تأثير السيليكون وحمض السالسيليك في بعض آليات الدفاع الكيمياحيوية لليمون الحامض (سانتا تيريزا) للحدّ من ضرر حافرة أنفاق الحمضيات

بتول أحمد[1*]، سوسن سليمان[1] ومحمد أحمد[2]

(1) قسم البساتين، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (2) قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. *البريد الإلكتروني للباحث المراسل: batoulandjanalma@gmail.com

الملخص

أحمد، بتول، سوسن سليمان ومحمد أحمد. 2024. تأثير السيليكون وحمض السالسيليك في بعض آليات الدفاع الكيمياحيوية لليمون الحامض (سانتا تيريزا) للحد من ضرر حافرة أنفاق الحمضيات. مجلة وقاية النبات العربية، 42(1): 67–74. https://doi.org/10.22268/AJPP-001208

تمت دراسة تأثير رشّ أشجار الليمون الحامض سانتا تيريزا (4 سنوات) بالسيليكون (200–400 جزء في المليون) وحمض السالسيليك (50–75 جزء في المليون) في نشاط أنزيم الكاتالاز، محتوى الأوراق من الماء الأوكسجيني، الأحماض الأمينية الحرة، الكلوروفيل، سماكة الورقة ومدى ارتباط هذه المؤشرات ببعض صفات حشرة حافرة أنفاق الحمضيات مثل طول العذراء ومتوسط عدد البيض. أظهرت النتائج أن المعاملة بالسيلكون وحمض السالسيليك قد أثرت في محتوى الأوراق من الماء الأوكسجيني (0.42–0.43 نانومول/غ وزن رطب)، حيث انخفض نشاط أنزيم الكاتالاز (0.211– 0.213 نانومول/دقيقة/غ وزن رطب)، وازداد محتوى الأوراق من الأحماض الأمينية الحرة (40.2– 45.3 ميكروغرام/غ وزن رطب)، والكلوروفيل الكلي (35.17– 741.52 سباد)، وثخانة الورقة (1.3–2.1 مم)، وقد تجلت هذه التغيرات بشكل واضح في بيولوجيا حشرة حافرة أنفاق الحمضيات حقلياً، فانخفض طول العذراء نتيجة المعاملتين (2.1–2.2 مم)، كما انخفض متوسط عدد البيض على الأوراق (8.7–10.7 بيضة)، مما يعطي مؤشرات مبشرة لتخفيض أضرار حشرة حافرة أنفاق الحمضيات بدون استخدام المبيدات.

كلمات مفتاحية: حامض سانتا تيريزا، سيليكون، حامض السالسيليك، كاتالاز، الماء الأوكسجيني، أحماض امينية حرة، الكلوروفيل، حشرة حافرة أنفاق الحمضيات.

المقدمة

تؤثر البيئة التي تعيش فيها النباتات في نموها، وتطورها وانتاجيتها، بشكل مباشر أو غير مباشر، حيث تتعرض النباتات أثناء دورة حياتها إلى العديد من الاجهادات البيئية الأحيائية واللا أحيائية التي تتسبب بانخفاض النمو وبالتالي الإنتاجية. تسبب الإصابة بالممرضات والحشرات ضرراً بالغاً للنباتات، وتعدّ الحشرات من أهم مسببات الضرر وذلك من خلال تغذيتها على المجموع الخضري، مما يخفض السطح الممثل ضوئياً وبالتالي تنخفض نواتج التمثيل الضوئي التي تستند إليها تغذية النبات وتخزين بعض هذه النواتج في الثمار مما ينعكس على المحصول الذي يعد الهدف الرئيس للزراعة (Delaney & Macedo, 2001).

تعدّ الحمضيات (الجنس *Citrus* والعائلة *Rutaceae*) من أهم أنواع الفاكهة في العالم، حيث تتميز بأهميتها الغذائية ورائحتها المميزة، وغناها بفيتامين C ومجموعة فيتامين B (Liu *et al.*, 2012)، والكاروتينوئيدات والعناصر المعدنية ومضادات الأكسدة (Xu *et al.*, 2008)، والفلافونيدات (Abd-Ghafar *et al.*, 2010)، إلّا أنّها تصاب بالعديد من الأمراض والإصابات الحشرية. عندما تتعرض النباتات لهجوم حشري فإنها تدافع عن نفسها وفق آليات دفاع فعالة، إذ تستلزم تصنيع بروتين جديد، وتكون منظمة عبر شبكة من مسارات الإشارات وتشمل ثلاث جزيئات، هي: حمض السالسيليك (SA)، حمض الجاسمونيك (JA) والايتيلين (ET)، والتي تسهم في إنتاج بروتينات مرتبطة بالكائن الممرض (Almagro *et al.*, 2009).

تعدّ المحفزات مواد كيميائية، تثير استجابة وظيفيةَ وشكليةَ، كما تعدل الاستقلاب الثانوي في النباتات (Benhamou, 1996)، وتسبب كذلك ردود فعل دفاعية مختلفة وتراكم مركبات الاستقلاب الثانوية (Zhao *et al.*, 2005)، وبالتالي يمكن أن تؤثر في وظائف/فيزيولوجيا الحشرة نفسها، مما قد يعزز أو يضعف مقاومة الحشرة للمبيدات (Liang *et al.*, 2007). كذلك فإن للعناصر المعدنية دوراً مهماً في تغذية النبات وزيادة كفاءته في تصنيع المركبات التي تقوي جدره الخلوية وتنشط تصنيع المركبات التي تساهم في زيادة مقاومته للإجهادات الأحيائية

https://doi.org/10.22268/AJPP-001208
© 2024 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

واللاأحيائية، ومن بين هذه العناصر يعدّ السيليكون مطبقاً في تحسين مقاومة النباتات لهذه الاجهادات.

