تأثير بعض عوامل الاستحثاث في حماية بادرات الخيار من الإصابة بشبه الفطر *Pythium aphanidermatum* تحت ظروف البيوت المحمية

محمد جابر سلمان الجليباوي، خالد وهاب عبادي*

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة الأنبار، الرمادي، العراق.

المستخلص

أُجريت هذه الدراسة لتقيم كفاءة حامض الأسكوربيك والسالسليك والعامل الأحيائي *T. harzianum* بصورة منفردة او بشكل توليفات في خفض نسبة وشدة الاصابة بمرض تعفن الجذور وموت بادرات الخيار الناجم عن المسبب شبه الفطر *Pythium aphanidermatum* وبعض معاير النمو والصفات الكيميائية. بينت نتائج الدراسة أن المعاملات جميعها حققت زيادة معنوية في نسب الإنبات وحماية بادرات الخيار من الإصابة بالمرض قبل وبعد البزوغ، واختزال شدة الإصابة مقارنة بمعاملة شبه الفطر الممرض . وحققت معاملة الاسكوربيك والسالسليك مع المقاوم الاحيائي T. *harzianum* بوجود الممرض نسبة إنبات بلغت 100 %، واختزلت نسبة وشدة الإصابة إلى 0.0 % قبل وبعد البزوغ، وانعكس التأثير إيجابيا على الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري، واثبتت عوامل الاستحثاث كفاءتها في استحثاث المقاومة الجهازية في بادرات الخيار من خلال زيادة فعالية انزيم البيروكسيديز والفينولات.

الكلمات المفتاحية: حامض الاسكوربيك، حامض الساليسليك، *T. harzianum* ، انزيم البيروكسيديز ، الفينولات.

Efficiency of Some Inducing Factors to Protect Cucumber Seedlings from Infection with the Semi *Pythium aphanidermatum* Under Greenhouse Conditions

Mohammed J. S. Aljelibawi, Khalid W. Ibade*

Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Anbar, Ramadi, Iraq.

Abstract

This study was conducted to evaluate Ascorbic acid، Salicylic acid،، and *T. harzianum* individually or in combinations، in reducing the severity of the disease Root Rot and Damping-off of cucumber caused by Semi *Pythium aphanidermatum* and some growth and chemical characteristics. The results showed that all treatments were highly efficient in increasing germination rates, protecting cucumber seedlings from root rot disease and Damping-off before and after emergence, and reducing the severity of infection compared to the treatment of semi-pathogenic alone. The treatment mixed of Ascorbic and Salicylic acid with T. harzianum with pathogenic achieved a germination rate of 100%، the infection rate and severity were reduced to 0.0% before and after emergence، and the effect was positively reflected on the fresh and dry weight of the foliage and root system. The induction agents proved their efficiency in inducing systemic resistance in cucumber seedlings by increasing the activity of peroxidase and phenols.

Keywords: Ascorbic acid, Salicylic acid, *T. harzianum*, Peroxidase enzyme, Phenols.

المقدمة

شهد محصول الخيار في السنوات الأخيرة تدني بالإنتاج بسبب الإصابة بالمسببات المرضية، ومن بين أهم المسببات التي تسبب تعفن بذور وموت البادرات *شبه الفطر Pythium aphanidermatum* (Mahmoud و Abdalla، 2021). والمسبب معروف بسرعة فتكه للعائل النباتي فضلاً عن مداه العائلي الواسع، وكذلك قدرته على مقاومة الظروف البيئية غير الملائمة وهو مسؤول عن تعفن البذور وسقوط البادرات وتعفن الجذور (Bauri واخرون، 2022). ونظراً للتأثيرات السلبية عن الأضرار الناجمة عن الاستعمال المفرط للمبيدات الكيميائية على الأنسان والبيئة، ادى إلى تركيز جهود الباحثين إلى نوع جديد من أنواع المكافحة وهو مأيعرف بالمقاومة الجهازية المستحثة (ISR) والتي يقصد بها حث النبات ودفعه على مقاومة المرض سواءاً عن طريق مستحثات حيوية أو غير حيوية (De Silva واخرون، 2019). ومن عوامل الأستحثاث المهمة حامض الأسكوربيك، الذي يعد من أكثر الجزيئات الحيوية وفرة وتنوعًا في النباتات، إذ يوجد بتراكيز عالية في البلاستيدات الخضراء والعصارة الخلوية للنباتات، ويعمل كعامل مساعد رئيسي مضاد للأكسدة وينظم العمليات الفسيولوجية المختلفة في الخلايا النباتية (Yoshimura و Ishikawa، 2017)، اذ وجد ان معاملة بذور الخيار بنقعها بحامض الاسكوربيك ادى إلى تحسين خصائص النمو وحركة الثغور وكفاءة التمثيل الضوئي وتعزيز نشاط انزيم البيروكسيديز ومحتويات العناصر الغذائية وأنظمة الدفاع المضادة للأكسدة (Seleiman واخرون، 2020). كما يعد حامض السالسليك هو أحد الهرمونات النباتية ذات الطبيعة

*Corresponding author.
Email: ag.khalid.abade@uoanbar.edu.iq
https:// 10.36531/ijds.2023.140979.1037
Received 10 June 2023; Received in revised form 9 August 2023; Accepted 26 August 2023

الفينولية، والمسؤول عن اشارة البدء في المقاومة الجهازية المستحثة، ومنظم نمو داخلي يشارك في تنظيم العمليات الفسيولوجية في النبات ويلعب دوراً رئيساً في تفعيل الجينات الدفاعية ضد هجوم المسببات الممرضة (Mohamed واخرون 2020). كذلك استعمال الفطر الاحيائي *T. harzianum* في برامج المكافحة الأحيائية وذلك لمقدرته العالية على منع نمو المسببات الممرضة في التربة من خلال اليات مختلفة هي التنافس والتضاد أو إفراز الإنزيمات (Kumar واخرون، 2019). ونظراً لأهمية هذا المرض هدفت الدراسة الى تقيم كفاءة حامض الأسكوربيك والسالسليك والعامل الأحيائي *T. harzianum* بصورة منفردة او بشكل توليفات في خفض نسبة وشدة الاصابة بالمرض وزيادة بعض معاير النمو والكشف عن التفاعلات البايوكيميائية مثل أنزيم البيروكسيديز والفينولات الكلية.

