

دور حمض الساليسيليك في حث المقاومة الجهازية المكتسبة في صنف التبع برلي وفرجينيا إزاء فيروس البطاطا واي في سورية

مازن خدام، مفيد ياسين وسليم يونس راعي

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: khaddam77@yahoo.com

الملخص

خدام، مازن، مفيد ياسين وسليم يونس راعي. 2014. دور حمض الساليسيليك في حث المقاومة الجهازية المكتسبة في صنف التبع برلي وفرجينيا إزاء فيروس البطاطا واي في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 32(1): 88-91.

أظهرت النتائج دور حمض الساليسيليك (SA) في زيادة مقاومة صنف التبع برلي وفرجينيا لفيروس البطاطا واي حقلياً ضمن بيت تغطية شبكي. تأخر ظهور أعراض الإصابة بفيروس البطاطا واي في نباتات التبغ بعمر 10 أسابيع المعاملة بتركيز 0.25، 0.5 و 0.75 ميلي مول من حمض الساليسيليك، حسب تركيز الحمض وطريقة إضافته وموعد الإعداء بالفيروس. كانت أفضل النتائج ولكلا الصنفين عند استخدامه رياً بتركيز 0.5 و 0.75 ميلي مول وقبل حدوث العدوى بالفيروس بثلاثة أيام. ظهرت أعراض الإصابة على الصنفين برلي وفرجينيا بعد 11 و14 يوماً من الإعداء بالفيروس مقارنة بالشاهد المعدي الذي ظهرت عليه أعراض الإصابة بعد 8 أيام. ولوحظ ارتفاع في مستوى حمض الساليسيليك الحر في الأوراق المعداة لكلا الصنفين، على التوالي حيث بلغ أعلى مستوى له بعد مرور 72 ساعة على إضافته رياً بتركيز 0.5 ميلي مول وبعد 3 أيام من الإعداء 28.8 و 43.4% مقارنة بالشاهد السليم (2.6، 3.1%) والشاهد المعدي (3.4، 3.4%)، على التوالي.

كلمات مفتاحية: فيروس البطاطا واي، تبع، حمض الساليسيليك، المقاومة الجهازية المكتسبة، سورية.

المقدمة

بدور مهم في مقاومة الإصابة وإعاقة انتشار المرض ضمن خلايا وأنسجة النبات (1، 3، 4، 5، 10).

يعتبر حمض الساليسيليك (SA) أول مشتق نباتي طبيعي، يستخدم في صناعة الأسبرين ويلعب دوراً في نقل الإشارة الجهازية اللازمة لاستحثاث المقاومة الجهازية المكتسبة إزاء العديد من الإصابات بالكائنات الممرضة المختلفة، ويعد مادة تعبيرية للمقاومة الجهازية المكتسبة والمحور الأساس لها، ومسؤول عن سلسلة من العمليات الفسيولوجية داخل النبات وينتج خلال ظاهرة المقاومة الجهازية ويتراكم بشكل كبير، ويدل وجوده على وجودها بذات النسبة المتزايدة (9، 12).

مواد البحث وطرقه

مصدر البذار وإنتاج الشتول

تم الحصول على شتول نباتات التبغ برلي (Br 21) و فرجينيا (VK 51) من مركز أبحاث التبغ في اللاذقية العائد للمؤسسة العامة للتبغ، تم اختيار الشتول السليمة والمتماثلة بالحجم بعمر 8 أسابيع والتي يبلغ طولها 10-12 سم وذات المجموع الجذري القوي والخالية ظاهرياً من الأمراض والمقساة جيداً.

يعد محصول التبغ واحداً من المحاصيل الصناعية المهمة على المستوى العالمي، وتأتي أهميته من دخوله التجارة العالمية على أساس استعمال أوراقه في العديد من البلدان. تزرع في سورية أصناف متعددة من التبغ، وهي مقسمة إلى مجموعات رئيسية: تبوغ شرقية عطرية (بصما- بريليب)، تبوغ شرقية نصف عطرية (غرناطة- زغرين)، تبوغ القوة (شك البنات)، تبوغ أمريكية عريضة الأوراق (برلي- فرجينيا).