يعدّ حمض السالسيليك منظم نمو نباتي، ينظم استجابة النبات للإجهادات الأحيائية واللا أحيائية (Horváth *et al.* 2007)، كما يعدّ مركب إشارة يسهم في تحريض أنظمة الدفاع الذاتي للنبات (Gunes *et al.* 2007)، ويلعب دوراً مهمّاً في نمو وتطور واستجابة النبات الدفاعية، ويتدخل في بعض النظم الحيوية الكيميائية التي تنقل إشارات الهرمونات لتحسين أنزيمات محددة (Zhao *et al.*, 2005). وعلاوةً على ذلك، يعد السيليكون من أكثر العناصر وفرةً في التربة، حيث يوجد في محلول التربة بعدة أشكال (الأحماض الأحادية والبولي سيلسيلك، ومركبات السيليكون العضوية، وغيرها..)، وتعدّ هذه المركبات ذات نشاط كيميائي وظيفي، وحيوي مرتفع (Matichenkov *et al.* 2008)، وتستطيع النباتات امتصاص السيليكون فقط على شكل حمض أحادي عبر الجذور (Ma & Yamaji, 2006). ويعتقد أن للسليكون دوراً في زيادة نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة، مما يسهم في زيادة تحمل النبات للإجهادات الحية وغير الحية (Gong *et al.*, 2008).

وتعد حافرة أنفاق الحمضيات (*Phyllocnistis citrella* Stainton) (Lepidoptera, Gracillariidae) من الحشرات المهمة، التي تصيب الحمضيات (خاصة الليمون سانتا تيريزا)، ويعد موطنها الأصلي شمال وشرق آسيا، ومنها غزت مناطق زراعة الحمضيات في أمريكا، وحوض المتوسط، وذلك خلال الفترة 1993–1998 (Garcia-Marí *et al.*, 2004).

تسبب حافرة أنفاق الحمضيات أضراراً لأنسجة التمثيل الضوئي، مما يؤثر في النمو المثالي للنبات، وقد يكون هذا التأثير غير المباشر للحشرة أشد خطراً من التهامها المباشر للأجزاء النباتية (Sinclair & Hughes, 2010). تضع الأنثى البالغة بيضها بجانب العرق الوسطي للورقة، لتبدأ اليرقات حديثة الفقس بالتغذي على أنسجة الورقة، وتشكيل نفق حلزوني على سطح الورقة، وبذلك تتخرب طبقة البشرة في الورقة المصابة، وتصبح الأوراق مجعدة وتظهر عليها بقع نكروزية (Uygun *et al.*, 2000).

يعد تعزيز آليات الدفاع الكيمياحيوية والوظيفية لغراس الحمضيات سانتا تيريزا الحساسة للإصابة بحافرة أنفاق الحمضيات بالمعاملة بالسيليكون وحمض السالسيليك، ذات أهمية كبيرة في الحد من أضرار هذه الحشرة، التي تحدث أضراراً اقتصادية واسعة لمزارعي الحمضيات وخاصة في المشاتل، وتتسبب باستخدام مكثف للمبيدات ذات الأثر الضار للبيئة من أجل السيطرة عليها. لذلك هدفت هذه الدراسة إلى معرفة تأثير المعاملة بالسيليكون وحمض السالسيليك في رفع كفاءة مقاومة النبات لهذه الحشرة وتقليل ضررها.

مواد البحث وطرائقه

تم تنفيذ البحث خلال العامين 2021–2022 في قرية بيت زينة (صافيتا طرطوس)، على غراس حمضيات (ليمون حامض– صنف سانتا تيريزا) بعمر 4 سنوات، حيث تمت معاملة الأشجار بتراكيز مختلفة من السيليكون وحمض السالسيليك، وذلك باستخدام مرش يدوي سعة 20 ليتر. تم رش الأشجار أربع مرات، بفاصل بين الرشة والأخرى 15 يوماً، مع مراعاة الظروف الجوية السائدة، وإضافة محلول Tween-20 بمعدل 2 مل/ل كمادة ناشرة لاصقة. تم تصميم التجربة بطريقة العشوائية الكاملة، باستخدام 3 معاملات بثلاثة مكررات، حيث اعتبرت كل شجرة مكرراً، وكانت المعاملات كما يلي: T0= شاهد معامل بالماء، T1= 200 جزء بالمليون سيليكون، T2 = 400 جزء بالمليون سيليكون، T3= 50 جزء يالمليون سيليكون، T4= 75 جزء بالمليون سيليكون.

تحضير مستخلص الأنزيم كاتالاز

تمّ استخلاص البروتينات وفقاً لطريقة Murshed *et al.* (2008) مع بعض التعديلات، في مختبر فيزيولوجيا النبات في كلية الزراعة، جامعة تشرين، حيث تم مزج 100 مغ من أوراق نبات الحامض سانتا تيريزا والمصابة حديثاً بالحشرة والمخزنة عند حرارة −20°س، بـ 1 مل من محلول منظم 50 ميلي مول MES/KOH (pH 6) الذي يحتوي على كلوريد البوتاسيوم 40 ميلي مول، وكلوريد الكالسيوم 2 ميلي مول، والأسكوربات 1 ميلي مول. ثم وضع الخليط في جهاز الطرد المركزي بقوة 1500g لمدة 15 دقيقة، وحرارة 4°س. مثلت الرشاحة الناتجة مجمل البروتينات أو المستخلص الذي سيجرى عليه قياسات نشاط أنزيم الكاتالاز.

تقدير نشاط أنزيم الكاتالاز (أنزيم مضاد للأكسدة)

تم تقدير نشاط أنزيم الكاتالاز ضمن خليط تفاعلي مكون من 50 ميلي مول منظم فوسفاتي (pH 7.8) و 15 ميلي مول من H_2O_2 و 100 ميكروليتر من مستخلص العينة. تم تحديد نشاط الأنزيم من خلال قياس انخفاض تركيز الـ H_2O_2 على طول موجة 240 نانومتر.