المواد وطرائق العمل

تم عزل شبه الفطر *P. aphanidermatum* من جذور بادرات الخيار المصابة التي ظهرت عليها الاصفرار والذبول وتعفن الجذور، وشخصت مظهريا فضلاً عن تأكيد تشخيص تلك العزلة جزيئيا في مختبرات شركة التقدم العلمي ASCO learning Center باستعمال تقنية تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل (PCR) وقد تم ايداعها في بنك الجينات تحت الرقم البنكي (OM328104). تم تنفيذ التجربة في البيت البلاستيكي التابع لقسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة الأنبار، خلال الموسم الربيعي لعام 2021، استعمل في الزراعة بذور الخيار صنف مجد المنتج من دائرة البستنة– البرنامج الوطني لإكثار سلالات وهجن محاصيل الخضر المحلية. استعملتُ أَصص بلاستيكية معقمة بواسطة هايبوكلورات الصوديوم قطرها 30 سم تحتوي على تربة مزيجية وبتموس بنسبة 1:2 وبمعدل 4 كغم لكل اصيص، عقمت التربة والبتموس بواسطة الفورمالين بنسبة 3 لتر لكل1 م^3، وتم تغطيتها بالنايلون بشكل محكم لمدة 15 يوم بعد ذلك قلبت لمدة خمسة أيام قبل الاستخدام ، نقلت الأَصص إلى البيت البلاستيكي، أُضيف لقاح شبه الفطر الممرض *P. aphanidermatum* (Pa) النامي على الوسط الغذائي PDA بعمر 3 أيام، إلى تربة الأَصص بمعدل ربع طبق لكل كغم تربة ، أما بالنسبة لمعاملة المقارنة (Control) فقد أُضيف لها الوسط الغذائي PDA بدون الفطر الممرض، بعدها رطبت تربة الأَصص بالماء وتم تغطيتها بغطاء بلاستيكي للحفاظ على المحتوى الرطوبي المناسب لنمو المسبب المرضي، وتركت لمدة ثلاثة أيام، زرعت بذور الخيار 10 بذرة لكل اصيص المعقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) لمدة 2 دقيقة، ثم غسلت بالماء المعقم المقطر لازالة اثار التعقيم، بعدها نقعت بذور الخيار لمدة 3 ساعات قبل الزراعة لكل من معاملة بحامض الاسكوربيك (AA) بتركيز 2000 ملغم لتر$^{-1}$ وحامض السالسليك (SA) بتركيز 200 ملغم لتر$^{-1}$ أما معاملات المقاوم الاحيائي *T. harzianum* (Tr) فقد تمت إضافتها إلى تربة الأَصص (حسب توصيات دائرة الوقاية المنتجة له) بمعدل 5 غم كغم تربة$^{-1}$ وبتركيز 1×10^6 سبور مل$^{-1}$ وخلطه جيداً مع التربة ، في حين تم إضافة مبيد اليونيفورم Uniform SE (U) الذي يتكون من المادتين الفعالة Azoxystrobin وMetalaxyl بتركيز 3 مل لتر$^{-1}$ بواقع 100 مل من محلول المبيد لكل اصيص. أما بالنسبة لمعاملات التوليفات الذي تم فيها تداخل أكثر من عامل من خلال اضافة نصف التركيز لكل منهما، استعمل التصميم التجريبي تام التعشية CRD بـ 10 معاملة وبخمسة مكررات لكل معاملة. وحللت النتائج وقورنت إحصائيا حسب اختبار L.S. D عند مستوى احتمال 0.05، سجلت النتائج بعد أنبات جميع البذور وسجلت النسبة المئوية قبل وبعد البزوغ، بعد 40 يوم من الزراعة قلعت خمس نباتات من كل معاملة وسجلت البيانات الاتية:

النسبة المئوية للإنبات

$$\text{الأنبات \%} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلية}} \times 100$$

النسبة المئوية للإصابة قبل وبعد البزوغ

حسبت النسبة المئوية للإصابة قبل البزوغ بعد 10أيام من زراعة بذور الخيار من خلال المعادلة الآتية:

$$\text{الإصابة قبل البزوغ \%} = \frac{\text{عدد البذور الغير نابتة}}{\text{عدد البذور الكلية}} \times 100$$

أما النسبة المئوية للإصابة بعد البزوغ لتعفن الجذور حسبت بعد 35 يوم من زراعة بذور الخيار وفق للمعادلة الآتية:

$$\text{الإصابة بعد البزوغ \%} = \frac{\text{عدد البذور المصابة}}{\text{عدد الكلي للنباتات}} \times 100$$

الدليل المرضي وشدة الإصابة: حسب الدليل المرضي المؤلف من 5 درجات الموصوف من قبل Souza واخرون، (2010). ومن ثم حسبت شدة الإصابة لكل معاملة وفق معادلة Mckinney (1923). وحسب طول المجموع الخضري والجذري، الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري وعدد الأوراق ونسبة الكلورفيل (SPAD)، وتم قياس بعض الصفات الكيميائية منها نسبة إنزيم البيروكسيديز ومحتوى الفينول الكلي في أوراق نباتات الخيار بعد 15و30 يوم من المعاملة في مختبرات مركز الزراعة العضوية– وزارة الزراعة/ العراق.

