مجلة البصرة للعلوم الزراعية 2012، 25(2): 58-71

تأثير حامض السالسيلك Salycilc acid على الفطر *Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid* وتطور مرض العفن الفحمي على نبات زهرة الشمس *Helianthus annus L.*

ناجي سالم جاسم و جوادين طالب الكوراني

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق

الخلاصة. هدفت الدراسة إلى معرفة تأثير تراكيز مختلفة من حامض السالسيلك Salicylic acid (SA) على الفطر الممرض *Macrophomina phaseolina* المسبب لمرض التعفن الفحمي charecoal rot disease على نبات زهرة الشمس *Helianthus annus L* . أثبتت نتائج التجارب المختبرية أن التراكيز العالية من حامض السالسيلك لها تأثير تثبيطي عال في الوسط الزراعي (PDA) إذ بلغ معدل نمو الفطر الممرض عند التركيزين 200 و 250 ملغم / لتر 4.6 , 1.2سم على التوالي كما بلغت النسبة المئوية لإنبات الأجسام الحجرية Sclerotia 26.67%و 66.67 % على التوالي، كما أوضحت نتائج تجربة الأصص إلى أن جميع تراكيز الحامض قد أثرت بشكل معنوي في خفض النسبة المئوية للإصابة حيث بلغت % 16.96عند التركيز 250 ملغم /لتر ماء في حين كان معدل هذه النسبة في معاملة الفطر الممرض 64.6% ، كما كان لتراكيز حامض السالسيلك (200 ,250 ملغم/ لتر ماء) تأثير في زيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري حيث بلغ معدل الوزن فيها 0.336 , 0.363 غم على التوالي في حين بلغ معدل الوزن في معاملة الفطر الممرض 0.24 غم كما ازداد الوزن الجاف من المجموع الجذري ليصل إلى 0.056 , 0.063 غم على التوالي فيما انخفض معدل هذا الوزن في معاملة الفطر الممرض إلى 0.039 غم. وأشارت نتائج الدراسة إلى إن التراكيز المرتفعة من حامض السالسيلك قد خفضت من أعداد الأجسام الحجرية sclerotia المتكونة إذ بلغت عند التركيزين 200 , 250 ملغم/ لتر ماء 27.2 , 20.1 جسم حجري لكل غم تربة من التربة المحيطة للجذور في حين لم تظهر التراكيز المنخفضة من الحامض أي اختلاف معنوي مع معاملة السيطرة والتي بلغ معدل عدد الأجسام الحجرية فيها 49.2 جسم حجري/ غم تربة .

الكلمات المفتاحية: Salicylic acid ، *Macrophomina phaseolina* ، مرض التعفن الفحمي، زهرة الشمس.

المقدمة

يعد نبات زهرة الشمس *Helianthus annus* من النباتات الاقتصادية المهمة في العالم يزرع المحصول بصورة رئيسية للحصول على بذوره أذ يعد ثاني مصدر للزيت في كل من الولايات المتحدة والأرجنتين وأوكرانيا (16) كما أن له أستخدامات أخرى أذ يدخل في صناعة الصابون والأستهلاك المباشر من قبل الأنسان (21).

تصاب نباتات زهرة الشمس بالعديد من الافات الزراعية كالحشرات والمسببات المرضية ويعتبر مرض التعفن الفحمي Charcoal rot disease والمتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) أهم الأمراض والعوامل المحددة لهذا المحصول (46). أدت الأصابة بهذا المرض إلى خسائر أقتصادية كبيرة لهذا المحصول فقد ذكر Wrather واخرون (48) أن الخسائر الناجمة من الإصابة بهذا المرض في الولايات

المتحدة والبرازيل وكندا والأرجنتين والبرغواي بلغت 272.22 مليون دولار عام 1994 وفي دراسة قام بها فياض (10) في العراق بين أن الإصابة بالفطر *M. phaseolina* أدت إلى انخفاض كبير في معدل حاصل النبات الواحد والنسبة المئوية للزيت. يعد الفطر *M. phaseolina* من الفطريات ذات المدى العائلي الواسع والذي يضم أكثر من 500 نوع نباتي (42). كما وجد أن الإصابة بهذا المرض تزداد كلما تعرض النبات لعوامل الأجهاد البيئي كأرتفاع درجات الحرارة و قلة الرطوبة (11). إن قدرة النباتات في الدفاع عن نفسها تظهر بوضوح بواسطة العديد من الآليات وتحدث بطرق متعددة (28) كذلك إن مقاومة النبات العائل ترتبط بشكل مهم بإدارة مكافحة الآفات والتي يمكن أن تنشأ بواسطة مجموعة من العوامل الحيوية (المسببات المرضية وغير المرضية) وعوامل غير حيوية مثل بعض المركبات البسيطة والتي يمكن بشكل قليل وفعال وبالتوافق مع بعض مبيدات الآفات الانتخابية أحيانا في آلية حث المقاومة الجهازية والموضعية في النبات العائل (25).

أن المقاومة المستحثة في النبات تلعب دور رئيسي في كبح نشاط المسببات المرضية المختلفة (31) أن حث المقاومة الجهازية في النبات يعتمد بشكل كبير على الهرمون النباتي المعروف بحامض السالسليك Salicylic acid المصدر المسؤول عن تفعيل الجينات المسؤولة عن تنشيط ما يعرف بالمقاومة الجهازية المكتسبة Aquired Systemic Resistance (ASR) وجينات المقاومة (13 و 14و 20و 33). حامض السالسليك (SA) يلعب دور مهم في تنظيم معظم الفعاليات الحيوية كالنمو والتركيب الضوئي وتنظيم الإزهار (37 و 39 و40) وله دور في التعرق ونفاذية ونقل الايونات ويشترك في تحفيز تغييرات معينة في تشريح الأوراق وتركيب البلاستيدات الخضراء ويشترك في أحداث الأشارات الداخلية signal transduction pathways ويدخل في تحفيز الدفاع ضد المسببات المرضية (23). ويلعب دور في تحفيز المقاومة لجهازية عن طريق تحفيز أنتاج البروتينات المرتبطة بالأمراضية Pathogenisis Related Protien (PRP) (45 و 18) ويشترك في تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة Aquired Resistance (SAR) Systemic (47).

