كفاءة استعمال حامض السالسيلك وبيتاامينو بيوتاريك في استحثاث المقاومة الجهازية لمرض التفحم العادي المتسبب عن الفطر *Ustilago maydis* (DC.) Corda والكشف عن بعض العوامل البايوكيمائية في الذرة الصفراء

جاسم محمود عبد العيساوي*
كلية الزراعة–جامعة الأنبار

صالح حسن سمير
كلية الزراعة–جامعة بغداد

الخلاصة

أوضحت نتائج تقييم العوامل الكيميائية Salysalic Acid (SA) وBeta Butyric Acid (BABA) Amino في استحثاث المقاومة الجهازية ضد مرض التفحم العادي فعالية كبيرة لرش المجموع الخضري ب BABA بتركيز 1000 و2000 ملغم. لتر$^{-1}$ وSA بتركيز 200 و400 ملغم. لتر$^{-1}$ في خفض نسبة الإصابة إلى 13.33، 10.00، 20.00، 13.33% على التوالي وكفاءة استخدام 63.3، 72.5، 50.0، 63.3% على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة بوجود الفطر الممرض من دون إضافة عوامل الاستحثاث إذ بلغت نسبة الإصابة 36.33%. أشارت المؤشرات البايوكيميائية إلى زيادة في نشاط إنزيم البيروكسديز إذ أعطت معاملة BABA بتركيز 2000 ملغم.لتر$^{-1}$ أعلى معدل لنشاط البيروكسيديز فكان مقدار التغيير بالامتصاص 44.10 دقيقة$^{-1}$. غم وزن طري$^{-1}$ وبفارق بسيط عن بقية المعاملات بعد خمسة أيام من الإضافة، أما في اليوم الثامن بعد إضافة عوامل الاستحثاث فنلاحظ أن أعلى معدل لنشاط إنزيم البيروكسيديز معاملة SA بتركيز 400 ملغم. لتر$^{-1}$ وبلغ مقدار التغيير بالامتصاص 44.33 دقيقة$^{-1}$ غم وزن طري$^{-1}$. وإن أعلى معدل لتراكم الفينولات والبرولين في معاملة BABA بتركيز 2000 ملغم.لتر$^{-1}$ 306.7 مايكرو غرام. غم وزن طري$^{-1}$ و10.3 مايكروموول. غم$^{-1}$ وزن طري بعد عشرة أيام من المعاملة على التوالي.

Efficiency of Salysalic Acid(SA) and Beta Amino Butaric Acid (BABA)agents to induce systemic Resistance for common smut which caused by *Ustilago maydis* (DC.) corda and detection of some Biochemical agents in Maize.

JASIM M. A. AL-ISAWI
College of Agri.- Uni. of Anbar

SALIH H. SAMER
College of Agri.-Uni. of Baghdad

Abstract

Evaluation of chemical agents Salicylic Acid(SA) and Beta Amino Butyric Acid (BABA) agents to induce systemic resistance Results indicated that when BABA sprayed on foliage at rate 1000 and 2000 mg .L^{-1} and SA in 200 and 400 mg .L^{-1} highly reduced disease infection to 13.33 ، 10.00 ، 20.00 and 13.33% respectively with efficiency use 63.3 ، 72.5 ،50.0 ، 63.3% respectively compared to control(no treatment in

* البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الأول

presentence of pathogen without addition of inducing agents) with percentage of infection 36.33% . Biochemical analysis showed that treatment maize with 2000 $mg.l^{-1}$ of BABA increased peroxidase activity the change in absorbance 44.10 $min^{-1}.gr^{-1}$ fresh weight after 5 days of treatment ،while treatment with SA at rate 400 $mg.L^{-1}$ increased peroxidase activity the change in absorbance was reached 44.33 $min^{-1}.gr^{-1}$ fresh weight after 8 days. When BABA was use at 2000 mg $.L^{-1}$ achieved phenols and prolin accumulation to rate 306.7 mg^{-1} $.gr^{-1}$ fresh weight and10.33 μM^{-1}. $.gr^{-1}$ fresh weight after 10 days of treatment respectively.

المقدمة

يعد مرض التفحم العادي في الذرة الصفراء المتسبب عن الفطر *Ustilago maydis* من الأمراض الشائعة التي تصيب محصول الذرة الصفراء ونبات الذرة المكسيكية (Teosinte) ويسبب خسائر اقتصادية في حاصل الذرة قد يصل إلى 54% من حاصل الحبوب (13). سجل هذا المرض على الذرة الصفراء منذ أكثر من 250 سنة مضت ومنتشر في أنحاء العالم، وأشار(8) ان المرض سجل سنة 1760على نبات الذرة الصفراء، حيث يعتقد ان المرض انتقل إلى أوربا بواسطة الكشافة الإسبان سنة 1883، أما في العراق فقد كان أول تسجيل للمرض سنة 1965 بدرجة انتشار منخفضة (5). أن هذا المرض يصيب الذرة الصفراء corn maize والذرة الحلوة sweet corn ونبات Teosinte ويسمى مرض التفحم العادي common smut أو biol smut أو blister smut (19). بالنظر لما تسببه المبيدات من تأثير على البيئة وعلى صحة الإنسان لذا اتجهت البحوث والدراسات للبحث عن طرق بديلة لمكافحة الإمراض ومن بين هذه الطرق استخدام المستحثات الكيماوية (استحثاث المقاومة)Induced Resistance (IR).

