمقاومة الآفات الزراعية (22).واستعملت المواد الكيميائية كمستحثات للمقاومة في العوائل النباتية ضد مسببات امراض النبات بنطاق واسع وطورت كثير من هذه المركبات و استخدمت بنجاح تحت الظروف المختبرية والحقلية، ويذكر أن هذه المركبات غير سامة للإنسان والنبات والحيوان وليس لها اي أثر سلبي يذكر في نمو النبات فضلاً عن أنها ذات تكلفة اقتصادية بسيطة وتحقق مواردا جيدة للمنتجين وتعطي مدة حماية طويلة للنبات (27). ومن هذه المركبات هو حامض البيتا امينو بيوتيرك β-Amino butyric acid الذي هو حامض اميني غير بروتيني وقد استعمل في تحفيز المقاومة الجهازية ضد العديد من مسببات امراض كالفطريات والنيماتود والفيروسات وقد اثبت كفاءة جيدة في تحفيز المقاومة ضد العديد من الامراض، ونظراً لقلة الدراسات المتاحة التي تعنى بتحفيز المقاومة في النباتات ضد امراض النبات الفيروسية وللحاجة الملحة لإيجاد وسائل فعالة للسيطرة على الامراض الفيروسية فقد اجريت هذه الدراسة بغية تقويم فعالية حامض البيتا امينو بيوتيرك في تحفيز المقاومة في نباتات قرع الكوسا ضد فيروس الموزائيك الاصفر.

المواد وطرائق البحث

عزل وتشخيص الفيروس

جمع العينات ومصدر الفيروس

جمعت أوراق من نباتات قرع الكوسا، تظهر عليها اعراض اصابة بالموزائيك وتحزم العروق وبثرات وتشوه أوراق واصفرار من مناطق متفرقة من قضاء ابي غريب/محافظة بغداد وكذلك جمعت عينات أخرى من مناطق اليوسفية وناحية الرشيد في بغداد ومنطقة الصويرة في محافظة الكوت وجمعت ايضاً عينات من المحاصيل القرعية الأخرى التي تظهر عليها اعراض مرضية توحي بأنها ناتجة عن الاصابة بفيروسZYMV مثل الخيار والبطيخ والقثاء والقرع العناكي للموسم الزراعي 2012 ثم وضعت العينات في اكياس بلاستيكية وعلمت باسم منطقة الجمع وأسم النبات المصاب وتاريخ الجمع ثم حفظت النماذج في المجمدة ولحين الاستعمال.

العدوى الميكانيكية

تم سحق 1غم من اوراق النباتات القرعية المصابة بالفيروس التي جمعت من مناطق مختلفة من محافظتي بغداد والكوت في هاون خزفي مع 4مل من محلول فوسفاتي منظم مبرد (تم تحضيره بإضافة 1.362غم/لتر من KH_2PO_4 و1.42غم/لتر من Na_2HPO ويمزج 51سم^3 من KH_2PO_4 مع 49سم^3 من Na_2HPO) بحيث يكون المحلول بتركيز 0.02مولاري ذا أُس هيدروجيني pH =7.2 (31).رشح المستخلص من خلال طبقتين من قماش الململ المعقم، ومسحت أوراق نباتات قرع الكوسا ونباتات الاختبار بالعصير بعد تعفير السطح العلوي لأوراق النباتاتالمعدة للتلقيح بالفيروس بالمادة المخدشة الكربوراندم 600مش بالسبابة وبعدها رشت النباتات المعداة بالماء المقطر بعد 1–2 دقيقة (14، 15).

العدوى بوساطة حشرة المنّ

جمعت أعداد من حشرات المن تعود الى النوع *Myzus persica* من نباتات الخيار من احد حقول كلية الزراعة في ابي غريب ونقلت الى نباتات قرع كوسا سليمة وتركت للتكاثر ولم تظهر اية اعراض فيروسية على النباتات طيلة مدة بقاء الحشرات على النباتات وبعد اسبوعين نقلت اعداد من حشرة المن الى اطباق بتري تحوي على ورق ترشيح رطب وتركت لمدة ساعة كاملة لتجويعها، بعد ذلك نقلت الحشرات الى نباتات قرع الكوسا مصابة بفيروسZYMVالتي اظهرت تفاعل موجبا في الاختبار المصلي ELISA مع الاجسام المضادة للفيروس المذكور وتركت تتغذى لمدة 1–3 ± دقيقة بشكل منعزل، ثم نقل عدد آخر من حشرات المن (25حشرة) الى كل نبات من نباتات الخيار وقرع الكوسا بمرحلة 3–5 اوراق، وتركت تتغذى مدة 15 دقيقة ثم رشت النباتات بمبيد كونفيدور200 Confidor SL (A.I.: Imidacloprid 200g/L) انتاج شركة باير وبجرعة مقدارها 1مل/لتر ماء. للتخلص من الحشرات، ثم حضنت النباتات في بيت زجاجي في درجة حرارة 20–25 مْ مع متابعة مستمرة لملاحظة ظهور الأعراض على النباتات المعداة من عدمه.

تهيئة عزلة نقية من الفيروس واكثاره

تم الحصول على عزلة نقية من الفيروس وذلك بعد اجراء العدوى على نباتات الاختبار (الزربيح) *Chenopodiumam aranticolor*L. الذي يستجيب للإصابة بفيروس الموزائيك الاصفر على قرع الكوسا بتكوين بقع موضعية على الاوراق الملقحة.

حضرت اصص بلاستيكية ذات قطر 22سم وارتفاع 20سم وملئت الأصيص بخليط من البتموس والتربة المزيجية بنسبة 1:1 معقم بالمؤصدة على درجة حرارة 121°م وضغط 1.5بار لمدة ساعة ونصف مرتين وليومين متتاليين، ثم وضعت الأصيص في البيت الزجاجي التابع لقسم وقاية النبات، وزرعت بذور نباتات قرع الكوسا، وبذور الخيار كل على حدة في الأصيص وبواقع بذرتين في كل اصيص.