أشار Durner وآخرون (17) أن آلية عمل حامض السالسليك تكمن في تحفيز الجينات المشفرة لبعض البروتينات المرتبطة بالأمراضية مثل أنزيمات Chitinase و 3,1-B-glucanase. أجريت عدة دراسات حول تأثير حامض السالسليك في تحفيز المقاومة الجهازية فقد ذكر حسان (4) أن أستخدام الـSA بتركيز 100 ملغم / لتر حفز المقاومة الجهازية في نبات الخيار ضد الفطر *Pythinm aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط بادرات الخيار. كما أثبت جاسم (2) أن معاملة نباتات الباقلاء المزروعة في تربة ملوثة بالفطر *Rhizoctonia solani* بحامض السالسليك أدى إلى تحفيز المقاومة الجهازية كما حسنت من معظم مؤشرات النمو في النباتات المعاملة كما وجد جبر وحسون (3) إن النسبة المئوية لأصابة درنات البطاطا بالفطر *R. solani* بلغت 100% بينما بلغت هذه النسبة 27% في النباتات المعاملة بحامض السالسليك. ولأهمية أستخدام المبيدات الآمنة على البيئة Enviromented safe pesticides لتقليل الآثار المتسببة عن المبيدات ومشاكل التلوث للبيئة فقد أجريت هذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل

عزل وتشخيص الفطر *Macrophomina phaseolina*

عزل الفطر من نباتات زهرة الشمس مزروعة في حدائق كلية الزراعة ظهرت عليها أعراض المرض جلبت النباتات إلى المختبر وغسلت قواعد السيقان والمجموع الجذري بماء الحنفية لغرض التخلص من الأتربة والعوالق الأخرى وقطعت إلى قطع صغيرة بطول (0.5 – 1 سم) ثم عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم Na ocl بتركيز 10 % من المستحضر التجاري لمدة 3 دقائق غسلت بعدها بماء مقطر معقم لإزالة بقايا محلول التعقيم ووضعت على أوراق الترشيح .Whatman No لغرض تجفيفها بعد ذلك نقلت أربع قطع صغير إلى كل طبق بتري يحتوي على الوسط الغذائي المعقم PDA (Patato dexterous agar) والمضاف إليه المضاد الحيوي Chloromphenicol بمقدار 250 ملغم/ لتر وبمعدل ثلاث اطباق ثم وضعت الإطباق في الحاضنة على درجة حرارة 2 ±28 م° لمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تنقية عزلات الفطر بنقل أجزاء من طرف الخيط الفطري لمستعمرة الفطر الممرض بواسطة أبره معقمة إلى أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي P.D.A المعقم ووضعت الأطباق في الحاضنة وبعد ثلاثة أيام شخص الفطر اعتمادا على الصفات التصنيفية المذكورة في Sinclair (41).

حفظت عزلات الفطر على وسط غذائي المائل الصلب المعقم Slant في الثلاجة لحين الأستعمال مع مراعاة تجديدها عند الحاجة.

أختبار القدرة الأمراضية للفطر *M. phaseolina*

لتاكيد القدرة الأمراضية لعزلة الفطر *M. phaseolina* جلبت تربة مزيجية رملية وعقمت بجهاز الموصدة على درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة ساعة واحدة ثم أعيدت عملية التعقيم مرة ثانية بعد مرور 24 ساعة وبعد ذلك أضيف اللقاح الفطري المحمل على بذور الدخن إلى التربة المعقمة بنسبة 0.5% وزن / وزن ومزج جيدا في كيس من السيلوفين لضمان تجانس اللقاح الفطري مع التربة ثم وضعت التربة الملوثة في أصص بلاستيكية سعة 1 كغم معقمة بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم بتركيز 10% من المستحضر التجاري ثم تم غسلها بالماء المعقم.

وزعت بذور زهرة الشمس بواقع 10 بذور لكل أص وبمعدل ثلاث مكررات كما تم أضافة معاملة مقارنة بأستخدام التربة المعقمة فقط (غير ملوثة بلقاح الفطر الممرض) وبعد أسبوعين حسبت النسبة المئوية للبادرات المصابة و أعيد عزل الفطر من جذور وقواعد السيقان للبادرات الميتة للتأكد من أصابة الفطر الممرض.

تحضير اللقاح الفطري

أستخدمت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* لغرض تحضير اللقاح الفطري، أذ غسلت بذور الدخن جيدا بالماء للتخلص من الأتربة والعوالق الأخرى، ثم نقعت في الماء لمدة 6 ساعات بعد ذلك جففت عند درجة حرارة المختبر ونقلت إلى دوارق زجاجية سعة 500 مل وبواقع 100 غم / دورق مع كمية قليلة من الماء المقطر المعقم.

أغلقت الدوارق بإحكام وعقمت بجهاز الموصدة Autovlave على درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 30 دقيقة وبعد أنخفاض درجة حرارة الدوارق لقحت بالفطر *M. phaseolina* وبواقع 5 أقراص (قطرها 0.5سم) لكل دورق أخذت من حافة مستعمرة الفطر بعمر 3 أيام بأستخدام ثاقب فليني معقم حضنت الدوارق على درجة حرارة 2 ±28 م° لمدة 15 يوماً مع مراعاة رج الدوارق بين فترة وأخرى لضمان توزيع اللقاح الفطري. أستخدم هذا اللقاح في تجربة الأصص.

