استحثاث المقاومة الجهازية في نبات البندورة/الطماطم (*Solanum lycopersicom* L.) ضد مرض سقوط البادرات باستعمال خليط من فطريات الميكوريزا

محمد عماد خريبة[1]، محمد فواز العظمة[1]، وفاء شومان[2]، ابتسام غزال[3] وأحمد قرة علي[4]

(1) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، قسم التنوع الحيوي، دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: imadkhrieba@gmail.com؛

(2) قسم العلوم الأساسية، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (3) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛

(4) قسم الكيمياء البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

الملخص

خريبة، محمد عماد، محمد فواز العظمة، وفاء شومان، ابتسام غزال وأحمد قرة علي. 2021. استحثاث المقاومة الجهازية في نبات البندورة/الطماطم *Solanum lycopersicom* L ضد مرض سقوط البادرات باستعمال خليط من فطور الميكوريزا. مجلة وقاية النبات العربية، 39(1): 61-68.

هدفت هذه الدراسة إلى تقويم دور فطور الميكوريزا الحويصلية الشجيرية Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza (VAM) في تحسين نشاط أنزيم البيروكسيداز ودوره في مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة/الطماطم المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum*. تم إجراء تجربة نصف حقلية خلال موسم 2014، تضمنت خمس معاملات تمت فيها إعداء التربة كما يلي: المعاملة الأولى باستخدام فطر البيثيوم فقط (Py)، الثانية بفطور الميكوريزا فقط (My)، الثالثة بفطر البيثيوم والميكوريزا معاً عند زراعة البذور (My+Py)، الرابعة بفطر البيثيوم ثم الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور (Py-My)، الخامسة بفطور الميكوريزا ثم البيثيوم بعد أسبوعين من زراعة البذور (My-Py)، بالإضافة لاستخدام شاهد سليم (C). بينت نتائج قياس تركيز أنزيم البيروكسيداز في أنسجة النباتات بعد 14 يوماً من إنبات البذور تفوق معاملة My(361.91 ميكرومول/مغ) معنوياً على المعاملات الأخرى، وأظهرت النتائج أن نباتات المعاملة التي أضيف فيها اللقاح الميكوريزي قبل الكائن الممرض (Py -My) احتوت على 183.73 ميكرومول/مغ من أنزيم البيروكسيداز وتفوقت معنوياً بنسبة 41% على المعاملة التي أضيف فيها الكائن الممرض واللقاح الميكوريزي معاً عند زراعة البذور) (My+Py) (108.27 ميكرومول/مغ). ازداد تركيز أنزيم البيروكسيداز بدرجة كبيرة بعد 28 يوماً من إنبات البذور في معاملة My (687.52 ميكرومول/مغ) مقارنة بمعاملة Py (10.52 ميكرومول/مغ) ، وبينت النتائج تفوق المعاملة التي أضيف فيها اللقاح الميكوريزي قبل الكائن الممرض (Py-My) (458.24 ميكرومول/مغ) معنوياً على المعاملة التي أضيف فيها الكائن الممرض مع اللقاح الميكوريزي بوقت واحد عند زراعة البذور (My+Py) (98.67 ميكرومول/مغ). أظهرت النتائج بعد 35 يوماً من إنبات البذور ارتفاع تركيز الأنزيم معنوياً في معاملة Py-My (763.39 ميكرومول/مغ) مقارنة مع المعاملة My+Py (143.5 ميكرومول/مغ)، كما بينت النتائج ارتفاع تركيز أنزيم البيروكسيداز في معاملة My (838.65 ميكرومول/مغ) مقارنة مع معاملة الشاهد (C) (703.36 ميكرومول/مغ)، وكانت الفروقات معنوية بين المعاملتين.

كلمات مفتاحية: الميكوريزا الحويصلية الشجيرية، VAM، *Pythium ultimum* ، البندورة/الطماطم، المقاومة المستحثة، الساحل السوري.

المقدمة

تحتل البندورة/الطماطم (*Solanum lycopersicom* L.) مركزاً هاماً بين محاصيل الخضار في جميع أنحاء العالم، وذلك لما تتسم به من قيمة غذائية عالية، حيث تحتل زراعتها في البيوت المحمية مركزاً هاماً في القطاع الزراعي للمنطقة الساحلية. وقد ازدادت المساحة المزروعة في سورية خلال السنوات الأخيرة، حيث بلغ عدد البيوت المحمية 67977 بيتاً عام 2014 (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2014). تتعرض زراعة البندورة/الطماطم في البيوت المحمية للإصابة بكثير من الأمراض المنقولة بالتربة، ومن أكثرها أهميةً وانتشاراً مرض سقوط البادرات الذي يؤدي إلى ضعف النباتات أو موتها، مسبباً خسائر كبيرة في الإنتاج كماً ونوعاً. وذكر الشعبي وآخرون (2007) أنه تم رصد هذا المرض في مناطق زراعة البندورة/الطماطم في سورية عام 1974. يسبب هذا المرض عدد من الفطور يتصدرها الجنس *Pythium* spp. سجلت المكافحة الأحيائية ضد الأمراض الفطرية تقدماً ملموساً في العقدين الأخيرين كونها تعتمد على كفاءة استخدام المصادر الطبيعية لتفعيل نشاط الكائنات الحية المفيدة ضد الكائنات الحية الضارة في حيز المجموع الجذري والتربة (أسطيفان وآخرون، 1999). تؤثر فطور الميكوريزا في

