------مجلة علوم الرافدين، المجلد 26، العدد 1، ص63-73، 2017------

حث مقاومة نباتات الباقلاء لفطر *Alternaria alternata* باستخدام فوسفات البوتاسيوم و بيروكسيد الهيدروجين

هبة هادي طه **نديم احمد رمضان**

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم / جامعة الموصل

(أستلم 31/ 7 / 2013 ؛ قُبل 25 / 11 /2013)

الملخص

تم دراسة تأثير تراكيز مختلفة من مادتي فوسفات البوتاسيوم (K_2HPO_4) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) في نمو مايسليوم الفطر *Alternaria alternata* المسبب لمرض تبقع أوراق الباقلاء وأظهرت النتائج إن التراكيز (100 و200 و300 و400 ملي مول) المستخدمة من كلا المادتين ثبطت معنويا نمو الفطر وتناسبت طرديا مع زيادة التركيز. تفوقت مادة بيروكسيد الهيدروجين على فوسفات البوتاسيوم وثبط الفطر كليا عند التركيز300 ملي مول. وكانت مادة بيروكسيد الهيدروجين أكثر فعالية من مادة فوسفات البوتاسيوم عند التركيز 300 ملي مول (100 % و60.7% على التوالي).

ان استخدام مادة بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 300 ملي مول أدى إلى زيادة في الوزن الطري للنباتات المعاملة (7.0 غم) واختلفت معنويا عن النباتات الملقحة بالفطر (4.4 غم) ولم تختلف معنويا عن نباتات المقارنة (5.8 غم) وكذلك زيادة في الوزن الجاف وارتفاع النباتات في حين اختلف معنويا محتوى الكلوروفيل في النباتات المعاملة بالمادة عن نباتات المقارنه والنباتات الملقحة بالفطر *A. alternata* وان استخدام هذه المادة أدى الى خفض شدة الإصابة كليا (0.0) واختلفت معنويا عن جميع المعاملات من ضمنها استخدام فوسفات البوتاسيوم ولم تختلف القيمة معنويا مع النباتات المعاملة بالمبيد نيم، وكان لتأثير استخدام فوسفات البوتاسيوم بتركيز 400 ملي مول تأثير أقل من بيروكسيد الهيدروجين على الوزن الطري والجاف وطول المجموع الخضري ومحتوى الكلوروفيل وشدة الإصابة. ان الصنف المحلي أكثر استجابة من الصنف الفرنسي عند المعاملة بمادة بيروكسيد الهيدروجين.

الكلمات الدالة: المقاومة المستحثة، *Alternaria alternata*، نباتات الباقلاء، بيروكسيد الهيدروجين، أنزيم البيروكسيديز، أنزيم الفينيل الالنين امونيوم لاييز.

Induction of Broad Bean Plants Resistance Against *Alternaria alternata* Using K_2HPO_4 and H_2O_2

Hiba H. Taha **Nadeem A. Ramadan**

Department of Biology / College of Science / University of Mosul

ABSTRACT

The effect of different concentrations of K_2HPO_4 and H_2O_2 was tested on the mycelial growth of *Alternaria alternata* the causal agent of leaf spot disease of broad bean. The results indicated that all tested concentrations of the two materials (100, 200, 300, 400) mMol gave significant inhibition with

the increase of concentration. The results also showed an increase in the activity of H_2O_2 upon and caused complete inhibition to the fungal growth at the concentration of 300 mMol (100 and 60.7%) respectively.

In greenhouse experiments H_2O_2 caused a higher increase in shoot fresh and dry weight, high length, chlorophyll percentage, and complete significant reduction in disease severity (0.0) of the treated plant. and low activity of K_2HPO_4 in comparison with H_2O_2. The resistance of plants increased with the increase of the enzymes activity of Peroxidase, Catalase and Phenylalanine ammonia lyase. The local variety was more responsive than the French variety when treated with hydrogen peroxide substance.

Keywords: *Induced* resistance, *Alternaria alternata*, *Vicia faba* L., hydrogen peroxide, Peroxidase, Phenylalanine ammonia lyase.

المقدمة

تعد نباتات الباقلاء *Vicia faba* L. من المحاصيل الشتوية المهمة وتنتمي للعائلة الشفوية Fabaceae التي تزرع في العراق بكثرة وفي مناطق مختلفة منه إذ تستهلك الباقلاء خلال اشهر شباط واذار ونيسان، وتعد من المحاصيل المهمة للاستهلاك البشري وذلك لكونها غنية بالبروتينات والفيتامينات والاملاح المعدنية والألياف، وتزرع بكثرة لتلبية حاجة الناس لهذا المحصول (الكناني وفرج، 2010؛ محسن ومحسن، 2010). يرجع تدهور انتاج الباقلاء في العراق الى عوامل عدة منها امراض النبات، إذ شخص الفطر *Alternaria alternata* مسبباً رئيسياً لمرض تبقع الأوراق وهو من الفطريات المصاحبة للبذور وإنها مصدر الإصابة الأولية ومن الفطريات المتواجدة في التربة ويتميز هذا الفطر بقدرته على أنتاج أنواع مختلفة من السموم التي تساهم في غزو النسيج النباتي وإحداث الإصابة فضلا عن ان الفطر المذكور منتج سموم مسرطنة لخلايا الإنسان (جلال الدين وآخرون، 2006; جلال الدين، 2009).

