Effect of Boron foliar spray on biochemical changes in Santa Teriza Lime Influence on Citrus Leaf Miner Damage.

Batoul Ahmad*
Dr. Sawsan Suleiman**
Dr. Mohammed Ahmad***

(Received 30 / 7 / 2022. Accepted 16 / 2 /2023)

□ ABSTRACT □

The effect of foliar spray of young lemon trees (santa teriza) (4years) in Tartus city Bit zaynah village with boric acid (500- 1000 ppm), on antioxidant enzymes activities (peroxidas POD, poly phenol oxidase PPO), total phenolic content, total chlorophyll and their influence on leaf miner (*Phyllocnistis citrella*) activity (tunnel length and damage density) under field condition was investigated.
The results showed that boron 1000 ppm enhanced POD activity (0.387 mm^{-1} mg^{-1} protein) and PPO activity (1.389 ΔA/min/g FW), and decreased total phenolic content (4.622 mg/g). Both boron concentration improved total leaf chlorophyll content (spad29.07- 24.06).
The results demonstrated as well that Boron treatment has a beneficial effect in reducing leaf miner activity, by decreasing tunnel length and damage density.

Key words: Boron- Santa teriza lime- Antioxidant enzymes- Total phenolic content_ Total chlorophyll- Citrus leaf miner- Tunnel length- Damage density.

* **Lecturer**, **Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria. batoulandjanalma@gmail.com**
** **Professor,Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*** **Professor,Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

تأثير الرش بالبورون في تحفيز التغيرات البيوكيميائية في أوراق الحمضيات (سانتا تيريزا) وانعكاسها على حشرة حافرة أنفاق أوراق الحمضيات

بتول احمد*

د. سوسن سليمان**

د. محمد أحمد***

(تاريخ الإيداع 30 / 7 / 2022. قبل للنشر في 16 / 2 / 2023)

□ ملخّص □

تمت دراسة تأثير رش أشجار الليمون الحامض سانتا تيريزا (4 سنوات) في محافظة طرطوس قرية بيت زينة بحمض البوريك (500– 1000 ppm) في نشاط كل من انزيمي البيروكسيداز والبولي فينول أوكسيداز ومحتوى الأوراق من الفينولات الكلية والكلوروفيل الكلي وانعكاس ذلك على بيولوجيا حشرة حافرة أنفاق الحمضيات من حيث طول النفق، وشدة الضرر.

أظهرت النتائج أن المعاملة بالبورون(1000 ppm) قد حسنت من نشاط أنزيم البيروكسيداز ($0.387\ mm^{-1}$ protein mg^{-1} وزيادة نشاط أنزيم البولي فينول أوكسيداز (1.389 ΔA/min/g FW)، وخفضت محتوى الأوراق من الفينولات الكلية (4.622 mg/g)، وساهمت كلتا المعاملتين بالبورون في تحسين محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي (29.07spad– 24.06)، وخفضت جميع التراكيز طول نفق يرقات حافرة الأنفاق مما انعكس ايجاباً في تخفيض ضررها على الأوراق المصابة.

الكلمات المفتاحية: بورون– ليمون سانتا تيريزا– أنزيمات مضادة للأكسدة– فينولات كلية_ كلوروفيل كلي– حافرة أنفاق الحمضيات_ طول النفق– شدة الضرر.

*معيدة كلية الهندسة الزراعية قسم البساتين ،جامعة تشرين ،اللاذقية، سورية batoulandjanalma@gmail.com

**أستاذ ،كلية الهندسة الزراعية، قسم البساتين ،جامعة تشرين ،اللاذقية، سورية

***أستاذ ،كلية الهندسة الزراعية قسم الوقاية، جامعة تشرين ،اللاذقية، سورية.

مقدمة:

تنتمي الحمضيات (*Citrus*) إلى العائلة *Rutaceae*، والتي تتضمن البرتقال والحامض والجريب فروت... وتعتبر المنطقة الاستوائية وتحت الاستوائية الموطن الأصلي لها (Webber,.1967)، وتعد من الزراعات الهامة عالمياً، وتستهلك ثمارها ذات القيمة الغذائية العالية والنكهة المحببة إما طازجة أو كعصير، ويساهم عصيرها في الوقاية من الربو المزمن وأمراض الشرايين التاجية وغيرها (Abd-Ghafar *et al*., 2010).