تمثل مجموعة من الآليات الدفاعية الكيميائية أو التركيبية بالنبات تعمل على تحجيم المسببات المرضية ولقد قسمت المقاومة المستحثة إلى قسمين هما المقاومة الموضعية والتي تحصل في موضع التداخل بين الفطر والعائل من خلال تحطم خلايا العائل وموتها حول المسبب المرضي والنوع الآخر المقاومة الجهازية التي تحصل بعيداً عن موضع التداخل، أما المقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance (ISR)، هي مقاومة يكون فيها عامل الاستحثاث ،أحياء مجهرية غير ممرضة للنبات أو مواد كيميائية ونواقل الإشارة هي الأثيلين وحامض الجاسمونك وناتج المقاومة هي مواد أو بروتينات تختلف كلياً عن بروتينات المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) وتسبب زيادة بالإنتاج وتحسن نمو النبات وغير متخصصة (21 و27). عرف (18) المقاومة المستحثة بأنها المقاومة التي قوامها الدفاعات الفيزيائية والكيميائية التي تستحث بعد التلقيح بمسبب مرضي غير متوافق (Incompatible pathogen)، أو مسبب غير مرضي (Nonpathogen) أو معاملة النبات بأحد النواتج، أما (16) فعرفها بأنها حالة التداخل بين كائنين مجهريين أولهما المستحث (Inducer) وثانيهما المتحدي (Challenger) بشرط أن لا يكون للمستحث نشاط إمراضي على العائل وأن لا يكون للكائن المتحدي نشاط تضادي خارج الجسم الحي (in vitro) وبذلك فقد وضع حداً فاصلاً بين ظاهرتي التضاد (Antagonism) والمقاومة المستحثة، أشار الباحثان(29) إلى أن المقاومة المستحثة هي زيادة مقاومة النبات دون تغير التركيب الوراثي للنبات.

إن إستحثاث المقاومة هي حالة فسلجية تحسن القدرة الدفاعية لمركبات الإستحثاث من خلال التحفيز النوعي لوسائل النبات الدفاعية للسيطرة ولمقاومة المتحديات الإحيائية بالتتابع، هذه الحالة من السيطرة الفعالة ضد العديد من الممرضات والطفيليات، وتشتمل على الفطريات والبكتريا والفايروسات والنيماتودا والنباتات ، وتختلف هذه الدفاعات فيما بينها من حيث الأساس الطبيعي لمركب الإستحثاث ومن حيث طريقة دخول الممرض عبر الأنسجة الحية وانتشاره في النظام النباتي (14 و15).أشارت الدراسات إلى الدور الرئيس لحامض الساليسااليك في انتقال وتوزيع إشارات المقاومة الجهازية لتحفيز جينات النباتات و يتداخل حامض الساليسااليك مع الإنزيمات المكونة للحديد، أو يعمل كناقل للأيونات المعدنية من خلال الارتباط بالبروتينات ذات العلاقة بالإمراضية ، وينتج من ذلك تكوين الفينولات ذات الجذور الحرة الناتجة من تداخل حامض الساليسااليك مع إنزيمات ألـ Catalase وإنزيمات Ascorbic peroxidase التي تحفز المقاومة الجهازية في النبات (10) ، في حين أن (4) وجد أن رش حامض الساليسااليك على المجموع الخضري كمحاولة لتحفيز بروتينات المقاومة في النبات تأثيراً معنوياً في خفض شدة الإصابة بمرض التفحم العادي في الذرة الصفراء، أما (3) فقد لاحظ وجود فروقا معنوية في خفض نسبة الإصابة بمرض التفحم الشائع في الحنطة باستخدام حامض الساليسااليك. حامض البيتا أمينو بيوتيرك هو حامض أميني غير بروتيني وهو مركب نادر وجد في الطبيعة يستحث المقاومة في النباتات ضد مدى واسع من الكائنات الحية المسببة للأمراض، ومنها الفطريات والبكتريا والفيروسات والنيماتودا (20 و31).

لا تعتمد مقاومة النبات على تفعيل الدفاع المباشر بوساطة الـ BABAضد المسبب المرضي وإنما على تفعيل سرعة وقوة تحفيز ردة فعل النبات بمجرد تعرضه للمسبب المرضي (27 و32). إن هذا الحامض يمتلك تأثيراً واسعاً في تحفيز المقاومة في النباتات الحولية والمعمرة والتي تنتمي لعوائل نباتية مختلفة (9). وجد (29) ان الـ BABA لا يؤثر بشكل مباشر في الفطر وإنما يقوم بتعزيز أنشطة الإنزيمات مثل β-1،3-glucanase وchitinase ((CHT وammonia lyase (PAL phenylalanine). يستحث الـ BABA عدداً من آليات الدفاع الفيزيائية والبايوكيميائية في النباتات فقد لوحظ عند استخدام الـ BABA رشاً على الأوراق فإنه يحث الأوراق لتكوين بقع متنخرة صغيرة الحجم وتعد جزءاً من الـ SAR (24 و32).