ومحصول التبغ كغيره من محاصيل العائلة الباذنجانية عرضة للإصابة بعدد من الأمراض الفيروسية مما ينعكس سلباً على إنتاجية التبغ ونوعيته. ومن هذه الفيروسات فيروس البطاطا واي (PVY) Potato virus Y وهو عالمي الانتشار ذو مدى عوائل واسع، ويوجد في الطبيعة بصورة سلالات عديدة.

يسبب الفيروس خسائر كبيرة في إنتاجية محصول التبغ، وبالتالي تخفيض القيمة الاقتصادية. من طرائق مكافحة الفيروس وتخفيض الإصابة به حث المقاومة الجهازية للنباتات باستخدام مركبات معينة، حيث أشارت الدراسات المرجعية بأن هناك مركبات محددة تتشكل في خلايا وأنسجة النبات عند الإصابة بفطر أو بكتيريا أو فيروس وتسهم

طريقة الزراعة وتنفيذ المعاملات ضمن بيت التغطية الشبكي

بعد أن تم اختيار الموقع المناسب لإقامة بيت التغطية الشبكي في الحقل، تم التشييل ضمن بيت التغطية الشبكي عندما وصلت الشتول إلى المواصفات المناسبة للتشييل بعمر 60 يوماً من تاريخ زراعة البذور في المساكب، بطول 12 سم وعدد الأوراق 6 أوراق بتاريخ 5/12 للموسم الزراعي 2010 وبتاريخ 5/15 في الموسم الزراعي 2011 في مركز وادي قنديل وفق تصميم القطع المنشقة-المنشقة، بثلاثة مكررات. بلغ عدد القطع التجريبية في المكرر الواحد 32 قطعة (16 قطعة تجريبية لكل صنف) وعليه كان العدد الكلي للقطع 96 قطعة تجريبية. ضمت كل قطعة تجريبية (المعاملة ضمن المكرر) خط بطول 2.5 م ويحوي 5 نباتات، المسافة ما بين الخط والأخر 90 سم وبين الشتلة والأخرى 50 سم وبمسافة 1.5 م بين القطعة والأخرى المجاورة ولكلا الصنفين، وأحدثت ما بين القطع المتجاورة ممرات بعرض 1.5 م.

المعاملات الكيميائية

استخدم حمض الساليسيليك بثلاثة تراكيز (0.25، 0.5 و 0.75 ميلي مول)، تمت إضافته للنباتات بطريقتين: الأولى رشاً على المجموع الخضري بمعدل 10 مل/نبات، والثانية رياً على الجذور بمعدل 30 مل/نبات وذلك في موعدين قبل الإعداء بالفيروس بيوم وثلاثة أيام ولكلا الصنفين حيث ضمت كل معاملة 5 نباتات مزروعة في خط واحد.

مصدر اللقاح الفيروسي

استخدمت في الدراسة العزلة المحلية لفيروس البطاطا واي المحفوظة في مختبر الأمراض الفيروسية العائد للمؤسسة العامة لإكثار البذار في حلب وتم نقلها إلى نبات تبغ في مختبر الأمراض الفيروسية في كلية الزراعة- جامعة تشرين

إعداد نباتات التبغ ميكانيكياً بفيروس البطاطا واي

اختيرت النباتات المتجانسة النمو والخالية من أعراض مرضية من كلا الصنفين واستبعدت النباتات التي تبدي نمواً غير طبيعي. أجري الإعداء الميكانيكي على الورقة الثانية والثالثة المتفتحة في موعدين الأول بعد يوم من إضافة حمض الساليسيليك، والإعداء الميكانيكي الثاني بعد 3 أيام من إضافة المركب السابق تبعاً لطريقة جفريس وذلك بتحضير اللقاح الفيروسي من أوراق نباتات تبغ مصابة بفيروس PVY بسحقها في هاون بوساطة ماء مقطر بمعدل 1 غ/أوراق/3 مل ماء مقطر وأضيف لها مادة مخرشة (كاربوراندوم) وعفرت به ثلاث أوراق علوية متفتحة من كل صنف، نقل إليها اللقاح الفيروسي بوساطة

قطعة من الشاش النظيف ثم مسحت باتجاه واحد وغسلت الأوراق بالماء للتخلص من آثار المادة المخرشة والعصارة النباتية (2).