تعتمد السيطرة على هذه الأمراض بصورة رئيسة على استخدام المبيدات الفطرية التي تعد وسائل ناجحة لكبح معظم أمراض النبات لكنها ذات تأثيرات خطرة على صحة الإنسان وتزيد من تلوث البيئة (Horinouchi *et al*., 2007). لذلك دعت الحاجة إلى استبدالها بوسائل أخرى صديقة للبيئة والسيطرة على أمراض النبات (Abd-El-Kareem, 2007) منها نظام المقاومة المكتسبة الجهازية Systemic Acquired Resistance (SAR) أو المقاومة المستحثة Induced resistance ضد المسبب المرضي وهي وسائل ناجحة للسيطرة على أمراض النبات، و تؤدي الى تأثيرات جوهرية على فسلجة المضيف تقود بشكل سريع إلى تفعيل جينات دفاعية متخصصة في النباتات الحساسة للإصابة بالمسببات المرضية (Houssien *et al*., 2010; Stout *et al*., 2006) وبالتالي تكوين العديد من المركبات الكيميائية والتركيبية استجابة لعامل خارجي غير مناسب كمسببات الأمراض وجزء من هذه المركبات أنزيم فينيل الانين امونيوم لاييز والكتاليز والبيروكسديز (Dixon and Lamb,1990) يعد أنزيم الفينيل الانين امونيوم لاييز ضروري لتكوين المركبات الفينولية التي هي من مركبات الايض الثانوي والمستخدمة في مقاومة النبات ضد المسببات المرضية، ويعمل الأنزيم على تحول مركب فينيل الانين الى Cinnamate and Trans-4-hydroxycinnamate التي تتحول فيما بعد الى مركبات فينولية مثل Chlorogenic acid وCaffeic acid وبعد ذلك تتكون المركبات الفينولية الحرة (Hyun *et al*., 2011; Nguyen *et al*., 2003) كما يعد انزيم البيروكسديز من الأنزيمات المشاركة في ميكانيكيات الدفاع النباتية حيث يعمل على تكوين مركبات تمنع اختراق المسبب المرضي للنسيج النباتي (Arun *et al*., 2010) ويعمل انزيم الكتاليز على تقليل تراكيز بيروكسيد الهيدروجين السامة المتراكمة في الخلايا النباتية عند تعرضها لمسببات الأمراض

هذه الظاهرة التي تزيد من مقاومة النبات ضد الممرضات بواسطة تطبيق العديد من العوامل (Byun and Choi, 2003) الإحيائية وغير الإحيائية تسمى بنظام المقاومة المستحثة induced resistance system في النباتات (Sarwar *et al*., 2005). تم التركيز على عدد من المستحثات الكيميائية لاستحثاث المقاومة لدى النبات ضد العديد من الفطريات الممرضة للجـذور (Abdel- Monaim, 2012). مثل استخدام حامض الساليسليك salicylic acid (SA) وحامض الجاسمونيك Jasmonic acid (JA) يوضح فرص جديدة للسيطرة على الأمراض الفطرية والبكتيرية كنظام حماية للمحاصيل الزراعية (El-Khallal, 2007) .

الهدف من البحث دراسة تأثير بيروكسيد الهيدروجين وفوسفات البوتاسيوم على استحداث المقاومة في نباتات الباقلاء ضد فطر *A.alternata* .

مواد وطرائق العمل

عزل المسبب المرضي

عزل الفطر *Alternaria alternata* من أوراق نباتات الباقلاء المصابة بالتبقع و قطعت الوريقات إلى قطع صغيرة بطول 1 سم تقريبا شملت حافة البقعة المصابة مع جزء من النسيج السليم و عقمت سطحيا بمحلول 1% هايبوكلورات الصوديوم لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم وجففت بين ورقتي ترشيح ثم نقلت بواسطة ملقط معقم إلى أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي أجار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) المعقم والمضاف له المضاد الحيوي Streptomycin (50 مايكروغرام /مل) حضنت الأطباق بالحاضنة في درجة 25 ±2 ^{O}م ولمدة 7 أيام. شخص الفطر الى الجنس باستخدام المفتاح التصنيفي (Barnett and Hunter, 2006) والى مرتبة النوع باستخدام المفتاح التصنيفي الذي ورد في المصدر (Ellis,1971).