المواد وطرائق العمل

تأثير استخدام حامض Salicylic وBABA في استحثاث مقاومة نباتات الذرة الصفراء ضد الإصابة بمرض التفحم العادي

تحضير اللقاح الفطري

جمعت الأورام أو التدرنات الناضجة (Mature galls) من عرانيص الذرة المصابة في نهاية موسم الزراعة الخريفي عام 2014، ثم جففت في المختبر في جهاز الفرنOven)) بدرجة حرارة 30 م° لمدة ستة أيام ثم خزنت في درجة حرارة 4 درجة مئوية لحين الاستخدام. وقبل يومين من تلقيح النباتات ، تم تحضير الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA) وعقمت بالمؤصدة وصب في أطباق قياس 9ملم وبقدار 15 مل في كل طبق ولقح الوسط الزرعي في الأطباق وذلك بأخذ مجموعة من التدرنات (Galls) بعد تجفيفها في الفرن وخلطت محتوياتها

من السبورات التيلية ثم نثر قسم منها فوق سطح الوسط الزرعي مع مراعاة توزيع هذه السبورات بصورة منتظمة على سطح الوسط ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 30 م° لمدة 48 ساعة و18 ساعة ضوء (بوضع مصباح كهربائي داخل الحاضنة) و30 ساعة ظلام للسماح بتكوين السبوريدات، بعد ذلك أخرجت الأطباق من الحاضنة وأضيف لكل طبق 15 مل ماء مقطر معقم وغسلت مرتين، ثم رشح الناتج بقماش ململ مطوي بأربع طبقات بعد ذلك تم تخفيفه إلى تركيز 10^5 سبوريديا. مل$^{-1}$ ثم أضيف 1 مل من مادة Tween20 5% إلى 500 مل من عالق السبوريدات لتحسين قابلية المعلق على الالتصاق بالأجزاء النباتية المرشوشة، ويجب أن يأخذ بنظر الاعتبار أن المدة القصوى لخزن معلق السبوريدات قبل الاستخدام هو4 ساعات بدرجة حرارة 4–6 م°، (25). تم تحضير معلق السبورات التيلية بإضافة 1غم من السبورات التيلية إلى لتر واحد من الماء المعقم ويرج جيدا قبل الاستخدام (2). أما اللقاح المتكون من خليط (السبورات التيلية +السبوريديا) تم تحضيره حسب الطريق المتبعة من (28) وذلك بخلط اللقاح السبوريدي المحضر حسب (25) واللقاح التيلي المحضر حسب (2). وذلك بخلط اللقاح التيلي والسبوريدي (سبورتيلي 10^5. مل$^{-1}$ + السبورات البازيدية 105 سبوريديا.مل$^{-1}$).

زرعت بذور الذرة الصفراء الصنف المحلي للموسم الربيعي 2015 في منتصف شهر آذار في أحد الحقول التابعة لكلية الزراعة–جامعة بغداد بعد تهيئة الأرض للزراعة بحراثتها وتسويتها جيداً، أضيف لها السماد حسب التوصية، قُسم الحقل إلى مروز طول المرز الواحد 3م والمسافة بين مرز وأخر 75 سم، زرعت بذور الذرة الصفراء بواقع ثلاثة بذور في الجورة الواحدة ويفصل بين جورة وأخرى 25سم أي 12جورة لكل خط ثم خفت النباتات إلى نباتين في الجورة بعد أسبوع من بزوغ البادرات، نظمت التجربة بثلاث مكررات لكل معاملة وباستعمال التصميم RCBD. تم سحب 3 مل من معلق السبورات في محقنة معقمة ووضع في قلب النبات في منطقة القمة النامية التي تكون فيها الأوراق بشكل ملتف مع استخدام مشرط حاد ومعقم لإحداث خدوش وجروح في الأوراق الملتفة تحت معلق السبورات ثم لقح عدد من النباتات بالماء المقطر المعقم وبالطريقة نفسها للمقارنة، غطيت النباتات المعاملة بأكياس بلاستيكية نظيفة ومعقمة لمدة يوم واحد بعدها أُزيلت الأكياس مع الملاحظة والفحص لمراقبة ظهور أعراض وعلامات المرض خلال 10–14 يوماً وبعد ثلاثة أسابيع من العدوى حسبت نسبة الإصابة.

أستعمل حامض SA بالتركيز 400 ملغم و200 ملغم .1^{-1} لتر ماء معقم وBABA بالتراكيز 1000ملغم و2000 ملغم. لتر$^{-1}$على التتابع ومعاملتي مقارنة (نباتات ملوثة بالفطر الممرض ومن دون التلويث بالفطر الممرض) في تحفيز بروتينات المقاومة في النبات، رشا على المجموع الخضر بواسطة مرشة سعة(واحد لتر) مع مراعاة الرج الجيد عند الرش وبعد أن أصبحت النباتات بعمر 3 أسابيع ، وبعد أسبوعين من الرش بحامض SA وBABA بالتراكيز الموضحة آنفاً تم رش النباتات باللقاح الفطري للفطر المسبب للمرض قيد الدراسة المحضر حسب الطريقة الموضحة من (28) بعدها تمت متابعة ظهور علامات المرض خلال مدة أسبوعين حسبت النسبة المئوية للاصابة بالمرض، وقدر المحتوى الكلي لفعالية لانزيم البيروكسيديزوالفينولات والبرولين في الأيام 2 ، 5 ، 8 ،10 بعد المعاملة بالفطر الممرض.