https://doi.org/10.22268/AJPP-39.1.061068

© 2021 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

القدرة الغذائية والفيزيولوجية للنبات الذي تتعايش مع جذوره والتي تؤدي إلى زيادة معنوية في وزن المجموع الخضري والجذري، حيث ثبت ذلك في نباتات فول الصويا، التبغ، القمح، الذرة البيضاء، والبندورة/الطماطم والباذنجان (Kellam & Schenck, 1980). تقوم فطور الميكوريزا بالحصول على المواد العضوية عن طريق جذور النبات وتقوم بالمقابل بإمداد النبات العائل بالأملاح المعدنية، بالإضافة لمساعدته على زيادة تحمل الإجهادات البيئية والحيوية. كما يمكن للميكوريزا VAM أن تشكل عاملاً مهماً في المكافحة الحيوية (Smith & Read, 2008؛ Pawaar & Kakde 2012). إن قمع المسببات المرضية التي تنتقل عن طريق التربة باستخدام VAM يعطي الخيار الأفضل لوضع استراتيجية فعالة لإدارة الأمراض النباتية باستخدام العوامل البيولوجية (Smith & Read, 2008)، حيث أظهرت الدراسات أن فطور الميكوريزا تزيد من تحمل النباتات لبعض الممرضات ومنها المسببة لأمراض الذبول وتعفن الجذور *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C، *Rhizoctonia solani* Kühn (Abdel-Fattaha *et al.*, 2011)، *Pythium* spp. و *Phytophthora* spp. (Wehner *et al.*, 2010؛ Li *et al.*, 2007).

بناء على ما سبق، فقد هدف هذا البحث إلى تقصي أثر فطور الميكوريزا الحويصلية الشجيرية في الحد من إصابة نبات البندورة/الطماطم بالفطر المسبب لمرض سقوط البادرات *Pythium ultimum* Trow في البيوت المحمية والمشاتل. تنشّط الميكوريزا العديد من المورثات المسؤولة عن النظام الدفاعي في النبات، كما تنتج العديد من المركبات في النبات مثل الفينولات والبيروكسيداز والكيتيناز و-β1−3 غلوكاناز والبروتينات المرتبطة بالإمراضية PRs، وهذا يمكن أن يؤهل النبات لاستجابة دفاعية مبكرة عند وجود الكائن الممرض (Ozgonen *et al.*, 2010؛ Pozo *et al.*, 1999). تسهم الميكوريزا الداخلية أيضاً في تنشيط إفراز إنزيمات دفاعية في نبات البندورة/الطماطم، مثل إنزيم البيروكسيداز وهو من مجموعة الإنزيمات الفاعلة في سلسلة آليات مضادات الأكسدة الخلوية، ويدخل نشاطها ضمن استجابة فرط التحسس النباتي ضد غزو الممرضات (Pozo *et al.*, 2002).

يحفّز إنزيم البيروكسيداز أكسدة العديد من المكونات المانحة للهيدروجين مثل المركبات الفينولية السامة للكائن الممرض. وبوجود بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 كركيزة مستقبلة للهيدروجين Hydrogen accepter، ينتقل الهيدروجين من المادة المانحة إلى المادة المستقبلة للهيدروجين، ويسبب تراكم بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في أنسجة خلايا النبات إعاقة لدخول الممرضات (Hathout *et al.*, 2010).

مواد البحث وطرائقه

موقع التجربة

تم تنفيذ التجربة في مشتل مخصص لإنتاج شتول البندورة/الطماطم في محطة أبحاث شركة سليمان الزراعية الخاصة في منطقة جبلة، بستان الباشا، التي ترتفع عن سطح البحر 50 م، وتبعد 2.5 كم عن شاطئ البحر و8 كم إلى الشمال من مدينة جبلة.

تجهيز عزلات الفطور المستخدمة بالدراسة

تجهيز عزلة الفطر *Pythium ultimum* – جمعت بادرات البندورة/الطماطم التي تظهر عليها أعراض مرض سقوط البادرات من البيوت البلاستيكية والمشاتل في المنطقة الساحلية. تمّ عزل وتشخيص الفطر المسبب للمرض على أنه *P. ultimum* وفق المفاتيح التصنيفية المعتمدة عالمياً، واختبرت قدرته الإمراضية على بادرات البندورة/الطماطم، وتم اختيار العزلة الأكثر شراسة لاستخدامها في تحضير اللقاح الفطري (خريبة وآخرون، 2013a).

تحضير لقاح الفطر *P. ultimum* الخاص بمعاملة التربة – تم تحضير مادة لقاح الفطر بتنمية الفطر *P. ultimum* على بذور الدخن، حيث أخذ 100 غ من بذور الدخن، وأضيفت إلى 50 مل من الماء، ووضعت في زجاجات حجمها 1 لتر، ثم عقمت في الأوتوكلاف لمدة 20 دقيقة ولمرتين متتاليتين، عند درجة حرارة 121 °س. تركت الزجاجات التي تحتوي بذور الدخن لتبرد ثم أضيف الفطر *P. ultimum* باستخدام قطعة من الآغار بقطر 5 مم من مستعمرة فطرية بعمر 10 أيام تحت ظروف معقمة، وحضنت الزجاجات في الظلام، لمدة أسبوعين عند حرارة 25±2 °س. أضيف لقاح الفطر *P. ultimum* إلى الأصيص بمعدل 0.5% (5 غ من مستنبت اللقاح بعد تجفيفه هوائياً لكل 1 كغ من وسط الزراعة) (Dewan & Sivasithamparam, 1988).