تقدير محتوى الأوراق من الماء الأوكسجيني

تم تقدير محتوى الأوراق الطازجة من الماء الأوكسجيني باستخدام طريقة Murshed *et al.* (2013) مع بعض التعديلات. تم سحق 500 مغ من أوراق الليمون الحامض المصابة حديثاً بحشرة حافرة أنفاق الحمضيات، بوجود 1 مل من حمض ثلاثي الكلور 0.1%، ثم وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي بقوة 10000g لمدة 15 دقيقة، وحرارة 4°س، ثم وضع 0.5 مل من الرشاحة السائلة مع 0.5 مل من محلول فوسفات

البوتاسيوم المنظم 10 مل بدرجة حموضة pH 7.0 و 1 مل من محلول يوديد البوتاسيوم النظامي، وتم قياس الامتصاصية على طول موجة 390 نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي. تم تقدير تركيز الماء الأوكسجيني بالاعتماد على منحنى قياسي لتراكيز الماء الأوكسجيني.

تقدير محتوى الأوراق من α– الأحماض الأمينية الحرة

تم تقدير محتوى الأوراق من α –الأحماض الأمينية الحرة (البسيطة) باستخدام طريقة النينهيدرين (Bailey, 1967). تم طحن 250 مغ من الأوراق الطازجة والمصابة حديثاً بحشرة حافرة أنفاق الحمضيات مع 3 مل من الايثانول 80%، وتم تعريض المستخلص للطرد المركزي بقوة g6000 لمدة 15 دقيقة، ثم وضع 0.1 مل من المستخلص مع 0.9 مل من محلول حمض الخل المنظم (0.4M-pH 5.0)، و 1 مل من كاشف النينهيدرين، ثم تحضين المزيج عند حرارة 100°س لمدة ربع ساعة، ثم ترك العينات حتى تبرد تماماً. تم قياس الامتصاصية على طول موجة 570 نانومتر، وتقدير محتوى الأوراق من α –أحماض أمينية حرة بالاعتماد على منحنى قياسي من الألانين.

تقدير محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي

تم قياس الكلوروفيل باستخدام جهاز كلوروفيل حقلي Chlorophyll meter TYS-B ووحدته سباد (Spad). تم قياس سماكة الورقة (مم) باستخدام جهاز البياكوليس.

طول العذراء

أخذت 10 أوراق تحتوي على عذراء بالغة حية لم تخرج من حجرة التعذر من كل شجيرة، وتم تصوير العذراء باستخدام ميكروسكوب محمول 600x-4.3inch Lcd على ورق ميلي متري، وحسب الطول بدقة باستخدام برنامج الـ Digimizer.

عدد البيض

تم عد البيض الموجود على الأوراق حقلياً، وذلك بعد ظهور الإصابة على كافة الغراس المعاملة، من خلال أخذ 8 أوراق عشوائياً من الجهات الأربعة، حديثة النمو، صغيرة، غير مصابة مسبقاً من كل شجيرة، وفحصها باستخدام ميكروسكوب محمول 600x-4.3inch Lcd، وأخذ متوسط عدد البيض الموجود على هذه الأوراق.

التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Gen Stat 15 مع اختبار الفروق بين المتوسطات بحساب أقل فرق معنوي LSD عند مستوى احتمال 0.05 (Duncan, 1955).

النتائج والمناقشة

تأثير المعاملة بالسيلكون وحمض السالسيليك في نشاط أنزيم الكاتالاز ومحتوى الماء الأوكسجيني

يبين الشكل B-1 أنه عند غياب المعاملة بالسيليكون أو حمض السالسيليك، ارتفع نشاط أنزيم الكاتالاز في أوراق الليمون، في حين خفضت جميع المعاملات نشاط أنزيم الكاتالاز معنوياً مقارنةً مع الشاهد، وقد أدت المعاملة بالسيلكون 200 جزء بالمليون إلى تخفيض نشاط الأنزيم معنوياً مقارنةً مع الشاهد (0.288– 0.213 نانومول/دقيقة/غ/وزن رطب)، تلتها المعاملة بحمض السالسيليك 50 جزء بالمليون (0.211 نانومول/دقيقة/غ/ وزن رطب) و 75 جزء بالمليون (0.253 نانومول/دقيقة/غ/وزن رطب)، والمعاملة بالسيلكون 400 جزء بالمليون(0.284 نانومول/دقيقة/غ/وزن رطب). وفي الوقت نفسه، ارتفع محتوى الماء الأوكسجيني في أوراق الليمون المجهدة (الشاهد) معنوياً (2.62 نانومول/غ وزن رطب)، في حين خفضت جميع المعاملات محتوى الأوراق منه، حيث أدت المعاملة بحمض السالسيلك 75 جزء بالمليون إلى انخفاض محتوى الماء الأوكسجيني (0.43 نانومول/غ وزن رطب)، كذلك عند تركيز 50 جزء بالمليون (2.47 نانومول/غ وزن رطب)، وعند المعاملة بالسيلكون (200–400 جزء بالمليون) كان محتوى الأوراق (2.42 و 2.47 نانومول/غ وزن رطب)، على التوالي.