حضر لقاح الفيروس بأخذ بضعة بقع موضعية وسحقها في هاون خزفي مع محلول منظم بفر، واستعمل هذا اللقاح في العدوى الميكانيكية لنباتات قرع الكوسا، والخيار، إذ اعديت الاوراق الفلقية بعد تعفيرها بمسحوق الكاربوراندم، وغطيت النباتات المعداة بقماش الململ لتفادي وصول الحشرات اليها وتمت مراعاة تسميد النباتات بسماد اليوريا اسبوعياً و كذلك تم رش النباتات بمبيد كونفيدور Confidor (A.I.: Imidacloprid 200g/L) SL 200 انتاج شركة باير وبجرعة مقدارها 1مل/ لتر ماء.

ظهرت اعراض الموزائيك الاصفر وبشكل واضح على النباتات المعداة بعد مرور اسبوعين من موعد اجراء العدوى، وتركت النباتات المصابة في البيت الزجاجي واستعملت مصدراً للقاح في التجارب اللاحقة كما وضعت بعض الاوراق المصابة في اكياس بلاستيكية وحفظت في المجمدة لاستعمالها عند الحاجة.

طرائق التشخيص

النباتات الكاشفة

تمت زراعة عدد من النباتات الكاشفة هي الخيار *Cucumis sativus*L. صنف غزير، واللوبياء *Vigna unguiculata*L. صنف Black eye، والباقلاء *Vicia faba* L.، والزربيح *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn، والخباز *Malva parviflora* L. ، والتبغ *icotiana tabacum* var Turkish L. وبعد وصول النباتات الى العمر المناسب للتلقيح اجريت لها عدوى ميكانيكية باستخدام عصير نبات مصاب بالفيروس وتمت متابعة ظهور اعراض الاصابة بصورة مستمرة.

الطرائق المصلية

اختبار الأشرطة المناعية

فحصت العينات (الاوراق) التي جمعت مصلياً بإستعمال مصل مضاد لفيروسZYMV والمجهز على شكل اشرطة مناعية Immunostrip من شركة Agdiabiofords الامريكية، وتم اجراء الاختبار حسب طريقة العمل الموصى بها من الشركة المجهزة وذلك بوضع 0.15غم من اوراق العينة المراد فحصها في كيس الاختبارPlastic bags الحاوي على محلول الاستخلاص المنظم وسحقت جيداً بمدقة هاون Pestle. غمرت نهاية الشريط المناعي لمسافة 0.5سم في الكيس الحاوي على مستخلص النبات المراد اختباره،ثم دونت نتائج الاختبار بعد 3–5 دقائق وهو الوقت اللازم لحدوث التفاعل،وكررت الخطوات المذكورة آنفاً مع مستخلص من نبات سليم للمقارنة.

اختبار اليزا ELISA

اعتمدت تقنية اليزا Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (17) في الكشف عن فيروس الموزائيك الأصفر لقرع الكوسا في العينات التي جمعت من الحقول المشار إليها آنفاً وباستعمال مصل مضاد لهذا الفيروس استورد من شركة Agdiabiofords الامريكية فضلاً عن الاعتماد على هذه التقنية في تقدير الفيروس في النباتات المعاملة بحامض البيتا امينوبيوتيرك.

اختبار التكتل

استخدمت شريحة زجاجية نظيفة وضع على احد جوانبها قطرة بحجم 20 مايكروليتر من المصل المضاد لفيروس الموزائيك الاصفر لقرع الكوسا بماصة حجمية دقيقة Micropipet ثم اضيف نصف حجم المصل من عصارة العينة النباتية الحاوية على الفيروس، مزجت القطرتان بشكل جيد ووضع على الجانب الآخر من الشريحة الزجاجية قطرة من المصل المضاد وقطرة من عصير نبات سليم للمقارنة ولوحظ التفاعل.

معاملات رش حامض البيتا امينو بيوتيرك على المجموع الخضري

تم الحصول على حامض البيتاامينوبيوتيرك BABA من شركة -Sigma Aldrich company Germany وقد حضر محلول BABA بالتركيز 6000جزء بالمليون (بإضافة 6غم من الحامض في 1لتر ماء مقطر) رُش المحلول على المجموع الخضري لنباتات التجربة باستخدام مرشة يدوية حتى البلل التام قبل وبعد إجراء عملية العدوى الصناعية بعصير النباتات المصابة بالفيروس .وتضمنت معاملات الرش الآتي :

المعاملات الوقائية

1. **رش المجموع الخضري بالـ BABA بتركيز 6000جزء بالمليون وبعد أربعة أيام اجريت عدوى للنباتات باللقاح الفيروسي على الورقتين الحقيقيتين الثالثة والرابعة.**
2. **رش المجموع الخضري بالـ BABA بتركيز 6000جزء بالمليون وبعد أربعة أيام عدوى للنباتات باللقاح الفيروسي،اعيد الرش بعد أسبوعين من العدوى وبالتركيز نفسه.**
3. **رش المجموع الخضري بالـ BABA بتركيز 6000 جزء بالمليون فقط .**
4. **رش المجموع الخضري بالماء المقطر فقط ثم عدوى الورقة الثالثة والرابعة باللقاح الفيروسي بعد اربعة ايام من الرش.**
5. **رش المجموع الخضري بالماء المقطر فقط وتركت النباتات للمقارنة.**

المعاملات العلاجية

1- أجريت العدوى بلقاح الفيروس المحضر على الورقتين الحقيقيتين الثانية والثالثة وبعد يومين تم رش المجموع الخضري بالـ BABA بتركيز 6000 جزء بالمليون .