تحضير لقاح فطور الميكوريزا

استخدمت ست عزلات محلية من فطور الميكوريزا المتعايشة مع نبات البندورة/الطماطم، موصفة مورفولوجياً ومصنفة بالتعاون مع مركز دراسات الميكوريزا في طهران، إيران، وذلك وفقاً لمفاتيح التصنيف المعتمدة عالمياً والمكونة من الأنواع التالية:

- *Simiglomus hoi* (Berch and Trappe). Silva, Oehl and Sieverd.
- *Glomus fasciculatum* (Thaxt.) Gerd and Trappe emend. C. Walker and Koske.

- *Paraglomus laccatum* (C. Walker) Morton and Redecker.
- *Septoglomus constrictum* (Trappe) Sieverd. Silva and Oehl.
- *Claroideoglomus etunicatum* Becker and Gerdeman.
- *Glomus clarum* Nicolson and Schenck.

حضّر اللقاح الميكوريزي باستخدام تقنية زراعة الأصص بالاعتماد على نباتات الذرة الشامية حسب Brundrett & Juniper (1995)، وهو عبارة عن لقاح خليط من أنواع فطور الميكوريزا السابقة يحتوي على 129±12.8 بوغ/100غ من اللقاح. وقد تمّ استخدام 100غ من اللقاح الميكوريزي للأصيص الواحد حجم 5 لتر، وهي عبارة عن تربة محملة بفطور الميكوريزا وتحتوي على أبواغ الفطور مع الغزل الفطري (خربية وآخرون، 2013b).

دراسة فعالية الميكوريزا الحويصلية الشجيرية في الحد من الإصابة بالفطر *P. ultimum*

زرعت بذور البندورة/الطماطم من الهجين هدى (المنشأ امريكي) في أصص بلاستيكية بقطر 30 سم تحتوي على وسط الزراعة المعقم (تورب: تربة) (تربة معقمة حيث عوملت بالأوتوغلاف عند درجة حرارة 121 °س لمدة 30 دقيقة)، بمعدل بذرة في كل أصيص. صممت التجربة وفق القطاعات العشوائية الكاملة حيث وزعت التجربة في خمس معاملات هي:

- المعاملة الأولى (Py): شاهد تربة معداه بفطر *P. ultimum* فقط، عند زراعة البذور.
- المعاملة الثانية (My): شاهد تربة معداه بفطور الميكوريزا فقط، عند زراعة البذور.
- المعاملة الثالثة (My+Py): تربة معداه بفطور الميكوريزا و *P. ultimum* معاً عند زراعة البذور.
- المعاملة الرابعة (My- Py): تربة معداه بفطور الميكوريزا عند زراعة البذور وبفطر *P. ultimum* بعد أسبوعين من زراعة البذور.
- المعاملة الخامسة (Py-My): تربة معداه بفطر *P. ultimum* عند زراعة البذور وبفطور الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور.
- الشاهد السليم (C): تربة معقمة خالية من الفطور، ومن أي معاملة.

قدرت قيمة شدة المرض ضمن الأصص في ظروف البيت المحمي على أعراض إصابة الفطر Pythium والذي يسبب تعفناً في الجذر، وذلك وفق لدرجات سلم شدة المرض (0–4) (Harveson & Rush, 2002) على الشكل التالي: 0= نبات سليم والمجموع الجذري سليم 100%؛ 1= 1–25% من المجموع الجذري مصاب؛ 2= 26–50% من المجموع الجذري مصاب؛ 3= 51–75% من المجموع الجذري مصاب؛ 4= 76–100% من المجموع الجذري مصاب.

تم حساب النسبة المئوية لمؤشر المرض في تجارب البحث بالاعتماد على درجات سلم شدة المرض وعدد النباتات المصابة لكل درجة إصابة باستخدام المعادلة التالية:

$$R\%=(\sum(a\times b))/(N\times K))\times 100$$

حيث R% =النسبة المئوية لمؤشر المرض، a = درجة الإصابة وفقا للدليل المرضي، b= عدد النباتات المصابة بهذه الدرجة في كل مكرر/معاملة، N= عدد النباتات الكلي، K = أعلى درجة في سلم شدة المرض وتساوي 4 (Mckinney, 1923).

تقدير تركيز إنزيم البيروكسيداز في أنسجة نباتات البندورة/الطماطم

استخلص إنزيم البيروكسيداز وفق طريقة Altunkaya & Gokmen (2011) وذلك من خلال سحق غرام واحد من أوراق عينات نباتات البندورة المحفوظة عند حرارة 20 °س بإضافة 10 مل من المحلول المنظم (مصدره شركة Sigma-Aldrich)، وعرّضت العينات المطحونة للطرد المركزي بسرعة 5000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق عند 4 °س. أخذت الرشاحة الناتجة عن التثفيل التي تحوي مكونات العصير الخلوي بما فيها إنزيم البيروكسيداز، وهذه الرشاحة شكّلت ما سميَ بالمستخلص الإنزيمي.

لقياس تركيز إنزيم البيروكسيداز أضيف إلى 2.8 مل من محلول فوسفات الصوديوم (pH=7, 0.1M)، مقدار 0.1 مل من بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen Peroxide (H_2O_2) (12.5 mM) و48 ميكروليتر من AH2 (مركب فينولي) (مصدره Sigma-Aldrich) و0.1 مل من المستخلص الإنزيمي المحضر سابقاً. ولتحضير عينة الشاهد أخذت المقادير السابقة عدا المستخلص الإنزيمي، الذي استعيض عنه بإضافة محلول فوسفات الصوديوم (0.1 M) pH=7.