تقدير فعالية انزيم البيروكسديز

سحق 1غم من أوراق النباتات المحفزة مع 2 مل من محلول فوسفات الصوديوم SPB (0.01 M و pH6.5) على درجة 4° سيليزية. رشح الخليط من خلال 4 طبقات من قماش الململ ثم وضع الراشح في جهاز النبذ المركزي (6000 دورة في الدقيقة لمدة 20 دقيقة على 4° سيليزية). أستعمل الطافي كمصدر للأنزيم، حددت فعالية إنزيم Peroxidase على وفق طريقة (12) باستعمال 100 مايكرو ليتر من مستخلص الأنزيم مع 1.5 مل من Pyrogallol 0.05 M في أنبوبة جهاز المطياف الضوئي. ولبدء التفاعل أضيف 100 مايكرو ليتر من بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 1% حجم: حجم وسجل الامتصاص عند 420 نانومتر بجهاز المطياف الضوئي كل 30 ثانية (لمدة 5 دقائق)، سجل مقدار التغير بالامتصاص على وفق المعادلة الآتية:

$$\text{التغير بالامتصاص} = \frac{\frac{\Delta A}{\Delta T}}{\text{غ وزن طري}}$$

إذ أن **ΔA** التغير بالامتصاص و **ΔT** التغير بالوقت (الدقيقة)

تقدير المحتوى الكلي من الفينولات و تقدير فعالية انزيم البرولين

سحق 1غم من أوراق النبات مع 10 مل ميثانول 80% مع التحريك المستمر لمدة 15 دقيقة وفي درجة حرارة 70°سيليزية. تم أخذ 1 مل من الراشح مع 5 مل ماء مقطر معقم و250 مايكرو ليتر من كاشف فولين في أنبوبة زجاجية معقمة. حضن المحلول في درجة 25°سيليزية لمدة 30 دقيقة. قدر الامتصاص الضوئي بجهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 725 نانوميتر واستعملت مادة الكاتيكول كمادة قياسية. حسبت كمية الفينول على أساس ميكروغرام. غم$^{-1}$ نسيج طري. أتبعت طريقة (6) في تقدير محتوى البرولين للأنسجة النباتية الخضراء (مايكرو مول. غم$^{-1}$ وزن رطب) ، إذ تم أخذ 0.5 غم من الأوراق الغضة من نبات الذرة الصفراء وطحنها في 10 مل من المحلول المائي Solphosayclic acid في هاون خزفي ، وضع الخليط في جهاز طرد مركزي لمدة 10 دقائق ثم أخذ 2 مل من الراشح وتمت إضافة 2 مل من حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid و2 مل Ninhydren في أنبوبة بايركس، ووضعت الأنبوبة في حمام مائي عند درجة 100مْ لمدة ساعة بعدها برد الخليط في حمام ثلجي لوقف التفاعل وأضيف إلى الخليط 4 مل من التلوين Toluene ورجت الأنبوبة جيداً لمدة 20 ثانية وتركت في درجة حرارة الغرفة ثم انفصلت بعدها طبقة التلوين وما تحمله من برولين فوق الخليط يأخذ ،اخذ من هذه الطبقة واحد مل، ووضع في جهاز المطياف الضوئي UV\ visible spectrophotometer-ultrospec 2100 pro، وسجل الامتصاص عند طول موجي 520 نانومتر، وقدر محتوى البرولين على وفق المعادلة الآتية:

$$\text{Mmole prolin\g fr.wt} = (\text{Reading} \times 4 \times 5 \setminus \text{wt.in gr}) \times 1.47$$

معادلة الأنتر كيرف $X = Y - 0.0058 / 0.0378$

إذ أن Y قراءات الجهاز و X العينة، ثم ندخل القراءات الناتجة في المعادلة التالية

مليمول برولين /غم وزن طري $= \frac{X \times 20 \times 1.47}{0.5}$ وتقسم النتائج على 1000 ليكون الناتج بالمايكرو مول

النتائج والمناقشة

اختبار كفاءة بعض العوامل الكيميائية في استحثاث مقاومة نبات الذرة الصفراء ضد الفطر الممرض *U . maydis*

بينت النتائج في الجدول 1 إلى أن المعاملات جميعها أدت إلى خفض نسبة الإصابة بمرض التفحم العادي في الذرة الصفراء وأكدت هذه الدراسة أهمية استعمال هذه العوامل في خفض نسبة الإصابة وبفوارق معنوية عن معاملة المقارنة بالفطر الممرض من دون إضافة عوامل الاستحثاث، إذ بلغت أقل نسبة إصابة بالمرض 10% عند المعاملة بـ BABA بتركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ قياساً بمعاملة المقارنة بالفطر الملوثة الممرض فقط فقد بلغت 36.33%، في حين بلغت نسبة الإصابة 13.33% في كل من معاملة النبات بحامض BABA بتركيز 1000ملغم. لتر$^{-1}$ و SA بتركيز 400 ملغم. لتر$^{-1}$، وبلغت في معاملة SA بتركيز 200ملغم. لتر$^{-1}$ 20% وبفارق معنوي عن معاملة BABA بتركيز 2000ملغم. لتر$^{-1}$. أكدت النتائج على أهمية استعمال عوامل الاستحثاث رشاً على المجموع الخضري وبالتراكيز BABA 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ أو SA 400 ملغم. لتر$^{-1}$ في خفض نسبة الإصابة بمرض التفحم العادي في الذرة الصفراء لما لهذه العوامل من دور مهم في استحثاث مقاومة جهازية وموضعية في النبات من خلال تحفيز النبات على تصنيع مركبات تؤدي إلى حصول تغيرات في تركيبة الجدار الخلوي وتقويتها لتجعلها أكثر مقاومة للاختراق من قبل المسبب الممرض، ويعد SA المفتاح للهرمونات الدفاعية النباتية والتي تلعب دوراً مهماً في الاستجابة الموضعية والجهازية ضد المسببات المرضية الحيوية كالفطر *U . maydis* (21).