2- أجريت العدوى بلقاح الفيروس المحضر على الورقتين الحقيقيتين الثانية والثالثة وبعد يومين تم رش النباتات بالماء المقطر فقط.

قياس فعالية انزيم البيروكسديز POD

حيث جمعت العينات من معاملات التجربة جميعها لقياس انزيم البيروكسديز بعد اسبوع واحد وثلاثة اسابيع من اخر معاملة اجريت للنباتات بمركب الاستحثاث BABA وقيست فعالية الانزيم بإستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectro – photometer . استخدمت الطريقة المعتمدة مع بعض التحويرات(4).

النتائج والمناقشة

تشخيص الفيروس

الاعراض على النباتات الكاشفة

نباتات قرع الكوسا *Cucurbita pepo*L.

استجاب نبات قرع الكوسا للاصابة عند اجراء العدوى الميكانيكية بعصير النباتات التي يُشك بإصابتها بفيروسZYMV وقد ظهرت على الاوراق اعراض تحزم العروق Vein banding وموزائيك Mosaic مع اصفرار الاوراق وتحول شكل الاوراق الى شكل شريطي Shoe-string وتقزم النباتات وهذا يتفق مع ما ذكره Mandal وجماعته (34) وظهور بثرات Blisters واضحة على الثمار مع تشوه شديدبظهور بثرات وتشوهات على الثمار(1).

نباتات الخيار*Cucumis sativus*L.

استجابت نباتات الخيار للعدوى الميكانيكية بعصير النباتات التي يشك بإصابتها بفيروسZYMV إذ ظهرت اعراض موزائيك Mosaic وبظهور اعراض الموزائيك على الاوراق عند العدوى بالفيروس وهذا يتفق مع (25،41،4).

نباتات اللوبياء*Vigna unguiculata* L.

لم تستجب نباتات اللوبياء للعدوى الميكانيكية بفيروسZYMVالتي اكدت عدم استجابة نباتات اللوبياء للعدوى الميكانيكية بفيروسZYMV (2، 14، 30).

نباتات الباقلاء*Vicia faba*L.

لم تظهر اي اعراض اصابة على نبات الباقلاء عند اجراء العدوى الميكانيكية بفيروسZYMV التي اكدت عدم استجابة نباتات الباقلاء للعدوى الميكانيكية بفيروسZYMV (14، 25، 30).

نبات الزربيح*Chenopodium amaranticolor Coste & Reyn*

ظهرت اعراض بقع موضعية صفراء غير ميتة عند تلقيح النباتات بعصير نبات قرع الكوسا التي يشك بإصابتها بفيروسZYMV بعد 5-7 أيام من العدوى بظهور بقع موضعية صفراء غير ميته (13، 29).

نبات الخباز *Malva rotundifolia* L.

لم يستجب نبات الخباز للعدوى الميكانيكية بفيروسZYMV اذ لم تظهر اي اعراض اصابة وهذا يؤكده (14) بعدم استجابة نبات الخباز للعدوى الميكانيكية بفيروسZYMV.

نبات التبغ *Nicotiana tabacum* cv. Turkish

لم تظهر اعراض اصابة على نبات التبغ عند اجراء العدوى الميكانيكية بالـ ZYMV وهذا يتفق مع ما ذكره (21،25) بعدم ظهور الاصابة على نبات التبغ صنف Turkish .

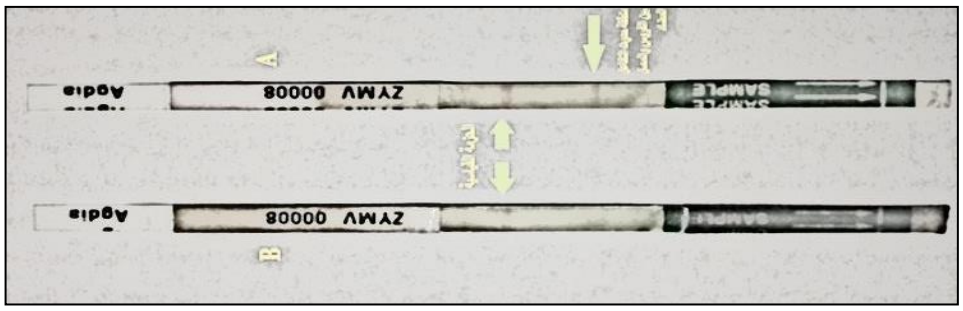
نقل الفيروس بحشرة المن

تم نقل فيروس ZYMV بكفاءة بحشرة المنّ،إذ بينت النتائج ظهور اعراض الموزائيك على اوراق نباتات الخيار، واعراض الموزائيك وتحزم العروق وظهور ارتفاعات على سطح الورقة (البثرات) على اوراق نباتات قرع الكوسا، في قابلية حشرة المن على نقل فيروس ZYMV(23،28).

الكشف المصلي للفيروس

الكشف عن الفيروس بإستخدام الاشرطة المناعية

اظهرت نتائج الاختبار المصلي بإستخدام الاشرطة المناعية Immunostrip احتواء نباتات قرع الكوسا.*Cucurbitapepo* L على فيروس موزائيك واصفرار قرع الكوسا ZYMV، اذ اظهر مستخلص النبات المصاب تفاعلاً موجباً مع الاشرطة المناعية الحاوية على المصل المضاد المتخصص للفيروس تمثل بظهور خط الترسيبBand، في حين لم يظهر الاختبار اي دلالة على وجود تفاعل مع العينة المأخوذة من مستخلص اوراق نبات قرع سليم شكل 1. وقد اشارت دراسة سابقة الى كفاءة هذا الاختبار في الكشف السريع والدقيق عن فيروس ZYMV العزلة العراقية (5).