حضّنت العينات مدة 5 دقائق عند حرارة 25 °س، وقدّر تركيز إنزيم البيروكسيداز في العينات النباتية باستخدام الطريقة اللونية من إضافة 3 مل من مزيج التفاعل المحضر سابقاً في خلية المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول الموجة 570 نانومتر. أخذت 4 قراءات بمعدل قراءة كل دقيقة، وقدر تركيز إنزيم البيروكسيداز بالوحدة (ميكرومول/مغ) وهي عدد ميكرومولات الماء الأوكسجيني التي تتفكك بوساطة 100 مغ من النسيج النباتي الداخل في تشكيل المستخلص الإنزيمي في الدقيقة الواحدة عند حرارة 25 °س (Behera *et al.*, 2012).

التحليل الإحصائي

نفذت تجارب البحث كافة وفق تصميم العشوائية الكاملة (R.C.D.) Randomized Complete Design، وحللت نتائج التجارب إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي CO-STAT 6.4. اختبرت الفروق بين المتوسطات حسب اختبار أقل فرق معنوي (L.S.D.) Least significant difference test عند مستوى احتمال 0.05، حيث ميزت المتوسطات المختلفة فيما بينها معنوياً بحروف هجائية مختلفة.

النتائج والمناقشة

تأثير فطور الميكوريزا في شدة الإصابة

تمت ملاحظة نباتات المعاملات المختلفة ومقارنتها مع النباتات الشاهد من حيث معامل الإصابة في كل معاملة من المعاملات. حيث كانت 97.91% (المعاملة Py) و81.25% (المعاملة Py-My) و64.58% (المعاملة Py+My) و31.25% (المعاملة My-Py) مقارنة مع الشاهد السليم (C). كانت الفروق معنوية بين المعاملات Py وPy-My وPy+My وMy-Py، ولم تظهر فروق معنوية بين المعاملتين My-Py وMy والشاهد C (جدول 1). تبين من خلال الجدول بأن المعاملة التي أضيف فيها ميكوريزا وبعدها بأسبوعين أضيف فطر *P. ultimum* (My-Py) قد أظهرت أكبر أثر في تخفيض شدة الإصابة وصلت نسبته حتى (68.75%) مقارنة بالشاهد السليم (C). كان الهدف من اختيار فترة 14 يوماً بين إضافة فطر الميكوريزا وفطر *P. ultimum* هو ترك الفرصة لفطر الميكوريزا لاستعمار جذور النباتات، ولتوليد المقاومة لديها ضد المسبب المرضي *P. ultimum* (Manila & Nelson, 2013)، علماً بأن هناك بعض الدراسات التي أشارت إلى أن الفترة من يومين إلى أسبوع كافية للميكوريزا لتحفيز هذه المقاومة لدى النباتات (St-Arnaud *et al.*, 1994).

تقدير إنزيم البيروكسيداز

بينت نتائج قياس تركيز إنزيم البيروكسيداز في أنسجة النباتات بعد 14 يوماً من ظهور البادرات تفوق معاملةMy (361.9 ميكرومول/مغ) معنوياً على المعاملات الأخرى حيث بلغ تركيز إنزيم البيروكسيداز في معاملة Py 13.3 ميكرومول/مغ وفي معاملة Py-My (30.03 ميكرومول/مغ). أظهرت النتائج أن نباتات المعاملة التي أضيف فيها اللقاح الميكوريزي قبل الكائن الممرض (My-Py) احتوت على 183.73 ميكرومول/مغ من إنزيم البيروكسيداز وتفوقت معنوياً بنسبة 41% على المعاملة التي أضيف فيها الكائن الممرض واللقاح الميكوريزي معاً عند زراعة البذور (My+Py) (128.27 ميكرومول/مغ) (جدول 2). يعد تنشيط إفراز إنزيم البيروكسيداز ردة فعل عامة في النباتات عند تعرضها للإصابة بالكائن الممرض، ويرتبط ذلك بصورة وثيقة مع تفعيل المقاومة في النبات المتعايش مع الميكوريزا (Thangadurai *et al.*, 2010).

جدول 1. تأثير إضافة فطور الميكوريزا الحويصلية الشجيرية في شدة و مؤشر مرض سقوط بادرات البندورة المتسبب عن الإصابة بالفطر *P. ultimum*.

Table 1. Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza application on disease severity and disease index of tomato damping off caused by *P. ultimum*.

رمز المعاملة Treatment code	المعاملة Treatment	مؤشرالمرض (%) Disease index (%)	شدة الإصابة (حسب سلم 1- 4) Disease severity (based on 1-4 scale)
C	الشاهد السليم Untreated Control	0.00 d	1.00 d
My	استخدام فطور الميكوريزا فقط Treated with mycorrhiza only	0.00 d	1.00 d
Py	استخدام فطر البيثيوم فقط Treated with Pythium only	97.91 a	4.00 a
My-Py	استخدام فطور الميكوريزا ثم البيثيوم بعد أسبوعين من زراعة البذور Treated with Mycorrhiza and two weeks after sowing with *Pythium*	31.25 b	1.25 d
My+Py	استخدام فطرالبيثيوم والميكوريزا معاً عند زراعة البذور Treated with *Pythium* and Mycorrhiza at sowing	64.58 c	2.58 c
Py-My	استخدام فطر البيثيوم ثم الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور Treatment with *Pythium* and two weeks after sowing by Mycorrhiza	81.25 a	3.25 b
$LSD_{0.05}$		33.30	0.45