اختبار كفاءة حامض السالسليك في تثبيط نمو الفطر الممرض *M. phaseolina* في الوسط الزرعي P.D.A

حضر محلول قياسي من حامض السالسليك (SA) بتركيز 1 غم / لتر وأخذت منه كميات معينة خلطت مع 100 مل من الوسط P.D.A. المعقم للحصول على التراكيز 0 و 100 و 150 و 200 و 250 ملغم / لتر ثم رجت جيدا لضمان تجانس الخليط وعقم الوسط بجهاز الموصدة ثم ترك ليبرد. بعدها صبت في أطباق بتري معقمة وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم أخذ من حافة مستعمرة حديثة النمو للفطر الممرض *M. phaseolina* ثم حضنت جميع الاطباق بدرجة حرارة 2 ±28 م° وبعد وصول نمو الفطر الممرض إلى حافة الطبق في معاملة المقارنة حسب معدل النمو القطري للفطر الممرض وحسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق معادلة About الواردة في شعبان والملاح (7):-

$$\%\text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل النمو في معاملة المقارنة} - \text{معدل النمو في معاملة المعاملة}}{\text{معدل النمو في معاملة المقارنة}} \times 100$$

أجسام حجرية محملة على أعواد الثقاب

أستخدمت أعواد الثقاب لتحضير اللقاح الفطري وذلك بأجراء قطع حاد في الجهة المستخدمة من كل عود بأستخدام شفرة حادة رطبت الأعواد بمحلول سكري 10% سكروز ووضعت في دوارق زجاجية سعة 250 مل ثم عقمت بجهاز الموصدة Autoclave عند درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 30 دقيقة وبعد أنخفاض درجة حرارة الدوارق إلى درجة حرارة الغرفة نقل إلى كل دورق 2 قرص بقطر 0.5 سم أخذ من حافة مزرعة فطرية بعمر 72 ساعة ثم حضنت الدوارق لمدة أسبوعين على درجة حرارة 2 ±28 م° حيث أصبحت جميع أعواد الثقاب مغطاة بالأجسام الحجرية للفطر *M. phaseolina* (فياض ، 1997). أستخدم هذا النوع من اللقاح في دراسة تأثير تراكيز مختلفة للحامض على أنبات الأجسام الحجرية للفطر.

تأثير تراكيز حامض السالسليك المختلفة في إنبات الأجسام الحجرية

تم تحضير تراكيز الحامض 100 و 150 و 200 و 250 ملغم / لتر ماء مقطر معقم. نقلت عشر أجسام حجرية قشطت من أعواد الثقاب المنماة عليها بواسطة أبره دقيقة بالاستعانة بمجهر تشريح ووضعت في كل تركيز من حامض السالسليك على انفراد لمدة دقيقة واحدة ثم زرعت في أطباق بتري تحتوي على الاكار المائي المعقم Water agar (20%) أما معاملة المقارنة فقد وضعت الأجسام الحجرية في الماء المقطر المعقم بنفس الفترة الزمنية ثم زرعت في أطباق بتري تحتوي على أكار الماء المعقم حضنت الأطباق بدرجة حرارة حرارة 2 ±28 م° لمدة 48 ساعة استخدمت ثلاث مكررات لكل معاملة ثم حسبت النسبة المئوية للأجسام الحجرية النابتة.

تجربة الأصص

أستخدمت في هذه التجربة تربة مزيجية ، عقمت التربة بأستخدام مادة الفورمالين التجاري 40% حضر المحلول 50/1 فورمالين وأستخدم بنسبة 3 لتر/ م^3 تربة (8) وبعد عشرة أيام من التعقيم وضعت في أصص بلاستيكية (قطرها 20سم وأرتفاعها 25 سم) وبكميات متساوية ثم وزعت إلى ست معاملات في ثلاث مكررات (ثلاث أصص) لوثت تربة خمسة معاملات بلقاح الفطر *M. phaseolina* المحضر في الفقرة (2) بنسبة 1% وزن / وزن (27) وقد قسمت المعاملات كالآتي:-

1- تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* فقط.
2- تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* مضاف إليها 50 مل من تركيز الحامض (100 ملغم/ لتر).
3- تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* مضاف إليها 50 مل من تركيز الحامض (150 ملغم/ لتر)
4- تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* مضاف إليها 50 مل من تركيز الحامض (200 ملغم/ لتر)
5- تربة ملوثة بالفطر *M. phaseolina* مضاف إليها 50 مل من تركيز الحامض (250 ملغم/ لتر)
6- معاملة المقارنة (Control)

زرعت السنادين (الأصص) ببذور زهرة الشمس (صنف محلي) بمعدل 15 بذرة لكل أص سقيت السنادين جيدا بالماء بمعدل 150 مل، بعد أنبات البذور حسبت النسبة المئوية للأنبات وبعد أسبوع من الانبات خفت النباتات إلى ثلاثة نباتات لكل أص وكانت السنادين المعاملة بتراكيز حامض السالسليك يضاف لكل منها 50 مل من تركيز الحامض المعاملة به كما يتم سقي السنادين بالماء وحسب حاجة النباتات للماء. وبعد انتهاء التجربة أخذت القياسات التالية للنباتات النامية:

1- النسبة المئوية للإصابة.
2- الوزن الجاف للمجموع الخضري.
3- الوزن الجاف للمجموع الجذري.

تقدير أعداد الأجسام الحجرية للفطر *M. phaseolina* في التربة

لمعرفة التأثيرات الناتجة من المعاملة بتراكيز مختلفة من حامض السالسليك (SA) أخذ غرام واحد من التربة المحيطة بجذور النباتات في نهاية التجربة وتم تقدير أعداد الأجسام الحجرية وفق طريقة Popavias و Klag (36) وتتلخص هذه الطريقة بمزج 10 غم من التربة في 100 مل من الماء المقطر المعقم ثم يمرر المزيج خلال منخلين قطر فتحاتها 177 و 44 مايكرون وضعا فوق بعضهما البعض على التوالي ، تم التخلص من المتبقيات في المنخل الأول أما متبقيات المنخل الثاني فقد غسلت في ماء جار لدقيقة واحدة نقلت بعدها إلى بيكر سعة 250 مل يحتوي 100 مل من محلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 0.5 % لمدة 5 دقائق، ثم غسلت لدقيقة واحدة بماء مقطر معقم على منخل قياس 44 مايكرون لإزالة بقايا محلول هايبوكلورات الصوديوم ثم أعيد تعليق الراسب بـ 100 مل ماء مقطر معقم للحصول على تخفيف 1/ 10 بعد ذلك نقل 1 مل من المزيج إلى طبق بتري وصب فوقه الوسط الغذائي المعقم وحضن بدرجة حرارة 2 ±28 م° ولمدة 48 ساعة وحسب عدد المستعمرات النامية لكل معاملة.