النتائج والمناقشة

تأثير عوامل الاستحثاث على نسبة الإنبات والإصابة قبل وبعد البزوغ وشدة الإصابة لبادرات الخيار

أظهرت نتائج التجربة في (جدول1) أن المعاملات كافة كانت ذات كفاءة عالية في حماية بادرات الخيار من الإصابة بمرض موت البادرات وتعفن الجذور مقارنة بمعاملة شبه الفطر الممرض *P. aphanidermatum*، اذ بلغت نسبة الإنبات فيها 10%، اما بالنسبة للإصابة قبل وبعد البزوغ بلغت 66%، 24%بالتتابع وشدة إصابة 84%. أما معاملة خلط حامض الاسكوربيك والسالسليك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* التي حققت أعلى نسبة إنبات بلغت 100%، وكانت ذات كفاءة عالية في حماية البذور والبادرات من المسبب المرضي، إذ كانت نسبة الإصابة الكلية وشدتها 0.0%، ولم تختلف معنويا في نسبة الإنبات عن معاملة خلط حامض الاسكوربيك مع السالسليك (100%) حامض الاسكوربيك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* (96%)، بينما بلغت نسبة الإصابة الكلية لهما 0.0 و4.0 % بالتتابع، وخفضت شدة الإصابة إلى 0.0 و 2.0% بالتتابع، في حين أعطى كل من حامض الاسكوربيك بمفرده ومعاملة السالسليك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* و مبيد اليونيفورم نسبة إنبات بلغت 80 و 78 و76 % بالتتابع، ونسبة الإصابة الكلية بلغت 20 و 22 و24% بالتتابع، والتي اختلفت بفروقات معنوية عالية عن معاملة المقارنة (ممرض فقط) التي بلغت نسبة الإصابة فيها قبل وبعد البزوغ بلغت 90% وشدة الإصابة بلغت 84.0 %.

ان الزيادة الحاصلة في نسب الإنبات والانخفاض في النسبة المئوية لموت البادرات قبل وبعد البزوغ واختزال شدة الإصابة بتعفن جذور بادرات الخيار، قد تعزى إلى كفاءة عوامل الاستحثاث المستعملة في التجربة، منها حامض الاسكوربيك الذي يلعب دورًا مهمًا في استحثاث المقاومة داخل النباتات ضد المسببات المرضية من خلال حدوث تغييرات في توازن الأكسدة والاختزال في بيئة الخلية وتحفيز التعبير الجيني عن طريق البروتينات المرتبطة بالإمراضية (Boubakri واخرون، 2016)، كما يساهم حامض الاسكوربيك في تنظيم العديد من العمليات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية الرئيسية مثل التحفيز المناعي وتخليق الكولاجين وإنبات البذور وزيادة كفاءة عملية التمثيل الضوئي (Zeid واخرون، 2019). اما دور كفاءة حامض السالسليك في زيادة نسبة إنبات وانخفاض النسبة المئوية للإصابة قبل وبعد البزوغ فضلاً عن انخفاض شدة الإصابة في المعاملات المتضمنة استعمال حامض السالسليك سواء كان لوحده أو بالتوافق مع حامض الاسكوربيك أو مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum*، يعود ربما إلى المادة الفعالة لحامض السالسليك التي تعمل على موت الخلايا وتثبيط العديد من العمليات الحيوية والفعاليات الانزيمية في المسبب المرضي (Choi واخرون، 2015).

جدول.1 تأثير عوامل الاستحثاث على نسبة الإنبات والإصابة قبل وبعد البزوغ وشدة الإصابة لبادرات الخيار

المعاملات	التركيز المستخدم	الانبات (%)	الإصابة قبل البزوغ (%)	الإصابة بعد البزوغ (%)	الإصابة الكلية (%)	شدة الإصابة (%)
Co	---	100	0.0	0.0	0.0	0.0
Pa	---	10.0	66.0	24.0	90.0	84.0
AA+Pa	2000 ملغم لتر$^{-1}$	80.0	16.0	4.0	20.0	14.0
SA+Pa	200 ملغم لتر$^{-1}$	74.0	26.0	0.0	26.0	21.0
Tr.+Pa	5 عم كغم لتر$^{-1}$	64.0	34.0	2.0	36.0	30.0
AA+SA+Pa	200+2000	100	0.0	0.0	0.0	0.0
AA+Tr.+Pa	2000+2.5	96.0	0.0	4.0	4.0	2.0
SA+Tr.+Pa	200+2.5	78.0	22.0	0.0	22.0	17.0
AA+SA+Tr.+Pa	2000+200+2.5	100	0.0	0.0	0.0	0.0
Pa+U	3 مل لتر$^{-1}$	76.0	0.0	24.0	24.0	20.0
LSD 0.05	---	5.7	3.6	3.6	4.36	2.86

Table 1. Shows the increase in the rates of germination، the decrease in the percentage of seedling death before and after emergence، and the reduction of the intensity of root rot of cucumber seedlings، because of the efficiency of the induction agents' ascorbic acid، salicylic acid, and *T. harzianum*، alone or in combination with each other، compared to the *P. aphanidermatum* alone.