تدل هذه النتائج على ارتفاع محتوى الماء الأوكسجيني في الأوراق المجهدة غير المعاملة بالمركبات المدروسة مع ارتفاع في فعالية أنزيم الكاتالاز، وعند المعاملة بالسيليكون أو حمض الساليسيليك انخفض محتوى الأوراق من الماء الأوكسجيني وانخفضت بذلك فعالية أنزيم الكاتالاز. وقد دلت الأبحاث أن للسيلكون دوراً مهماً في تنظيم الآليات المضادة للأكسدة لدرء آثار الإجهادات المختلفة، فهو ينظم التعبير عن الجينات التي تشفر aquaporin (AQP)، والبيروكسيداز، والـ phenylalanine ammonia-lyase (PAL)، والبروتينات المرتبطة بمقاومة الأمراض (Kim *et al.*, 2017).

لقد خفضت المعاملة بالسيلكون نشاط أنزيم الكاتالاز وهذا يتعارض مع بعض الأبحاث المنشورة (Muneer *et al.*, 2014؛ Sattar *et al.* 2017)، ويتوافق مع بعضها الآخر (Vaculík *et al.*, 2009؛ Vaculíková *et al.*, 2014؛ Zhu *et al.*, 2004)، في حين لم تؤثر المعاملة بالسيلكون على نشاط أنزيم الكاتالاز في أوراق القمح المعرضة لإجهاد الملوحة (Gong *et al.*, 2008)، وقد يكون سبب انخفاض نشاط أنزيم الكاتالاز مرتبطاً بانخفاض محتوى الماء الأوكسجيني في الأوراق المعاملة بالسيليكون. قد يعود هذا التخفيض في نشاط أنزيم الكاتالاز نتيجة لتخفيض نشاط أنزيم الـSOD (superoxiode dismutase) والذي

يقوم بالتخلص من O_2^- بتحويلها لـ H_2O_2 مما قد يحدث ضرراً شديداً للكلوروبلاست، والأحماض النووية، والبروتينات، لذلك يقوم الكاتالاز والبيروكسيداز بإزالة الماء الأوكسجيني من الخلايا (Helaly *et al.*, 2017)، ولعل انخفاض تراكم نواتج الـROS (reactive oxygen species) قد يكون أيضاً بسبب تدخل السيلكون في تبديد الطاقة (Cao *et al.*,2020)، أو قد يكون نتيجة الإزالة المباشرة للتأثير السام للجذور الحرة وتأثيراتها في تخليق مضادات الأكسدة الداخلية مثل السكريات الكلية، والأحماض الأمينية الحرة الكلية، والكاروتينويدات (Pei *et al.*, 2010) (شكل A-1).

أثبتت الدراسات تثبيط المعاملة بحمض السالسليك لنشاط بعض الأنزيمات المضادة للأكسدة (Watahiki *et al.*, 1995)، حيث وجد أن حمض السالسيلك يرتبط بشكل مباشر بأنزيم الكاتالاز ويثبط فعاليته في نبات الذرة وغيرها من الأنواع الأخرى (Horváth *et al.*, 2002)، وخلال هذا التثبيط يتحول حمض السالسيليك إلى جذور حرة مما يسهم في تراكم الدهون المتأكسدة، وقد أثبت أن منتجات أكسدة الدهون تكون منخرطة في زيادة نشاط البروتين الغني بالبرولين (Anderson *et al.*, 1998).

تأثير المعاملة بالسيلكون وحمض السالسيليك في محتوى الأوراق من α- الأحماض الأمينية الحرة

أدت المعاملة بحمض السالسيليك والسيليكون إلى تحسين محتوى الأوراق من الأحماض الأمينية معنوياً مقارنة مع الشاهد، فقد تفوقت المعاملة بالسيلكون (200 جزء بالمليون) على باقي المعاملات بما فيهاالشاهد في محتوى الأوراق من الأحماض الأمينية (45.3 ميكروغرام/غرام وزن طازج)، تلتها المعاملة بحمض السالسيليك 50 جزء بالمليون (40.2 ميكرو غرام/غرام وزن طازج)، ومعاملة السيليكون 400 جزء بالمليون (32.1 ميكروغرام/غرام وزن طازج)، ثم المعاملة بحمض السالسيليك 75 جزء بالمليون (31.5 ميكروغرام/غرام وزن طازج)، مقارنةً بالشاهد (28.5 ميكروغرام/غرام وزن طازج)، (شكل C-1).