التحليل الأحصائي

نفذت جميع التجارب المختبرية بأجراء التصميم العشوائي الكامل C.R.D وتم تحويل جميع النسب المئوية إلى قيم التحويل الزاوي Arcsin transformation وتمت مقارنة المتوسطات حسب طريقة أقل فرق معنوي معدل .R.L.S.D وعلى مستوى أحتمال 0.01% (6).

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص الفطر الممرض *M. phaseolina*

عزل الفطر *M. phaseolina* على الوسط الغذائي تم مراقبة نمو الخيوط الفطرية التي تميزت بأنها شفافة في البداية تحولت تدريجياً إلى اللون الرمادي مع تقدم العمر ثم تكونت أجسام حجرية صغيرة Microsclerotia سوداء اللون دائرية إلى متطاولة منتظمة أو غير منتظمة الشكل وبناءاً على هذه الصفات وأعراض أصابه العائل وأعتمادا

على الصفات التشخيصية الأخرى تم تشخيص الفطر على أنه *Macrophomina phaseolina* حسب Sinclair (41) وأصبحت العزلة سوداء بتقدم العمر.

اختبار القابلية الأمراضية للفطر *M. phaseolina*

أظهرت نتائج جدول (1) أختبار القدرة الأمراضية للعزلة اختزالا في النسبة المئوية لأنبات البذور حيث بلغت هذه النسبة 66.66% في حين بلغت النسبة المئوية لانبات البذور في معاملة المقارنة 86.66% كما بلغت النسبة المئوية لاصابة بادرات زهرة الشمس 63.3% وقد تميزت أعراض الأصابة بأصفرار الأوراق السفلى للنبات ومع تقدم الأصابة أصفرت جميع الأوراق مع وجود تلون في قاعدة الساق. أن هذه النتائج تتفق مع نتائج أخرى فقد أشارة بنيان (1) إلى أن عزلات الفطر *M. phaseolina* (1) و (2) قد ثبطت النسبة المئوية لأنبات البذور حيث بلغت 46.66 و63.33% على التوالي، كما سببت هاتين العزلتين نسبة أصابة لبادرات زهرة الشمس بلغت 53.3 و 63.3 % على التوالي وسببت أصفرار في الاوراق السفلى للنبات (5). وسببت العزلات المأخوذة من جذور نبات السمسم وفول الصويا تعفن للبذور (9). أوضح Dhingra و Sinclair (15) إلى قدرة عزلات الفطر *M. phaseolina* في أحداث مرض التعفن الفحمي على نبات فول الصويا. وسببت عزلات مختلفة للفطر *M. phaseolina* أختلاف في القدرة الأمراضية في أصابة نباتات زهرة الشمس وأحداث مرض التعفن الفحمي (26). وقد أعزي ذلك إلى حدوث طفرات في عزلات الفطر الممرض (38).

جدول (1): تأثير الفطر الممرض *M. phaseolina* في كل من النسبة المئوية للأنبات وأصابة نبات زهرة الشمس

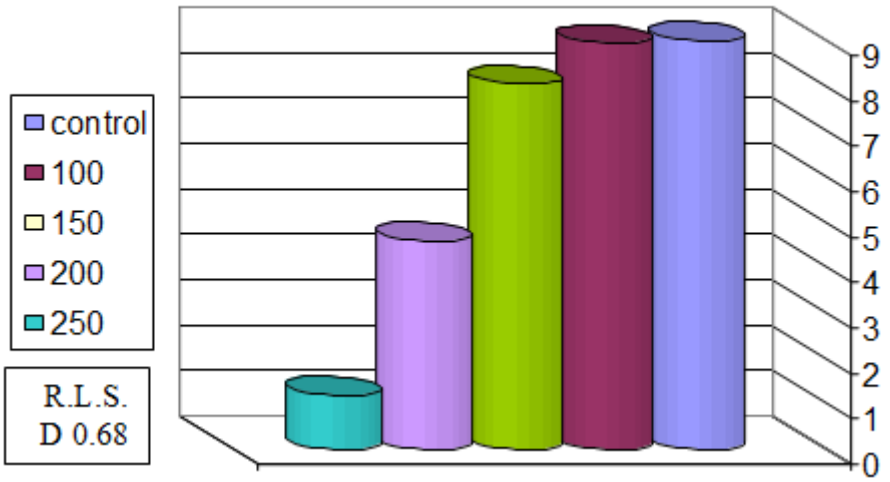
المعاملة	% للأنبات	% للأصابة
معاملة الفطر الممرض	66.66	63.30
معاملة المقارنة	86.66	-
$R.L.S.D_{0.01}$	16.81	

أختبار كفاءة حامض السالسيك في تثبيط نمو الفطر *M. phaseolina* في الوسط الزرعي

أظهرت النتائج المبينة في الشكل (1) ان التراكيز المنخفضة من حامض السالسليك ليس لها تأثير مثبط لنمو الفطر *M. phaseolina* في الوسط الزرعي أما التراكيز العالية من حامض السالسليك كان لها تأثير مثبط لنمو الفطر الممرض اذ بلغ معدل نمو الفطر عند التركيزين 200 و 250 ملغم /لتر 4.6 و 1.2 سم على التوالي.