تأثير تراكيز مختلفة من مادتي فوسفات البوتاسيوم وبيروكسيد الهيدروجين في نمو الفطر *A.alternata*

أخذت تراكيز مختلفة من مادتي بيروكسيد الهيدروجين وفوسفات البوتاسيوم (100، 200، 300 ،400) ملي مول أضيف كل تركيز إلى قناني زجاجية حاوية على100 مل من الوسط الغذائي PDA عقم الوسط بجهاز المؤصدة Autoclave على درجة حرارة 121 ْم وضغط 1.0 جو لمدة 20 دقيقة. أما معاملة المقارنة فتمثلت بالوسط الغذائي PDA الخالي من المواد المضاف له ماء مقطر فقط، صبت الأوساط في أطباق بتري معقمة قطر9 سم وبعد تصلب الوسط لقح بأقراص بقطر 0.5 ملم أخذت من حافة مستعمرة الفطر *A.alternata* بعمر 7 أيام بواسطة ثاقبة فلين ووضع في مركز الطبق، حضنت الأطباق بالحاضنة في درجة حرارة 25 ±2 ْم. تم حساب متوسط أقطار المستعمرات الفطرية بقياس متوسط قطرين متعامدين في مركز الطبق بعد وصول نمو الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق و بثلاث مكررات لكل معاملة. حللت النتائج إحصائيا واختبرت بطريقة دنكن المتعدد المدى.

استخرجت النسبة المئوية للتثبيط من المعادلة (El-Mougy, 2002) :

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{قطر المستعمرة في معاملة المقارنة} - \text{قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{قطر المستعمرة في معاملة المقارنة}} \times 100$$

تجربة البيت الزجاجي

عقمت تربة مزيجيه بجهاز المؤصدة Autoclave على درجة حرارة 121 ^{O}م وضغط 1.0 جو لمدة 20 دقيقة (كررت مرتين) ووضعت التربة المعقمة في أصص بلاستيكية سعة 1 كغم لوثت الطبقة السطحية للتربة المعقمة بالفطر *A. alternata* وبواقع نصف طبق / أصيص بعد تقطيعه بالخلاط الكهربائي مع كمية مناسبة من الماء المقطر المعقم (Saydam *et al.*,1973).

اختير صنفان من بذور الباقلاء تم الحصول عليها من الأسواق المحلية وهما (المحلي والفرنسي)، عقمت البذور بغمرها بمحلول 1% هايبوكلورات الصوديوم لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم وجففت بين ورقتي ترشيح ثم غمرت البذور لمدة ساعة بالمواد كل على حدى مبيد النيم (5 مل/ لتر) وبيروكسيد الهيدروجين وفوسفات البوتاسيوم بتركيز 300 و400 ملي مول على التوالي، نفذت تجربة عامليه وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة شمل العامل الأول صنفي الباقلاء المحلي والفرنسي، أما العامل الثاني فشمل:

1- معاملة المقارنة في تربة معقمة
2- معاملة المقارنة تحتوي على تربه ملقحة بالفطر.
3- تربه ملقحة بالفطر مع معاملة البذور بالمبيد نيم بتركيز 5 مل/لتر.
4- تربه ملقحة بالفطر مع معاملة البذور بمادة فوسفات البوتاسيوم.
5- تربه ملقحة بالفطر مع معاملة البذور بمادة بيروكسيد الهيدروجين.

تم زراعة 5 بذور/ أصيص / معاملة من المعاملات بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة وضعت جميع الأصص في البيت الزجاجي التابع لكلية العلوم / قسم علوم الحياة.

بعد الإنبات وظهور الورقة الثالثة رشت النباتات المعاملة بالمواد باستخدام نفس التراكيز من المواد وكررت المعاملة بالرش 3 مرات كل أسبوع مرة وبعد أخر رشة بحوالي 15 يوم تم اخذ القراءات التالية: أطوال المجموع الخضري و الوزن الطري للمجموع الخضري والوزن الجاف للمجموع الخضري قلعت النباتات من الأصص ونظفت من التربة العالقة بها ووضعت في أكياس نايلون ونقلت الى المختبر ووزنت ودونت النتائج، بعدها وضعت نباتات كل أصيص في كيس ورقي ووضعت بالفرن الكهربائي في درجة 70 ° م لمدة ثلاثة أيام حتى جفافها جفافا كاملا استخرجت من الفرن ووزنت ثانية لحساب الوزن الجاف لنباتات كل أصيص على حدا وحللت النتائج إحصائيا واختبرت بطريقة دنكن. وتم حساب شدة الإصابة حسب الدليل المرضي المكون من خمس درجات و كما يلي:

رقم الفئة (الدليل المرضي)	الفئات
(صفر)	خلو الوريقة من البقع
(1)	البقع تغطي 25 % او اقل
(2)	البقع تغطي 26- 50 %
(3)	البقع تغطي 51 – 75 %
(4)	البقع تغطي 76 – 100 % من المساحة الورقية

