مجلة زراعة الرافدين
ISSN: 2224-9796 (Online)
ISSN: 1815 – 316 X (print)
المجلد (٤٠) العدد (١) ٢٠١٢

تأثير النحاس وحامض السالسيلك في اكتساب المقاومة الجهازية في نباتات الفاصوليا لوقايتها من الفطر *Rhizoctonia solani*

سعاد يحيى محمد ، نضال يونس محمد ، هبة عبد الله احمد
قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى تقييم المقاومة الجهازية لنباتات الفاصوليا المصابة بتعفن البذور المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* باستخدام (عنصر النحاس) وحامض السالسيلك . أظهرت النتائج المختبرية ان لعنصر النحاس فاعلية في خفض معدل نمو الفطر حيث زادت نسبة التثبيط ١٠,٥ الى مقارنة بمعاملة المقارنة عند استخدامه بتركيز ٤ ملغ/ لتر . كما أظهرت النتائج فاعلية حامض السالسيلك في خفض معدل نمو الفطر وزيادة نسبة التثبيط الى ٥٦,٧ % . مقارنة بمعاملة المقارنة عند استخدامه بتركيز ٤٠٠ ملغم / لتر اما عنصر النحاس وحامض السالسيلك فقد تسببا في خفض شدة تعفن الجذور في التربة إذ بلغت شدة الاصابة ٠.٥٤ و ٠.٥١ على التوالي في حين كانت شدة الإصابة في معاملة المقارنة السلبية (تربة معقمة) ٠.٨٤

المقدمة

يعد الفطر *Rhizoctonia solani* من الفطريات المستوطنة في التربة وينمو في مدى واسع من درجات الحرارة، كما يمتلك الفطر عزلات عديدة تختلف في قدرتها الامراضية ويستطيع الفطر البقاء بغياب العائل لسنوات طويلة بفضل تكوينه للأجسام الحجرية sclerotia التي تستطيع أن تتحمل الظروف البيئية غير المناسبة (Garrett، ١٩٧٠، Roberts وHerr، ١٩٧٩، أحمد وعلي، ١٩٩٠) . لقد اهتم الباحثون بالدفاعات النباتية المكتسبة أو ما يطلق عليها بحث النباتات على مقاومة الأمراض النباتية . وتتميز المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance (SAR) بتأثيرها الواسع على كثير من الإصابات الفطرية والبكتيرية والفايروسية (Van Loon، ١٩٩٧) ومن بين المستحثات الكيميائية لها حامض السالسيلك Salicylic acid ومشتقاته (Ton وآخرون، ٢٠٠٢) . عرفت فائدة النحاس في وقاية النبات من الأمراض منذ عام ١٩٥٥ ونظراً لكونه مادة غذائية للنباتات الراقية والفطريات والبكتريا لذا فانه يحسن من الدفاعات الطبيعية للنبات اذ تؤدي إلى زيادة إنتاج المواد المثبطة كالمركبات الفينولية والفلافونيات (Flavonoids) في موقع الإصابة وفي مواقع أخرى من النبات. ان إنتاج ونقل هذه المركبات يسيطر عليه من قبل مغذيات النبات الأساسية مثل البوتاسيوم ، النحاس ، منغنيز ، الزنك وبورون (Engelhard ، ١٩٩٣). وقد اشارت ال مراد ، ٢٠٠٢ الى دور الفطر في خفض نتائج الفاصوليا لذا ارتأينا القيام بهذه الدراسة .

مواد البحث وطرائقه

- العزل والتشخيص : جلبت بادرات فاصوليا مصابة بتعفن الجذور من حقل في قسم وقاية النبات وغسلت تحت تيار ماء جاري لمدة ساعتين لإزالة التربة العالقة بها قطعت منطقة التاج في البادرة إلى قطع بطول ٠.٥ سم تقريباً وعقمت سطحياً بمحول هايبوكلورايت الصوديوم ١% لمدة ٢-٣ دقائق ثم غسلت بالماء المقطر وجففت بين ورقتي ترشيح Whatman رقم (١) وزرعت في أطباق بتري تحتوي وسط مستخلص اجار ودكستروز البطاطا (PDA) المضاف إليه المضاد الحيوي كلورومنفيكول chloramphenicol بتركيز ١٠٠ ملغم/ لتر وبواقع خمس قطع/طبق. حضنت الأطباق عند درجة حرارة ٢٥° سيليزية لمدة خمسة أيام للحصول على المستعمرات الفطرية النقية وشخص الفطر اعتماداً على المفتاح التصنيفي المعد من قبل Parmeter و Whitney (١٩٧٠). ثم أجريت عملية التنقية من العزل بطريقة طرف الهايفا النامي.