الأرقام التي يتبعها الأحرف نفسها في العامود نفسه لا يوجد بينها فرق معنوي عند احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

بعد 21 يوم من ظهور البادرات ارتفع تركيز إنزيم البيروكسيداز في معاملة M (543.8 ميكرومول/مغ) وفي معاملة My-Py (369.01 ميكرومول/مغ) وفي معاملة Py (11.6 ميكرومول/مغ) مع وجود فروقات معنوية بين المعاملات. أظهرت النتائج أن المعاملة التي أضيف فيها اللقاح الميكوريزي قبل الكائن الممرض (My-Py) تفوقت معنوياً بنسبة 78.25%على المعاملة التي تضم الكائن الممرض واللقاح الميكوريزي معاً عند زراعة البذور(My+Py) (80.23 ميكرومول/مغ) (جدول 2)، وهذا دليل على بدء تحريض المقاومة الجهازية المستحثة بفعل وجود فطور الميكوريزا الشجيرية الأمر الذي أدى إلى انخفاض شدة الإصابة، حيث أن ارتفاع تركيز إنزيم البيروكسيداز في النبات يسهم بدور مهم في تقوية جدر الخلايا النباتية وزيادة مقاومتها للممرض (Pal & McSpadden Gardener, 2006)، وتنشيط إفراز هذا الإنزيم هو أثر بيو كيميائي يترافق مع توليد المقاومة الجهازية المستحثة (Thangadurai *et al*., 2010).

جدول 2. تركيز أنزيم البيروكسيداز في المعاملات المختلفة بعد 14 إلى 35 يوماً من الزراعة باستخدام جهاز المطياف الضوئي.

Table 2. Peroxidase enzyme concentration in tomato plants following various treatments, 14 to 35 days after planting.

التركيز (ميكرومول/مغ) Concentration (µmole/mg)	Treatment	المعاملة	رمز المعاملة Treatment code	الزمن بعد المعاملة (يوم) Time after planting (days)
130.306 gh	Untreated Control	الشاهد السليم	C	14
361.910 f	Treated with mycorrhisa only	استخدام فطور الميكوريزا فقط	My	
13.300 k	Treated with Pythium only	استخدام فطر البيثيوم فقط	Py	
183.730 g	Treated with Mycorrhiza and two weeks after sowing with *Pythium*	استخدام فطور الميكوريزا ثم البيثيوم بعد أسبوعين من زراعة البذور	My-Py	
108.270 h	Treated with *Pythium* and Mycorrhiza at sowing	استخدام فطرالبيثيوم والميكوريزا معاً عند زراعة البذور	My+Py	
30.030 jk	Treatment with *Pythium* and two weeks after sowing by Mycorrhiza	استخدام فطر البيثيوم ثم الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور	Py-My	
325.412 f	Untreated Control	الشاهد السليم	C	21
543.800 d	Treated with mycorhyza only	استخدام فطور الميكوريزا فقط	My	
11.630 k	Treated with Pythium only	استخدام فطر البيثيوم فقط	Py	
369.010 f	Treated with Mycorrhiza and two weeks after sowing with *Pythium*	استخدام فطور الميكوريزا ثم البيثيوم بعد أسبوعين من زراعة البذور	My-Py	
80.230 hij	Treated with *Pythium* and Mycorrhiza at sowing	استخدام فطرالبيثيوم والميكوريزا معاً عند زراعة البذور	My+Py	
33.490 ijk	Treatment with *Pythium* and two weeks after sowing by Mycorrhiza	استخدام فطر البيثيوم ثم الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور	Py-My	
472.906 e	Untreated Control	الشاهد السليم	C	28
687.520 c	Treated with mycorhyza only	استخدام فطور الميكوريزا فقط	My	
10.520 k	Treated with Pythium only	استخدام فطر البيثيوم فقط	Py	
458.240 e	Treated with Mycorrhiza and two weeks after sowing with *Pythium*	استخدام فطور الميكوريزا ثم البيثيوم بعد أسبوعين من زراعة البذور	My-Py	
98.670 hi	Treated with *Pythium* and Mycorrhiza at sowing	استخدام فطرالبيثيوم والميكوريزا معاً عند زراعة البذور	My+Py	
32.500 ijk	Treatment with *Pythium* and two weeks after sowing by Mycorrhiza	استخدام فطر البيثيوم ثم الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور	Py-My	
703.360 bc	Untreated Control	الشاهد السليم	C	35
838.650 a	Treated with mycorhiza only	استخدام فطور الميكوريزا فقط	My	
12.180 k	Treated with Pythium only	استخدام فطر البيثيوم فقط	Py	
763.390 b	Treated with Mycorrhiza and two weeks after sowing with *Pythium*	استخدام فطور الميكوريزا ثم البيثيوم بعد أسبوعين من زراعة البذور	My-Py	
143.500 gh	Treated with *Pythium* and Mycorrhiza at sowing	استخدام فطرالبيثيوم والميكوريزا معاً عند زراعة البذور	My+Py	
33.710 ijk	Treatment with *Pythium* and two weeks after sowing by Mycorrhiza	استخدام فطر البيثيوم ثم الميكوريزا بعد أسبوعين من زراعة البذور	Py-My	
81.300				$LSD_{0.05}$

الأرقام التي يتبعها الأحرف نفسها في العامود نفسه لا يوجد بينها فرق معنوي عند احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