اتبعت طريقة Vakalunakis، (1990) لحساب شدة الإصابة على الأوراق و كمايلي:

شدة الإصابة = (عدد الأوراق من الفئة الأولى× دليلها المرضي+ عدد الأوراق من الفئة الثانية× دليلها المرضي + ..) / (العدد الكلي للأوراق × أعلى فئة)

تم قياس محتوى الكلوروفيل بواسطة جهاز حقلي لقياس الكلوروفيل (Chlorophyll -Meter Spad-502 من أنتاج شركة Konica Minolta -Japan) وكما تم قياس فعالية أنزيم البيروكسيديز و أنزيم الكتاليز وأنزيم الفينيل الانين امونيوم لاييز. وحللت النتائج إحصائيا واختبرت بطريقة دنكن المتعدد المدى.

قياس فعالية أنزيم البيروكسيديز

اخذ 0.5 غم من الوريقات لكل معاملة وسحقت الوريقات مع 2 مل من المحلول المنظم الفوسفاتي ذي الأس الهيدروجيني 6 في هاون خزفي، حضر المحلول المنظم الفوسفاتي مسبقا من مزج محلولي NaH_2PO_4 وNa_2HPO_4 بتركيز 0.1 مولاري لكل منهما ووضع المزيج في أنابيب اختبار سعة 10 مل، خضعت الأنابيب إلى عملية انتباذ بسرعة 4000 دورة/ دقيقة مدة 15 دقيقة، حفظ الراشح على درجة صفر درجة مئوية لحين أجراء فحص فعالية أنزيم البيروكسيديز.

قيست فعالية انزيم البيروكسيديز بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer (Hettich IVD CE– Germany) وذلك بوضع خليط مكون من 1مل من الراشح مع 1مل من بيروكسيد الهيدروجين بتركيز20% و1مل من مادة الكاتيكول بتركيز 1% ومتابعة التغير في امتصاص الضوء على طول موجي 470 نانومتر، بأخذ معدل ثلاثة مكررات (Houssien *et al*., 2010).

قياس فعالية انزيم الكتاليز

اخذ 2 غم من أوراق كل معاملة وسحقت الأوراق مع داريء الفوسفات ذي الأس الهيدروجيني 7 في هاون خزفي بنسبة 1:2. نقل مزيج الأوراق مع المحلول المنظم الفوسفاتي الى أنابيب اختبار سعة 10 مل، خضعت الأنابيب لعملية انتباذ بسرعة 4000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة، حفظ الراشح في درجة صفر درجة مئوية لحين إجراء فحص فعالية الكتاليز.

قيست فعالية انزيم الكتاليز بواسطة جهاز المطياف الضوئي وذلك بوضع 0.5 مل من بيروكسيد الهيدروجين بتركيز65 ملي مول مع 0.5 مل من المحلول المنظم الفوسفاتي بتركيز60 ملي مول 7.4(pH) مع 0.2 مل من الراشح في أنابيب اختبار، ترك لمدة 4 دقائق عند درجة حرارة 25 ْم ، تم إيقاف التفاعل بإضافة 1 مل مولبيدات الامونيوم بتركيز 32.4 ملي مول، ثم متابعة تغير اللون عند الطول ألموجي 450 نانوميتر بأخذ معدل 3 مكررات (Goth,1991).

قياس فعالية أنزيم الفينيل الانين امونيوم لاييز (PAL)

حضر الراشح كما في الطريقة السابقة (قياس أنزيم الكتاليز) وتم قياس فعالية أنزيم PAL بواسطة جهاز المطياف الضوئي وذلك بوضع 0.5 مل من الحامض الاميني فينيل الانين بتركيز 6 مايكرومولر مع 0.5 مل من المحلول المنظم Tris – HCl بتركيز 0.5 مولاي 8 (pH) مع 0.2 مل من الراشح في أنابيب اختبار، حضن المزيج ساعة عند درجة حرارة 37 ْم، تم إيقاف التفاعل بإضافة 0.05 مل HCl بتركيز 5 عياري، ثم متابعة تغير اللون على طول موجي 290 نانوميتر بأخذ معدل 3 مكررات (Beavdoin–Eagan and Thorpe,1985).

النتائج والمناقشة

عزل المسبب المرضي

بعد عزل وتنقية الفطر من أوراق نبات الباقلاء أظهر الفطر *A. alternata* مستعمرات ذات لون زيتوني شاحب الى زيتوني داكن على وسط PDA، أما الفحص ألمجهري أظهر الحوامل الكونيدية القصيرة تحمل سلاسلاً من الكونيديات الكمثرية الشكل والتي تكون مقسمة طوليا وعرضيا بجدران مستعرضة وكانت مطابقة لما جاء في المفتاح التصنيفي (Ellis,1971).