تاريخ تسلم البحث ٢٠ / ٣ / ٢٠١١ وقبوله ٦ / ٦ /٢٠١١

تأثير النحاس وحامض السالسيلك في نمو الفطر الممرض على الوسط الزرعي : استعمل في هذه التجربة عنصر النحاس بشكل كبريتات النحاس المائية $CuSO_4.5H_2O$ وأضيف بتراكيز متدرجة منه

صفر (المقارنة) ، ١، ٢، ٣، ٤ ملغم/لتر واضيف حامض السالسيلك بتراكيز متدرجة ايضاً صفر (مقارنة) ، ١٠٠ ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ ، ٤٠٠ ، ملغم/لتر الى الوسط الزرعي وذلك بعد تبريده إلى درجة حرارة ٤٥° سيليزية ومن ثم صب الوسط الزرعي في أطباق بتري معقمة، زرع قرص بقطر ٠.٥ سم مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر الممرض بعمر خمسة أيام في مركز كل طبق نفذت تجربة بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة عدا معاملة المقارنة ، حضنت الأطباق عند درجة حرارة ٢٥ ± ٢° سيليزية أخذت النتائج بحساب متوسط قطرين متعامدين لكل طبق وتم حساب النسبة المئوية للتثبيط كما يلي:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر المقارنة} - \text{متوسط قطر المعادلة}}{\text{متوسط قطر المقارنة}} \times ١٠٠$$

تأثير عنصر النحاس وحامض السالسيلك في مكافحة الفطر على بادرات الفاصوليا في الظلة البلاستيكية :

نفذت التجربة في الظلة البلاستيكية التابع لقسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات ، وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) وبثلاث مكررات لكل معاملة عدا معاملة المقارنة ، حضرت أصص بلاستيكية تحوي على تربة معقمة بالفورمالين ٢% لوثت تربة الأصص بالفطر المنمى على الوسط الزرعي بطاطا دكستروز اجار (PDA) وبواقع ½ طبق/اصيص سعة ١ كغم تربة بعدها سقيت التربة للحفاظ على مستوى رطوبي مناسب لضمان حيوية الفطر ثم زرعت ببذور الفاصوليا صنف سترايك مبذرة محلية بواقع خمسة بذور لكل أصيص وبعد وصول البادرات إلى أربع أوراق حقيقية. نفذت التجربة واشتملت على المعاملات التالية:

١- تربة معقمة (معاملة المقارنة)
٢- تربة + الفطر الممرض
٣- تربة معقمة + Cu
٤- تربة معقمة + SA
٥- تربة + الفطر الممرض + Cu
٦- تربة + الفطر الممرض + SA

أضيف كل من عنصر النحاس وحامض السالسيلك بمقدار ١٠٠ ملغم/كغم تربة تم إضافة الفطر الممرض بعد ثلاثة أيام من رش عنصر النحاس وحامض السالسيلك على النباتات (حسان وسمير ، ٢٠٠٧) أما معاملة المقارنة (تربة معقمة) بالفطر لم يضاف لها عنصر النحاس وحامض السالسيلك ، أخذت النتائج بعد أسبوعين من الزراعة حسبت النسبة المئوية لموت البادرات كما في المعادلة التالية:

$$\% \text{ نسبة الإصابة} = \frac{\text{عدد البادرات المصابة}}{\text{عدد البادرات الكلى}} \times ١٠٠$$

وبعد ٢١ يوم من المعاملة حسبت شدة الإصابة باستخدام الدليل المرضي المؤلف من ٥ درجات (ابراهيم ، ٢٠٠٩)

الجدول (١) الدليل المرضي للفطر Rhizoctonia

درجة الإصابة	طبيعة النبات
١	نبات سليم
٢	بقع صغيرة على الجذر أو الساق (٠.٥-١ سم)
٣	بقع كبيرة على الجذر أو الساق (١- فأكثر سم)
٤	موت بعد البزوغ
٥	موت قبل البزوغ