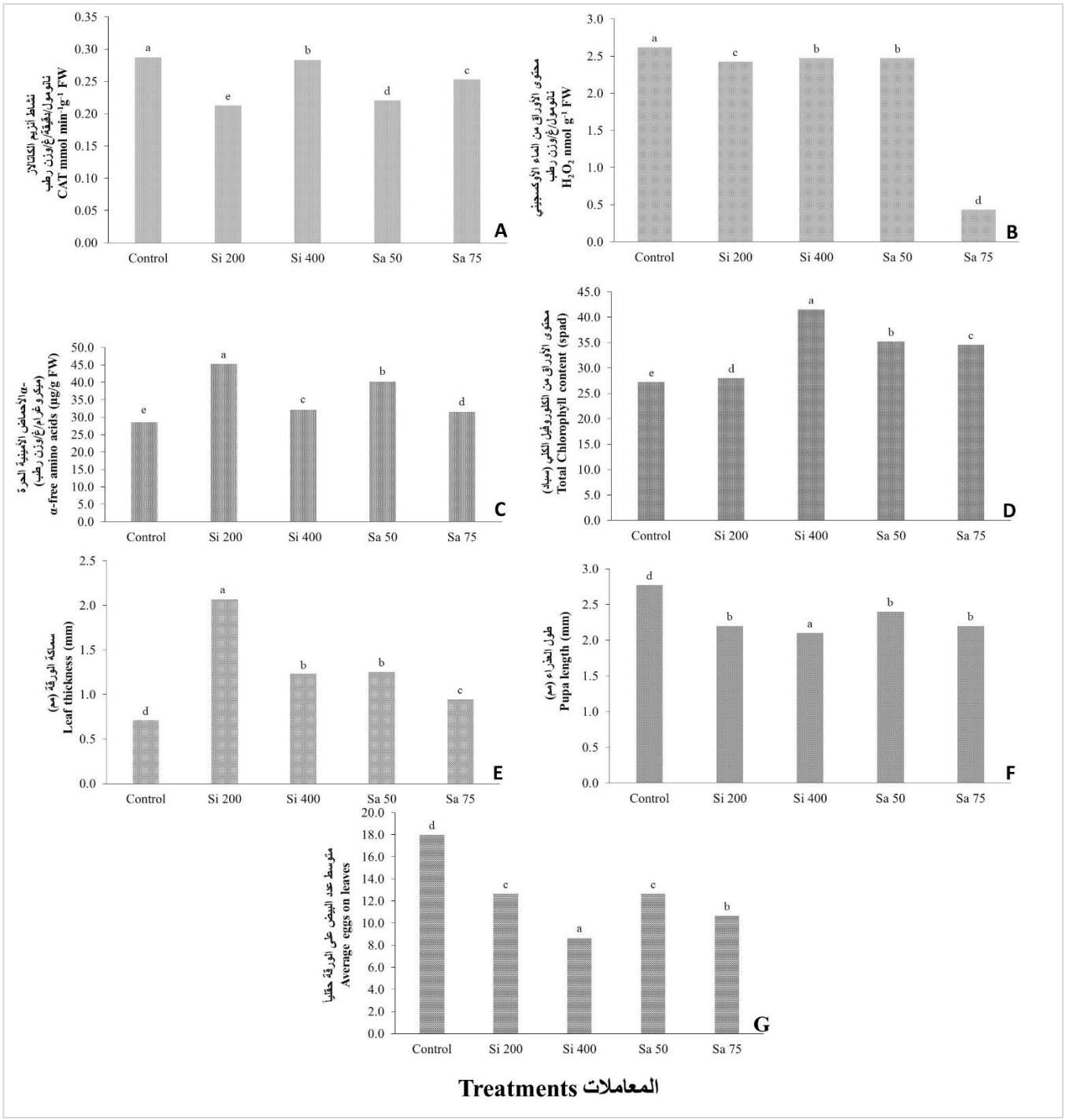
بيّنت هذه التجربة ازدياد الأحماض الأمينية في الأوراق عند المعاملة بحمض السالسيلك، وهذا يتوافق مع (Abdelhameed *et al.*, 2021) عند معاملة نبات (*Trigonella foenum-graecum* L.) بحمض السالسليك ورغم تعرض النبات للإجهاد الملوحة، ويمكن أن تكون هذه الزيادة ناتجة عن تحفيز الاجهاد مع المعاملة بحمض السالسيلك لتخليق الأحماض الأمينية، وتثبيط تدهورها (Mansour, 2000).

محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي

حسّنت جميع المعاملات محتوى الأوراق المصابة من الكلوروفيل الكلي معنوياً مقارنة مع الشاهد (شكل D-1)، وقد تفوقت معاملة السيليكون 400 جزء بالمليون (41.52 سباد) على جميع المعاملات بما في ذلك الشاهد (27.26 سباد)، تلتها المعاملة بحمض السالسيليك (50–75 جزء بالمليون) (34.62– 35.17 سباد) على التوالي، ثم المعاملة بالسيليكون 200 جزء بالمليون (28.03 سباد) (شكل D-1). أوضح Gong *et al.* (2008) دور السيلكون في المحافظة على أصبغة نبات القمح المعرضة لإجهاد الملوحة، وقد يكون ذلك نتيجة تثبيط عمل أنزيم (Acid phospholipase, AP)، كذلك، فإن للسيلكون أهمية كبيرة في المحافظة على بنية الصانعات الخضراء، وذلك من خلال تنشيط أنزيمات تخليق الكلوروفيل أو تقليل نشاط أنزيمات تحليل الكلوروفيل (Liang *et al.*, 2007؛ Savvas *et al.*, 2009). ولعل السبب في زيادة أصبغة التمثيل الضوئي في النباتات المعاملة بحمض السالسيليك ناتج عن تحفيزه لتخليق الكلوروفيل (Khurana & Maheshwari, 1980) أو نتيجة تمثيل CO_2 (Szepesi, 2006)، ويتوافق ذلك مع Türkylmaz *et al.* (2005) عند معاملة نباتات الفاصولياء (*Phaseolus vulgaris* L.) بحمض السالسيليك، ويمكن أن تعزى زيادة تركيز الكلوروفيل إلى الدور الفعال لحمض السالسيليك في زيادة محتوى العناصر المغذية في أعضاء النبات، وكذلك تحسين العمليات الوظيفية/الفيزيولوجية والكيمياحيوية كفعالية التمثيل الضوئي والنشاط مضاد الأكسدة وكذلك يطيل عمر الأوراق (Elgmaal & Maswada, 2013)، كما أن المعاملة بحمض السالسيليك قد أدت لزيادة عدد خلايا palisade و خلايا النسيج الإسفنجي التي تعزز انتشار CO_2 وبذلك تحسن التمثيل الضوئي (Zheng *et al.*, 2018).

سماكة (ثخانة) الورقة

أوضحت النتائج (شكل E-1) أن المعاملة بالسليكون وحمض السالسيليك زادت من ثخانة الورقة معنوياً مقارنةً مع الشاهد، حيث بلغت سماكة الورقة نتيجة المعاملة بالسليكون 200 جزء بالمليون 2.1 مم، تلتها المعاملتين بالسليكون 400 جزء بالمليون والمعاملة بحمض السالسيليك 50 جزء بالمليون 1.2 و 1.3 مم، على التوالي، ثم المعاملة بحمض السالسيليك 75 جزء بالمليون 0.9 مم، في حين لم تتجاوز سماكة الورقة في الشاهد 0.7 مم. قد تعود زيادة سماكة الورقة في الأنسجة المعاملة بالسليكون إلى أنه يتراكم بالشكل الأحادي ويتبلمر ليشكل أحماض عديدة السليكون، والتي تتحول إلى سيليكا غير متبلورة، مما يساهم في تشكيل طبقة ثخينة من معقدات السليكون– سيللوز في أغشية الخلايا ويزيد من سماكتها، مما قد ينعكس على الإصابة بحافرة أنفاق الحمضيات.