يعد SA مركب طبيعي فينولي من مركبات الإشارة الجزيئة في النبات ويتحكم بعملية التزهير وتحمل الإجهاد ودوره بشكل واسع في الاستجابات الدفاعية للنبات ضد المسببات المرضية (22)، يحفز SAالجينات المسؤولة عن إنتاج البروتينات ذات العلاقة بالإمراضية ويعد من المركبات الأساسية الثانوية المسؤولة عن المقاومة الموضعية والجهازية المكتسبة (10). أشارت بعض الدراسات أن تأثير استعمال BABA رشاً على المجموع الخضري له تأثير علاجي ضد الفطر *Pseudoperonospora cubensis* المسبب لمرض البياض الزغبي في الخيار عند معاملة النبات إذ أدى إلى خفض نسبة الإصابة بالفطر الممرض، كما ذكر الباحثان (1) أن للحامض كفاءة عالية عند استعماله رشاً على المجموع الخضري وبتركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$، وأن تراكيز الحامض تتناسب بشكل طردي مع الإصابة بالمرض إذ كلما زاد التركيز زادت مقاومة العامل الممرض بحدود التراكيز المستعملة في التجربة. أن الآليات المقترحة لعمل BABA أنه يعمل على تدمير أو تدهور خلايا العائل النباتي المخترقة من قبل الممرض وهكذا يمنع الغزل الفطري من النمو والتطور (32).

جدول 1 اختبار كفاءة بعض العوامل الكيميائية في استحثاث المقاومة لنبات الذرة الصفراء ضد الفطر الممرض *U. maydis*

المعـــاملة	نسبـة الإصابة	كفاءة العامل المستعمل	المعـــاملة	نسبـة الإصابة
SA رشاً بتركيز 400ملغم.لتر$^{-1}$	**%13.3**	**%63.3**	**مقارنـــة بدون الفطر الممرض**	**%6.67**
SA رشاً بتركيز 200ملغم. لتر$^{-1}$	**%20**	**%50**	**مقارنـــة بوجود الفطر الممرض**	**%36.33**
BABA رشاً بتركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$	**%10**	**%72.5**	**L.S.D (P= 0.05)**	**7.42**
BABA رشاً بتركيز 1000ملغم. لتر$^{-1}$	**%13.33**	**%63.3**		

- **كفاءة العامل المستخدم في المكافحة = $\frac{\text{ن س}-\text{ن م}}{\text{ن س}} \times 100$، إذ أن ن س نسبة الإصابة بالشاهد المعدي و ن م نسبة الإصابة في المعاملة المعالجة بعامل المكافحة وSA حامض سالسيلك BABA حامض بيتا امينو بيوترك، كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات**

فعالية إنزيم البيروكسيديز

تشير النتائج في الجدول 2 إلى زيادة في معدل التغير بالامتصاص في جميع معاملات رش النباتات على المجموع الخضري وأدت إلى زيادة معنوية في فعالية انزيم البيروكسيديز في النباتات المعاملة على أساس التغير في الامتصاص الضوئي. دقيقة$^{-1}$. غم$^{-1}$وزن طري قياساً بمعاملة المقارنة إذ بلغ أعلى معدل للتغير في الامتصاص لانزيم البيروكسيديز في اليوم الخامس بعد المعاملة بالفطر الممرض، تفوقت معاملة الرش بحامض BABA بتركيز 2000ملغم. لتر$^{-1}$ تلتها معاملةBABA بتركيز1000 ملغم. لتر$^{-1}$ إذ بلغت فعالية الإنزيم فيها 44.10 و43.67 دقيقة$^{-1}$. وزن طري غم$^{-1}$على الترتيب من دون فروقات معنوية تلتها معاملة الرش بـ SA وبالتركيزين 200،400 ملغم. لتر$^{-1}$ وبدون فروق معنوية 42.57 و42.57 على الترتيب وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة المعاملة بالفطر الممرض *U. maydis* إذ بلغت 31.90 دقيقة$^{-1}$. وزن طري غم$^{-1}$ بعد خمسة أيام من المعاملة، أما المقارنة غير الملوثة بالفطر الممرض ومن دون إضافة عوامل الاستحثاث SA وBABA فكانت 27.77 دقيقة$^{-1}$. وزن طري غم$^{-1}$. أظهرت النتائج أعلاه أن هناك تأثيراً لمعاملة رش المجموع الخضري بعوامل الاستحثاث وانسجمت هذه النتائج اتفقت مع ما توصل أليه (3) أن معاملة المجموع الخضري بـ BABA وSA أدى إلى زيادة تركيز إنزيم البيروكسيديز وفعاليته بعد تلقيحها بالفطر المسبب لمرض التفحم العادي في الحنطة وكذلك مع ما توصل أليه (4) أن معاملة نبات الذرة الصفراء بـ SA بتركيز 400 ملغم. لتر$^{-1}$ أدت إلى خفض نسبة الإصابة بالفطر الممرض *U. maydis* المسبب لمرض التفحم العادي في الذرة الصفراء، وربما يعود إلى أن إنزيم البيروكسيديز يعمل على تحفيز أكسدة المواد المانحة للهيدروجين بوجود بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى مواد أكثر سمية للممرضات تدعى الكينونات وربما تسهم هذه المواد بتنشيط الممرض فضلاً عن تحفيز المقاومة (11). ووجد أن إنزيم البيروكسيديز يسهم في تكوين الحواجز الدفاعية وتقوية تراكيب جدار الخلية أثناء غزو المسبب المرضي (7).