تأثير تراكيز مختلفة من مادتي بيروكسيد الهيدروجين و فوسفات البوتاسيوم في نمو الفطر *A.alternata*

يبين (الجدول 1) أن التراكيز المستخدمة من كلا المادتين بيروكسيد الهيدروجين وفوسفات البوتاسيوم أدت إلى تثبيط معنوي لنمو الفطر الممرض ***A.alternata*** ونلاحظ زيادة النسبة المئوية للتثبيط بازدياد تركيز المواد مقارنة مع عينة المقارنة وأظهرت النتائج زيادة فعالية بيروكسيد الهيدروجين على فعالية فوسفات البوتاسيوم، ففي التركيز 300 ملي مول كانت النسبة المئوية للتثبيط 100 و 60.7 % للمادتين على التوالي، وفي التركيز 400 ملي مول وصل إلى 100 % و81 % للمادتين على التوالي.

الجدول 1: تأثير التراكيز المختلفة من بيروكسيد الهيدروجين وفوسفات البوتاسيوم في تثبيط نمو الفطر *A.alternata*

التركيز (ملي مول)	% للتثبيط	
	بيروكسيد الهيدروجين	فوسفات البوتاسيوم
المقارنة 0.0	0.0 D *	0.0 E
100	27.0 C	D48.3
200	36.7 B	55.3 C
300	100 A	60.7 B
400	100 A	81.0 A

* تمثل معدل ثلاث مكررات

الأرقام المتبوعة بأحرف متشابهة لكل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية 5%.

تجربة البيت الزجاجي

تشير النتائج إلى ان استخدام مادة بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 300 ملي مول أدى إلى زيادة في الوزن الطري صنف محلي للنباتات المعاملة (7.0غم) واختلفت معنويا عن النباتات الملقحة بالفطر للصنف المحلي (4.4 غم) ولم تختلف معنويا عن نباتات المقارنة (5.8 غم) و بقية المعاملات ونفس الكلام ينطبق على الوزن الجاف و طول المجموع الخضري للصنف المحلي في حين اختلف معنويا محتوى الكلوروفيل في النباتات المعاملة بالمادة عن نباتات المقارنه و النباتات الملقحة بالفطر *A. alternata* وان استخدام هذه المادة أدى الى خفض شدة الإصابة كليا (0.0) واختلفت معنويا عن جميع المعاملات من ضمنها استخدام فوسفات البوتاسيوم وفي كلا الصنفين، وكان لاستخدام فوسفات البوتاسيوم بتركيز 400 ملي مول تأثير اقل من بيروكسيد الهيدروجين على الوزن الطري والجاف وطول المجموع الخضري ومحتوى الكلوروفيل وشدة الإصابة. يتضح من (الجدول 2) أيضا أن الصنف المحلي أكثر استجابة من الصنف الفرنسي عند المعاملة بمادة بيروكسيد الهيدروجين و فوسفات البوتاسيوم اذ وصلت شدة الإصابة في الصنف المحلي الى 0.00 و0.11% وللصنف الفرنسي 0.01 و0.17 % على التوالي.

أن معاملة النباتات بمادة بيروكسيد الهيدروجين و تلقيحها بالفطر *A.alternata* أدى إلى زيادة فعالية أنزيم البيروكسيديز إلى 1.29 ملي مول/ دقيقة / غم نسيج طري وهذا الرقم يمثل 4 أضعاف معاملة المقارنة واختلفت معنويا عن بقية المعاملات ومنها استخدام مادة فوسفات البوتاسيوم في الصنف المحلي (1.02) ملي مول/دقيقة / غم نسيج طري. أيضا في الصنف الفرنسي ارتفعت فعالية الأنزيم ووصلت إلى 1.04 ملي مول/دقيقة / غم نسيج طري واختلفت معنويا عن بقية المعاملات (الجدول 3).

الجدول 2: تأثير معاملة النباتات بالتركيز300 ملي مول بيروكسيد الهيدروجين و 400 ملي مول فوسفات البوتاسيوم على إنتاجية نباتات الباقلاء الملفحة بالفطر *A.alternata*

***** تمثل معدل ثلاث مكررات.

الأرقام المتبوعة بأحرف متشابهة لكل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية 5%.

الأصناف	المعاملات	الوزن الطري (غم)	الوزن الجاف (غم)	طول المجموع الخضري (سم)	قياس محتوى الكلوروفيل ملغم /غم نسيج طري	شدة الإصابة
المحلي	المقارنة	ABC* 5.8	5.0 AB	47.4 ABC	11.0 BCD	0.20 F
	الفطر فقط	4.4 BC	3.9 B	38.7 CD	9.7 CD	0.83 B
	الفطر+ H_2O_2	7.0 A	6.6 A	55.4 AB	14.9 A	0.00 H
	الفطر+ K_2HPO_4	6.4 ABC	5.9 AB	60.2 A	14.1 AB	0.11 G
	الفطر+ المبيد نيم	5.9 ABC	5.5 AB	48.4 ABC	12.6 ABC	0.34 D
الفرنسي	المقارنة	5.3 ABC	4.8 AB	47.4 ABC	10.7BCD	0.25 E
	الفطر فقط	4.2 C	4.0 B	30.5 D	7.9 D	0.91 A
	الفطر+ H_2O_2	6.7 AB	6.0 AB	51.1 ABC	13.8 AB	0.01 H
	الفطر+ K_2HPO_4	5.5 ABC	5.4 AB	57.3 AB	13 .0 ABC	0.17 F
	الفطر+ المبيد نيم	5.4 ABC	5.0 AB	44.5 BC	11.1 BCD	0.42 C