شكل 1. تأثير المعاملة بالسيلكون وحمض السالسيلك في نشاط أنزيم الكاتالاز (A)، محتوى الماء الأوكسجيني في أوراق الليمون الحامض المصابة (B)، محتوى الأوراق المصابة من α- الأحماض الأمينية الحرة (C)، محتوى الأوراق المصابة من الكلوروفيل (D)، سماكة الورقة المصابة (E)، طول عذراء حافرة أنفاق الحمضيات (F)، ومتوسط عدد بيوض حشرة حافرة الأنفاق حقلياً (G). إن القيم (الأعمدة) المكتوب فوقها الأحرف الصغيرة نفسها لا يوجد بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%.

Figure 1. Effect of silicon and salicylic acid treatment on CAT activity (A), H_2O_2 content in injured lemon leaves (B), on α- free amino acids content in injured citrus leaves (C), on Chlorophyll content in injured citrus leaves (D), on thickness of injured citrus leaves (E), citrus leaf miner pupa length (F), and on the average egg of *Phyllocnistis citrella* in vivo (G). Values (columns) marked with the same small letters are not significantly different at P= 0.05.

طول العذراء

انخفض طول العذراء في جميع المعاملات معنوياً مقارنة مع الشاهد (شكل F-1)، حيث خفضت معاملتي السيليكون (200 و 400 جزء بالمليون) وحمض السالسيليك (50 و 75 جزء بالمليون) طول العذراء لحشرة حافرة أنفاق الحمضيات −2.20 مقارنةً مع الشاهد.

قد يعود تأثير المعاملة بالسيليكون وحمض السالسيليك في تخفيض طول العذراء إلى امتصاص النباتات للسيلكون بشكل أحماض أحادية السيليسيك، والتي تتراكم على شكل بلورات صلبة في البشرة (Cooke & Leishman, 2011؛ Hartley *et al.*, 2015)، مما يؤدي إلى زيادة قساوة الورقة (Massey *et al.*, 2006)، كما يؤدي إلى انخفاض معدل تغذية اليرقة ويخفض مستوى الإصابة (Kvedaras & Keeping, 2007؛ Salim & Saxena, 1992).

متوسط عدد البيض حقلياً

أوضحت النتائج (شكل G-1) انخفاض متوسط عدد البيض على الورقة الواحدة حقلياً في جميع المعاملات، فقد خفضت المعاملة بالسيليكون (200−400 جزء بالمليون) متوسط عدد البيض إلى (12.7−8.7 بيضة) على التوالي معنوياً، كما خفضت المعاملة بحمض السالسيليك (50−75جزء بالمليون) متوسط عدد البيض إلى (12.7−10.7 بيضة)، مقارنة مع الشاهد (18 بيضة).

تعدّ التغذية الجيدة لحشرات حرشفية الأجنحة (Lepidoptera) مهمة جداً خلال فترة وضع البيض، وذلك لزيادة الخصوبة ومعدل التبويض (Marchioro & Foerster, 2013)، وقد بينت هذه الدراسة، انخفاض قابلية حشرة حافرة أنفاق الحمضيات لوضع البيض على الأوراق المعاملة بحمض السالسيليك والسيليكون، على الرغم من محتوى هذه الأوراق العالي من الأحماض الأمينية الحرة والكلوروفيل.

لقد أوضحت الدراسات أهمية السيليكون في استقلاب وتغيير محتوى النبات من الأحماض الأمينية والبروتينات، فقد وجد أن للسليكون دوراً في تخفض البروتينات المؤكسدة وزيادة البروتينات القابلة للذوبان الكلية في قمح الخبز (Gong *et al.*, 2008).

مما تقدم يمكننا أن تستنتج أن المعاملة بحمض السالسيليك والسيلكون تحسن محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي والـ α− الأحماض الأمينية الحرة، وتخفض محتواها من الماء الأوكسجيني ونشاط أنزيم الكاتالاز مما يُسفر عن تخفيض أضرار حشرة حافرة أنفاق الحمضيات، كما أنها تقلل من طول العذراء وعدد بيض حشرة حافرة أنفاق الحمضيات.

Abstract

Ahmad, B., S. Suleiman and M. Ahmad. 2024. Effect of Silicon and Salicylic Acid in Biochemical Defence Mechanisms of Santa Teriza Lemon Trees to Reduce Citrus Leaf Miner Damage. Arab Journal of Plant Protection, 42(1): 67-74. https://doi.org/10.22268/AJPP-001208

The effect of foliar spray of young lemon trees (Santa Teresa) with silicon (200-400 ppm) and salicylic acid (50-75ppm), on antioxidant enzymes activities (catalase CAT), H_2O_2 content, total chlorophyll, α-free amino acids, leaf thickness and their influence on leaf miner (*Phyllocnistis citrella*) biology (pupa length and oviposition) under field condition was investigated. The results obtained indicated that treatment with silicon and salicylic acid reduced biotic stress due to citrus leaf miner on the Santa Teresa Lime trees, leaf content of H_2O_2 (0.42-0.43 nmol g^{-1} FW), catalase activity were decreased (0.213 – 0.211 mmol/ min/g fresh weight), There was an increase in α-free amino acids content (45.3-40.2 µg/g fresh weight), total chlorophyll (41.52-35.17 spad) and leaf thickness (2.1-1.3 mm), and these changes were clearly manifested in the biology of citrus leaf miner in vivo, such as reduction in pupa length (2.10-2.20 mm), and the average number of eggs (8.7-10.7 eggs). Such results are promising for the control of citrus leaf miner without using pesticides.