جدول 2 يبين التغير في فعالية إنزيم البيروكسيديز في نبات الذرة الصفراء بعد التحفيز بالعوامل الكيميائية

المعاملات	التغير بالامتصاص (دقيقة. غم وزن طري$^{-1}$) يوم بعد المعاملة بالفطر الممرض				المعدل
	2	5	8	10	
SA + U.S بتركيز 400ملغم	**33.38**	**42.57**	**44.33**	**37.23**	**39.37**
SA + U.S بتركيز 200ملغم	**33.38**	**42.57**	**38.47**	**41.03**	**38.86**
BABA + U.S بتركيز 2000ملغم	**38.05**	**44.10**	**40.83**	**40.73**	**40.92**
BABA + U.S بتركيز 1000ملغم	**31.67**	**43.67**	**38.80**	**35.47**	**37.40**
نبات معامل بالفطر U.S	**31.87**	**31.90**	**39.67**	**38.73**	**35.54**
نبات سليم غير معامل	**23.0**	**27.77**	**26.5**	**26.33**	**25.9**
L.S.D (P= 0.05)	**2.11**	**2.25**	**4.11**	**2.11**	

SA حامض سالسيلك ، BABA حامض بيتا امينو بيوترك ،U.S الفطر الممرض *U.maydis*، كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات

تراكم الفينولات

بلغ أعلى معدل لتراكم الفينولات جدول 3 عند معاملة النباتات بحامض السالسيلك SA وبتركيز 400 ملغم. لتر$^{-1}$ بعد يومين من المعاملة 316.3 مايكروغم. وزن طري$^{-1}$ متفوقاً على باقي المعاملات في حين أن المعاملات

جميعها تفوقت على معاملتي السيطرة بوجود وعدم وجود الممرض وبلغت 170.7 و103.3 بعد يومين من المعاملة وبعد خمسة أيام من المعاملة بلغ أعلى معدل للتراكم في المعاملة BABA إذ بلغ 343.3 متفوقا على جميع المعاملات وللمدتين 8–10 يوم كانت أعلى معدل للمعاملة BABA بتركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ عن باقي المعاملات أن زيادة المركبات الفينولية في أنسجة النباتات المعاملة بمواد الاستحثاث يشير إلى زيادة في استجابة النبات وذلك بتكوين وسائل دفاعية ضد المسببات المرضية فقد أشارت دراسة (3) إلى أن رش النباتات المنشطة بعوامل الاستحثاث بحامض BABAبتركيز 1000 ملغم. لتر$^{-1}$ وSA بتركيز 200 ملغم. لتر$^{-1}$ أدى إلى زيادة تركيز الفينولات. من النتائج يتضح أن رش عوامل الاستحثاث المختلفة على المجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء أدى إلى تحفيز المقاومة الجهازية في النباتات المعاملة خفضت من نسبة الإصابة بمسبب مرض التفحم الشائع رافق هذا الاستحثاث زيادة في تراكم المركبات الفينولية والبيروكسيديز في النباتات المعاملة وهذه الإنزيمات عدت في الكثير من الدراسات معياراً في تنشيط آليات الدفاع في النبات ضد المسببات المرضية.

جدول 3 يبين التغير في فعالية الفينولات في نبات الذرة الصفراء بعد التحفيز بالعوامل الكيميائية

	التغير بالامتصاص (مايكرو غم. غم وزن طري$^{-1}$) يوم بعد المعاملة بالفطر الممرض				
المعاملات	2	5	8	10	المعدل
SA + U.S بتركيز 400ملغم	**316.7**	**296.7**	**293.3**	**266.7**	**293.35**
SA + U.S بتركيز 200ملغم	**216.7**	**253.3**	**243.3**	**216.7**	**232.5**
BABA +U.S بتركيز 2000 ملغم	**305**	**343.3**	**300**	**306.7**	**313.75**
SA + U.S بتركيز 1000ملغم	**263**	**290**	**266.7**	**240**	**264.92**
نبات معامل بالفطر U.S	**170.7**	**200**	**200**	**180**	**187.67**
نبات سليم غير معامل	**103.3**	**113.3**	**116.7**	**113.7**	**111.75**
L.S.D (P= 0.05)	**38.98**	**26.92**	**30.62**	**29.68**	

SA حامض سالسيلك، BABA حامض بيتا امينو بيوترك، U.S الفطر الممرض *U.maydis*، كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات

تراكم البرولين

تشير النتائج في الجدول 4 إلى تفوق معاملة BABA بتركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ معنوياً إذ أعطت 9.27 مايكرو مول. غم$^{-1}$ قياساً بمعاملة المقارنة بدون إضافة ممرض أو عامل استحثاث والتي أعطت أقل معدل لتراكم البرولين والذي بلغ 4.57 مايكرولتر.غم$^{-1}$ بعد يومين من المعاملة، وتفاوتت بقية المعاملات في قيمها إلا أنها كانت جميعها معنوية بالنسبة للمقارنة من دون ممرض وبدون عامل أي عامل استحثاث وكانت القيم 08.3، 7.57، 6.80، 5.90 للمعاملات SA تركيز 200 ملغم. لتر$^{-1}$، SA تركيز 400 ملغم. لتر$^{-1}$، BABA تركيز 1000 ملغم. لتر$^{-1}$ ومقارنة بإضافة عوامل استحثاث من دون الفطر الممرض على الترتيب.