فضلا عن دوره في تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) في النبات وزيادة نشاط الإنزيمات الدفاعية Chitinase و Glucanase من خلال زيادة مستوى التعبير الجيني (عدد النسخ) وإنتاج بروتينات تساعد النبات في الدفاع ومقاومة طيف واسع من المسببات المرضية (Saberi واخرون 2022). كذلك قابلية المقاوم الإحيائي *T. harzianum* على أنتاج الإنزيمات مثل أنزيم Cellulase و Chitinases و Glucanases و Proteinases و Xylanases، المحللة لجدران الخلايا الفطرية الممرضة، فضلا عن أن قدرته المباشرة على التطفل على مسببات الامراض (Zhang، 2015). اما دور مبيد Uniform في زيادة نسبة الإنبات وخفض النسبة المئوية للإصابة قبل البزوغ وبعده وخفض شدة الإصابة لكونه من المبيدات الفطرية الجهازية، والذي يتكون من المادتين الفعالة Azoxystrobin و Metalaxyl ذات التأثير الواسع ضد عدد من فطريات التربة وقد يعزى التأثير السام للمبيد في تثبيط عملية التنفس الخلوي في ميتوكوندريا الخلية الفطرية وكذلك تثبيط عملية تخليق البروتين (Al– Adil، 2006).

كفاءة عوامل الاستحثاث في بعض معايير النمو لنبات الخيار

بينت نتائج (جدول2) أن المعاملات المستعملة كافة أعطت حماية جيدة للبذور وبادرات الخيار من الإصابة وكذلك أدت إلى زيادة معنوية في معايير النمو كالوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري قياساً بمعاملة شبه الفطر الممرض، إذ تفوقت معنوياً معاملة خلط حامض الاسكوربيك والسالسليك مع المقاوم الاحيائي *T.harzianum* في الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري بأعطائها وزن بلغ 26.6 و 11.4 و 6.7 و2.5 غم نبات$^{-1}$ بالتتابع ، تلتها معاملة خلط الاسكوربيك مع السالسليك 24.0 و 10.7 و 6.02 و2.4 غم نبات$^{-1}$ بالتتابع ، و 24.8 ،9.9 ،5.6 و2.1 غم نبات$^{-1}$ بالتتابع لمعاملة الاسكوربيك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* ، مقارنة مع معاملة الفطر الممرض الذي أعطى 8.08 و 2.3 و1.7 و 0.5 غم نبات$^{-1}$ بالتتابع . في حين أعطى مبيد Uniform وزن بلغ 9.6 و2.6 و1.96و0.8 نبات$^{-1}$ بالتتابع.

جدول 2. كفاءة عوامل الاستحثاث في الوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري والجذري للخيار بعد 40 يوم من الزراعة

المعاملات	التركيز المستخدم	معدل الوزن الطري للمجموع الخضري (غم)	معدل الوزن الطري للمجموع الخضري (غم)	معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم)	معدل الوزن الجاف للمجموع الجذري (غم)
Co	---	16.1	2.4	6.5	1.0
Pa	---	8.0	1.7	2.3	0.5
A+Pa	2000 ملغم لتر$^{-1}$	23.0	5.1	9.3	1.7
SA+Pa	200 ملغم لتر$^{-1}$	21.9	4.1	9.0	1.6
Tr.+Pa	5 عم كغم لتر$^{-1}$	19.3	3.1	7.9	1.3
A+SA+Pa	200+2000	24.8	6.0	10.7	2.4
A+Tr.+Pa	2000+2.5	24.0	5.6	9.9	2.1
SA+Tr.+Pa	200+2.5	21.0	4.6	8.7	1.5
A+SA+Tr.+Pa	2000+200+2.5	26.6	6.7	11.4	2.5
Pa+U	3 مل لتر$^{-1}$	9.6	1.9	2.6	0.8
LSD 0.05	---	0.8	0.57	0.5	0.2

Table 2. Showed that the used inducing agents' ascorbic acid، salicylic acid، and *T. harzianum* gave good protection to the seeds and seedlings of cucumbers from infection and increased some growth characteristics such as the fresh and dry weight of the vegetative and root compared to the *P. aphanidermat*um alone.

كما بينت نتائج الجدول 3 أن المعاملات المستعملة كافة وفرت حماية جيدة لبذور وبادرات الخيار من الإصابة، وكذلك أدت إلى زيادة معنوية في بعض معايير نمو الصفات الخضرية قياساً بمعاملة الفطر الممرض إذ تفوقت معنوياً معاملة خلط حامض الاسكوربيك و السالسليك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* في طول المجموع الخضري والجذري اذ بلغ24.0 و 20.6 سم بالتتابع ، تلتها معاملة خلط الاسكوربيك مع السالسليك 23.0، 20.4 سم و 22.0 ، 20.0 سم لمعاملة الاسكوربيك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* ، مقارنة مع معاملة الفطر الممرض الذي أعطى 12.2 و 6.4 سم. في حين أعطى مبيد Uniform معدل طول بلغ 15.8 و11.0 سم بالتتابع .كذلك اشارت نتائج جدول 3 أن عوامل الاستحثاث حققت زيادة معنوية في عدد الأوراق بعد 30 يوماً من إضافة لقاح الممرض وزيادة في محتوى الكلوروفيل في النبات مقارنة بمعاملة العامل الممرض ، فقد تفوقت معاملة خلط حامض الاسكوربيك والسالسليك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* بأعطائها عدد الأوراق 8.6 ورقة نبات$^{-1}$ ومحتوى الكلوروفيل45.3 سباد ، لكنها لم تختلف معنوياً عن معاملة حامض الاسكوربيك مع السالسليك التي اعطت عدد الأوراق 8.0 ورقة نبات$^{-1}$ وكمية الكلوروفيل فيها 44.5 SPAD، تلتها معاملة حامض الاسكوربيك مع المقاوم الاحيائي *T.harzianum* ومعاملة حامض الاسكوربك بمفرده و حامض السالسليك مع معاملة المقاوم الاحيائي *T.harzianum* ، التي أعطت عدد أوراق 7.2 و 7.8 و 7.2 ورقة نبات$^{-1}$ بالتتابع وكمية الكلوروفيل 42.5 39.3 و39.2 SPAD بالتتابع ، مقارنة مع معاملة العامل الممرض 4.0 ورقة نبات$^{-1}$ و 18.2 SPAD، في حين أعطى مبيد Uniform عدد الأوراق وكلورفيل 4.2 ورقة نبات$^{-1}$ و 30 SPAD بالتتابع .