Keywords: Silicon, salicylic acid, Santa Teresa lime, antioxidant enzyme (CAT), H_2O_2 content, total chlorophyll, α-free amino acids, leaf thickness, citrus leaf miner.

Affiliation of authors: *B. Ahmad[1*], S. Suleiman[1] and M. Ahmed[2]. (1) Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria; (2) Plant Protection Department, Faculty of Agriculture Tishreen University, Latakia, Syria. [*]Email address of corresponding author: batoulandjanalma@gmail.com*

المراجع

Almagro, L., L.V. Gómez Ros, S. Belchi-Navarro, R. Bru, A. Ros Barceló and M.A. Pedreño. 2009. Class III peroxidases in plant defence reactions. Journal of Experimental Botany, 60(2):377-390. https://doi.org/10.1093/jxb/ern277

Anderson, M.D., Z. Chen and D.F. Klessig. 1998. Possible involvement of lipid peroxidation in salicylic acid-mediated induction of *PR*-1 gene expression. Phytochemistry, 47(4):555-566. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00726-7

References

Abdelhameed, R.E., A.A.H. Abdel Latef and R.S. Shehata. 2021. Physiological responses of salinized fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) plants to foliar application of salicylic acid. Plants, 10(4):657. https://doi.org/10.3390/plants10040657

Abd-Ghafar, M.F., K.N. Prasad, K.K. Weng and A. Ismail. 2010. Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. African Journal of Biotechnology, 9(3):326-330.

Bailey, J.L. 1967. Techniques in Protein Chemistry. 2nd edition. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, London, New York. 406 pp. https://doi.org/10.1016/0026-265X(67)90055-0

Benhamou, N. 1996. Elicitor-induced plant defence pathways. Trends in Plant Science, 1(7):233-240. https://doi.org/10.1016/1360-1385(96)86901-9

Cao, B.L., Q. Ma and K. Xu. 2020. Silicon restrains drought-induced ROS accumulation by promoting energy dissipation in leaves of tomato. Protoplasma, 257(2):537–547. https://doi.org/10.1007/s00709-019-01449-0

Cooke, J. and M.R. Leishman. 2011. Is plant ecology more siliceous than we realise? Trends in Plant Science, 16(2):61-68. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.10.003

Delaney, K.J. and T.B. Macedo. 2001. The impact of herbivory on plants: yield, fitness, and population dynamics. Pages: 135–160. In*:* Biotic Stress and Yield Loss. P.R.K.D. Peterson and L. G. Higley (eds.). CRC, Boca Raton, FL. https://doi.org/10.1201/9781420040753

Duncan, B.D. 1955. Multiple range and multiple F-tests. Biometrical Journal, 11(1):1-42. https://doi.org/10.2307/3001478

Elgmaal, A.A. and H.F. Maswada. 2013. Response of three yellow maize hybrids to exogenous salicylic acid under two irrigation intervals, Asian Journal of Crop Science, 5(3):264-274. https://doi.org/10.3923/ajcs.2013.264.274

Garcia-Marí, F., R. Vercher, J. Costa-Comelles, C. Marzal and M. Villalba. 2004. Establishment of *Citrostichus phyllocnistoides* (Hymenoptera: Eulophidae) as a biological control agent for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), in Spain. Biological Control, 29(2):215-226. https://doi.org/10.1016/S1049-9644(03)00155-5

Gong, H.J., K.M. Chen, Z.G. Zhao, G.C. Chen and W.J. Zhou. 2008. Effects of silicon on defence of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. Biologia Plantarum, 52:592-596. https://doi.org/10.1007/s10535-008-0118-0

Gunes, A., A. Inal, M. Alpaslanm, F. Eraslan, E.G. Bagci and N. Cicek. 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. Journal of Plant Physiology, 164(6):728-736. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.12.009

Hartley, S.E., R.N. Fitt, E.L. McLarnon and R.N. Wade 2015. Defending the leaf surface: intra- and inter-specific differences in silicon deposition in grasses in response to damage and silicon supply. Frontiers in Plant Science 6(35):1-8. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00035

Helaly, M.N., H. El-Hoseiny, N.I. El-Sheery, A. Rastogi and H.M. Kalaji. 2017. Regulation and physiological role of silicon in alleviating drought stress of mango. Plant Physiology and Biochemistry, 118:31-44. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.05.021

Horváth, E., T. Janda, G. Szalai and E. Paldi. 2002. In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isoenzymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. Plant Science, 163(6):1129-1135. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00324-2

Horváth, E., G. Szalai and T. Janda. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Journal of Plant Growth and Regulation, 26:290-300. https://doi.org/10.1007/s00344-007-9017-4

Khurana, J.P. and S. Maheshwari. 1980. Some effects of salicylic acid on growth and flowering in *Spirodela polyrrhiza* SP_{20}. Plant and Cell Physiology, 21(5):923-927. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076066

Kim, Y.H., A.L. Khan, M. Waqas and I.J. Lee. 2017. Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. Frontiers in Plant Science, 8:510. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00510

Kvedaras, O.L. and M.G. Keeping. 2007. Silicon impedes stalk penetration by the borer *Eldana saccharina* in sugarcane. Entomologia Experimentalis et Applicata, 125(1):103-110. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2007.00604.x

Liang, P., J.Z. Cui, X.O. Yang and X.W. Gao. 2007. Effects of host plants on insecticide susceptibility and carboxylesterase activity in Bemisia tabaci biotype B and greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum.* Pest Management Science, 63(4):365-371. https://doi.org/10.1002/ps.1346