وحسبت شدة الإصابة وفق المعادلة التالية:

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{مجموعة النباتات من الفئة (١) × دليلها المرضي + ... مجموع النباتات من الفئة (٥) × دليلها المرضي}}{\text{مجموع النباتات الكلي × درجة أعلى إصابة}}$$

حللت النتائج إحصائياً واختبرت المتوسطات بطريقة دنكن متعدد الحدود

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص : أظهرت نتائج العزل في نبات الفاصوليا المصابة بالذبول عن إصابتها بالفطر *Rhizoctonia solani* kuhn. بنسب عالية وتميزت المستعمرات بلون ابيض قطني وبعد ذلك يتغير لون المستعمرة الى اللون البني .

تأثير عنصر النحاس وحامض السالسيلك في معدل نمو الفطر الممرض على الوسط الزرعي : يتضح من الجدول (٢) عدم وجود فروقات معنوية بين جميع التراكيز لعنصر النحاس في خفضها لمعدل قطر مستعمرة الفطر ما عدا التركيز الأول اذ لم يختلف معنوياً عن معاملة المقارنة (٩ سم) أما باقي التراكيز فكان قطر المستعمرة ٨ سم وبنسبة تثبيط ١٠.٥% ويمكن تفسير ذلك أن أيونات النحاس لها القابلية على الارتباط بالعديد من المجاميع الكيميائية الموجودة في الخلية الفطرية مثل مجموعة الأمين ، والكاربوكسيل ومجموعة الثايول لتكوين مركبات معقدة معها ويكون هذا الارتباط مصحوباً بتثبيط الانزيمات الرئيسة في الخلية لذا يؤدي في النهاية الى موت الفطر (Anon، ٢٠٠١).

الجدول (٢) : تأثير عنصر النحاس Cu وحامض السالسيلك SA في نمو مستعمرة الفطر *R. solani*

المعاملات	التراكيز (ملم / لتر)	قطر المستعمرة (سم)	% للتثبيط
Cu	صفر (المقارنة)	٩	صفر ب*
	١	٩	صفر ب
	٢	٨	١٠.٥ أ
	٣	٨	١٠.٥ أ
	٤	٨	١٠.٥ أ
SA	المقارنة	٧,٥٠ أ	صفر د
	١٠٠	٧,٤٣ ب	١٢,١ ج
	٢٠٠	٤,٢٠ ج	٤٣,٤ ب
	٣٠٠	٣,٥٦ د	٥١,٨ أ ب
	٤٠٠	٢,٨٦ د	٥٦,٧ أ

* الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بينها عند مستوى احتمال ٠.٠٥ حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

كما تبين من النتائج في نفس الجدول وجود فروقات معنوية بين تراكيز حامض السالسيلك في أقطار المستعمرات ونسب التثبيط كان التركيز الأول ١٠٠ ملغ / لتر أقل التراكيز تثبيطاً إذ بلغ قطر المستعمرة ٧.٤٣ سم بنسبة تنشيط ٢١.١ % قطري مستعمراتها ٤.٢٠ و ٣.٥٦ سم بنسبتي تثبيط ٤٣.٤ و ٥١.٨ % على التوالي ولكن اختلفا عن المعادلة الرابعة اذ بلغ قطر المستعمرة ٢.٨٦ سم وبنسبة تثبيط ٥٦.٧ % واختلفت جميع المعاملات عن معاملة المقارنة التي بلغ متوسط قطر مستعمرتها ٧.٥٠ سم وبنسبة تثبيط صفر % . وتعزى فاعلية حامض السالسيلك إلى مادته الفعالة الاسبرين والتي تعمل على تثبيط العديد من العمليات الحيوية المهمة كعمل بعض الانزيمات والأحماض الأمينية ومن ثم التأثير في نشاط ونمو المسببات المرضية (Popava وآخرون، ١٩٩٧ و Uquillas وآخرون ، ٢٠٠٤). وكان للتراكيز المتدرجة من حامض السالسيلك تأثير متدرجاً في تثبيط النمو ثم ارتفعت نسب التثبيط كلما زاد التركيز وهذا ما يتفق مع الخزرجي،(٢٠٠٧)عند استخدام الحامض مع الفطر *Pythium aphanidermatum* .