جدول 3. كفاءة عوامل الاستحثاث على طول المجموع الخضري والجذري وعدد الأوراق ونسبة الكلورفيل لنبات الخيار

المعاملات	التركيز المستخدم	معدل طول للمجموع الخضري سم نبات$^{-1}$	معدل طول الجذري سم نبات$^{-1}$	عدد الأوراق/ نبات	محتوى الكلوروفيل
Co	---	16.0	12.0	6.0	31.2
P	---	12.2	6.4	4.0	18.2
A+P	2000 ملغم لتر$^{-1}$	18.6	19.8	7.8	39.3
SA+P	200 ملغم لتر$^{-1}$	17.3	18.3	7.0	38.3
Tr.+P	5 عم كغم لتر$^{-1}$	17.0	13.66	6.6	34.8
A+SA+P	200+2000	23.0	20.4	8.0	44.5
A+Tr.+P	2000+2.5	22.0	20.0	7.2	42.5
SA+Tr.+P	200+2.5	18.0	19.0	7.2	39.2
A+SA+Tr.+P	2000+200+2.5	24.0	20.6	8.6	45.3
P+U	3 مل لتر$^{-1}$	15.8	11.0	4.2	30.0
LSD 0.05	---	0.9	1.1	0.9	2.0

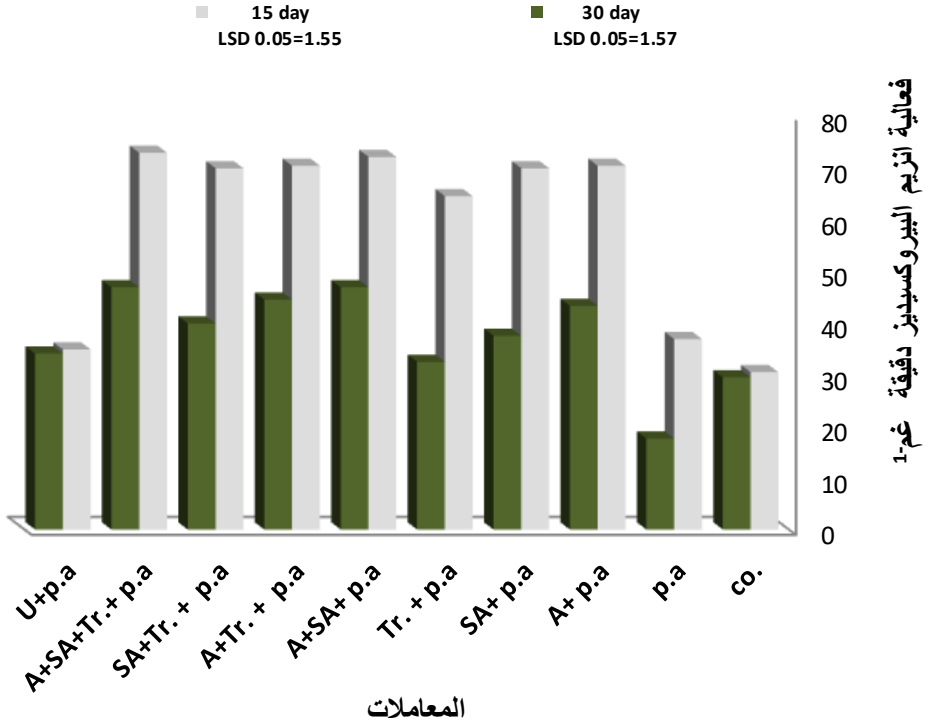
Table 3. Showed that the inducing agents' ascorbic acid، salicylic acid، and *T. harzianum* gave a increase significant in the improvement of the characteristics of the growth of vegetative such as vegetative and root shoot length، number of leaves، and chlorophyll percentage compared to the *P. aphanidermatum* alone.