تقدير كمية حمض الساليسيليك SA الحر

تم قياس كمية حمض الساليسيليك الحر في أوراق التبغ المعاملة بحمض الساليسيليك بأخذ عينات من أوراق نباتات كل معاملة وذلك بعد 24، 48 و 72 ساعة من الإعداء بالفيروس. تم استخلاص حمض الساليسيليك الحر بالكوروفورم أو ثنائي كلور الإيثان وبالتفاعل مع نترات الحديد يعطي لون بنفسجي من معقد فينول حديد (والذي تدل شدة لونه على مستوى حمض الساليسيليك الحر SA). تم قياس الكثافة الضوئية (OD) للمحلول البنفسجي على جهاز المطياف الضوئي عند الموجة 540 نانومتراً. تم قياس الامتصاص للمحاليل القياسية من SA على مخطط ميليمتري وبالتالي حسب قيمة (كمية) حمض الساليسيليك في كل عينة (مختبر الكيمياء الغذائية في كلية الصيدلة).

مراقبة ظهور أعراض الإصابة الفيروسية

تمت مراقبة ظهور وتكشف الأعراض الفيروسية لكل معاملة على حدة لمعرفة مدى فاعلية وتأثير حمض الساليسيليك في كشف أعراض الإصابة بالفيروس وموعد ظهورها.

وحلت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Genstat-10 وتمت المقارنة ما بين متوسطات المعاملات باستخدام إختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى معنوية 1%.

النتائج والمناقشة

تكشف أعراض الإصابة الفيروسية

تكشفت أعراض الإصابة الظاهرية على الشاهد المعدى بالفيروس فقط وعلى صنف التبغ برلي وفرجينيا بعد مرور ثمانية أيام من الإعداء الميكانيكي بالفيروس، وكانت على شكل تماوت شديد للعروق (نكرزة العروق والساق) ثم ظهرت فيما بعد على شكل بقع باهتة وموزايك. اختلف موعد ظهور الأعراض حسب طريقة إضافة حمض الساليسيليك والتركيز المستخدم منه وموعد الإعداء بالفيروس وذلك في جميع المعاملات مقارنة بالشاهد المعدى، وعند ري ورش نباتات صنف البرلي وفرجينيا بحمض الساليسيليك قبل 1 و 3 أيام من الإعداء بالفيروس، تأخر ظهور الأعراض الأولى حتى 11 و 14 يوماً، على التوالي، وكانت أفضل المعاملات عند استخدامه رياً بالتركيزين 0.5 و 0.75 ميلي مول والإعداء بالفيروس بعد 3 أيام. كانت الأعراض في البداية على شكل شفافية للعروق، ثم ظهرت بقع باهتة صغيرة بحدود 2-3 مم تشبه أعراض الحصبه على نهايات الأوراق تحت العلوية وبعد 50 يوماً

مقارنة بالشاهد السليم (2.5، 2.1%) والشاهد المعدي (2.2، 2.6%)، والشاهد المعامل بحمض الساليسيليك رياً فقط بدون إعداء (2.5، 3%)، على التوالي. كما أن استخدام حمض الساليسيليك رشاً والإعداء بالفيروس بعد 3 أيام قد زاد من مستوى حمض الساليسيليك بشكل معنوي وبالتالي خفض من نسبة الإصابة بالفيروس لاحقاً في الصنفين برلي وفرجينيا (8.7، 13.95%) عند المعاملة بحمض الساليسيليك رياً. وعند مقارنة مستوى الحمض الحر في أوراق صنف التبع برلي وفرجينيا كانت كميته أعلى في الصنف فرجينيا في جميع المعاملات، حيث وصلت أعلى كمية له عند المعاملة به رشاً والإعداء بعد 3 أيام (27.1%) مقارنة بالصنف برلي (15.5%)، تلاه معاملة الصنف فرجينيا رياً والإعداء بعد يوم (26.5%) مقارنة بالصنف برلي (20.5%) (جدول 1). وقد بينت النتائج بأن معاملة أوراق التبغ من صنف التبع برلي وفرجينيا بحمض الساليسيليك خفض الإصابة بفيروس البطاطا واي، حيث لوحظ عند تحليل أوراق التبغ ازدياد في مستوى حمض الساليسيليك الحر في أوراق النباتات المصابة بالفيروس حتى 10-15 مرة مقارنة بأوراق النباتات غير المصابة (1-3 مرة) وهذا يتوافق مع العديد من الدراسات التي تؤكد ارتفاع مستوى SA الحر في أوراق النباتات المصابة بالفيروس من 14-70% مقارنة بمستواه في الأوراق السليمة (8، 11).