A = التفاعل مع عصير نبات قرع الكوسا المصاب بالفيروس ؛B = التفاعل مع عصير نبات قرع الكوسا السليم.

شكل 1: نتائج اختبار الاشرطة المناعية المصلي بين عصير نباتات قرع الكوسا المصابة مع المصل المضاد لفيروس الموزائيك الاصفر على القرع ZYMV ويؤشر السهم حزمة الترسيب Band.

الكشف باستخدام اختبار اليزا ELISA

اظهرت نتائج الفحص المصلي باستخدام تقانة اختبار اليزاELISA لعينات من نباتات القرع التي جمعت من الحقول الطبيعية وكانتتظهر عليها اعراض اصابة فيروسية، موزائيك، وجود تفاعل موجب مع المصل المضاد لفيروس

الموزائيك الاصفر على القرع ZYMV تَمَثل بظهور اللون الاصفر في حفر طبق الاختبار في حين لم يظهر مثل هذا اللون الاصفر للعينات التي لا تظهر عليها اعراض اصابة فيروسية وتم تأكيد النتيجة باستخدام جهاز قارئ اطباق اليزا ELISA Reader. لقد استخدمت هذه التقنية للكشف عن الفيروسات النباتية المختلفة بنجاح ودقة كما بين Chulze (17)، كما استخدمت هذه التقنية من عدد من الباحثين لأجراء الكشف عن الفيروسات النباتية فقد استخدمها Bovo وجماعته (12) لتقصي وجود فيروس الموزائيك الاصفر لقرع الكوسا وبعض فيروسات القرعيات الاخرى، كما استخدمت تقنية ELISA في اختبار حساسية بعض اصناف الطماطة لفيروس تجعد واصفرار اوراق الطماطة TYLCV اذ بين Anuja وجماعته (8)، أذ بين Alpsoy (7) استخدم هذه التقنية في تشخيص بعض فيروسات البطاطا مثل فيروس البطاطا واي PVY وفيروس التفاف اوراق البطاطا PLRV (9).

اختبار التكتل Agglutination test

بينت نتائج اختبار التكتل الذي اجري بالطريقة الموصوفة من Pandey (37) وجود تفاعل موجب وذلك من خلال ظهور تخثر او تراص وتجمع الجسيمات المتفاعلة وذلك عند مزج قطرة من عصير نبات القرع المصاب مع قطرة من المصل المضاد لفيروس الموزائيك الاصفر على قرع الكوسا على شريحة زجاجية، إذ امكن مشاهدة هذا التراص والتجمع بالعين المجردة وبوساطة عدسة مكبرة او بالمجهر البسيط، في حين لم يلاحظ وجود تفاعل موجب عند مزج قطرة من عصير نبات القرع السليم مع المصل المضاد لفيروس الموزائيك الاصفر على القرع، استخدم هذا الاختبار لتشخيص واختبار فاعلية المصل المضاد لفيروس موزائيك وتقزم الذرة الصفراء MDMV (10).

تقويم كفاءة استخدام الـ BABA رشاً على المجموع الخضري في استحثاث المقاومة

ادى الرش بحامض البيتا امينوبيوتيرك بتركيز 6000جزء بالمليون على المجموع الخضري لنباتات قرع الكوسا قبل وبعد العدوى بفيروسZYMV الى وجود فروق معنوية في قيم امتصاص اختبار اليزا وتثبيط تضاعف الفيروس بين معاملات رش الحامض ثم اجراء العدوى بالفيروس ومعاملة المقارنة (معاملة رش الماء المقطر على نباتات القرع مع اجراء العدوى بالفيروس بعد اربعة ايام من الرش). إذ اظهرت معاملة رش الـ BABA ثم اجراء العدوى بالفيروس، ثم اعادة الرش بالـ BABA تفوقاً على المعاملات الاخرى جدول 1 اذ كانت قيمة امتصاص اختبار اليزا 0.785 والنسبة المئوية لتثبيط تضاعف الفيروس 63.18%، تلتها معاملة رش الـ BABA مرة واحده فقط ثم اجراء العدوى بالفيروس، اذ بلغت قيمة امتصاص اليزا 1.407 والنسبة المئوية لتثبيط تضاعف الفيروس 34% في حين كانت قيمة الامتصاص 2.099 والنسبة المئوية لتثبيط تضاعف الفيروس 1.54% في معاملة رش النباتات بالماء المقطر مع العدوى بالفيروس، اظهرت معاملات رش الـ BABA على المجموع الخضري فروقاً معنوية في نسبة تثبيط تضاعف الفيروس في النباتات المعداة بالفيروس والمرشوشة بحامض البيوتيرك مقارنة مع النباتات المعداة بالفيروس والمرشوشة بالماء المقطر، اما المعاملة العلاجية التي اجريت برش الـ BABA على المجموع الخضري لنباتات القرع بعد اجراء العدوى بالفيروس بيومين ، فقد بلغت فيها قيمة امتصاص اختبار اليزا 1.001 والنسبة المئوية للتثبيط 53.04% وقد كانت هناك فروق معنوية مقارنة مع عدوى النبات بالفيروس ورشه بالماء المقطر،إذ بلغت قيمة امتصاص اختبار اليزا 2.132 والنسبة المئوية لتثبيط الفيروس 0%.