ارتفعت فعالية أنزيم الكتاليز في النباتات المعاملة بمادة بيروكسيد الهيدروجين الى 2.23 ملي مول/دقيقة / غم نسيج طري واختلفت معنويا عن بقية المعاملات الأخرى وفي كلا الصنفين و زادت الفعالية عن ضعفي الفعالية في نباتات المقارنة في الصنفين. وان للمبيد نيم تأثير في فعالية الأنزيم (1.80) ملي مول/دقيقة / غم نسيج طري أكثر من مادة فوسفات البوتاسيوم (1.21) ملي مول/دقيقة / غم نسيج طري في الصنف المحلي (الجدول 3).

أعطت النباتات المعاملة بمادة بيروكسيد الهيدروجين أعلى فعالية لأنزيم الفينيل الانين امونيوم لاييز (6.66) ملي مول/دقيقة/ غم نسيج طري واختلفت معنويا عن بقية المعاملات و في كلا الصنفين بينما لم تختلف عن فعالية الأنزيم في النباتات المعاملة بمادة فوسفات البوتاسيوم و المبيد في الصنف المحلي (5.47، 5.29 ملي مول/دقيقة / غم نسيج طري على التوالي) و اختلفت معنويا في الصنف الفرنسي (الجدول 3).

الجدول 3: تأثير معاملة النباتات بالتركيز300 ملي مول بيروكسيد الهيدروجين و 400 ملي مول فوسفات البوتاسيوم في فعالية الأنزيمات في صنفين من الباقلاء الملفحة بالفطر *A.alternata*.

الأصناف	المعاملات	البيروكسديز* Peroxidase (ملي مول)	الكتاليز* Catalase (ملي مول)	الفينيل الانين امونيوم لايزPAL * (ملي مول)
المحلي	المقارنة	.39 F0**	0.94 G	3.40 D
	الفطر فقط	0.60 E	1.13 F	4.31 C
	الفطر+ H_2O_2	1.29 A	2.23 A	6.66 A
	الفطر+ K_2HPO_4	1.02 B	1.21 E	5.47 B
	الفطر+ المبيد نيم	0.70 D	1.80 B	5.29 B
الفرنسي	المقارنة	0.41 F	0.79 H	2.65 E
	الفطر فقط	0.59 E	1.16 F	3.28 D
	الفطر+ H_2O_2	1.04 B	1.64 C	5.21 B
	الفطر+ K_2HPO_4	0.85 C	1.13 F	4.42 C
	الفطر+ المبيد نيم	0.62 E	1.51 D	3.51 D

* **وحدة الأنزيم:** كمية الأنزيم التي تعمل على تكوين ملي مول واحد من الناتج / دقيقة.

** تمثل معدل ثلاث مكررات

الأرقام المتبوعة بأحرف متشابهة لكل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية 5%.

زيادة فعالية الأنزيمات المتكونة في النباتات المعاملة نتيجة عملية المقاومة ضد الفطر الممرض *A. alternata* مقارنة مع عينة المقارنة التي أظهرت اقل فعالية للأنزيمات الثلاثة البيروكسديز والكتاليز والفينيل الانين امونيوم لايز وأعطت مادة بيروكسيد الهيدروجين التي عومل بها صنف الباقلاء المحلي أعلى فعالية للأنزيمات الثلاثة.

تلعب مادة بيروكسيد الهيدروجين بشكل مباشر او غير مباشر على استحثاث المقاومة لدى النبات حيث تسبب تكوين الأوكسجين الفعال في الجدار الخلوي للنبات وفي الغشاء البلازمي الذي يعد حاجزاً دفاعياً ضد الفطريات الممرضة للنبات (Galal and Abdou,1996). كما استخدمت مادة فوسفات البوتاسيوم لاختزال حدوث الإصابات المرضية وكذلك اختزال عوامل الشد على النبات و زيادة فعالية أنزيم البيروكسديز و الفينيل الانين امونيوم لايز مقارنة مع نبات قصب السكر السليمة (El-Desouky *et al*., 2003). أملاح الفوسفات قد تزيد من تكوين مواد الايض النباتي كالفايتوالكسينات ونواتج أخرى التي تحفز بواسطة المواد الكيميائية (Hargreaves,1979). تزداد فعالية أنزيم البيروكسديز تحت ظروف الشد المختلفة مثل الجروح والإصابات الفطرية والملوحة والشد المائي وقلة المغذيات وتحفز الزيادة تكوين اللكنين وإنتاج الاثلين و زيادة أنتاج الفينولات المؤكسدة في جدار الخلية(Van Huystee, 1987).