أن المعاملات المستعملة كافة أدت إلى زيادة معنوية في تحسين خصائص معاير النمو للصفات الخضرية قياساً بمعاملة شبه الفطر الممرض (جدول 2 و3) وهو قد يعزى ذلك إلى الدور الإيجابي لحامض الاسكوربيك من خلال زيادة فترة فتح الثغور وكفاءة البناء الضوئي وتعزيز نشاط انزيم البيروكسيديز ومحتويات العناصر الغذائية وأنظمة الدفاع المضادة للأكسدة، لكونه أحد مضادات الأكسدة والاختزال، الذي يلعب دورًا مهمًا في نمو النبات وتطوره (Njus واخرون، 2020). وكذلك إلى الدور المهم والحيوي لحامض السالسليك في زيادة انتاج الهرمونات النباتية الداخلية المحفزة للنمو مثل الاوكسينات حامض الأبسيسيك والجبرلينات التي تؤدي بدورها إلى زيادة انقسام الخلايا واستطالتها، ويعزز تحفيز المركبات والإنزيمات المضادة للأكسدة (Sharma واخرون 2020). وله دور مهم في تحفز نمو النبات ويزيد من امتصاص العناصر الغذائية وحث عملية التزهير كما ينظم عملية البناء الضوئي ويزيد من نشاط مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية والتحكم بفتح وغلق الثغور وامتصاص الأيونات ونفاذية الاغشية الخلوية ونمو وتطور النبات ويزيد من محتوى صبغات الكلوروفيل وزيادة مقدرة النبات على تحمل الاجهادات البيئية. كذلك الى دور الفطر الإحيائي *T. harzianum* في تشجيع معاير نمو النبات نتيجة قدرته على تحفيز النمو أو استحثاث المقاومة الجهازية في النبات فضلا عن امتلاكه العديد من الاليات التضادية كأليات المنافسة، التضاد، التطفل، العداء، وتثبيط نمو هذه المسببات، كما تنتج عدداً من المضادات الحيوية مثل المضاد الحيوي *Trichodermin* والإنزيمات المضادة للفطريات الممرضة كإنزيم Chitinase و Proteases و Cellulases التي اثبتت فعاليتها ضد مدى واسع من المسببات المرضية (Abdelkhalek واخرون، 2022). ومن خلال متابعة بيانات الجدول نلاحظ هناك زيادة في كمية الكلورفيل الكلي في النبات، وهذا قد يرجع إلى دور حامض الاسكوربيك في زيادة تركيز النتروجين والفوسفور والبوتاسيوم في البراعم الخضرية الذي يدخل في تركيب الكلوروفيل (El–Wahab واخرون، 2016). أو ربما إلى الدور الأساسي لحامض الساليسيليك في زيادة صبغات الكلوروفيل ومنع تحطيمها من خلال تثبيط نشاط انزيم Chlorophyll Oxidase وزيادة فعالية انزيم وامتصاص المغذيات وزيادة النيتروجين والبروتينات وحماية الاغشية الخلوية ومن ثم تحسين معدلات النمو وزيادة البناء الضوئي (Akbarpour واخرون، 2014). كذلك ربما قد يعزى إلى كفاءة المقاوم الاحيائي *T. harzianum* في زيادة محتوى النيتروجين في أوراق النبات ونشاط الجذور على امتصاص العناصر الغذائية التي تدخل في تركيب الكلوروفيل أو تعمل كمنشطات لعملية البناء الضوئي (Mei واخرون، 2019).

تأثير عوامل الاستحثاث في فعالية بعض المؤشرات البايوكيميائية في نبات الخيار

أظهرت نتائج (الشكل 1) وجود فروق معنوية في فعالية أنزيم البيروكسيديز مقدراً على أساس معدل التغيير في الامتصاص الضوئي/ دقيقة غم$^{-1}$ وزن طري في بادرات الخيار، إذ تفوقت جميع معاملات عوامل الاستحثاث والتوليفه بينها على معاملة شبه الفطر الممرض *P. aphanidermatum* بعد 15 و30 يوماً من التلويث فقد سجل شبه الفطر الممرض 36.8 و17.59 دقيقة غم$^{-1}$ وزن طري بالتتابع، إذ نلاحظ من أن عوامل الاستحثاث المستعملة في هذه التجربة بصورة مفرده أو توليفة لها القابلية على استحثاث المقاومة الجهازية من خلال التأثير في فعالية انزيم البيروكسيديز، إذ بلغت أعلى قراءة للإنزيم بعد 15 و30 يوم من التلويث في معاملة خلط حامض الاسكوربيك والسالسليك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* واعطت 72.8 و46.80 دقيقة غم$^{-1}$ وزن طري بالتتابع، التي لم تختلف معنويا عن معاملة خلط حامض الاسكوربيك مع حامض السالسليك 72.0 و 46.80 دقيقة غم$^{-1}$ وزن طري بالتتابع، كما اعطت معاملة حامض الاسكوربيك مع المقاوم الاحيائي *T. harzianum* وحامض الاسكوربك بمفرده والسالسليك

مع معاملة المقاوم الاحيائي 70.3 و 44.40 و70.3 بعد 15 يوم من المعاملة و43.20 ، 69.8 و39.80 دقيقة غم$^{-1}$ وزن طري بالتتابع بعد 30 يوم، اما معاملة مبيد Uniform لم تسجل فروقاً معنوية في فعالية الانزيم مع معاملة المقارنة وأعطيت 34.8 و34.0 دقيقة غم$^{-1}$ وزن طري.

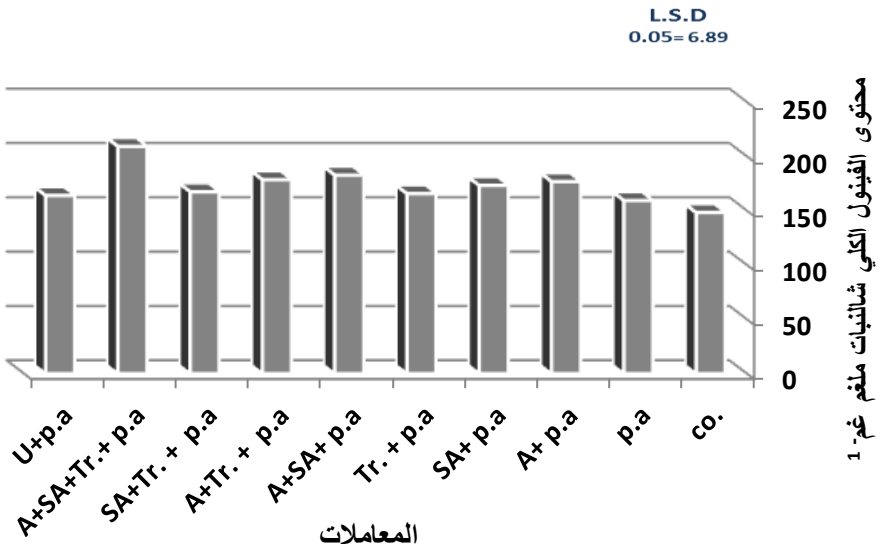


شكل 1. تأثير عوامل الاستحثاث في فعالية انزيم البيروكسيديز في نبات الخيار

Figure 1. Shows the superiority of all the induction factors ascorbic acid، salicylic acid، and *T. harzianum* and their combination over the pathogen fungus after 15 and 30 days of contamination in the peroxidase enzyme activity.