إن تأثير رش الـ BABA بعد العدوى بالفيروس في تحفيز المقاومة في نباتات القرع يتفق مع ما بينه كل من Cowan(18) وMegalla (35) اذ ذكر الباحثان أن لـ BABA تأثيراً علاجياً إذ أعطى حماية عندما أستعمل بعد 1–3 أيام من العدوى، ووجد Cowan (18) ايضاً أن هذا الحامض سبب كبحاً قوياً لتكوين الأبواغ عندما إستعمل

ضد الفطر ***Peronospora parasitica*** الذي يصيب نبات الـ **Arabidopsis** بعد يوماً أو يومين من التلقيح بنسبتي **99.6**، **86%** على التوالي، وتوصل **Davis** (**20**) الى نتائج تبين كفاءة هذا الحامض في تحفيز المقاومة ضد الفطر ***Peronospora tabacina*** في التبغ والفطر ***Phytophthora infestans*** في الطماطة، وذكر جرجيس(**6**) ان لحامض البيتا امينوبيوتيرك تأثيراً علاجياً ضد الفطر ***Pseudoperonospora cubensis*** **(Berk & Rostow)** المسبب لمرض البياض الزغبي على الخيار عندما رشت نباتات الخيار بعد يومين من العدوى بالمعلق الفطري مما ادى الى خفض تأثيرات الاصابة قياساً في معاملة المقارنة، كما ذكر الباحثان ان للحامض كفاءة عالية عند استخدامه رشاً على المجموع الخضري بتركيز **2000** مايكروغرام/مل قبل يومين من اجراء العدوى بالمعلق الفطري وان تراكيز الحامض تتناسب بشكل طردي مع الاصابة بالمرض، اذ كلما ازداد التركيز ازدادت مقاومة النبات العائل للمرض بحدود التراكيز المستعملة في التجربة.

جدول **1**. تأثير رش محلول **BABA** في تثبيط فيروس**ZYMV** على نباتات قرع الكوسا ***Cucurbita pepo*****L.**

	المعاملات	قيم امتصاص اختبار اليزا **405nm**	تثبيط تضاعف الفيروس (%)
T1	رش + **BABA** عدوى بفيروس **ZYMV** بعد اربعة ايام من عملية الرش	**1.407**	**34.00**
T2	رش + **BABA** عدوى بفيروس **ZYMV** بعد اربعة ايام + إعادة الرش بـ **BABA**	**0.785**	**63.18**
T3	رش **BABA** فقط بدون عدوى بالفيروس للمقارنة	**0.299**	**85.97**
T4	رش بالماء المقطر + عدوى بفيروس **ZYMV** بعد اربعة ايام من الرش	**2.099**	**1.54**
T5	رش بالماء المقطر فقط بدون عدوى بالفيروس للمقارنة	**0.250**	**88.27**
T6	عدوى بفيروس**ZYMV** + رش بـ **BABA** بعد يومين من العدوى	**1.001**	**53.04**
T7	عدوى بالفيروس + رش بالماء المقطر فقط بعد يومين من العدوى	**2.132**	**0**
	0.05 LSD	**0.529**	**16.229**

BABA = β-Aminobutyric acid ; ZYMV = Zucchini Yellow Mosaic Virus

تقويم فعالية انزيم البيروكسديز في نباتات القرع التي رشت بحامض البيتا امينوبيوتيرك

بينت النتائج ان حامض البيتا امينوبيوتيرك ادى الى زيادة فعالية انزيم البيروكسديز عند استخدامه رشاً على المجموع الخضري ، تبين النتائج في جدول **2** ان معاملة رش نباتات قرع الكوسا بالحامض ثم اجراء عملية العدو بفيروس**ZYMV** للنباتات المرشوشة بعد اربعة ايام من الرش ثم اعادة الرش بالحامض قد تفوقت على المعاملات جميعها الاخرى واظهرت فروق معنوية عن بعضها،اذبلغ نشاط الانزيم بمقدار **56.53** و**46.93** بعد **7** ايام و**21** يوما ًعلى التوالي وتلتها بالكفاءة والتأثير معاملة رش الحامض في النباتات ثم اجراء العدوى بالفيروس بعد **4** ايام من الرش التي ادت الى زيادة فعالية الانزيم بمقدار **53.06** و **37.33** % بعد **7** ايام و**21** يوماً على التوالي، ولم تظهر فروق معنوية بين هاتين المعاملتين بعد **7** ايام ولكن ظهرت فروق معنوية في زيادة فعالية الانزيم بعد **21** يوماً، إذاظهرت معاملات رش حامض البيوتيرك قبل العدوى بالفيروس فروقاً معنوية بالقياس مع معاملة رش النباتات بالماء المقطر ثم اجراء العدوى بالفيروس والتي ادت الى زيادة فعالية الانزيم بمقدار **37.06** و **44.46** بعد **7** ايام و**21** يوماً.

المعاملة العلاجية بإستخدام رش الـ **BABA** بعد العدوى بالفيروس بأربعة ايام ادت الى تحفيز انزيم البيروكسديز بعد **7**ايام و**21** يوماً و بلغتا **50.26** و**59.73** على التوالي كما ظهرت فروق معنوية قياساً مع معاملة المقارنة بإستخدام رش الماء المقطر بعد العدوى بالفيروس والتي ادت الى تحفيز نشاط الانزيم بعد **7** ايام و**21** يوما، إذ كانتا **42.06** و **45.73** على التوالي.