ظهرت على العروق أعراض النكرزة وبعدها قليل. لوحظ أيضاً بطء في نمو نباتات كلا الصنفين عند استخدام التركيز 0.75 ميلي مول مع تأخر ظهور أعراض الإصابة مقارنة مع التركيز 0.5 ميلي مول وهذا يتوافق مع ما ذكره Nie (7) والذي بين دور حمض الساليسيليك في خفض عدد وحجم البقع النكروزية لفيروس البطاطا واي وذلك من خلال زيادة مستوى الساليسيليك الحر والتي بينت الدراسات بأنه مسؤول عن سلسلة من العمليات الفسيولوجية داخل النبات وبالتالي منع تطور الإصابة بالفيروس وإعاقة حركته وبالتالي تأخر ظهور أعراض الإصابة.

مستوى حمض الساليسيليك (SA) الحر في أوراق صنف التبع برلي وفرجينيا

أثبتت القراءات والحسابات المتعلقة بتقدير كمية حمض الساليسيليك لجميع المعاملات أن أعلى مستوى له وصل بعد مرور 72 ساعة على ري النباتات بالحمض بتركيز 0.5 ميلي مول وقيل 3 أيام من إجراء العدوى بالفيروس حيث وصل مستواه في أوراق صنف التبع برلي وفرجينيا إلى 28.8، 43.4% مقارنة بالشاهد السليم (2.1، 2.6%) والمعدى (3.4، 3.4%)، والشاهد المعامل بحمض الساليسيليك رياً فقط بدون إعداء (3.5، 3.6%)، على التوالي. وقد رافق الزيادة في مستوى حمض الساليسيليك الحر في النبات ارتفاع مستواه في الأوراق العلوية غير المعدة لصنف التبع برلي وفرجينيا فكانت نسبته 2 و 2.8%

جدول 1. مستوى حمض الساليسيليك الحر (%) في أوراق صنف التبع برلي وفرجينيا حقلياً بعد مرور 24، 48، 72 ساعة على الإعداء بالفيروس.
Table 1. The Level of free Salicylic acid in leaves of Burley and Virginia tobacco in the field 24, 48 and 72 hours after inoculation with *Potato virus Y*.

فرجينيا Virginia			برلي Burley			المعاملة Treatment
72 ساعة 72 hrs	48 ساعة 48 hrs	24 ساعة 24 hrs	72 ساعة 72 hrs	48 ساعة 48 hrs	24 ساعة 24 hrs	
3.1	2.9	2.4	2.6	2.2	1.9	شاهد سليم Healthy control
3.4	3.5	3.3	3.4	3.1	2.9	شاهد معدى فقط Inoculated control
20.9	4.9	3.7	18.3	10.1	3.2	رش بالحمض وإعداء بعد يوم Sprayed with SA and inoculated one day later
26.5	7.2	4.6	20.5	5.5	3.6	ري بالحمض وإعداء بعد يوم Watered with SA and inoculated one day later
27.1	14.8	5.6	15.5	11.4	3.8	رش بالحمض وإعداء بعد 3 أيام Sprayed with SA and inoculated 3 days later
43.4	11.4	8.8	28.8	9.1	3.9	ري بالحمض وإعداء بعد 3 أيام Watered with SA and inoculated 3 days later
3.5	3.5	3.5	3.6	3.4	3	رش بالحمض وبدون إعداء Sprayed with SA without inoculation
3.6	3.6	3.5	3.5	3.5	3.4	ري بالحمض وبدون إعداء Watering with SA without inoculation
0.99	0.091	0.055	0.106	0.081	0.052	أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% LSD at 5%

وخفض معدل تقزم النباتات المعاملة مقارنة بالشواهد المختلفة والتي تعد مؤشراً على تحريض المقاومة الجهازية المكتسبة عند صنف التبع برلي وفرجينيا ضد فيروس البطاطا واي. وقد يعزى ذلك إلى سهولة امتصاص جذور النبات لهذا الحمض مقارنة مع امتصاصه عن طريق الأوراق وخاصة أن أوراق التبع تحوي على أوبار كثيفة على السطح العلوي للورقة، أو قد يعود لاستمرار وجود الحمض في التربة فترة أطول تمكن النبات من امتصاصه بالشكل والكمية المناسبين.