تصاب الحمضيات بالعديد من الآفات أهمها حشرة حافرة أنفاق الأوراق *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae)، وهي تسبب أضرار اقتصادية بالغة سواء في البساتين أو الحدائق المنزلية، ولكن ضررها البالغ يحدث في المشاتل حيث تتغذى الحشرة على خلايا تحت البشرة مشكلة أنفاقاً متعرجة على سطح الورقة المصاب بالآفة في منطقة خلايا الميزوفيل، التي تعتبر منطقة التمثيل الضوئي (Achor *et al*., 1997; Beattie, 2004)، مما يؤدي إلى خلل في التطور الطبيعي للورقة (Garcia Marí *et al*., 2002)، الذي ينعكس سلباً على كفاءة التمثيل الضوئي (Schaffer *et al*., 1997)، وتعتبر هذه الحشرة المسؤول الأول عن انتشار سرطان الحمضيات البكتيري (*Xanthomonas axonopodis*)، (Jesus Jr. *et al*., 2006; Hall *et al*., 2010; Paiva and Yamamoto, 2015).

تؤثر التغذية المعدنية في نمو النباتات ومحصولها بطرق مختلفة، كالتأثير في مقاومة أو قابلية النبات للإصابة بالأمراض أو الحشرات، وتعتبر التغذية المعدنية من العوامل التي يمكن التحكم بها بسهولة في المنظومة الزراعية، وضمن نطاق استكمال طرق السيطرة على الأمراض والحشرات، فمن الضروري معرفة كيفية تأثير هذه العناصر في مقاومة النباتات للآفات، حيث أنها يمكن أن تغير استجابة النبات للهجوم المرضي أو الحشري (Spann and Schumann,2010).

يعتبر البورون أحد العناصر الصغرى الضرورية لنمو النبات، فمنذ بداية القرن العشرين، برزت أهميته بالنسبة للنباتات الوعائية، حيث يسبب نقصه أو زيادته أضراراً فسيولوجية واستقلابية (Herrera-Rodríguez *et al*., 2010)، ولا تقتصر أهميته على النباتات فحسب، بل يعتبر البورون عنصراً هاماً لدى البكتيريا والطحالب والحيوانات أيضاً (Goldbach and Wimmer 2007)، فهو يتدخل في أكثر من 16 وظيفة حيوية، كتشكل الجدار الخلوي، واستقلاب الكربوهيدرات، وامتصاص الكالسيوم، والإزهار، كما يتدخل في استقلاب الـ RNA، والتنفس، واستقلاب الأندول أستيك أسيد IAA، ونمو الجذور، والتلقيح، وقد يتدخل في نقل السكريات في النبات (Parr and Loughman,1983; Bonilla *et al.,* 2009; Sala 2011; Pandey *et al.,*2013)، وتخليق معقدات 6-P-gluconate-borate، مما يؤدي إلى الحد من تدفق المواد إلى مسار Pentose- phosphate ، وتصنيع الفينولات مما يساهم في زيادة الجليكوسيدات وتصنيع الهيميسيللوز وغيرها من مواد بناء الجدر الخلوية (Lee and Aronoff, 1967)، كما يحسن البورون معدل التمثيل الضوئي والذي يرتبط بمعدل التبادل الغازي (Hossain *et al.,*2015).

لقد تغيرت العلاقات بين النبات والحشرات، فالنباتات تمتلك تحصيناً كيميائياً دفاعياً، فهي تستجيب للهجوم بتغيرات بيوكيميائية، وفيزيولوجية، ومورفولوجية سريعة، ودقيقة، ومستديمة، ولصد هجوم الآفات، تنتج النباتات بنية مورفولوجية متخصصة، أو مركبات ثانوية، وبروتينات ذات تأثير سام، وطارد، وتمتلك تأثيرات مضادة لتغذية الحشرات

(Usha and Jyothsna.2010; War *et al.*,2011) ، ولا تؤثر المركبات الثانوية على النمو والتطور الطبيعي للنبات، وإنما تخفض استساغة النسيج المنتج لها (Howe and Jander.2008).