ذكر **Haskard** وجماعته **(26)** أن رش حامض البيتا امينوبيوتيرك على المجموع الخضري لنباتات الطماطة بالتراكيز **2000**،**4000** و**6000** مايكروغرام/مل، ادى الى انخفاض معنوي لنسبة الاصابة بفيروس موزائيك الطماطة **ToMV**،كما ادى الى زيادة فعالية انزيم البيروكسديز في نباتات الطماطة وذكر ايضاً ان لحامض البيتا امينوبيوتيرك فعالية في استحثاث المقاومة الجهازية عند استعماله بطريقة الغمر لبذور الطماطة بتركيز **1%** اذ حفز امتصاص أنزيم البيروكسديز في نباتات الطماطة وقد بلغ التغيير بامتصاصه **99.85**، وذكروا **Pitt** و**Ailsa**(**38**) عندما درسوا افعالية **BABA** لاحداث مقاومة ضد مرض العفن الجاف لدرنات البطاطا المتسبب عن الفطر ***Fusarium sulphureum*** **Schltdl.** سبب زيادة فعالية انزيم البيروكسديز وتشير هذه النتائج الى ان المعاملة بالـ **BABA** يمكن ان تحفز المقاومة في درنات البطاطا. واشارت نتائج **Pacin** وجماعته (**36**) ان رش الـ **BABA** بتركيز **4000** مايكروغرام/مل بعد يوماً واحد من العدوى بالفطر ***Plasmopara helianthi*** اعطى حماية جيدة بنسبة **80%** لنباتات زهرة الشمس. وبين **Lee** (**33**) ان معاملة نباتات الجوت بمحلول **BABA** رشاً على الاوراق اعطى مقاومة جيدة ضد الفطر***Macrophomina phaseolina*** قبل العدوى وايضاً ادت المعاملة الى تحفيز انزيم البيروكسديز في اوراق نبات الجوت.

جدول **2**: مستوى إنزيم البيروكسديز في نباتات قرع الكوسا ***Cucurbita pepo* L.** المعاملة بـ **BABA** رشا على المجموع الخضري

	المعاملات	التغير بالامتصاص	
		بعد **7** ايام من الرش	بعد **21** يوم من الرش
T1	رش + **BABA** عدوى بفيروس **ZYMV** بعد **4** اربعة ايام من عملية الرش	**53.06**	**37.33**
T2	رش + **BABA** عدوى بفيروس **ZYMV** بعد **4** اربعة ايام + إعادةالرش بـ **BABA**	**56.53**	**46.93**
T3	رش **BABA** فقط دون عدوى بالفيروس للمقارنة	**40.80**	**48.13**
T4	رش بالماء المقطر + عدوى بفيروس **ZYMV** بعد **4** ايام من الرش	**37.06**	**44.46**
T5	رش بالماء المقطر فقط بدون عدوى بالفيروس للمقارنة	**32.86**	**34.00**
T6	عدوى فيروس**ZYMV** + رش بـ **BABA**بعد يومين من العدوى	**50.26**	**59.73**
T7	عدوى بالفيروس + رش بالماء المقطر فقط بعد يومين من العدوى	**42.06**	**45.73**
	0.05 LSD	**7.109**	**8.273**

BABA = β-Aminobutyric acid, ZYMV = Zucchini Yellow Mosaic Virus.

تأثير رش نباتات قرع الكوسا بالـ BABA والعدوى بفيروسZYMV في عدد ووزن الثمار

اظهرت نتائج تجربة استخدام الـ **BABA**بتركيز **6000** جزء بالمليون رشاً على المجموع الخضري لنباتات قرع الكوسا وجود تأثير ايجابي وكفاءة جيدة لهذا الحامض في التقليل من اضرار فيروس **ZYMV**، إذ بلغ معدل عدد ثمار النبات الواحد **11.34** ثمرة ووزنها **2.38** كغم في معاملة النباتات التي رشت بالحامض ثم اعديت بفيروس **ZYMV**والتي اختلفت معنوياً عن معاملة رش النباتات بالماء ثم اعديت بالفيروس المذكور،إذ بلغ معدل عدد الثمار فيها **7.12** ثمرة ومعدل وزنها **1.41** كغم. جدول**3**. كما بينت النتائج ان افضل معاملة كانت معاملة رش الـ **BABA** على المجموع الخضري للنباتات ثم العدوى بفيروس**ZYMV** بعد اربعة ايام ثم اعادة الرش بالـ **BABA**، إذ بلغ فيها معدل عدد الثمار **13.28** للنبات الواحد ومعدل وزن الثمار **2.72** كغم/نبات والتي اختلفت معنويا عن معاملة رش النباتات بالماء ثم اعديت بالفيروس ثم اعيد الرش بالماء مرة اخرى جدول**3**. ان هذا الحامض لا يؤثر في انتاجية النباتات من حيث عدد الثمار ووزنها، اذ كان معدل عدد الثمار **16.57** ثمرة/نبات ومعدل وزنها **3.46** كغم/نبات

التي لم تختلف معنوياً عن انتاجية النباتات المرشوشة بهذا الحامض والنباتات المرشوشة بالماء المقطر فقط (المقارنة) الذي بلغ فيها معدل عدد الثمار **16.14** ثمرة/نبات ومعدل وزنها **3.64** كغم/نبات.

اشارت النتائج ايضا الى ان معاملة عدوى النباتات بالفيروس، ثم رشها بالـ **BABA** بعد يومين قد تفوقت معنوياً على معاملة عدوى النباتات بالفيروس ثم رشها بالماء. ومن الجدير بالذكر ان معاملة عدوى النباتات بالفيروس قبل او بعد الرش بالـ **BABA**لم تختلف معنويا من حيث عدد ووزن الثمار للنبات الواحد. كما لم تظهر فروق معنوية في عدد ووزن الثمار في حالة رش نباتات قرع الكوسا بالماء او الـ **BABA** . يمكن ان يعزى التأثير الايجابي لـ **BABA** الى تأثيره في تثبيط تضاعف الفيروس في النباتات المصابة.