ازداد تركيز إنزيم البيروكسيداز بدرجة كبيرة بعد 28 يوماً من ظهور البادرات في معاملة My (687.52 ميكرومول/مغ) مقارنةً بمعاملة Py (10.52 ميكرومول/مغ)، وبينت النتائج تفوق المعاملة التي أضيف فيها اللقاح الميكوريزي قبل الكائن الممرض (My-Py) 458.24 ميكرومول/مغ) معنوياً على المعاملة التي أضيف فيها الكائن الممرض مع اللقاح الميكوريزي بوقت واحد عند زراعة البذور (My+Py) (98.67 ميكرومول/مغ) (جدول 1). تتوافق هذه النتائج مع ما ذكره Thangadurai *et al.* (2010) بأن العديد من الإنزيمات النباتية تشارك في ردود فعل الدفاع ضد مسببات أمراض النبات، وتشمل هذه الإنزيمات المؤكسدة البيروكسيداز وبولي فينول أوكسيداز التي تحفز تشكيل اللجنين الذي يسهم في تشكيل الحواجز الدفاعية عند خلايا النبات (Khakpour & Khara, 2012). أظهرت النتائج بعد 35 يوماً من ظهور البادرات ارتفاع تركيز الإنزيم معنوياً في معاملة My-Py (763.39 ميكرومول/مغ) مقارنةً مع المعاملة My+Py (143.5 ميكرومول/مغ)، كما بينت النتائج ارتفاع تركيز الانزيم في معاملة My (838.65 ميكرومول/مغ) مقارنةً مع معاملة الشاهدC (703.36 ميكرومول/مغ) وكانت الفروقات معنوية بين المعاملتين (جدول 2).

تحد فطور الميكوريزا الداخلية من الإصابة بالممرض باستخدام عدة آليات ومنها تحريض المقاومة الجهازية في النبات، من خلال تحفيزها مواد مثبطة للفطر من بينها إنزيمات محللة لجدر خلايا الفطر مثلβ-1,3-glucanase و Chitins (Pozo *et al.*, 1999). ويترافق تنشيط إفراز إنزيم البيروكسيداز مع تفعيل المقاومة الجهازية المستحثة في النبات (Thangadurai *et al.*, 2010).

يحفز تعايش فطور الميكوريزا مع جذور النباتات إفراز إنزيم البيروكسيداز الذي يعمل على أكسدة العديد من الركائز (Substrates) المانحة للهيدروجين (Hydrogen donor) مثل المركبات الفينولية التي تتحول إلى فينولات سامة للكائن الممرض، وبوجود بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 كركيزة مستقبلة للهيدروجين Hydrogen accepter، حيث ينتقل الهيدروجين من المواد المانحة للهيدروجين إلى المادة المستقبلة، فيتراكم الماء الأوكسجيني H_2O_2 في الأنسجة المعاملة، ويسهم تراكمه بدور كبير في تقوية جدر الخلايا وزيادة مقاومة النبات للكائنات الممرضة (Hathout *et al.*, 2010).

بينت نتائج قياس تركيز إنزيم البيروكسيداز قدرة فطور الميكوريزا الشجيرية على تحريض إفرازه، والذي يزيد من أكسدة المواد الفينولية التي تعد استجابة أولية لغزو الكائنات الممرضة للنبات وبالتالي يقوم إنزيم البيروكسيداز بأكسدة الفينول O-dihydroxyphenol وإزالة التأثيرات المرضية للكائن الممرض (Sinsabaugh, 2010). استعمل تقدير تركيز إنزيم البيروكسيداز في النبات كمؤشر على حدوث إصابة بالكائنات الممرضة، حيث أن ارتفاع تركيزه بالأنسجة النباتية يدل على حصول مقاومة جهازية محفزة في النبات ضد المسببات المرضية المهاجمة (Lojkowska & Holubowska, 1992).

يملك إنزيم البيروكسيداز دوراً في زيادة مقاومة النبات للكائنات الممرضة من خلال دوره في زيادة سمك الجدار الخارجي لخلايا بشرة النبات نتيجة لحدوث ترسبات من مواد يصعب تحليلها بوساطة الفطور كاللجنين الذي يعترض عضو اختراق الفطر، وبذلك فإن جدار خلايا بشرة النبات يحد من تقدم الممرض (Clark, 2006). كما يسهم إنزيم البيروكسيداز بدور مهم في تشكيل مركب من مادة لجنينية (الحليمة) Papilla وهي امتدادات للجدار الخلوي في النبات تقوم بتغليف ومحاصرة هيفا الكائن الممرض، ويصعب تحليلها بوساطة الفطور، وقد توقف هذه الحليمات من تقدم الفطر تماماً إذا كان النبات على درجة عالية من المقاومة، وقد ينجح الفطر الممرض بالمرور إلا أن هيفا الفطر التي تمر من الحليمة تكون ضعيفة، وبالتالي يصبح الممرض أقل تأثيراً في العائل (Agrios, 2005 ؛Abohatem *et al.*, 2011).

ينشط تعايش فطور الميكوريزا الداخلية مع جذور النبات المورثات المسؤولة عن تحفيز المقاومة الجهازية في النبات، و ينتج عن ذلك العديد من المركبات في النبات مثل الفينول والبيروكسيداز والكيتيناز وβ-1-3 غلوكاناز والبولي فينول أوكسيداز، والبروتينات المرتبطة بالإمراضية بكميات ضئيلة جداً، وجميعها تملك دوراً مهماً في زيادة مقاومة النبات للكائنات الممرضة (Pozo *et al.*, 1999 ؛Ozgonen *et al.*, 2010).