تعتبر الفينولات أكثر مركبات الاستقلاب الثانوي انتشاراً وشيوعاً، كما أنها تمتلك أهمية كبيرة في مقاومة النبات العائل للحشرات (Sharma *et al.*,5009; Usha and Jyothsna.2010; War *et al.*,2011) .

تمتلك الفينولات المتعددة خصائص مضادة للأكسدة وذلك 1) لكونها شديدة التفاعل كمانح للهيدروجين أو للإلكترونات،2) قدرة الجذور المشتقة من البولي فينولات على استقرار أو تغيير مكان الالكترونات بسبب بنيتها الكيميائية، 3) وقدرتها على تخليب أيونات المعادن المتحركة، 4) ومقدرة الفلافونويدات على تغيير معدل تفاعلات الأكسدة بتغيير ترتيب اللبيدات، وتخفيض سيولة الأغشية الخلوية (Arora *et al.*, 2000).

كما يعد تغير تركيز الفينولات النباتية وزيادة فعالية الأنزيمات المؤكسدة استجابة لهجوم الحشرات ظاهرة مألوفة في النباتات (Felton *et al.*, 1994).

وقد يعتبر تخفيض قدرة الآفة على التغذية من أهم دفاعات النباتات المضيفة، وتقوم مجموعة من الأنزيمات بتنظيم عملية إضعاف التغذية الحشرية، مثل (.....PPOs, PODs, APX) (Gill *et al.*,2010) ، فالبولي فينول أوكسيداز (PPO)، ينشط تحول الفينولات الأحادية (monophenols) إلى فينولات ثنائية (o–diphenols) ومن ثم أكسدتها إلى كوينونات ثنائية (o–diquinones)، وهذه الكوينونات إما أن تحول الأحماض الأمينية الأساسية إلى قلويات، مما يخفض القيمة الغذائية للنبات، أو أنها تنتج اجهاد تأكسدي في التجويف الهضمي للحشرة من خلال دورة الجذور الحرة، ويمكن أن تمتص الحشرة الجذور الحرة (ROS) والكينونات الناتجة عن أكسدة الفينولات بشكل مباشر أثناء تغذيتها مما قد يسبب تسمم الآفة وانخفاض ضررها (War *et al.*,2011)، أما أنزيم البيروكسيداز (POD)، الذي يتواجد في المسافات بين الخلايا والفجوات الخلوية، فإنه يحفز تحول H_2O_2 إلى H_2O وO_2 (Mayer and Harel 1979)، وأكسدة الفينولات(Felton *et al.*, 1989)، كذلك فإن للـ POD دوراً مهماً في انتاج الفينوكسي (phenoxy) وجذور حرة أخرى، والتي تحد مع الفينولات من تغذية الحشرات، وكذلك يساهم في إفراز مواد سامة(toxins) تقلل من قابلية النبات للهضم، مما يؤدي إلى تخفيض التغذية، وينعكس سلباً على نمو وتطور الآفات (Zhang *et al.*,2008; Chen *et al.*,2009)، وقد أشار Zhu–Salzman وآخرون (2008) إلى سمية الـ POD المباشرة في أمعاء الحشرات العاشبة، كذلك ينظم الـ POD العديد من العمليات التي لها تأثير مباشر أو غير مباشر في آليات دفاع النبات ضد الممرض مروراً بالتلجنن، وتكوين السوبرين، واستقلاب الأوكسينات، وشفاء الجروح (He *et al.*, 2011; Heng–Moss *et al.*,2004; Sethi *et al.*,2009)، يعتبر الـSPAD مؤشراً فيزيولوجياً هاماً وهو يعبر عن محتوى الأوراق من الكلوروفيل، حيث توجد علاقة هامة بين قيم الـ SPAD والانتاج (Müller *et al.*,2008; Wójtowicz and Wójtowicz 2008)، كما يرتبط محتوى الأوراق من الكلوروفيل مع تراكم النتروجين في النبات، ومع حالة النتروجين في التربة (Argenta *et al.*,2001)،

ويعد محتوى الأوراق من الكلوروفيل أحد العوامل الهامة التي تؤثر في معدل التمثيل الضوئي (Mao *et al.*,2007)، وانتاج كتلة النبات (Ghosh *et al.*,2004).