جدول **3**: تأثير رش بذور قرع الكوسا ***Cucurbita pepo***في محلول الـ **BABA** والعدوى بفيروس **ZYMV** في عدد الثمار ووزنها

	المعاملات	معدل عدد الثمار	معدل وزن الثمار
T1	رش + **BABA** عدوى بفيروس **ZYMV** بعد **4** اربعةايام من عملية الرش	**11.34**	**2.38**
T2	رش + **BABA** عدوى بفيروس **ZYMV** بعد **4** اربعة ايام + إعادةالرش ب **BABA**.	**13.28**	**2.72**
T3	رش**BABA** فقط بدون عدوى بالفيروس للمقارنة	**16.57**	**3.46**
T4	رش بالماء المقطر + عدوى بفيروس **ZYMV** بعد **4** ايامممنالرش	**7.12**	**1.41**
T5	رش بالماء المقطر فقط بدون عدوى بالفيروس للمقارنة	**16.14**	**3.64**
T6	عدوى فيروس**ZYMV** + رش**BABA**بعد يومين من العدوى	**12.28**	**2.45**
T7	عدوى بالفيروس + رشبالماء المقطر فقط بعد يومين من العدوى	**5.14**	**1.36**
	0.05 LSD	**5.024**	**0.834**

المصادر

1- البيضاني، نصير كاظم حسين (**2005**). تشخيص فايروسات قرع الكوسة ومقاومتها. رسالة ماجستير- كلية الزراعة والغابات- جامعة الموصل. **70** صفحة ، العراق.

2- الجنابي، عبد الباسط عباس (**2002**). انتشار وتشخيص فايروس الموزائيك الاصفر في القرع **ZYMV** ومقاومته وراثياوكيميائيا. اطروحة دكتوراه- كلية الزراعه- جامعة بغداد. **110**صفحة، العراق.

3- الجهاز المركزي للأحصاء (**2012**). وزارة التخطيط-العراق.

4- الصوفي، محمد عبدالرزاق علي (**2001**).فصل انزيم البيروكسديز وتنقيته وتوصيفه من الحليب النباتي لنبات الديباج **Calotropis procera** وامكانية استخداماته التطبيقية. رسالة ماجستير. قسم الصناعات الغذائية. كلية الزراعة. جامعة بغداد. **96** صفحة، العراق.

5- الفهد، معاذ عبد الوهاب (**2013**). التشخيص المناعي لفايروس الموزائيك الاصفر للقرع الزكيني **Zucchini yellow mosaic virus-Potyvirus** وتقييم تفاعله مع ثلاثة اصناف من محصول القرع تحت نظام الزراعة المكشوفة والمحمية في محافظة صلاح الدين. مجلة تكريت للعلوم الزراعية، **13**(**3**):**173-185**.

6- جرجيس، ميسر مجيد ومعاذ قدوري عراك (**2012**). تقويم كفاءة رش مركبات استحثاث المقاومة على المجموع الخضري في مكافحة مرض البياض الزغبي على الخيار.مجلة العلوم الزراعية العراقية،**43** (**4**):**57-69**.

7- جرجيس، ميسر مجيد (**2000**). استخدام اختبار الاليزا للكشف السريع عن فايروس البطاطا واي في العراق.مجلة وقاية النبات العربية، **18**: **46-50**.

8- خلف، مهند عبد الرضا؛ مثنى عكيدي المعاضيدي ومحمد عامر فياض (**2011**).استخدام تقانتي الاختبارين المناعيين **(ELISA)** و**(TBIA)** في اختبار حساسية بعض اصناف الطماطة لفيروس تجعد واصفرار اوراق الطماطة **TYLCV** . مجلة ابحاث البصرة ((العلميات))، **37** الجزء الرابع **E**: **145-155**.

9- ديوان ، صابر نبات حافظ (**2003**). دراسة تشخيصية لفايروس التفاف اوراق البطاطا **PLRV** و مقاومته . رسالة ماجستير- كلية الزراعة - جامعة بغداد، **77** صفحة، العراق.

10- قاسم، نبيل عزيز وفاضل يوسف عبو (**2011**). تنقية فايروس موزائيك وتقزم الذرة **(MDMV)** وتحضير مصله المضاد. مجلة علوم الرافدين، **22** (**2**): **40-48** .

11- مطلوب، عدنان ناصر (**1984**). انتاج الخضروات في البيئة المكيفة مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر - جامعة الموصل، العراق.

12- مندو، محمدجمال؛ أمين عامر حاج قاسم؛ صلاح الشعبي ؛ صفاء غسان القمري وماسيمو تورينا (**2011**). انتشار بعض فيروسات الموزاييك على القرعيات في سورية والكشف الجزيئي عن فيروس الموزاييك الأصفر للكوسا. مجلةوقاية النبات العربية **29**: **14-20**.

13-Agrios, G. N. (2005). Plants Pathology.Academic Press, Inc, San Diego/Toronto. 948pp.

14- Al-Ani, R.A.; M. A. Adhab; A.A. Ali and S. N. H. Diwan (2011). Zucchini yellow mosaic virus: Characterization and management in Iraq. International Journal of Current Res.,3(11):220-224.

15-Al-Shahwan, I.M.;O.A.Abdalla and M.A.Al-Saleh (1995).Response of greenhouse-grown cucumber cultivars to an isolate of zucchini yellow mosaic virus (ZYMV).Plant Disease, 79:898-901.

16-Bananej, K.;T. Keshavaraz;A. Vahdat;G. HosseiniSalkdeh and M. Glasa (2008).Biological and molecular variability of Zucchini yellow mosaic virus in Iran. J. of Phytopathology, 156:654-659.

17-Clark, M.F. and A. N. Adams (1977). Characteristics of the Microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virolo. 34:475-483.

18-Cohen, Y. (2002). B- Aminobutyric acid – induced resistance against plant pathogen. Plant Disease, 86:448- 457.