Liu, Y., E. Heying and S.A. Tanumihardjo. 2012. History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 11(6):530-545. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x

Ma, J.F. and N. Yamaji. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends in Plant Science, 11(8):392-397. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.007

Mansour, M.M. 2000. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. Biologia Plantarum, 43:491-500. https://doi.org/10.1023/A:1002873531707

Marchioro, C.A. and L.A. Foerster. 2013. Effects of adult-derived carbohydrates and amino acids on the reproduction of *Plutella xylostella*. Physiological Entomology, 38(1):13-19. https://doi.org/10.1111/phen.12000

Massey, F.P., A.R. Ennos and S.E. Hartley. 2006. Silica in grasses as a defence against insect herbivores: contrasting effects on folivores and a phloem feeder. The Journal of Animal Ecology, 75(2):595-603. https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2006.01082.x

Matichenkov, V.V., E.A. Bocharnikova, A.A. Kosobryukhov and K.Y. Biel. 2008. Mobile forms of silicon in plants. Doklady Biological Sciences: proceedings of the Academy of Sciences of the USSR, Biological Sciences Sections, 418:39-40. https://doi.org/10.1134/S0012496608010134

Muneer, S., Y.G. Park, A. Manivannan, P. Soundararajan and B.R. Jeong. 2014. Physiological and proteomic analysis in Chloroplasts of *Solanum lycopersicum* L. under silicon efficiency and salinity stress. International Journal of Molecular Sciences, 15(12):21803-21824. https://doi.org/10.3390%2Fijms151221803

Murshed, R., F. Lopez-Lauri and H. Sallanon. 2008. Microplate quantification of enzymes of the plant ascorbate-glutathione cycle, Analytical Biochemistry, 383:320-322. https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.07.020

Murshed R., F. Lopez-Lauri and H. Sallanon. 2013. Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum Lycopersicon* L, cv. Micro-tom). Physiology and Molecular Biology of Plants, 19(3):363-378. https://doi.org/10.1007%2Fs12298-013-0173-7

Pei, Z.F., D.F. Ming, D. Liu, G.L. Wan, X.X. Geng, H.J. Gong and W.J. Zhou. 2010. Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Journal of Plant Growth Regulation, 29:106-115. https://doi.org/10.1007/s00344-009-9120-9

Salim, M. and R.C. Saxena. 1992. Iron, silica, and aluminum stresses and varietal resistance in rice: effects on whitebacked planthopper. Crop Science, 32(1):212-219. https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200010044x

Sattar, A., M.A. Cheema, T. Abbas, A. Sher, M. Ijaz, M.A. Wahid and M. Hussain. 2017. Physiological response of late sown wheat to exogenous application of silicon. Cereal Research Communications, 45(2):202-213.

Savvas, D., D. Giotis, E. Chatzieustratiou, M. Bakea and G. Patakioutas. 2009. Silicon supply in soilless cultivations of *Zucchini alleviates* stress induced by salinity and powdery mildew infections. Environmental and Experimental Botany, 65(1):11-17. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.07.004

Sinclair, R.J. and L. Hughes. 2010. Leaf miners: The hidden herbivores. Austral Ecology, 35(3):300-313. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2009.02039.x

Szepesi, A. 2006. Salicylic acid improves the acclimation of *Lycopersicon esculentum* Mill. to high salinity by approximating its salt stress response to that of the wild species L. Pennellii. Acta Biologica Szegediensis, 50(3-4):177.

Türkylmaz, B., L. Akta and A. Güven. 2005. Salicylic acid induced some biochemical and physiological changes in Phaseolus vulgaris L. Science and Engineering Journal of Firat University, 17(2):319-326.

Uygun, N., D. Senal, I. Karaca and N.Z. Elekcioglu. 2000. Effect of citrus leafminer, Phyllocnistis citrella Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) on citrus fruit yield. Pages 12-15. In*:* Proceedings of the 4th Turkish National Congress of Entomology, September 12-15, 2000, Aydın, Turkey.

Vaculík, M., A. Lux, M. Luxov´a, E. Tanimoto and I. Lichtscheidle. 2009. Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. Environmental and Experimental Botany, 67(1):52-58. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.012

Vaculíková, M., M. Vaculík, L. Šimková, I. Fialová, Z. Kochanová, B. Sedláková and M. Luxová. 2014. Influence of silicon on maize roots exposed to antimony – growth and antioxidative response. Plant Physiology and Biochemistry, 83:279-284. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.08.014

Watahiki, M.K., H. Mori and K.T. Yamamoto. 1995. Inhibitory effects of auxins and related substances on the activity of an *Arabidopsis glutathione* S-transferase isozyme expressed in *Escherichia coli*. Physiologia Plantarum, 94(4), 566-574. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1995.tb00969.x

Xu, G.H., J.C. Chen, D.H. Liu, Y.H. Zhang, P. Jiang and X.Q. Ye. 2008. Minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of citrus peel extract by hot water. Journal of Food Science, 73(1):C11-C18. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00546.x

Zhao, J., L.T. Davis and R. Verpoort. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances, 23(4):283-333. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.01.003

Zheng, J., X. Ma, X. Zhang, Q. Hu. and R. Qian. 2018. Salicylic acid promotes plant growth and salt-related gene expression in *Dianthus superbus* L. (Caryophyllaceae) grown under different salt stress conditions. Physiology and Molecular Biology of Plants, 24(2):231-238. https://doi.org/10.1007%2Fs12298-017-0496-x

Zhu, Z., G. Wei, J. Li, Q. Qian and J. Yu. 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.), Plant Science, 167(3):527-533. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.04.020

Received: December 16, 2022; Accepted: March 7, 2023

تاريخ الاستلام: 2022/12/16؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2023/3/7