كما تتفق هذه الدراسة مع العديد من الدراسات السابقة والتي بينت بأن معاملة أوراق نباتات التبغ بحمض الساليسيليك أدى إلى ازدياد مقاومتها لفيروس موزايك التبغ وازدياد مستوى حمض الساليسيليك الحر بالأوراق المعدة وغير المعدة وتراكم البروتينات المتعلقة بالإمراضية (6)، بينت دراستنا فعالية تطبيق الري بحمض الساليسيليك في زيادة مستواه الحر في النباتات مقارنة مع الرش على المجموع الخضري وبالتالي تخفيض أعراض الإصابة وتأخير اكتشافها

Abstract

Khaddam, M., M. Yassin and S.Y. Ra'ai. 2014. Effect of salicylic acid induced systemic acquired resistance in tobacco against *Potato virus Y*. Arab Journal of Plant Protection, 32(1): 88-91.

The results of this study showed the role of salicylic acid (SA) in increasing the resistance of two tobacco varieties (Burley and Virginia) to *Potato virus Y* (PVY) in a net house in the field. There was a delay in viral symptoms development when ten weeks old tobacco plants were treated with 0.25, 0.5 and 0.75 mM, SA concentrations and inoculated with PVY. Extent of symptoms development was affected by SA concentration, method of application and time of inoculation. Best results were obtained with SA concentrations 0.75 and 0.5mM, and when virus was inoculated three days after application. Symptoms in both Burley and Virginia tobacco appeared 14 and 11 days after virus inoculation, respectively, whereas it appeared 8 days after inoculation in the non-treated control. The level of free SA was highest in inoculated leaves, 72 hours after inoculation and three days after watering the plants with 0.5 mM SA. The free SA content increased by 43.4 and 28.8% in Burley and Virginia tobacco, respectively, compared with 3.1 and 2.6% in healthy non-treated control and 3.4 and 3.4% in inoculated but not treated controls, respectively.

Keywords : Potato virus Y, tobacco, salicylic acid, systemic acquired resistance, Syria.

Corresponding author: Mazen Khaddam, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria, Email: khaddam77@yahoo.com

References

المراجع

1. Edreva, A. 2004. A novel strategy for plant protection: Induced resistance. Journal of Cell and Molecular Biology, 3: 61-69.
2. Jeffries, C.J. 1998. Potato. FAO-IPGRI, Technical Guide lines for safe movement of Germplasm 19, 177 p.
3. Kessmann, H., T. Staub, C. Hofmann, T. Maetzke, J. Herzog, E. Ward, S.Uknes and J. Ryals. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants chemicals. Annual Review of Phytopathology, 32: 439-459.
4. Kuc, J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. European Journal of Plant Pathology, 107:7-12.
5. Gozzo, F. 2003. Systemic resistance in crop protection: From nature to a chemical approach. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 4487-4503.
6. Malamy, J., J.P. Carr, D.F. Klessig and I. Raskin. 1990. Salicylic acid: alikely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. Science, 250: 1002-1004.
7. Nie, X. 2006. Salicylic acid suppresses Potato virus Y Isolate N:O-Induced symptoms in Tobacco Plants. The American Phytopathological Society 96: 255.
8. Rasmussen, J.B., R. Hammerschmidt and M.N. Zook. 1991. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Plant Physiology, 97:1342-1347.
9. Sticher, L., B. Mauch-Mani and J.P. Metraux. 1997. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology, 35: 235-270.
10. Vallad, G.E. and M. Goodman. 2004. Systemic acquire resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. Crop Science, 44:1920-1934.
11. Yalpani, N., P. Silverman, T.M.A. Wilson, D.A. Kleier and I. Raskin. 1991. Salicylic acid is a systemic signal and inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco. Plant Cell, 3: 809-818.
12. Yalpani, N., V. Shulaev and I. Raskin. 1993. Endogenous salicylic acid levels correlate with accumulation of pathogenesis-related proteins and virus resistance in Tobacco. Phytopathology, 83: 702-708.

Received: May 7, 2012; Accepted: November 15, 2012

تاريخ الاستلام: 2012/5/7؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2012/11/15