19-Cohen, Y.; T. Niderman; E. Mosinger and R. Fluhr (1994). β – aminobutyric acid induces the accumulation of pathogenesis– related proteins in tomato (Lycopersicon esculentum L.) plants and resistance to late blight infection causad byPhytophthora infestans. Plant Physiol., 104:59–66.

20-Cohen,Y. (1994). 3-aminobutyric acid induces systemic resistance against Peronospora tabacina. Physiol. Mol. Plant Pathol., 44: 273-288.

21-Davis R.F. (1986). Partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Turkey. Plant Disease,70:735-738.

22-De Quattro, J.; D. Senft and M. Wood (1997). The whitefly plan, 5 – year, update. Agricultural Res., 45:4 –12.

23-Fereres, A.; M.J. Blua and T.M. Pering (1992).Retention and transmission characteristics of zucchini yellow mosaic virus by Aphis gossypii and Myzus persicae (Homoptera : Aphididae) J.Econ. Entomol, 85:759-765.

24-Gossell-Williams, M.; A. Davis and N. O'Connor (2006).Sprague dawley rate by pumpkin seed oil. Journal of Medici Food 9. Inhition of testosterone-induced hyperplasia of the prostate of 284-286.

25-Hosseini, S.; G.H. Mosahebe; M. Koohi Habibi and S.M. Okhovvat (2007). Characterization of the Zucchini Yellow Mosaic Virus from Squash in Tehran Province. J. Agric. Sci. Technol. 9:137-143.

26-Khedhair, B.H. (2012). Enhancement Induced Resistance in Lycopersicon esculentum against Tomato mosaic virus by β-Aminobutyric acid and Bion. Thesis of master degree. College of Agric.-Baghdad Univ.

27-Kuc, J. (2001).Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. Eur J. Plant Pathol.,107:7-12.

28-Lecoq, H.;M. Pitrat and M. Clement (1981). Identification characterization of a potyvirus causing yellow stunt of melon. Agronomy, 1(10):827-834.

29-Lecoq, H.; S. Desbiez; C. Wipf-Schibeland M. Girard (2003). Potential involvement of melon fruit in long distance dissemination of cucurbit potyviruses. Plant Disease, 87: 955-959.

30-Mahgoub, H.A.; C. Desbiez; C. Wipf-Scheibel; G. Dafalla and H. Lecoq (1997). Characterization and occurrence of zucchini yellow mosaic virus in sudan. Plant Pathology, 46:800-805.

31-Noordam, D. (1973).Identification of Plant Viruses, Methods and Experiments. Center for Agriculture Publishing and Documentation. Wageningen, the Nether lands.207 pp.

32-Provvidenti, R. (1996). Diseases caused by viruses. In: Compendium of Cucurbit Diseases (Zitter T.A., Hopkins D.L. and Thomas C.E., eds.). St. Paul, Minnesota, USA, APS Press, pp.37-45.

33-Ray, R.; A. Ghosh; A. Bera; N. Dutta, D.J. Chattopadhyay and K. Chakrabarti (2011). Analysis of differentially expressed transcripts in jute upon fungal infection and beta-amino butyric acid treatment. Physiological and Molecular Plant Pathology, 76:59-66.

34-Safaeizadeh, M. and Bu-Ali Sina (2008). Comparative Biological and Molecular Variability of Zucchini yellow mosaic virus in Iran. Asian Journal of Plant Pathology,2(1):30-39.

35-Sticher, L.; B. Mauch-Mani and J.P. Metraux (1997). Systemic acquired resistance. Ann. Rev. Phytopathol. 35:235-270.

36-Tosi, L. and A. Zazzerini (2000). Interactions between Plasmopara helianthi, Glomus mosseae and two plant activators in sunflower plants. European Journal of Plant Pathology, 106:735-744.

37-Walkey, D. G. A.; N. F. Lgons and J. D. Taylor (1992). An evaluation of virobacterial egglutination test for detection of plant viruses. Plant Pathology, 41:462-471.

38-Yan, Y.; Li Y. cai; Bi Y.; Chen S. J.; Li y. chao; Yuan Li; Wang Yi and Wang Di. (2010). Postharvest Treatment with β-Aminobutyric Acid Induces Resistance Against Dry Rot Caused by Fusarium sulphureum in Potato Tuber.

Iraqi J. Agric. Res. Vol.21 No.1 pp.112-124 June/2016

EFFECT OF SPRAY B-AMINO BUTYRIC ACID IN INDUCING SYSTEMIC RESISTANCE IN Zucchini *Cucurbita pepo* L. Plants against *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV)

N. R. Merzah* **M. M. Jarjees****

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the efficiency of β-Amino Butyric Acid (BABA) in inducing systemic resistance in zucchini plants (Amjad variety) against *Zucchini Yellow Mosaic Virus* (ZYMV). BABA was used at 6000 PPM concentration to Spray the zucchini Plants. The efficiency of BABA was evaluated on the bases of inhibition percent of virus multiplication as estimated by ELISA value and peroxidase activity. Results revealed that ELISA value of spray β-Aminobuytric acid and directly planted then inoculated with ZYMV and re-sprayed again with the same acid was 0.785 at 405nm and the percent of virus multiplication inhibition was 63.18%.The total absorbance change of peroxidase increased by 56.53 and 46.93 after 7 and 21 day respectively. This treatment was significantly different from control treatment where the inoculation of virus and sprayed distilled water, ELISA value was 2.132 and peroxidase absorbance 42.06 and 45.73 after 7, 21 day respectively and the percent of virus multiplication inhibition was 0%. The β- Aminobuytric acid has highly efficient effect in reducing losses of number and weight of zucchini fruits of treated plants.

Part of M.Sc. thesis of the first author.

*** Directorate of Plant Protection – Ministry of Agric.- Baghdad, Iraq.**

**** College of Agric. – Baghdad Univ. – Baghdad, Iraq.**