كما بينت نتائج (شكل 2) تفوق المعاملات الحيوية في كمية الفينولات المتراكمة في أوراق بادرات الخيار قياساً بمعاملة الممرض التي كان تركيز الفينولات الكلية فيها 159.18ملغم غم$^{-1}$، ان عوامل الاستحثاث المستعملة في هذه التجربة بصورة منفرده أو توليفة لها القابلية على استحثاث المقاومة الجهازية من خلال التأثير في كمية الفينولات الكلية ، إذ بلغت اعلى كمية في معاملة خلط حامض الاسكوربيك والسالسليك مع المقاوم الاحيائي*T. harzianum* 209.05 ملغم غم$^{-1}$، التي لم تختلف معنويا عن معاملة خلط الاسكوربيك مع السالسليك 182.604 ملغم غم$^{-1}$ ، كما أعطت معاملة حامض الاسكوربيك مع معاملة المقاوم الاحيائي *T. harzianum* وحامض الاسكوربك منفرداً ومعاملة السالسليك مع المقاوم الاحيائي محتوى كلي للفينولات بلغ 178.36 و 176.648 و173.052 ملغم غم$^{-1}$ بالتتابع، في حين بلغ 163.84 ملغم غم$^{-1}$ عند معاملة مبيد Uniform إن معاملة نباتات الخيار بحامض الاسكوربيك أدى إلى زيادة نشاط إنزيم البيروكسيديز وكمية الفينولات وتحفيز مقاومة النبات ضد المسببات المرضية من خلال تحفيز الجينات المسؤولة عن أنتاج البروتينات ذات العلاقة بالإمراضية في النباتات (El–Wahab واخرون، 2016)، اذ بين Seleiman واخرون (2020) عند معالجة بذور الخيار بنقعها بحامض الاسكوربيك ادت إلى زيادة فعالية إنزيمات المقاومة للأكسدة كإنزيمات Peroxidase وCatalase في النبات ضد المسبب المرضي. يتجسد دور حامض السالسليك على تحفيز نظام المقاومة المستحثة في نباتات الخيار المصابة بمرض موت البادرات في البيوت البلاستيكية من خلال تأثيره في التعبير الجيني ونشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة كأنزيم Proxidase و Polyphenol oxidase في النباتات المعالجة قد زاد بشكل كبير مقارنة بالنباتات غير المعاملة (Sabbagh وZinati 2016). كذلك يعزى سبب ذلك أيضاً إلى دور *T.harzianum* المقدرة على استحثاث المقاومة الجهازية في نباتات الخيار ضد مرض موت البادرات الناجم عن الفطر *Phytophthora melonis* (Sabbagh واخرون 2017). كما ذكر Sharma واخرون (2020) ان نباتات الخيار المعالجة بالعامل الاحيائي *T. harzianum* قلل من شدة مرض البياض الدقيقي الناجم عن الفطر *Podosphaera xanthii* من خلال نشاط الإنزيمات المتعلقة بالدفاع بما في ذلك البيروكسيديز (PO)،

بوليفينول اوكسيديز (PPO)، ومحتوى الفينولات الكلي مقارنة بالنباتات غير المعالجة، وان نشاط هذه الإنزيمات مرتبط طرديا مع استحثاث المقاومة الجهازية في النبات ضد المسببات المرضية وهذه النتائج تتفق مع توصل اليه (Hassan واخرون، 2021).



شكل 2. تأثير بعض عوامل الاستحثاث في المحتوى الكلي للفينولات في نبات الخيار

Figure 2. Shows the superiority of all the induction factors، ascorbic acid، salicylic acid، and *T. harzianum* and their combination over the pathogen fungus after 15 and 30 days of contamination in the activity of the phenols.

الاستنتاج

إن شبه الفطر الممرض *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض تعفن البذور وموت البادرات كان منتشراً في المشاتل والحقول المزروعة بمحصول الخيار. واثبتت معاملة الخلط بين حامض الاسكوربيك و السالسليك مع المقاوم الإحيائي *T.harzianum* كان لها أثر أيجابي في استحثاث المقاومة الجهازية في النبات من خلال كبح شبه الفطر الممرض و زيادة نسبة إنبات بذور الخيار في التربة الملوثة به وانخفاض نسبة الإصابة وانعكاس ذلك على شدة الإصابة، فضلاً عن زيادة في بعض مؤشرات النمو وفعالية انزيم البيروكسيديز والفينولات والكلوروفيل .

References

Abdelkhalek, A., Al-Askar, A. A., Arishi, A. A., & Behiry, S. I. (2022). *Trichoderma hamatum* Strain Th23 Promotes Tomato growth and Induces Systemic Resistance against *Tobacco mosaic* virus. *Journal of Fungi*, 8(3), 228.

Akbarpour, V., Aruei, H., & Nemati, S. H. (2014). Phytochemical and morphological attributes of borage (*Borago officinalis*) affected by salicylic acid as an enhancer. *Notulae Scientia Biologicae*, 6(2), 138-142.