تأثير عنصر النحاس وحامض السالسيلك في نسبة وشدة الإصابة بالفطر الممرض : يتضح من الجدول (٣) أن عنصر النحاس وحامض السالسيلك نسببا في خفض الإصابة بتعفن الجذور إذ بلغت شدة الإصابة عند المعاملة بهما ٠,٥٤ و٠,٥١ على التوالي في حين كانت شدة الإصابة في معاملة المقارنة السلبية ٠,٨٤ (تربة ملوثة بالفطر فقط) وفي معاملة المقارنة (تربة معقمة) لم يكن لحامض

السالسيلك خفضاً معنوياً في شدة إصابة البادرات بتعفنات الجذور مقارنة بعنصر النحاس التي تسببت في إحداث خفضاً شيداً للإصابة عن معاملة المقارنة (تربة معقمة). ويبدو أن الإصابة حدثت في الترب المعقمة عن طريق الفطر المنقول بوساطة البذور. إذ أن البذور كانت محلية وأن الفطر *R. solani* عرف انتشاره بوساطة البذور (Nelson وآخرون، ١٩٩٦)، أما عن نسب الإصابة فيتضح من الجدول أن النتائج كانت متوافقة لحد ما مع نتائج شدة الإصابة. إذ أن عنصر النحاس وحامض السالسيلك قد خفضا نسبة الإصابة اذ بلغتا ٠.٤٠ لكل منهما في حين كانت نسبة الإصابة في المقارنة السلبية (تربة + الفطر الممرض) ٧٠% ولم تختلف معاملة التربة المضاف إليها عنصر النحاس ومعاملة التربة المضاف إليها حامض السالسيلك عن المعاملات السابقة معنوياً اذ بلغت نسبة الإصابة في كلتيهما ٥٣.٣ و ٦٠% على التوالي ويعود ذلك الى قابلية النحاس في كبح الممرض عند مستويات عالية منه عموماً فان النحاس يعمل كمثبط مباشر لمسببات الأمراض النباتية المختلفة وينشط الدفاعات الذاتية للنبات ضد الامراض (Engelhard، ١٩٩٣) .

الجدول (٣) : تأثير عنصر النحاس وحامض السالسليك في نسبة وشدة الإصابة بالفطر *R. solani*

المعاملات	% الإصابة	شدة الإصابة
مقارنة (تربة معقمة)	٤٦.٦ أ ب	٠.٦٦ ج
مقارنة سلبية (تربة + الفطر الممرض)	٧٠ أ	٠.٨٤ أ
تربة معقمة + Cu	٤٠ ب	٠.٧٤ ب
تربة معقمة + SA	٤٠ ب	٠.٦٣ ب ج
تربة + الفطر الممرض + Cu	٥٣.٣ أ ب	٠.٥٤ د
تربة + الفطر الممرض + SA	٦٠ أ ب	٠.٥١ د

الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بينها عند مستوى احتمال ٠.٠٥ حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

وأوضح Yalpani وآخرون (١٩٩٣) أن حامض السالسيلك يعمل على تحفيز مقاومة النبات ضد ممرضات النبات الغازية من خلال تحفيز الجينات المسؤولة عن إنتاج البروتينات ذات العلاقة بالامراضية في نبات التبغ. ويستحث حامض السالسيلك الجينات المسؤولة عن المقاومة وذلك ضد الممرضات النباتية فضلاً عن زيادة تحمل النبات الى الاجهادات اللاحيوية المختلفة (Stuver و Custers ، ٢٠٠١ و Nawarth وآخرون ، ٢٠٠٢ و Ton وآخرون ٢٠٠٢ و Uquillas وآخرون، ٢٠٠٤).

EFFECT OF COPPER AND SALICYLIC ACID IN THE SYSTEMIC RESISTANCE ACQIRED OF BEANS AGAINST *Rhizoctonia solani*

S. Y. Muhammed , N. Y. Al-Morad , H.A. Ahmed
Dept. of Plant Protection , College of Agric and Forestry.
University of Mosul. Iraq

ABSTRACT

The study conducted to evaluate the systemic resistance of bean seedlings infected with root rot caused by *Rhizoctonia solani* using nutritional element of copper and Saliycili acid showed that copper is effective in the reduction of the mycelial growth of the fungus that inhibited by (10.5%) when used at 4 mg/ltr. The results also provide the effectiveness of Salicylic acid in the reduction of growth rate of the fungus since inhibited by 56.7% when used in the at 400 mg/l However copper and salicylic acid led to the reduction of infection severity with Rhizoctonial root rot which reached 0.54 and 0.51, respectively .