Abstract

Khrieba, M.I., M.F. Azmeh, W. Chouman, I. Ghazal, and A.K. Ali. 2021. Induction of Systemic Resistance in Tomato (*Solanum lycopersicom* L.) Against Damping-off Disease by Using a Mixture of Mycorrhizae. Arab Journal of Plant Protection, 39(1): 61-68.

The effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) in improving the activity of the enzyme peroxidase and its role in controlling tomato damping-off caused by *Pythium ultimum* was studied in a pot experiment during the 2013 growing season. Five treatments were compared with a non-treated control (C): in treatment 1, soil was infested only with *Pythium* (Py), in treatment 2, soil was infested with mycorrhiza only (My), in treatment 3 soil was infested with *Pythium* and mycorrhiza at sowing (My+Py), in treatment 4, soil was infested with *Pythium* and two weeks after sowing with Mycorrhiza (*Py-My*) and in treatment 5, soil was infested with mycorrhiza and two weeks after sowing with *Pythium* (*My-Py*). The results showed that peroxidase concentration in plant tissues 14 days after seed germination in the *My* treatment (361.91 µmole/mg) significantly exceeded the other treatments. In the treatment where mycorrhiza was added before the pathogen

peroxidase activity reached 183.73 µmole/mg, which was 41% significantly higher than the *My+Py* treatment in which the pathogen and mycorrhizal inoculant were added together at sowing (108.27 µmole/mg). The peroxidase concentration increased significantly 28 days after seed germination in the *My* treatment (687.52 µmole/mg) as compared with the *Py* treatment (10.52 µmole/mg). Results also showed that in the treatment *My-Py*, where the mycorrhyzal inoculum was added before the pathogen, peroxidase activity (458.27 µmole/mg) was significantly higher than in the treatment *Py+My*, when the pathogen was added simultaneously with the vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum (98.67 µmole/mg). Furthermore, results showed that 35 days after seed germination, the enzyme concentration was significantly higher in the *My-Py* treatment (763.39 µmole/mg) as compared with *My+Py* treatment (143.5 µmole/mg).
Keywords: Vesicular-arbuscular mycorrhiza, VAM, *Pythium ultimum*, peroxidase, tomato, Syrian coast, induced resistance.
Affiliation of authors: ***M.I. Khrieba[1], M.F. Azmeh[1], W. Chouman[2], I. Ghazal[3] and A.K. Ali[4]. (1) General Authority of biotechnology, Department of Biodiversity, Damascus, Syria, Email: imadkhrieba@gmail.com; (2) Department of Basic Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria; (3) Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria; (4) Department of Marine Chemistry, Higher Education Institute for Marine Research, Tishreen University, Lattakia, Syria.***

References

*[**Annual Agricultural Statistical Collection.** 2014. Agricultural Statistics Directorate, Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Damascus, Syria. (in Arabic).]*

Abdel-Fattah, G.M., S.A. El-Haddad, E.E. Hafez and Y.M. Rashad. 2011. Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. Microbiological Research, 166(4): 268-281. https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.04.004

Abohatem M., F. Chakrafi, F. Jaiti, A. Dihazi and M. Baaziz. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi limit incidence of *Fusarium oxysporum* f.sp. albedinis on date palm seedlings by increasing nutrient contents, total phenols and peroxidase activities. The Open Horticulture Journal, 4: 10-16. https://doi.org/10.2174/1874840601104010010

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology, Elsevier Academic Press. 948 pp.

Altunkaya, A. and V. Gökmen. 2011. Purification and characterization of polyphenol oxidase, peroxidase and lipoxygenase from freshly cut lettuce (*L. sativa*). Food Technology and Biotechnology, 49(2): 249-256

Behera, S., S. Ghanty, F. Ahmad, S. Santra and S. Banerjee. 2012. UV-Visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation, Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques, 3(6): 1-6. https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000151

Brundrett, M. and S. Juniper. 1995. Non-destructive assessment of spore germination of VAM fungi and production of pot cultures from single spores. Soil Biology and Biochemistry, 27: 85-91. https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)00135-N

Clark, M.M. 2006. Biological Control Methods for Damping-off of Tomato Seedlings Caused by *Pythium myriotylum*. A Thesis Presented for the Master of Science Degree. The University of Tennessee, Knoxville. 131 pp.

Dewan, M.M. and K. Sivasithamparam. 1988. *Pythium* spp. in roots of wheat and rye-grass in Western Australia and their effect on root rot caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Soil Biology and Biochemistry, 20(6): 801-808. https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90085-5

المراجع

أسطيفان، زهير عزيز، محمد صادق حسن، حافظ إبراهيم عباس وباسمة جورج انطون. 1999. تأثير فطريات المايكوريزا الداخلية على المعقد المرضي لمرض الذبول ونيماتودا العقد الجذرية في نباتات الطماطة والباذنجان. مجلة الزراعة العراقية، 4: 54-60.