Al- Adil, K. M., (2006). Pesticides: Principles and its Role in Agriculture and Public Health. College of Agriculture University of Baghdad.

Ali, B. (2021). Salicylic acid: An efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101884.

Bauri, A. K., Sherkhane, P. D., Mukherjee, P., Khan, Z., Banerjee, K., Carcache de Blanco, E. J., & Mukherjee, P. K. (2022). Identification of penicillic acid as the active principle of *Penicillium polonicum* inhibiting the plant pathogen *Pythium aphanidermatum*، and elucidation of its crystal structure. *Chemistry Select*, 7(9), e202200119.

Boubakri, H., Gargouri, M., Mliki, A., Brini, F., Chong, J. & Jbara, M. (2016). Vitamins for enhancing plant resistance. Planta، 244(3), 529-543.

Choi, H. W., Tian, M., Manohar, M., Harraz, M. M., Park, S. W., Schroeder, F. C., & Klessig, D. F. (2015). Human GAPDH is a target of aspirin's primary metabolite salicylic acid and its derivatives. *PLos One*, 10(11), e0143447.

De Silva, N. I., Brooks, S., Lumyong, S., & Hyde, K. D. (2019). Use of endophytes as biocontrol agents. *Fungal Biology Reviews*, 33(2), 133-148.

El-Wahab, A., Gehad, M. M., & Ismail, M. M. (2016). Induction of systemic resistance in cucumber plants against powdery mildew under field conditions. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 43(1), 127-139.

Hassan, G. M., Sayed, Z. A. E. F., Hemada, N. F., & Ahmeed, M. (2021). Isolation and molecular characterization of Egyptian *Trichoderma* and assessment of their antagonistic potential against *Rhizoctonia solani*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 495-502.

Hundare، A., Joshi, V., & Joshi, N. (2022). Salicylic acid attenuates salinity-induced growth inhibition in in vitro raised ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) plantlets by regulating ionic balance and antioxidative system. *Plant Stress*, 4, 100070.

Kumar, V., Verma, D. K., Pandey, A. K., & Srivastava, S. (2019). *Trichoderma* spp.: Identification and characterization for pathogenic control and its potential application. *In Microbiology for Sustainable Agriculture, Soil Health, and Environmental Protection* (pp. 223-258).

Mahmoud, A. F., & Abdalla, O. A. (2021). Biological control of fungi associated with damping-off and root rot disease of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 54(13-14), 870-885.

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

Mei, L. I., Hua, L. I. A. N., SU, X. L., Ying, T. I. A. N., Huang, W. K., Jie, M. E. I., & Jiang, X. L. (2019). The effects of *Trichoderma* on preventing cucumber *Fusarium* wilt and regulating cucumber physiology. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(3), 607-617.

Mohamed, H. I., El-Shazly, H. H., & Badr, A. (2020). Role of salicylic acid in biotic and abiotic stress tolerance in plants. In Plant Phenolics in Sustainable Agriculture (pp. 533-554). Springer, Singapore.

Njus, D., Kelley, P. M., Tu, Y. J., & Schlegel, H. B. (2020). Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 159, 37-43.

Sabbagh, S. K., & Zinati, F. F. (2016). The effect of salicylic acid to induce systemic resistance in cucumber plant to damping-off disease caused by *Pythium aphanidermatum*. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 5 (2), 27-43.

Sabbagh, S. K., Roudini, M., & Panjehkeh, N. (2017). Systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* and *Glomus* mossea on cucumber damping-off disease caused by *Phytophthora melonis*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(7-8), 375-388.

Saberi, R. R., Moradi P. M., & Ait, B. E. (2022). A Novel Route for Double-Layered Encapsulation of Streptomyces fulvissimus Uts22 by Alginate–Arabic Gum for Controlling of *Pythium aphanidermatum* in Cucumber. *Agronomy*, 12(3), 655.

Seleiman, M. F., Semida, W. M., Rady, M. M., Mohamed, G. F., Hemida, K. A., Alhammad, B. A., & Shami, A. (2020). Sequential application of antioxidants rectifies ion imbalance and strengthens antioxidant systems in salt-stressed cucumber. *Plants*, 9(12), 1783.

Sharma, A., Sidhu, G. P. S., Araniti، F., Bali, A. S., Shahzad, B., Tripathi, D. K., & Landi, M. (2020).The role of salicylic acid in plants exposed to heavy metals. *Molecules*, 25(3), 540.

Souza, L.T., Michereff, S. J. Laranjeira, D., Andrade, D. E. G. , Ferraz, E., Gsa, L. I. M. & Reis, A. (2010). Reaction of tomato genotypes to races 2 and 3 of *Fusarium oxysporum f.* sp. *lycopersici*. *Horticultura Brasileira*, 28, 102-106.

Yoshimura, K., & Ishikawa, T. (2017). Chemistry and metabolism of ascorbic acid in plants. In Ascorbic Acid in Plant Growth, Development and Stress Tolerance (pp. 1-23). Springer, Cham.

Zeid, I. M., Gharib, Z. F. A. E., Ghazi, S. M., & Ahmed, E. Z. (2019). Promotive effect of ascorbic acid، gallic acid، selenium and nano-selenium on seed germination، seedling growth and some hydrolytic enzymes activity of cowpea (*Vigna unguiculata*) seedling. Journal of Plant Physiology and Pathology, 7(1), 2.

Zhang, F. G. (2015). The affects and mechanisms of puta five *Trichoredma harzianum* mutant and ITS bio-organic fertilizer on growth of cucumber. Nanjing Agricultural University: Nanjing, China, 15-18.