



جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

**استحثاث المقاومة الجهازية ضد فايروسي الموزائيك الاصفر
للمزكيني وموزائيك الرقي على القرع بفطريات
المايكورايزا الشجيرية و الكايتوسان وحامض السالسليك**

لبنى ليث مال الله عزيز

أطروحة دكتوراه
وقاية النبات

بإشراف

الدكتور بسام يحيى ابراهيم
أستاذ مساعد

الدكتور نبيل عزيز قاسم
أستاذ

الخلاصة

اظهر اختبار اليزا الساندوج DAS-ELISA لعصير أوراق نباتات قرع الكوسة المصابة باعراض الموزائيك والتي جمعت من حقول في مدينة الموصل وجود فايروس الموزائيك الاصفر للزكيني *Zucchini yellow mosaic virus* وفايروس موزائيك الرقي *Watermelon mosaic virus* في العينات المختبرة.

بينت نتائج التشخيص الجزيئي باستعمال تقانة الجيل التالي (NGS) ، Next Generation Sequencing لاوراق نباتات قرع الكوسة المصابة بالموزائيك وجود فايروسات: موزائيك الرقي و الموزائيك الاصفر للزكيني و اصفرار القرعيات المحمول بالمن و تجعد واصفرار اوراق الطماطة البلمبوري A و B . بلغت نسبة رنا فايروسات الموزائيك الاصفر للزكيني وموزائيك الرقي اصفرار القرعيات المحمول بالمن 0.005 و 4.08 و 1.38 على التوالي، و بلغت نسبة دنا فايروس تجعد واصفرار اوراق الطماطة البلمبوري A و B 0.15 و 0.12 على التوالي. اظهرت نتائج تحليل بيانات الاحماض النووية الفايروسية باستعمال برامج المعلوماتية الحياتية أن أعلى عدد نسخ من الاحماض النووية كانت لفايروس موزائيك الرقي وبلغت 16,696.28 زوج قاعدة ثم تلاه فايروس اصفرار القرعيات المحمول بالمن وبلغت 9,959.67 زوج قاعدة ، وكانت اقل عدد نسخ لفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني وبلغت 24.16 نسخة ، فيما كانت عدد نسخ فايروس تجعد واصفرار اوراق الطماطة البلمبوري A و B 3,999.74 و 3,416.77 زوج قاعدة على التوالي. كشف عن التسلسل الكامل لجينوم فايروس موزائيك الرقي عزلة الموصل *Watermelon mosaic virus isolate Mosul* . وأظهرت نتائج بناء الشجرة الوراثية ان العزلتين الفرنسية MN914159 والصينية MK659926 هما الاقرب لعزلة الموصل وبنسبة تطابق 95% ،وسجلت هذه العزلة في بنك الجينات في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية NCBI باسم عزلة الموصل ولأول مرة في العراق تحت رقم ادخال OQ865058. كشف عن التسلسل الكامل لجينوم فايروس اصفرار القرعيات المحمول بالمن *Cucurbit aphid-borne yellows virus* عزلة العراق في عينات أوراق قرع الكوسة واظهرت نتائج بناء الشجرة الوراثية وجود درجة تقارب بين العزلة المشخصة مع العزلات الفرنسية X76931 و NC_003688 الاسبانية بنسبة تطابق 95,7% ، وسجل الفايروس في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية تحت رقم ادخال OQ865059 ، ويعد هذا اول

تسجيل للفايروس على محصول قرع الكوسة في الموصل ، كذلك هو أول كشف عن التسلسل الكامل لجينوم الفايروس في العراق. كشف أيضاً عن التسلسل النيكلوتايدي الكامل لقطعتي فايروس تجعد واصفرار اوراق الطماطة البلمبوري A و B في عينات اوراق قرع الكوسة. وظهرت نتائج بناء الشجرة الوراثية ان العزلة المشخصة قريبة جدا من العزلات العراقية و العزلة السعودية حيث وصلت نسبة تطابق القطعة الجينومية A 98,8% مع العزلة السعودية ، وبنسبة تطابق 88,8% للقطعة الجينومية B مع عزلتي بابل وكربلاء. وسجلت عزلة الموصل لقطعتي فايروس تجعد واصفرار اوراق الطماطة البلمبوري في المركز الوطني لمعلومات التقانة الاحيائية تحت رقم ادخال OR052249 و OR052250 على التوالي، وهذا اول تسجيل للفايروس على محصول القرع في الموصل.