أن حامض السالسليك يستخدم بتراكيز منخفضة لاتتجاوز 100 جزء بالمليون فلذلك فأن خفض المرض لا يعود إلى تأثير الحامض المباشر على الفطر الممرض أنما إلى آليات متنوعة تحدث داخل النباتات المعاملة وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره Ozgonen واخرون (35) إذ أشار إلى تأثير حامض السالسليك (SA) في تثبيط نمو الممرض *Fusarium oxysporum* عند التراكيز العالية حيث ثبط نمو الفطر تماما عند التركيز 0.6 Mµ

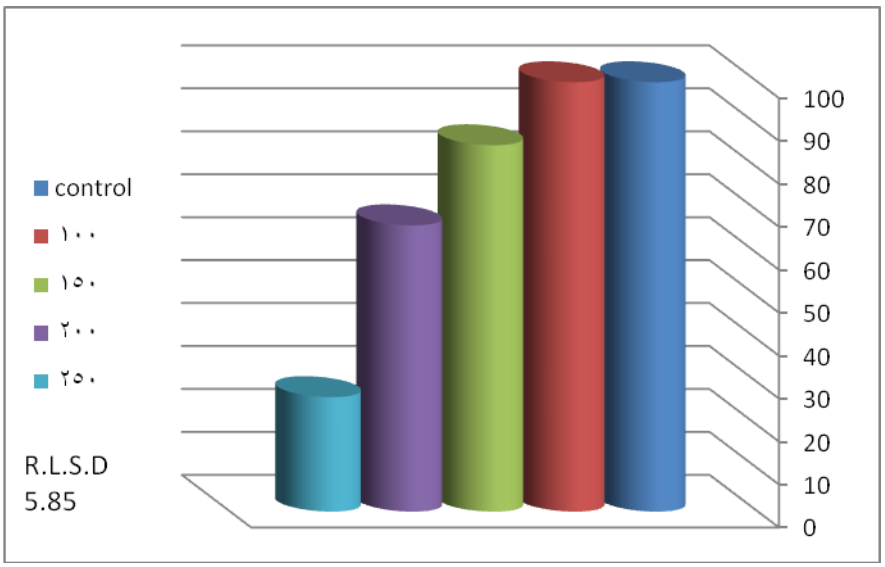
كما أشار حسان (4) إلى قدرة حامض السالسليك في تثبيط نمو الفطر الممرض *P. aphandermatum* عند التركيز 100 ملغم / لتر في الوسط الزرعي P.D.A. وفي دراسة أخرى اجراها جاسم (2) اثبت فيها على ان التراكيز العالية من حامض السالسليك ثبطت نمو الفطر *R. solani* في الوسط الزرعي P.D.A. بشكل كامل.



شكل (1) تأثير تراكيز مختلفة من حامض السالسليك في نمو الفطر الممرض *M. phaseolina*

تأثير تراكيز مختلفة من حامض السالسليك (SA) في النسبة المئوية لإنبات الأجسام الحجرية الفطر *M. phaseolina* على الوسط P.D.A.

أظهرت نتائج الشكل (2) أن التركيز المرتفعة من حامض السالسيلك (200 و 250 ملغم /لتر) قد أثرت بشكل كبير في خفض النسبة المئوية لأنبات الأجسام الحجرية الفطر *M. phaseolina* حيث بلغت هذه النسبة 66.67% و 26.67% على التوالي كما بلغت هذه النسبة عند التركيز 150 ملغم / لتر 85.33 % وأختلفت معنويا عن المعاملة المقارنة ومعاملة التركيز 100 ملغم /لتر والتي بلغت النسبة المئوية فيهما 100%. قد يعود سبب انخفاض النسبة المئوية لإنبات الأجسام الحجرية إلى زيادة تركيز حامض السالسليك SA في الوسط الغذائي ويحدث تسرب إلى داخل الجسم الحجري أو حدوث قتل لأنبوب الإنبات المتكون بداية عملية أنبات الجسم الحجري مما يؤدي إلى فشل الإنبات وقتل الجسم الحجري، أن زيادة التركيز في حامض السالسليك وتجمعه داخل أجسام الكائنات الحية يؤدي إلى حدوث تسمم لهذه الكائنات وذلك لتحول SA إلى مركب سام هو Glucoside (SA) (SAG) حيث أن هذا المركب ليس للكائن الحي القدرة على تحطيمه والتخلص منه إلى خارج الجسم. أن نتائج هذه التجربة تتفق مع دراسة قامت بها Kataria واخرون (29) أستخدمت فيها محاليل كيمائية مثل 5-nitro salicylic acid و O-Acetyl salicylic acid بأعتبارها مواد محفزة للمقاومة المستحثة في النبات حيث أظهرت كفاءة في تثبيط نمو الفطر *R.solani* في الوسط الزرعي عند أستخدامها بتراكيز (2.5 و 5 و10 مليلتر).



شكل (2): تأثير تراكيز مختلفة من حامض السالسليك في النسبة المئوية لأنبات الأجسام الحجرية للفطر *M. phaseolina*

تأثير المعاملة بحامض السالسليك (SA) في النسبة المئوية للإصابة

أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى أن جميع تراكيز حامض السالسليك قد أثرت بشكل معنوي في خفض النسبة المئوية لإصابة محصول زهرة الشمس بالفطر الممرض *M. phaseolina* (جدول 2) حيث بلغ أعلى معدل لخفض النسبة المئوية للإصابة 16.96 % عند التركيز 250 ملغم / لتر في حين كان معدل هذه النسبة في معاملة الفطر الممرض قد بلغت 64.60%. ان حامض السالسليك (SA) يعتبر أحد الهرمونات النباتية (39) والذي يلعب دور كبير في خفض الأضرار المتسببة عن الممرضات المختلفة مثل الفطريات والبكتريا والفايروسات كذلك يعتبر عامل مهم في حث المقاومة الجهازية المكتسبة (ASR) ضد الممرضات المختلفة (34). فقد أشارت عدة بحوث إلى أن أستخدام حامض السالسيلك (SA) يسبب حث المقاومة في النباتات كما في نبات Arabidopsis والتبغ ضد الأصابة بالفطريات والفايروسات (30) حيث يسبب حث مجموعة من الجينات المسؤولة عن آليات الدفاع في النبات (44).