أهمية البحث وأهدافه:

يعد تحسين المواصفات الفيزيولوجية لغراس الحمضيات سانتا تيريزا المطعمة على أصل الزفير، والحساسة للإصابة بحشرة حافرة الأنفاق { كتحسين نشاط أنزيمي البيروكسيداز والبولي فينول أوكسيداز (انزيمات دفاعية)، ومحتوى الأوراق من الفينولات الكلية والكلوروفيل } باستخدام التغذية المعدنية، ذو أهمية كبيرة في تطوير الآليات الدفاعية ضد هذه الحشرة، التي تحدث أضراراً اقتصادية واسعة لمزارعي الحمضيات وخاصة في المشاتل، حيث تسبب خسائر اقتصادية كبيرة، وتتسبب باستخدام مكثف للمبيدات ذات الأثر الضار للبيئة من أجل السيطرة عليها.

لذلك تمت دراسة تأثير المعاملة بحمض البوريك كمصدر للبورون في تحقيق هذه الغاية.

طرائق البحث ومواده:

نفذ البحث خلال العام 2021 في قرية بيت زينة (صافيتا طرطوس)، على غراس حمضيات (ليمون حامض) بعمر 4 سنوات، حيث تمت معاملة الأشجار بتراكيز مختلفة من حمض البوريك، وذلك باستخدام مرش يدوي سعة 20 ليتر. تم رش الأشجار أربع مرات يفصل بين الرشة والأخرى 15 يوماً، مع مراعاة الظروف الجوية السائدة، واضافة Tween-20 بمعدل 2 mL/L، كمادة ناشرة لاصقة.

صممت التجربة بطريقة العشوائية الكاملة، واستخدم لذلك 3 معاملات بثلاث مكررات، حيث اعتبرت كل شجرة مكرراً، وكانت المعاملات كما يلي:

T0: شاهد معامل بالماء فقط.

T1: B 500 ppm

T2: B 1000 ppm

القراءات:

تحضير المستخلص الأنزيمي:

تم تحضير المستخلص أنزيمي، وذلك بطحن 2غ من أوراق الحمضيات الطازجة المصابة والمحفوظة بالثلج مع 7مل من محلول فوسفات البوتاسيوم المُبّرد، (pH=7, M=0.1) (، ومن ثم تعريض العينات للطرد المركزي 10000 دورة / دقيقة) لمدة10 دقائق على درجة حرارة 4°م.

تقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز POD:

تم أخذ 3.5 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم و 200 ميكروليتر من مستخلص العينة، وأضيف لها 200 ميكروليتر من الجواياكول guaiacol، و 200 ميكروليتر من الماء الأوكسجيني (0.1 mM)، ثم تم قياس نشاط الأنزيم باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي عند طول موجة 430 نانومتر (Hammerschmidt *et al*.,1982). وتم تقدير نشاط أنزيم البيروكسيداز وفق المعادلة:

نشاط أنزيم البيروكسيداز = (عامل التمديد x كمية الماء الأوكسجيني) / (حجم العينة x الزمن).

تقدير نشاط أنزيم البولي فينول أوكسيداز PPO :تم أخذ 1.95 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم و 1 مل من محلول الكاتيكول catechol، و50 ميكروليتر من مستخلص العينة، وتم قياس نشاط الأنزيم عند طول موجة 410 نانومتر (Arnnok *et al*., 2010; Soliva *et al*., 2001).

تقدير محتوى الأوراق من الفينولات الكلية TPC:

تم تقدير المركبات الفينولية الكلية باستخدام طريقة كاشف الفولين (Singleton and Rossi,1965)، وذلك بأخذ 2 غ من أوراق طازجة مصابة من كل معاملة، وطحنها في جفنة بورسلان واضافة 15 مل من الكحول الايثيلي 80%، ثم ترشيح المزيج من خلال ورق ترشيح، ثم وضعت الرشاحة ضمن مثفلة بسرعة 10000 دورة / الدقيقة ولمدة 15 دقيقة. تم جمع المواد الطافية وأعيد الاستخلاص مرتين بالكحول والترشيح.