أنزيمات البيروكسديز لا تشترك فقط بالبناء الحيوي للمركبات المضادة للميكروبات و اللكنين ولكن أيضا تعمل منظم لجميع العمليات الايضية (Peng and Kuc,1992). دور أخر لأنزيمات البيروكسديز هو أكسدة الروابط العرضية بين التراكيب البروتينية

الغنية بالحامض الاميني هيدروكسي برولين في الجدر الخلوية، مما يجعل جدار الخلية أكثر مقاومة للتحلل بواسطة أنزيمات الميكروبات (Stermer and Hammerschmidt, 1987).

وجد الباحث Morsy (2005) انه عند نقع بذور العدس في 0.5 ملي مول من بيروكسيد الهيدروجين أدى إلى اختزال الإصابة بمرض الذبول الذي يسببه فطر *Rhizoctonia solani* و*Fusarium oxysporum* تحت ظروف البيت الزجاجي وإطالة عمر النبات وزيادة البذور تحت الظروف الحقلية. استخدم Abdel - Monaim (2012) بيروكسيد الهيدروجين في نقع بذور الطماطة و أدى إلى زيادة طول البادرات وزيادة الوزن الطري والوزن الجاف في النبات وكذلك خفض نسبة الذبول لنبات الطماطة فضلا عن تقليل تكوين ابواغ فطر *Fusarium* .

أدى رش نباتات بنجر السكر بتراكيز مختلفة من بيروكسيد الهيدروجين وحامض السالسليك وفوسفات البوتاسيوم الأحادية والثنائية القاعدية الى خفض معنوي في كل من نسبة وشدة الإصابة بالمرض (Ata *et al*., 2008).

الفينيل الانين امونيوم لايز أول أنزيم يعمل عن طريق Phenylpropanoid الناتج في البناء الحيوي الذي ينظم العمليات الايضية المختلفة بالنبات مثل أحماض Coumaric وCinnamic و ferulic و Caffeic و الفلافونويدات والتانينات واللكنين، هذه النواتج تحمي النبات ضد الاجهادات المختلفة الغير حيوية والمسببات التي تهاجمها كدليل على الدفاع الايجابي (Hahlborck and Sheel ,1989).

المصادر العربية

جلال الدين، أنفال مؤيد؛ التكريتي، نجلاء طارق؛ يونس، نضال دنون (2006). تأثير المستخلصات المائية لبعض النباتات في مقاومة الفطر*Alternaria alternata* . مجلة علوم الرافدين.**17**(10)، خاص بعلوم الحياة 82-89.

جلال الدين، انفال مؤيد (2009). تأثير المكافح الحيوي *T.harzianum* والمبيدات ومستخلصات النباتات على الفطر *A. alternata* المسبب لمرض تبقع أوراق الباقلاء في البيت الزجاجي. مجلة علوم الرافدين، **20**(2)، 33- 45.

الكناني، محمد عبد الجليل ؛ فرج، حسن هادي (2010). تأثير نحل العسل *Apis mellifera* في الصفات الكمية والنوعية لإنتاج نبات الباقلاء .*Vicia faba* L. مجلة الانبار للعلوم الزراعية. **8**(4)، 463 – 468.

محسن، عذراء حرجان؛ محسن، إسراء حرجان (2010). استجابة نبات الباقلاء للمبيدين الحيويين الفلورامیل والباسلين وقدرتهما للسيطرة على مرض تعفن البذور وموت البادرات المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*. مجلة اوروك للأبحاث العلمية، **3**(2)،21-31.

المصادر الأجنبية

Abdel - Monaim, M.F. (2012). Induced systemic resistance in tomato plants against *Fusarium* wilt disease. *J. Microbiol.*, **3**, 014 -023.

Abd-El-Kareem. (2007). Induced resistance in bean plants against root rot and *Alternaria* leaf spot diseases using biotic and a biotic inducers under field conditions. *J. Agric. and Bio. Sci*., **3**,767-774.

Arun, K.; Mali, P.C.; Managa, V.K. (2010). Changes of some phenolic compounds and enzyme activities on infected pearl millet caused by *Sclerospora graminiccola*. *Plant Physiol. and Biochemist*. **2**, 6- 10.

Ata, A.A.; El-Samman, M.G.; Moursy, M.A.; Mostafa, M.H. (2008). Inducing resistance against rust disease of sugar beet by certain chemical compounds. *Egypt. J. Phytopathol*., **36**, 113-132.

Barnett, H.I.; Hunter, B.B. (2006). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publishing Company. 241 p.