أن نتائج هذه التجربة تتفق مع نتائج أخرى فقد وجد جاسم (2) أن معاملة نباتات الباقلاء بحامض السالسليك أدى إلى تحفيز المقاومة الجهازية ضد الفطر *R. solani* كما بين جبر وحسون (3) أن النسبة المئوية لإصابة درنات البطاطا بالفطر *R. solani* قد بلغت 100% في معاملة الفطر الممرض في حين أنخفضت هذه النسبة 27% في النباتات المعاملة بحامض السالسليك. كما وجد أن معاملة نباتات الطماطة بالتركيزين 0.5 – 1 Mµ من حامض الساليسلك قد خفضت من شدة أصابة نباتات الطماطا بمرض الذبول الفيوزارمي Fusarium wilt المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* حيث بلغت هذه النسبة 43.75 % و 25% على التوالي قياسا بمعاملة الفطر الممرض التي بلغت فيها 62.50% (35) كما وجد Hadi و Balali (22) أن رش نباتات البطاطا بحامض السالسليك

بتركيز 0.5 Mµ أدى إلى خفض شدة الأعراض المرضية بنسبة 72%.

تأثير حامض السالسليك (SA) على اوزان المجموع الخضري والجذري الجاف

أشارت النتائج (جدول 2) إلى ان التراكيز العالية لحامض السالسليك (200–250 ملغم / لتر) لها تأثير سلبي على نشاط الفطر الممرض *M. phaseolina* مما أدى أنخفاض تاثيره على النباتات المعاملة بحامض السالسليك كما أدى إلى زيادة الوزن الجاف لكل من المجموع الخضري و الجذري بشكل معنوي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض حيث بلغ الوزن الجاف للمجموع الخضري عند التركيزين 200 و 250 ملغم / لتر في المعاملتين 0.336 و 0.363 غم / نبات على التوالي في حين كان معدل هذا الوزن في معاملة الفطر الممرض 0.24 غم / نبات كما وبلغ الوزن الجاف للمجموع الجذري عند نفس التركيزين 0.018 و 0.021 غم / نبات على التوالي بينما أنخفض معدل الوزن في معاملة الفطر الممرض إلى 0.013 غم / نبات. أن انخفاض معدل الأوزان الجافة للمجموع الخضري والجذري يعود إلى قدرة الفطر *M. phaseolina* انتاج منظم النمو (IAA) Indol Acetic Acid وربما يزيد هذا من درجة أستجابة النباتات للأصابة بالمرض (24).

كما أشارت الدراسات الحديثة إلى أن إصابة النباتات بالممرضات تؤدي إلى خفض مستويات حامض السالسليك موضعيا وجهازياً داخل النبات وبالتالي زيادة شدة الاصابة بالمرض (30). كما برهنت دراسات أخرى على أن الإصابة بفطريات التربة ومنها الفطر *M. phaseolina* قد قللت من أطوال السيقان والجذور وخفضت من أوزان النباتات وقللت من أنتاجها (19 و 49). أن حث المقاومة الجهازية في النبات تعتمد على حامض السالسليك الذي يعتبر الهرمون النباتي الذي يلعب الدور الرئيسي في تحفيز أشارات الدفاع في النبات (39).

أن هذه النتائج تتفق مع ما ذكره Sorwar واخرون (43) من أن معاملة بذور الحمص بالتراكيز (µM 1-1.5) من حامض السالسليك أدى إلى خفض الإصابة بمرض الذبول الفيوزارمي Fusarium wilt وإلى زيادة الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض، وفي دراسة أخرى وجد أن رش نباتات البطاطا بالتراكيز (Mµ 0.2-0.5) من حامض السالسليك ادى إلى زيادة أعداد درنات البطاطا وزاد من أوزان الدرنات وقلل من تاثير الفطر *R. solani* (22). كما تتفق النتائج مع ما ذكره جاسم (2) من أن نباتات الباقلاء المعاملة بحامض السالسليك قد حسنت من معظم مؤشرات النمو المدروسة وثبطت نشاط الفطر الممرض *R. solani*.

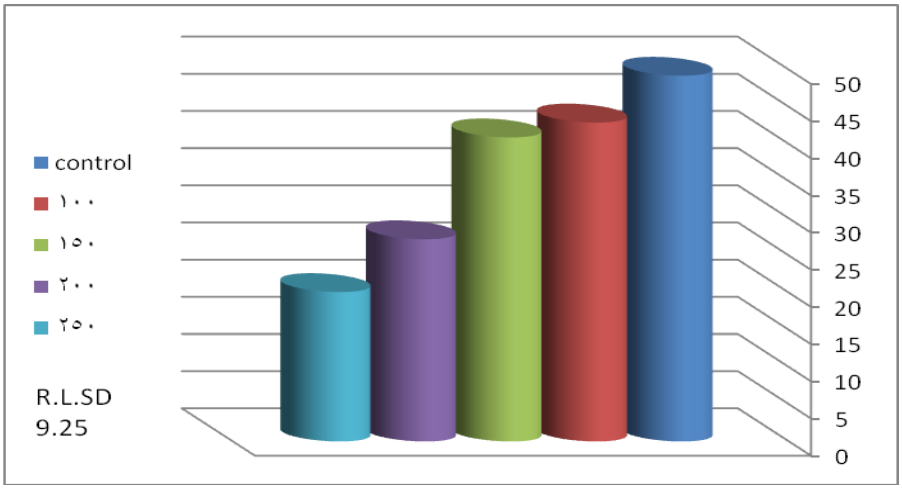
جدول (2): يوضح تأثير حامض السالسليك في بعض مؤشرات النمو لنبات زهرة الشمس المصاب بالفطر *Macrophomina phaseolina*

المعاملة	النسبة المئوية للإصابة %	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غم)	الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم)
الفطر الممرض	64.66	0.013	0.240
فطر + 100 ملغم / لتر	54.40	0.015	0.243
فطر + 150 ملغم / لتر	30.46	0.016	0.283
فطر + 200 ملغم / لتر	23.80	0.018	0.336
فطر + 250 ملغم / لتر	16.96	0.021	0.363
نبات غير معامل	0.00	0.017	0.330
R.L.S.D	4.65	0.005	0.042

*كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات

تقدير أعداد الأجسام الحجرية للفطر *M. phaseolina*

أظهرت نتائج التجربة المبينة كما في الشكل (3) أن التراكيز المرتفعة من حامض الساليسليك تأثير كبير في خفض أعداد الأجسام الحجرية Sclerotia المتكونة على النباتات المصابة إذ بلغت عند التركيزين 200 و 250 ملغم / لتر 20.1 و 27.2 جسم حجري / غم تربة من التربة المحيطة بالجذور في حين لم تظهر التراكيز المنخفضة من الحامض اي اختلاف معنوي مع معاملة السيطرة والتي بلغ عدد الأجسام الحجرية لكل غرام تربة 49.2 جسم حجري. وجد أن آلية عمل حامض السالسليك في تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة في النبات Acquarid Systemic Resistance (ASR) تكمن في تحفيز الجينات المشفرة لبعض البروتينات ذات العلاقة بالمراضية التي يطلق عليها Pathogencesis Related Protein (PRP) مثل أنزيمات Chitinase و 1,3 B- Glucanases (12 و 17). كما وجد إن (SA) يؤدي إلى تجمع بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وأنزيم Peroxidase الذي له تأثير كبير في تحلل جدران الخلية الفطرية (32).



شكل (3): تأثير تراكيز مختلفة من حامض السالسليك في عدد الأجسام الحجرية للفطر *M. phaseolina*

المصادر

1- بنيان، ليلى عبد الرحيم (2007). تأثير بعض العوامل البيئية في إصابة زهرة الشمس بالفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Gold واستخدام بعض العوامل الإحيائية في المقاومة. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة البصره.

2- جاسم، ناجي سالم (2007). دراسة مرض تعفن جذور وقواعد سيقان محصول الباقلاء المتسبب عند الفطر *Rhizostonia salani* (Kuhn) في محافظة البصرة ومكافحته إحيائيا وكيميائيا. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة البصرة، 123 ص.

3- جبر،كامل سلمان وإبراهيم خليل حسون (2008). تقويم فعاليه بعض مركبات الاستحثاث الكيميائية والعوامل الإحيائية في مقاومة مرض تقرح ساق البطاطا تحت ظروف البيت الزجاجي والحقل. مجلة وقاية النبات العربية. 50.26 -57.

4- حسان، آلاء خضير (2005). تقوم فعاليه بعض عوامل الاستحثاث والمبيدات في حماية نبات الخيار من الإصابة بالفطر *Pythium aphanidermatum* رسالة ماجستير – كلية الزراعة –جامعة بغداد.108ص.

5- داغر، غسان مهدي (2008). تأثير مستخلصات بعض النباتات والبسترة الشمسية في اصابة زهرة الشمس (*Helianyhu annus* L.) بالفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi)Goid. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة البصره.118ص.

6- الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (1980) تصميم وتحليل التجارب الزراعية، كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل – دار الكتب والطباعة والنشر ، 486 صفحة.

7- شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح (1993). المبيدات. مطبعة جامعة الموصل 250ص.

8- طواجن،احمد محمد موسى(1975). بيئة البيوت الزجاجية،مطبعة جامعة البصرة 571_573 ص.

9- العاني، ناهده مهدي صالح (1988). دراسات مورفولوجية وفسيولوجية عن الفطر *Macrophomina phaseolina* المسبب لمرض التعفن الفحمي. رسالة ماجستير_كلية الزراعة _ جامعة بغداد.

10- فياض، محمد عامر . (1997). استجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهره الشمس *Helianthus annus L* للأصابة بالفطر Tassi *Macrophomina phaseolina* ودور بعض

الطرق الإحيائية في المقاومة. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

11- Almeida, A. M.R., Amorim, L., Filho, A. B., Jorres., Farias, J. R., Pinto, M. C. and Valen, N.(2003). Progress of soybean charcoal rot under tillage and no tillage system in Brazil. Fito pathologia bra. vol. 28 (2) : 115-122.

12- Chen, Z., Silva, H., and Klessing, D. F.(1993). Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by Salicylic acid. Sci 262: 1883-1885.

13- Delaney, T. P., Friedrich, L. and Ryals, J. A.(1999). Arabidopsis signal transduction mutant defection in chemically and biologically induced disease resistance. Proceeding of the National Academy of Sciences USA, 92: 6602-6606.

14- Delaney, T. P.; Uknes, S. and Vernooij, B. (1995). A center rol of salicylic acid in plant disease resistance. Science, 266: 1247-1250.

15- Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. (1977). An annotated Bibliography of *Macrophomina phaseolina*. 1905- 1975. Brazil Universidad fedral de vicosa. 244pp.

16- Doke, J. A(ed). (1983). *Helianthus annus* L. in Hand book of energy crops . P:105_114. Purdue University center for New crops and production.

17- Durner, J., Shah, J.and Klessing ,D.F.(1997).Salicylic acid and diseas resistance in plants. Trends in plant Science.2:266-274.

18- Durrant, W.E. and X. Dong.(2004). Systemic acquired resistance. Ann. Rev Phytopathol., 42: 185-209.

19- El. Gali, Z. I. (2003). Histopathological and biochemical studies on phaseolus vulgaris seeds in fected by some seed – boren fungi. Ph. D. Thesis Submitted to University of Alexandria, Egypt. 300pp.

20- Gaffney, T., Friedrich, L. and Vernooij, B.(1993). Salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Sci, 261: 347-363.

21- Gill, S., Dutky. E., Balge. R., Macla chlan. W. and Klick, S.(2003). Producing annual sunflower as cut flower. College of Agriculture and Natural resources. Univ. Maryland . Extension poblication fs. 686: 1-7.

22- Hadi, M. R. and Balali, G. R. (2010). The effect of Salicylic acid on the reduction of *Rhizoctonia solani* damage in the Tubers of Marfona Potato Cultivar. American-Eurasian, J. Agric and Environ. Sci., 7(4): 492-496.

23- Hayat S, A.; Ahmad B. A. (2007) Salicylic acid: Biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. (C.F) S, Hayat., A, Ahmad, eds, Salicylic Acid : A Plant Hormone. Springer, Dordrecht, pp 1-14.