تم تحضير محلول كربونات الصوديوم (Na2CO3 (200g/l، وكاشف فولين (Merck, Germany)، ومحلول حمض الكاتيكول القياسي (1 g/l) (CHEMIE-LOBA,India). تم القياس أولاً بتحضير سلسلة عيارية من حمض الكاتيكول باعتبار أن الكاتيكول هو أكثر انواع الفينولات شيوعاً في أوراق الحمضيات، بتراكيز تتراوح بين 0 و40 مغ. ثم تم أخذ µl 20 من المستخلص المحضر سابقاً بعد إنشاء السلسلة العيارية محاليل السلسلة العيارية (واستبدلت العينة بالميتانول 70% في الشاهد Blank)، ثم أضيف إليها µl 100 من كاشف الفولين و1.58 مل من الماء المقطر.

تم تحريك المزيج بعد ذلك جيداً ثم ترك لمدة 5 دقائق ليضاف إليه µl 300 من محلول كربونات الصوديوم 200 غ/ ل، ثم ترك المزيج في الظلام لمدة ساعة ونصف، بعد ذلك، تم قياس الامتصاصية الضوئية للمحلول الناتج باستخدام جهاز المطياف الضوئي (JASCO–اليابان) عند طول موجة 650 نانومتر.

طول النفق:

باستخدام جهاز (Scale Master Pro-China) وهو جهاز يستخدم لحساب أطوال الطرق على الخرائط مزود بعجلة تسير على الخط المراد حساب طوله، واختيرت الأوراق ذات الأنفاق المكتملة (وصلت اليرقة لمرحلة العذراء) أو التي اختفت اليرقة منها.

شدة الضرر:

وذلك بعد حساب عدد الأنفاق في الأوراق المصابة باستخدام المعادلة:

عدد الأنفاق/ عدد الأوراق المصابة.

تم إحصاء عدد الأنفاق على الأوراق المصابة على جميع النباتات المصابة.

الكلوروفيل:

تم قياس الكلوروفيل باستخدام جهاز كلوروفيل حقلي Chlorophyll meter TYS-B وواحدته (Spad).

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Gen Stat 12 واختبرت الفروق بين المتوسطات بحساب أقل فرق معنوي LSD عند المستوى 0.01 للتجارب المخبرية و0.05 للحقلية (Duncan, 1955).