وتشير النتائج الجدول نفسه إلى معدل تراكم البرولين بعد 5 أيام إلى تفوق المعاملة BABA تركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ بإعطائها أعلى المعدلات 9.23 مايكرو مول. غم$^{-1}$ قياساً بالمقارنة بدون الفطر الممرض وبدون إضافة عوامل الاستحثاث والتي أعطت المعدل 4.53 مايكرو مول. غم$^{-1}$، وجاءت النتائج متقاربة بعد يومين ما عدا زيادة

في معدل تراكم البرولين بمعاملة BABA تركيز 1000 ملغم. لتر$^{-1}$ وبلغت 8.23 مايكرولتر.غم$^{-1}$. بينت النتائج بعد 8 و10 أيام بأن معاملة BABA تركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ استمرت بتفوقها على بقية المعاملات معنوياً قياساً بالمقارنة بدون ممرض وبدون إضافة عوامل استحثاث إذ أعطت 8.2 و10.3 مايكرو مول. غم$^{-1}$ للفترتين بعد 8 و10 يوم على الترتيب قياساً بالمقارنة 4.97 و5.1 مايكرو مول. غم$^{-1}$ لمعاملة المقارنة ولنفس الفترتين على الترتيب. عند ملاحظة الجدول بشكل عام ولجميع الفترات نلاحظ أن المعاملات سلكت سلوك متشابهاً من حيث تدرجها من أعلى المعدلات للمعاملة BABA تركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ ولكل الفترات باتجاه معاملة المقارنة نزولاً ولبقية المعاملات كما يشير الجدول.

وعند أخذ متوسط المعاملات يلاحظ تفوق المعاملة BABA تركيز 2000 ملغم. لتر$^{-1}$ معنوياً على بقية المعاملات تلتها معاملة SA تركيز 400 ملغم. لتر$^{-1}$ والمعاملة BABA تركيز 1000 ملغم. لتر$^{-1}$ وأخيراً المعاملة SA تركيز 200 ملغم. لتر$^{-1}$ على الترتيب. تعد مقدرة النبات على تصنيع البرولين احدى الآليات الفسيلوجية المقترحة لتحمل الإجهاد، وأشار (26) إلى أن المستويات العالية من الأحماض الأمينية التي تلاحظ في النباتات المعرضة للإجهاد ناتجة عن تحلل البروتين وأكثر الأحماض الأمينية تراكماً هو البرولين. ووجد (17) أن هناك زيادة في تراكم البرولين بزيادة الإجهاد البيئي. يلاحظ من خلال النتائج أن الإصابة بالفطر الممرض *U.maydis* المسبب لمرض التفحم العادي في الذرة الصفراء والذي يعد نوعاً من أنواع الإجهاد أن هناك زيادة في معدل إنتاج البرولين في نبات الذرة الصفراء كما تشير النتائج وإن هذه الزيادة في تراكم المواد الذائبة في نبات الذرة الصفراء لا سيما البرولين والذي يساهم بدور وقائي لتحمل النبات لظروف الإجهاد.

جدول 4 يبين التغير في تراكم البرولين في نبات الذرة الصفراء بعد التحفيز بالعوامل الكيميائية

المعاملات	التغير بالامتصاص (مايكرو مول. غم$^{-1}$) يوم بعد الإصابة بالفطر الممرض				المعدل
	2	5	8	10	
SA + U.S بتركيز 400ملغم	**7.57**	**7.87**	**7.17**	**7.53**	**7.53**
SA + U.S بتركيز 200ملغم	**8.30**	**6.43**	**7.07**	**6.70**	**7.12**
BABA + U.S بتركيز 2000ملغم	**9.27**	**9.23**	**8.20**	**10.30**	**9.25**
BABA + U.S بتركيز1000ملغم	**6.80**	**8.23**	**6.77**	**7.23**	**7.25**
نبات معامل بالفطر U.S	**5.90**	**6.87**	**5.60**	**6.23**	**6.15**
نبات سليم غير معامل	**4.57**	**4.53**	**4.97**	**5.10**	**4.79**
L.S.D (P= 0.05)	**1.39**	**1.49**	**1.14**	**1.27**	

SA حامض سالسيلك، BABA حامض بيتا امينو بيوترك، U.S الفطر الممرض *U.maydis*، كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات

المصادر

1-جرجيس، ميسر مجيد ومعاذ قدوري عراك ،2012. تأثير معاملة تبليل التربة بمركبات استحثاث المقاومة في مكافحة مرض البياض الزغبي على الخيار. مجلة العلوم الزراعية العراقية 43(3) (عدد خاص): 48-56.

2–سعد الدين، سعد الدين شمس الدين وافتخار موسى جبارة وحميدة عباس الربيعي وعبد الستار عبد الحميد البلداوي وحسين احمد سعد الله ،2001. تقويم ستة تراكيب وراثية وطرق عدوى مختلفة للإصابة بالفطر *Ustilago maydis* (DC.) Cada المسبب لمرض التفحم العادي في الذرة الصفراء. مجلة العلوم الزراعية العراقية، المجلد 32، العدد 3.

3–شمس الله، ستار عزيز،2015. دراسة إمكانية مكافحة مرض التفحم المغطى المتسبب عن الفطر *Tilletia* spp على الحنطة باستخدام بعض العوامل الحيوية والكيمائية وتحديد التغاير الوراثي في عزلاته في العراق. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة–جامعة بغداد.

4–الشيباني ناظم طراد عبود،2008. التحري عن انتشار مرض التفحم العادي على الذرة الصفراء المتسبب عن الفطر *Ustilago maydis* (Dc.) Corda في محافظتي واسط والقادسية وتحديد أهمية المرض والصفات المظهرية للفطر ومقاومته. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة–جامعة بغداد.