24- Hodges, C. S.(1962). Black rot of pine seedlings. Phytopathology, 52: 210-219.

25- Inbar, M., Doostdar, H., GERLING, D. and Mayer, R. T.(2001). Induction of systemic resistance in cotton by BTH has a negligible effect on phytophagous insects. Entomologia Experimentalis of Application, 99: 65-70.

26- Jimenz, Z. Dias, R. M. Blanco-Lopez., M. A. and Sackston, N. E. (1983). Incidence and distribution of charcoal rot of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* in Spin. Plant disease, 67: 1033-1036.

27- Jones, R. W; Pttit, R. E. and Taber, R. A.(1984). Lignite and stillage : Carrier and substrate for application of fungal biocontrol agent to the soil. Phytoputhology .74:1167_1170.

28- Karban, R. and Baldwin, I.T.(1997). Induced responses to herbivory, Chicago University Press, Chicago.

29- Kataria, H. R., Wilmasmeier. B., Buchenauer, H. (1997). Effecacy of resistance free radical scavengers and antagonistic strain of *Pseudomonas flourescens* for control *Rhizoctonia solani* AG-4 in bean and cucumber. Plant Pathology 64:879-909.

30- Malamy, J. and D. F. Klessing. (1992). Salicylic acid and plant disease resistance. Plant. J. 2(5): 643-654.
31- Maleck, K., Levine, A. and Eulgem, T. (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thalrana* during systemic ecquired resistance. Nature Genetics, 26: 403-410.
32- Matheron, M.(2001). Modes of Action for plant disease management chemistries. Annual Desert Vegetable Crop workshop.
33- Mauch-Mani, B. and Metraux, J. P. (1998). Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. Annals of Botany, 82: 535-540.
34- Nie, X., (2006). Salicylic acid suppresses Potato virus Y isolate N. Induced symptoms in tobacco plants. Phytopatholo. 96: 255- 263.
35- Ozgnen, Hulya., Mchemt Bic, ici and Ali erkilic. (2001). The Effect of salicylic acid and Endomoycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* on plant Development of Tomatoes and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici.* Turk. J. Agric. 25: 25-29.
36- Papavizas, G. C. and Klag, N. G.(1975). Isolation and guantitative determination of *Macrophomina phaseolina* from soil. Phytopathology , 65: 182-187.
37- Popova, L., T. Pancheva. and A. Uzunova. (1997) Salicylic acid : Properties ,Biosynthesis and Physiological role.Bul G. J. Physiol . 23(1-2):85-93.
38- Purkayastha, Kaur, B., Dilbaghi, N., and Chandhury, A. (2006). Characterization of *Macrophomina phaseolina* the charcoal rot pathogen of cluster bean, using conventional techniques and PCR based molecular marker. Plant pathology,55: 106-116.
39- Raskin, I.(1992.b) Salicylate a new plant hormone. Plant physiology. 99:799-803.
40- Raskin, I.(1992a). Role of salicylic inplants. Annu. Rev. Plant. Physiology . 43:439-463.
41- Sinclair, J.B. ed (1982). Compendium of sobean disease 2ed. American phytopathologycal Society. 104 pp.
42- Sinclair. J. B. (1984). Root and stalk rot caused by *Macrophomina phaseolina* in Legumes and other crops. Proceeding of the consultative group discussion on research needs and strategic for control of sorghum root and stalk rot disease (1983).India, ICRISAT.
43- Sorwar. N., Zahid CH. M. H. Haq. I.and Jamil F. F.(2005). Inducation of systemic resistance in chickpea against fusarium wilt by seed treatment with salicylic acid and bion. Pak . J. Bot. 37(4): 989-995.
44- Staskawicz, B. J., Ausubel, F. M., Baker., B. J., Ellis, J. G., and Jones, J. D. G. (1995). Molecular genetics of plant disease resistance. Sci. 268: 661-667.
45- Sticher. L.; Mauch – Mani , Band Metraux, J. P. (1997). Systemic Acquired Resistance. Annual Review of phytology 35 : 235 – 270.
46- Su. G., Suh. S. O., Schnieder. R. W. and Russin. I. S. (2001).Host specialization in the charcoal rot fungus *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology .91:120_126.
47- Taiz, L. and Zeiger, E. (2002). Plant Physiology. Sunderland, MA: Sinauer. pp 690.
48- Wrather, J. A., Keniding , S. R. and Tyler, D. D. (1998). Tillage effects on *Macrophomina phaseolina* density and soybean yield. Plant Dis. 82:247-250.
49- Zamblin, L., and N. C. Schenk. (1984). Effect of *Macrophomina, Rhizoctonia, Fusarium*, and the mycorhaizal fungus *Glomus mussae* on nodulated and non-nodulated soybean. Reviw Plant Pathology, 64: 377.

Basrah J. Agric. Sci. 2012, 25(2): 58-71

Effect of Salicylic acid (SA) against the fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid and development of charecoal Rot disease on Sunflower *Helainthus annus L.*

Naji Salim Jassim; Jawadayn Talib AL-Kooranee
Department of Plant protection, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq

Abstract. The aim of the study was to evaluate the different concentration of Salicylic acid (SA)against the phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid the causal of charcoal Rot disease on Sunflower plants . The result showed that the inhibitory effect of (SA) on development of *M. phaseolina* increased linearly with increasing concentration, the colony diameter reduced to 4.6, 1.2 cm at 200, 250 mg\ L respectively. The same concentration of (SA) inhibited the germination of sclerotia to 66.67%, 26.67% respectively. The result showed that the different treatment of (SA) were effective in reducing the disease infection significantly the least infection was 16.96% when 250 mg \ L of (SA) was applied while at control was 64.6%. Result indicate that (SA) at 200, 250 mg\L increased dry weight of shoot to 0.336, 0.363 gm respectively and dry weight of root to 0.056, 0.063 gm respectively compared to control ones which is 0.24, 0.039 gm respectively and reduced the number of sclerotia which was 27.2, 20.1 sclerotial \ gm of Rhizosphere soil compared to control which is 49.2 sclerotial \ gm soil.