*[**Stephan, Z.A., M.S. Hasan, H.I. Abbas and B.G. Antoun.** 1999. Effect of endomycorrhizal fungi on the wilt and root knot nematode disease complex of tomato and eggplant. Iraqi Agricultural Journal, 4:54-60 (in Arabic).]*

خريبه، محمد عماد، ابتسام غزال، فواز العظمة ووفاء شومان. 2013a. العزل والتشخيص والشدة الإمراضية للفطر *Pythium* sp. المسبب لمرض سقوط بادرات البندورة في البيوت المحمية. مجلة جامعة تشرين للعلوم البيولوجية، 6: 181-193

*[**Khriebeh, M.I., W. Choumane, I. Ghazal and F. Azmeh.** 2013a. Isolation, identification and pathogenicity of Pythium spp. causing tomato damping-off in greenhouses. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series, 6: 181-193 (in Arabic).]*

خريبه، محمد عماد، ابتسام غزال، فواز العظمة ووفاء شومان. 2013b. عزل وتحديد فطور جذرية (ميكوريزا) متعايشة مع البندورة في الساحل السوري. مجلة جامعة تشرين للعلوم البيولوجية، 8: 149-160

*[**Khrieba, M.I., W. Choumane, I. Ghazal and F. Azmeh.** 2013b. Isolating and identifying root-fungi (mycorrhiza) symbiotic with tomato in the Syrian Coast. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series, 8: 149-160 (in Arabic).]*

الشعبي، صلاح، جورج ملوحي ولينا مطرود. 2007. مكافحة مرض سقوط بادرات البندورة/الطماطم (*Rhizoctonia solani* Kühn) باستخدام الفطر *Trichoderma koningi* Oudem. والمبيدين فلوتولانيل وتولكلوفوس ميتيل. مجلة وقاية النبات العربية، 25(1): 15-27.

*[**Al-Chaabi, S., G. Mallohi and L. Matrod.** 2007. Control of tomato seedlings damping-off disease (Rhizoctonia solani Kühn.) using* Trichoderma koningii *Oudem., Flutolanil or Tolclofos Methyl. Arab Journal of Plant Protection, 25(1): 15-27 (in Arabic).]*

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. 2014. مديرية الإحصاء الزراعي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.

Pal, K.K., and B. McSpadden Gardener. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor, 25 pp. https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02

Pawaar, J.S. and U.B. Kakde. 2012. Study of arbuscular mycorrhiza associated with some important medicinal plants in suburban area of Mumbai. Online International Interdisciplinary Research Journal, 2: 116-127.

Pozo, M.J., C. Azcon-Aguilar, E. Dumas-Gaudot and J.M. Barea. 1999. β-1-3 glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. Plant Science, 141(2): 149-157. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(98)00243-X

Pozo, M.J., S. Slezack-Deschaumes, E. Dumas-Gaudot, S. Gianinazzi and C. Azcon-Aguilar. 2002. Plant defense responses induced by arbuscular mycorrhizal fungi. Pages 103-111. In: Mycorrhizal Technology and Agriculture. S. Gianinazzi, H. Schuepp, J. M. Barea, K. Haselwandter (eds). Birkhauser Verlag, Basel. 296 pp.

Sinsabaugh, R.L. 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. Soil Biology and Biochemistry, 42(3): 391-404. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.014

Smith, S.E. and D.J. Read. 2008. Mycorrhizal Symbioses. Academic Press, London, UK. 589 pp.

St-Arnaud, M., C. Hamel and J.A. Fortin. 1994. Inhibition of *Pythium ultimum* in roots and growth substrate of mycorrhizal *Tagetes patula* colonized with *Glomus intraradices*. Canadian Journal of Plant Pathology, 16(3): 187-194. https://doi.org/10.1080/07060669409500751

Thangadurai, D., C.A. Busso and M. Hijri. 2010. Mycorrhizal biotechnology. Science Publishers, USA an imprint of Edenbridge Ltd., British Channel Islands. 225 pp.

Wehner, J., P.M. Antunes, J.R. Powell, J. Mazukatow and M.C. Rillig. 2010. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: A role for fungal diversity? Pedobiologia, 53(3): 197-201. https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2009.10.002

Harveson, R.M. and C.M. Rush. 2002. The influence of irrigation frequency and cultivar blends on severity of multiple root diseases in sugar beets. Plant Disease, 86(2): 901-908. https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.8.901

Hathout, T.A., M.S. Felaifel, S.M. El-Khallal, H.H. Abo-Ghalia, and A.G. Rabab. 2010. Biocontrol of *Phaseolus vulgaris* root rot using Arbuscular mycorrhizae. Egyptian Journal of Agricultural Research, 88: 15-25. http://research.asu.edu.eg/handle/123456789/2087

Kellam, M.K. and N.C. Schenck. 1980. Interaction between a vesicular-arbuscular mycorrhizae and root-knot nematode on soybean. Phytopathology, 70: 293-296.

Khakpour, O. and J. Khara. 2012. Spore density and root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in some species in the northwest of Iran. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3(5): 977-982.

Li, B., S. Ravnskov, G. Xie and J. Larsen. 2007. Biocontrol of *Pythium* damping-off in cucumber by arbuscular mycorrhiza-associated bacteria from the genus *Paenibacillus*. BioControl, 52: 863-875. https://doi.org/10.1007/s10526-007-9076-2

Lojkowska, E. and M. Holubowska. 1992. The role of polyphenol oxidase and peroxidase in potato tuber resistance to soft rot caused by (*Erwinia carotovora*). Journal of Phytopathology, 136: 319-328 https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1992.tb01314.x

Manila, R. and R. Nelson. 2013. Nutrient uptake and promotion of growth by arbuscular mycorrhizal fungi in tomato and their role in bio-protection against the tomato wilt pathogen. Journal of Microbiology and Biotechnology Research, 3: 42-46.

Mckinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agricultural Research, 26: 195-217.

Ozgonen, H., D.A. Soner and A. Erkilic. 2010. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. in peanut. African Journal of Agricultural Research, 5: 128-132.

Received: October 3, 2019; Accepted: January 14, 2021

تاريخ الاستلام: 2019/10/3؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2021/1/14