المصادر

ابراهيم ، بسام يحيى . (٢٠٠٩) . استحداث طرز احيائية من انواع الفطر *Trichoderma* لتحسين كفائتها كعوامل للمكافحة الاحيائية وتحفيز صفات نمو النبات . اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل ، العراق .

أحمد، جاسم محمد وحسن حسين علي (١٩٩٠). المكافحة الكيميائية لتعفن بذور القطن وموت بادراته في محافظة نينوى بالعراق. مجلة وقاية النبات العربية، ٨: ٦-١١.

آل مراد، نهال يونس محمد (٢٠٠٢). دراسة لمرض تعفن بذور وموت بادرات الفاصوليا ومكافحته احيائياً، رسالة ماجستير، كلية العلوم – جامعة الموصل ، الموصل – العراق.

حسان، الاء خضير وصالح حسن سمير (٢٠٠٧). تأثير النحاس والسليكون وحامض السالسيلك في تحفيز المقاومة الجهازية لنباتات الخيار ضد الفطر *Pythium aphanidermatum (Edson)* Fitz . مجلة وقاية النبات العربية ، ٢٥ (٢) ١٧١ – ١٧٤.

الخزرجي، ياسر عيدان باقي محمود (٢٠٠٧). تأثير الماء الممغنط وحامض السالسيلك في نمو وحماية نبات الخيار من الإصابة بالفطر الممرض *Pythium aphanidermatum (Edson)* Fitz ، اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد ، بغداد ، العراق .

Anonymous (2001). Copper as a beneficial nutrient in agriculture. Agmin Newsletter 221: 1-2.

Engelhard, ed, W. (1993). Soil Borne Plant Pathogens, Management of diseases; with macro and microelements. American Phytopathological Society, Ohio 43160.

Garrett, S.D. (1970). Pathogenic Root Infecting Fungi. Cambridge Univ. Press, Cambridge. 294 pp.

Nawarth, C; S. Heck; N. Parinthawong and J.P. Metranx (2002). EDS5 an essential component of salicylic acid dependent signaling for disease resistance in arabidopsis, is the number of the mate transporter family. Plant Cell 14: 275-286.

Nelson, B.; Helms, T.; Christranson; T. and I. Kural (1996) , Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* from soybean, Plant Disease. 80: 74-80.

Parmeter, J.R. and H.S. Whitney (1970). Taxonomy and nomenculture of the Imperfect State of *Rhizoctonia solani* . Biology and Pathology Journal University California, Berkeley Los. P. 7-10.

Papova, L; T Pancheva and A. Uzunova (1997). Salicylic acid: properties, Biosynthesis and physiological Bulgarian Rol. Plant. Physiology Journal. 23 (1-2): 85-93.

Roberts, D.L. and L.J. Herr, (1979). Soil populations of *Rhizoctonia solani* from areas of healthy and disease beets within four sugar beet field, differing in soil texture. Canadian Journal Microbiology, 25: 902-910.

Stuver, M.H. and J.H.H.V. Custers (2001). Engineering disease resistance in plant. Nature 411: 865-868.

Ton; J., J.A.V. L.C. Pelt; Vanloon and C.M. Pieters (2002). Differential and effectiveness of salicylate –dependent and jasmonate/ethylen induced resistance in arabidopsis Molecular Plant Inetraction. 15: 27-34.

Uquillas, C; I. Letelier; F. Blanco; X. Jordana and L. Holnigne (2004). NPRL – Independent activation of immediate early salicylic acid – responsive genes. Society 17(1): 34-42.

Vanloon, L.C. (1997). Induce resistance in plant and the role of pathogenesis related proteins. European Journal of Plant Pathology. 103: 753-765.

Yalpani, N; V. Shulae and I. Raskin (1993). Endogenous salicylic and levels correlate with accumulation of pathogenesis related proteins and virus resistance in tobacco. Phytopathology 83: 702-708.