أظهرت معاملة نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني بالمايكورايزا وحامض الساليساليك النتيجة الأفضل في استحثاث المقاومة الجهازية ضد الفايروس حيث انخفضت قيمة شدة الاصابة الى 0.21 ، فيما كان افضل تاثير للمعاملات على شدة الاصابة بفايروس موزائيك الرقي هي للمايكورايزا وحامض الساليساليك حيث انخفضت قيمة شدة الاصابة الى 0.23 .

وكانت المعاملة الأفضل في الحفاظ على مستويات كمية الكلوروفيل في نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني هي للمايكورايز اذ بلغت كمية الكلوروفيل 1.03 (ملغم .غم⁻¹ وزن رطب) . وتفوقت معاملة نباتات قرع الكوسة بالمايكورايزا مع حامض الساليساليك في تحسين المحتوى الكلوروفيلي في النباتات المصابة بفايروس الموزائيك الرقي حيث بلغت 1.49 (ملغم .غم⁻¹ وزن رطب).

و تفوقت المايكورايزا مع حامض الساليساليك في تحسين الوزن الرطب والجاف للمجموعين الخضري والجذري في نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني حيث بلغ 745 غرام و 420.20 غرام على التوالي وكذلك في تحسين الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري حيث بلغت 21.93 و 12.61 غرام على التوالي ، كذلك تفوقت المعاملة بالمايكورايزا مع حامض الساليساليك على بقية المعاملات في تحسين الوزن الرطب والجاف في نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس موزائيك الرقي حيث بلغ الوزن الرطب

للمجموعين الخضري والجذري حيث بلغ 875.00 و 143.70 غم على التوالي وكذلك تحسين الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري بقيمة 34.13 8.60 على التوالي

سجلت اعلى قيمة لفعالية انزيم البيروكسيداز في نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني المعاملة بذورها بالمايكورايزا مع الكيتوسان بواقع 2322.33 (وحدة .دقيقة⁻¹ .غم وزن رطب⁻¹) بينما سجلت اعلى قيمة لفعالية انزيم الاوكسيداز متعدد الفينول معاملة فطر المايكورايزا 707.22 (وحدة .دقيقة⁻¹ .غم وزن رطب⁻¹). وسجل اعلى مستوى الفينولات الكلية في معاملة فطر المايكورايزا بواقع 69.24 ملغم .غم وزن رطب⁻¹ .

و سجلت اعلى قيمة لفعالية انزيم البيروكسيداز في نبات قرع الكوسة المصابة بفايروس موزائيك الرقي المعاملة بالمايكورايزا مع حامض الساليسليك اذ بلغت 2506.33 (وحدة .دقيقة⁻¹ .غم وزن رطب⁻¹). وسجلت اعلى قيمة لفعالية انزيم الاوكسيداز متعدد الفينول في معاملة فطر المايكورايزا مع الكيتوسان 544.04 وحدة (دقيقة⁻¹ .غم وزن رطب⁻¹). سجلت اعلى قيمة للمحتوى الفينولات الكلية في النباتات المصابة في معاملة فطر المايكورايزا مع الكيتوسان بواقع 108.81 (ملغم .غم وزن رطب⁻¹).

كانت المعاملة الافضل في استحثاث المقاومة الجهازية في نباتات قرع الكوسة ضد فايروس الموزائيك الاصفر للزكيني وموزائيك الرقي تحت ظروف الحقل هي نقع البذور بالمايكورايزا فقط اذ وصلت قيمة شدة الاصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني بواقع 0.23 . فيما كان افضل تاثير للمعاملات على شدة الاصابة بفايروس موزائيك الرقي هي للمايكورايزا وحامض الساليسليك اذ انخفضت قيمة شدة الاصابة الى بواقع 0.23 . وسجل أعلى مستوى للمحتوى الكلوروفيلي لنباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني مع معاملة المايكورايزا فقط بقيمة 1.66 (ملغم . غرام⁻¹ وزن رطب) . فيما تفوقت معاملة المايكورايزا مع حامض الساليسليك في تحسين المحتوى الكلوروفيلي لنباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الرقي حيث وصلت كميته الى بواقع 1.63 (ملغم . غرام⁻¹ وزن رطب) .

تفوقت معاملة فطر المايكورايزا مع حامض الساليساليك على بقية المعاملات في تحسين الوزن الرطب والجاف لنباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني والتي بلغت 1412.5 117.37 غم على التوالي . وتفوقت معاملة فطر المايكورايز مع حامض الساليساليك على بقية المعاملات في تحسين الوزن الرطب والجاف في نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس موزائيك الرقي والتي بلغت 1280.7 غم والجاف 128.4 غم.