5–مصطفى، فاضل حسين ،1965 قائمة بالأمراض النباتية الشائعة في العراق، نشرة رقم 111 مديرية البحوث والمشاريع الزراعية العامة.

6-Bates، L. S., R. P. Waldes. and T. D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

7- Chen, F., M. Wang, Y. Zheng, J. Luo, X. Yang and X. Wangm, 2010. Quantitative changes of plant defense enzymes and phytohormone in biocontrol of cucumber Fusarium wilt by *Bacillus subtilis* B579. World J. Microbiol. Biotechnol. 26: 675- 684.

8-Christensen, J.J., 1963. Corn smut caused by *Ustilago maydis* .American Phytopathological Society Monograph 2. Pp41.

9-Cohen, Y., 2002. β – Aminobutyric acid – induced resistance against plant pathogen. Plant Disease 86: 448 – 457.

10-Durrant, W.E., and X., Dong, 2004. Systemic acquired resistance.*Annu Rev Phytopathol* 42: 185–209.

11-Ghosal,T.K., S., Dutta , S., K.,Senapati and D.C Deb,2004. Role of phenol contents in legume seeds and its effect on biology of Collosbrchus chinensis. Ann.Pl.Protec.Sci.12, 442-444.

12-Hammerschmidt, R., F., Nuckle and J., Kuc, 1982. Association of enhance activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium* .Physiol.Plant Pathol.20:73-82.

13-Immer, F.R. and J.J. Christensen, 1928. Influence of environmental factors on the seasonal prevalence of corn smut. Phytopath, 18: 589-597.

14-Knoester, M., C. M. J. Pieterse, J. E. Bol and L. C. Van Loon, 1999. Systemic resistance in arabidopsis induced by *Rhizobacteria vequires* ethylene dependent signaling at the site of application. Mol. Plant. Microb. Interact. 12: 720 – 727.

15-Maleck, K., A. Levine, T. Eulgem, A. Morgan, J. Schmid, K. A. Lawton, J. L. Dangl and R. A. Dietrich, 2000. The transcriptome of arabidopsis thaliana during systemic acquired resistance. Net. Genet. 26: 403 – 410.

16-Matta, A., 1989. Induced resistance to fusarium wilt disease. P. 175 – 196. In: Vascular wilt disease of plant. Jiamos, E. C. and Beckman , C. H. eds . Spring – Veriag Betlin Heidlberg.

17-Oraki**,** O., F. P. Khajani. and M. Aghaalikhana, 2012. Effect of water deficit stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and grain yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. African J. of Biotech. 11:164-168.

18-Ouchi, S., 1983. Induction of resistance or susceptibility. Ann. Rev. Phytopathol. On yield losses. J. of Agro. and Crop Science 163: 62-68.

19-Pataky, J. K., and K.M Snetselaar, 2006.Common smut of corn (Syn. boil smut, blister smut) .The Plant Health Instructor.

20-Quaglia, M., L. Ederli, S. Pasqualini and A. Zazzerini, 2011. Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. on apple fruit . Postharvest Biol.Technol., 59:307–315.

21-Raba, F and Z.A Rashidi , 2013. Degradation of the Plant defence hormone salicylic acid by the biotrophic fungus *Ustilago maydis*. Molecular Microbiology, 89(1),179-188.

22-Rivas-San Vicente, M., and J. Plasencia, 2011 Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development.J Exp Bot 62: 3321–3338.

23-Sequeira, L., 1983. Mechanisms of induced resistance in plants. Ann. Rev. Microbiol. 37: 51 – 79.

24-Siegrist, J., M. Orober and H. Buchenauer, 2000. Beta – aminobutyric acid – diated enhancement of resistance in tobacco-to-tobacco mosaic virus depends on the accumulation of salicylic acid. Physiol. Mol. Plant Pathol. 56: 95 – 106.

25-Snetselaar, K. M. and C. W Mims, 1992. Sporidial fusion and infection of maize seedlings by the smut fungus *Ustilago maydis*. Mycologia, 84: 193-203.

26-Tan**,** J., H. Zhao, J. Hong, Y. Han, H. Li and W. Zhao, 2008. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis، antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress .World J. Agric. Sci. 4:307-313.

27-Ton, J., G. Jakab, V. Toquin, V. Flors, A. Iavicoli, M.N. Maeder, J.P. Métraux,and B. Mauch-Mani ,2005. Dissecting the β-aminobutyric acid-induced priming phenomenon in Arabidopsis. Plant Cell, 17:987–999.

28-Tuncdemir, M., 1985. The seminar of the diseases of Wheat and Maize. Central Anatolia Research Inst. 25-29 March. Ankara.Turkey.

29-Vanloan, L., C., and E. A. Vanstrien , 1999. The families of pathogensis related proteins their activities and comparative analysis of PR – 1 type proteins. Physiol. Mol. Plant Pathol. 55: 85 – 97.

30-Yang,X., T.,Awaka,T. Wakimoto and I. Abe, 2013. Induced Production of novel glycolipid ustilgic C in the plant pathogen *Ustilago maides*. Tetrahedron Letters 54(2013) 3655-3657.

31-Zimmerli L., J.P. Métraux and B. Mauch-Mani, 2001. β-Aminobutyric acid-induced protection of Arabidopsis against the Necrotrophic Fungus Botrytis cinerea . Plant Physiol., 126 pp. 517–523.

32-Zimmerli, L., C. Jakab, J.P. Metraux and B. Mauch-Mani, 2000. Potentiation of pathogen- specific defense mechanisms in Arabidopsis by β-aminobutyric acid. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 97:12920-12925.