Beavdoin–Eagan, L.D.; Thorpe, T.A. (1985). Tyrosine and phenyl alanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus. *Plant Physiol.,* **78**, 438 -441.

Byun, H.; Choi, S. (2003). Activation of disease resistance related enzymes by treatment of hydrogen peroxide and benzoic acid in cucumber (*C. sativus L*.). *Hort. Sci*., **44**, 27 -29.

Dixon, R.A.; Lamb, C.J. (1990). Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Annu. Rev. Plant Physiol*., **41**, 339-367.

El – Mougy, N.S. (2002). *In vitro* studies on antimicrobial activity of salicylic acid and acetylsalicylic acid as pesticidal *Alternaria* agent against some soil borne plant pathogen. *Egypt. J. Phytopathol.* **30**, 41-55.

El- Desouky, S.M.; Helal, M.H.; Ahmad, F.S.; Mustafa, A.M. (2003). Efficacy of foliar application of phosphate salts in controlling early blight disease on tomato. *Minufiya J. Agric.Res.,* **23**,1855-1870.

El- Khallal, S.M. (2007). Induction and modulation of resistance in tomato plant against *Fusarium* wilt disease by bioagent fungi (arbuscular mycorrhiza) and / or hormonal elicitors (Jasmonic acid: changes in growth, some metabolic activities and endogenous hormones related to defense mechanism. *Basic and Appl. Sci*., **1**, 691-705.

Ellis, M.B. (1971). Dematiaceous Hyphomycetes. Common Wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 603 p.

Galal, A.A.; Abdou, El.S. (1996). Antioxidants for the control of fusarial disease in cowpea. *Egypt. J. Phytopathol*., **24**,1-12.

Goth, L.(1991). A simple method for determination of serum catalase and revision of reference range. Chin. *Chim. Acta*. **196**, 143 -152.

Hahlborck, K.; Sheel, D. (1989). Physiology and molecular biology of phenyl propanoid metabolism. *Plant Mol. Biol*., **40**, 347 -369.

Hargreaves, J.A. (1979). Investigations into the mechanism of mercuric chloride stimulated phytoalexin accumulation in *Phaseolus vulgaris* and *Pisum sativum*. *Physiol*. *Plant Pathol*., **15**, 279-287.

Horinouch, H.; Muslim, A.; Sazuki, T.; Hyakumachi, M. (2007). *Fusarium equiset*, GF191 as an effective biocontrol agent against *Fusarium* crown and root rot of tomato in rock wool system. *Crop Prot.,* **25**, 121- 129.

Houssien, A.A.; Ahmed, S.M.; Ismail, A.A. (2010). Activation of tomato plant defense response against *Fusarium* wilt disease using *Trichoderma harzianum* and Salicylic acid under greenhouse conditions. *J. Agric. and Bio. Sci*., **6**, 328-338.

Hyun, M.W.; Yun, Y.H.; Kim, J.Y.; Kim, S.H. (2011). Fungal and plant phenylalanine ammonia – lyase. *Mycobiol.* **39**, 257-265.

Morsy, K.M. (2005). Induced resistance damping – off , root rot and wilt diseases of lentil. *Egypt. J. Phytopathol*., **33**, 53-63.

Nguyen, T.B.T.; Ketsa, S.; Van-Doorn, W.G. (2003). Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, **30**, 187- 193.

Peng, M.; Kuc, J. (1992). Peroxides-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity *in vitro* and on tobacco leaf disks. *Phytopathology*, **82**, 696-699.

Sarwar, N.; Hayat-Zahid, C.H.; Ikramul, H.A.Q.; Jamil, F.F. (2005). Induc-ation of systemic resistance in chickpea against *Fusarium* Wilt by Seed treatment with salicylic acid and bion. *Pakistan J. Botany*, **37**, 989 -995.

Saydam, C.; Copeu, M.; Sezgin, E. (1973). Studies on inoculation techniques of cotton wilt caused by *Verticillium dahliae* Kleb. Investion on the laboratory inoculation techniques. *J. Tur. Phytopathology*. **2**, 69-75.

Stermer, B.A.; Hammerschmidt, R. (1987). Association of heat shock induced resistance to disease with increased accumulation of insoluble extension and ethylene synthesis. *Physiol. Mol. Plant Pathol*., **31**, 239-249.

Stout, M.J.; Workman, K.V.; Bostock, R.M.; Duffey, S.S. (2006). Stimulation and attenuation of induced resistance by elicitors of chemical induction in tomato (*Lycopersicon esculentum*) foliage. *J. Phytopathol*., **154**, 65.

Vakalunakis, D.J. (1990). Host range of *Alternatia alternata* f.sp. cucurbitae causing leave spot of cucumber. *Plant Dis*., **84**, 27 -30.

Van Huystee, R.B. (1987). Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies. *Ann. Rev. PI. Physiol*. **36**, 205 -219.