سجل اعلى مستوى لفعالية انزيم البيروكسيداز في نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس الموزائيك الاصفر للزكيني في معاملة المايكورايزا مع الكيتوسان وبواقع 478.37 (وحدة.دقيقة⁻¹ غم وزن رطب⁻¹) . وكان افضل تاثير للمعاملات على فعالية انزيم الاوكسيداز متعدد الفينول هي المايكورايزا مع الكيتوسان بواقع 367.21 (وحدة .دقيقة⁻¹ غم وزن رطب⁻¹) . بينما كان افضل تأثير للمعاملات على مستوى الفينولات الكلية في معاملة المايكورايزا فقط بواقع 138.44 (ملغرام.غرام وزن طري⁻¹).

و سجلت معاملة المايكورايزا مع حامض الساليساليك اعلى مستوى للانزيم بواقع 388.46 (وحدة .دقيقة⁻¹ غم وزن رطب⁻¹) في نباتات قرع الكوسة المصابة بفايروس موزائيك الرقي. وكانت افضل تاثير للمعاملات على مستوى فعالية انزيم الاوكسيداز متعدد الفينول في معاملة المايكورايزا فقط بواقع 363.43 (وحدة .دقيقة⁻¹ غم وزن رطب⁻¹) . وسجل افضل تاثير للمعاملات على مستوى الفينولات الكلية في معاملة المايكورايزا فقط بواقع 72.60 (ملغم غم وزن رطب⁻¹).

Summary

The DAS-ELISA test revealed the presence of Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) and Watermelon mosaic virus (WMV) in squash plant leaves exhibiting symptoms of mosaic collected from fields in Mosul. Molecular diagnosis using Next Generation Sequencing (NGS) on the mosaic-affected squash plant leaves indicated the presence of various viruses including ZYMV, WMV and Tomato yellow leaf curl viruses A and B with varying nucleic acid ratios for the isolated viruses.

The RNA percentage for ZYMV and WMV was 0.005% and 4.08% respectively while the DNA percentage for Tomato yellow leaf curl viruses A and B was 0.15% and 0.12% respectively.

Analysis of the sequencing data using bioinformatics software showed that ZYMV had the highest copy number of nucleic acids at 16 696.28 base pairs followed by WMV at 9 959.67 base pairs. The lowest copy number was observed for ZYMV with 24.16 copies. The copy numbers for Tomato yellow leaf curl viruses A and B were 3 999.74 and 3 416.77 base pairs respectively. Complete sequencing was conducted for the WMV isolate from Mosul. The phylogenetic tree analysis revealed that the French isolate MN914159 and the Chinese isolate MK659926 were closely related to the Mosul isolate with a 95% similarity. The Mosul isolate was deposited in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) gene bank under the accession number OQ865058. The complete genome sequence of the Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV) isolate from Iraq found in squash leaf samples showed a 95.7% similarity to the French X76931 and NC_003688 isolates. The virus was recorded in the NCBI under the accession number OQ865059 marking the first registration of CABYV on squash crops in Mosul and the first disclosure of the complete sequence of this virus carried by aphids in Iraq.

Summary

Similarly the complete nucleotide sequence for the Tomato yellow leaf curl viruses A and B isolates from squash leaf samples showed close proximity to Iraqi and Saudi isolates. The genomic segment A matched 98.8% with the Saudi isolate and the genomic segment B matched 88.8% with the isolates from Babylon and Karbala. The Mosul isolate for Tomato yellow leaf curl viruses was registered in the NCBI under accession numbers OR052249 and OR052250 representing the first record of this virus on squash crops in Mosul

The results of investigating the systemic resistance of squash plants against (ZYMV) and WMV under greenhouse conditions showed that the most effective treatment in inducing resistance was the application of Mycorrhiza with Salicylic acid. This treatment significantly reduced the severity of infection with ZYMV by 0.21 and WMV by 0.23.

The study also revealed the influence of resistance induction treatments on the chlorophyll content in squash plants infected with ZYMV. The most effective treatment was Mycorrhiza and Salicylic acid resulting in a chlorophyll content of $1.03 \text{ (mg.g f w}^{-1}\text{)}$ compared to the control treatment. Similarly in squash plants infected with WMV the treatment with Mycorrhiza and salicylic acid showed superior results with a chlorophyll content of $1.49 \text{ (mg.g f w}^{-1}\text{)}$ compared to the control treatment. Furthermore the resistance induction treatments had a significant impact on the wet and dry weights of both the shoot and root of squash plants infected with ZYMV. The treatment with Mycorrhiza and salicylic acid outperformed other treatments with an average wet and dry weight of of the shoot and root systems 745 g and 420.20 g as well as improving the dry weight of the shoot and root sets, reaching 21.93g and 12.61 g compared to the control treatment. Similar trends were observed in squash plants infected with WMV where the treatment with Mycorrhiza and salicylic acid showed better results with an wet weight of the vegetative and root sets reached 875.00 and 143.70 g, respectively, as

Summary

well as improving the dry weight of the vegetative and root sets, with a value of 34.13g and 8.60g.

The study also investigated the effect of seed treatment with Mycorrhiza and foliar application of Salicylic acid and Chitosan on the activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes as well as the total phenolic content in squash plants infected with ZYMV.

The treatment with Mycorrhiza and Chitosan recorded the highest peroxidase activity with 2322.33 (U.min g.fw⁻¹) and the treatment with Mycorrhiza showed the highest polyphenol oxidase activity with 707.22 (U.min g.fw⁻¹). The highest total phenolic content was observed in the treatment with Mycorrhiza with 69.24 (U.min g.fw⁻¹)

Additionally the resistance induction treatments influenced the activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes as well as the total phenolic content in squash plants infected with WMV. The treatment with Mycorrhiza and salicylic acid recorded the highest peroxidase activity with 2506.33 (U.min g.fw⁻¹) while the treatment with Mycorrhiza and chitosan showed the highest polyphenol oxidase activity with 544.04 (u.min g.fw⁻¹) The highest total phenolic content was observed in the treatment with Mycorrhiza and chitosan with 108.81 (U.min g.fw⁻¹)

The results of inducing systemic resistance in squash plants infected with ZYMV WMV under field conditions showed that the best treatment was seed soaking with Mycorrhiza in reducing the severity of ZYMV infection by 0.23. Additionally, the combined treatment of Mycorrhiza with Salicylic acid recorded the lowest severity of WMV infection, reducing it by 0.23 compared to the negative control treatment.

The treatments also had an impact on the chlorophyll content in squash plants infected with ZYMV. The highest chlorophyll content was recorded in the

Summary

Mycorrhiza treatment with 1.66 (mg .gfw⁻¹) while the Mycorrhiza with Salicylic acid treatment showed superior results with a chlorophyll content of 1.63 (mg.g fw⁻¹) compared to the control treatment.

Furthermore, the induction of resistance treatments affected the wet and dry weights of the shoot components of squash plants infected with ZYMV. The Mycorrhiza with Salicylic acid treatment outperformed other treatments, with an average total wet weight of 1412.5 and dry weight of 117.37 g, respectively, compared to the control treatment. Similar trends were observed in squash plants infected with WMV, where the Mycorrhiza with Salicylic acid treatment showed better results with an average total wet weight of 1280.9 g. and dry weight of 128.4 g.

The results demonstrated the effectiveness of the resistance induction treatments in squash plants infected with ZYMV and WMV by affecting the activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes, as well as the quantity of phenols. The Mycorrhiza with Chitosan treatment recorded the highest peroxidase activity at 478.37 (U.min g.fw⁻¹) and the mycorrhiza with chitosan treatment showed the highest polyphenol oxidase activity at 367.21 (U.min g.fw⁻¹) . The Mycorrhiza treatment recorded the highest total phenolic content at 138.44 (mg. g.fw⁻¹)

In squash plants infected with WMV, Mycorrhiza with salicylic acid treatment showed the highest peroxidase activity at 388.46 (U.min g.fw⁻¹) while the Mycorrhiza treatment exhibited the best polyphenol oxidase activity at 363.43 (U.min g.fw⁻¹). The Mycorrhiza treatment also recorded the highest total phenolic content at 72.60 (mg. g.fw⁻¹)

University of Mosul
College of Agriculture and Forestry



**Inducing of Systemic Resistant Agiants *Zucchini*
yellow mosaic virus and *Watermelon mosaic*
virus on Squash by using Mycorrhizal fungi,
Chitosan and Salicylic Acid**

Lubna Layth Malallah Aziz

Ph.D Thesis

In

Plant Protection

Supervised by

Dr. Nabil Aziz Kassim

Dr. Bassam Yahya Ibrahim

Prof.

Assistant Prof.

2024 A.D.

1445A.H.