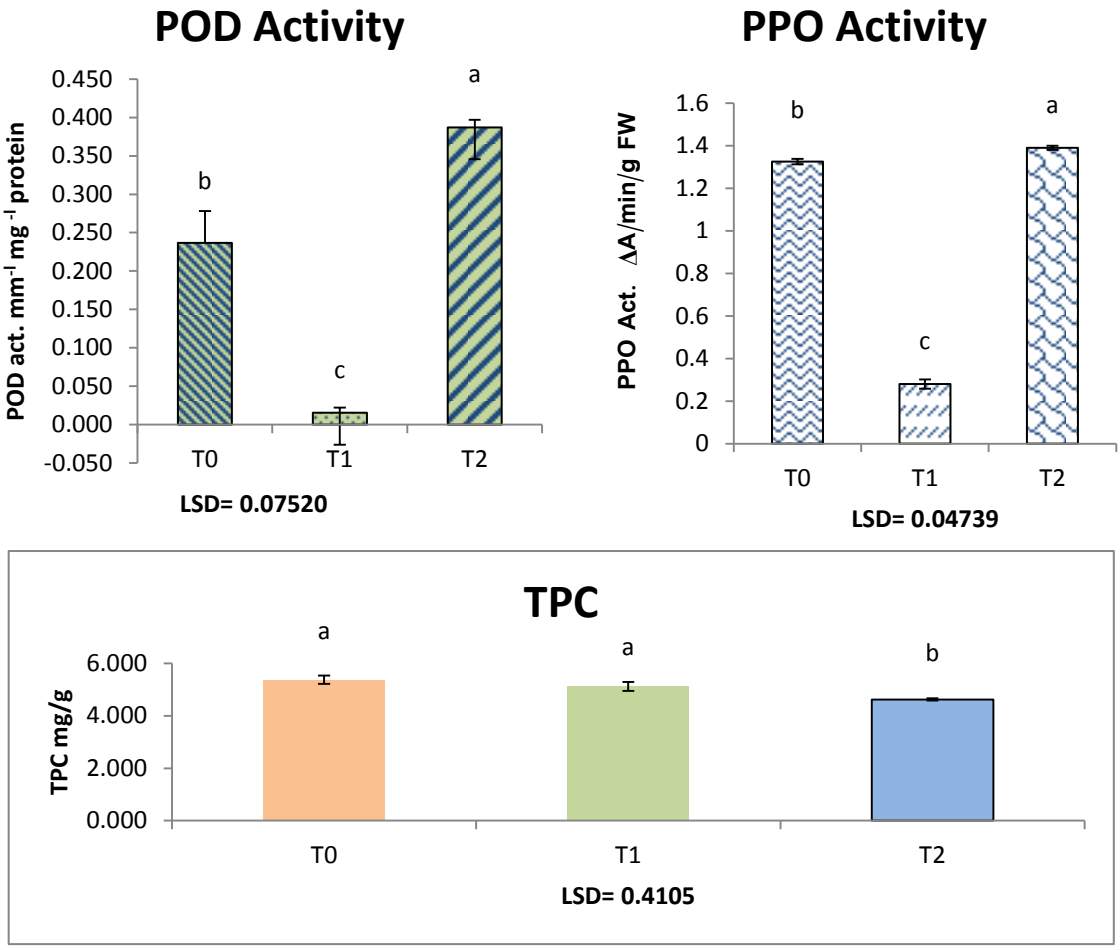
النتائج والمناقشة:

تأثير المعاملة بالبورون في نشاط أنزيمي البيروكسيداز والبولي فينول أوكسيداز والفينولات الكلية:

أدت المعاملة بالبورون 500 ppm إلى انخفاض نشاط أنزيم البيروكسيداز، معنوياً مقارنة مع الشاهد (0.015-0.237mm^{-1} mg -l protein) على التوالي، في حين أن المعاملة بالبورون 1000 ppm قد حسنت نشاط الأنزيم معنوياً (0.387 mm-l mg -l protein)، (شكل 1).

كذلك أدت المعاملة 1000 ppm إلى زيادة نشاط أنزيم البولي فينول أوكسيداز مقارنة مع الشاهد (ΔA/min/g FW 1.389,1.325) على التوالي، في حين خفضت المعاملة 500 ppm من نشاطه، (الشكل 1)

أما محتوى الأوراق من الفينولات الكلية فلم يتأثر بالمعاملة 500 ppm (5.122 mg/g)، في حين خفضت معنوياً المعاملة 1000 ppm (4.622 mg/g)، بالمقارنة مع الشاهد (5.373 mg/g)، (الشكل 1).



الشكل (1) نشاط أنزيمي البيروكسيداز والبولي فينول أوكسيداز ومحتوى الأوراق من الفينولات الكلية نتيجة المعاملة بتراكيز مختلفة من البورون.

يتضح من النتائج ارتفاع نشاط البيروكسيداز والبولي فينول أوكسيداز عند المعاملة بالبورون 1000 ppm، وقد اقترن ذلك مع انخفاض محتوى الأوراق من الفينولات، مما يدل على أكسدة الفينولات نتيجة نشاط هذه الأنزيمات، ولهذه الأنزيمات مضادة الأكسدة دوراً هاماً في إزالة الجذور الحرة الـ ROS وتثبيط تصنيع أكسدة المركبات الفينولية (Fahad *et al.*,2017; Saud *et al.*,2017)، وبذلك تصبح درجة الضرر التي يسببها الاجهاد منظمة من خلال نشاط عدد من الأنزيمات مضادة الأكسدة (Hajiboland and Farhanghi, 2010).

وقد افترض Riaz وآخرون 2018، أن الإضافة الكافية من البورون تضبط منظومة الأنزيمات فعند زيادة أو انخفاض تركيز البورون تتعرض النباتات للإجهاد، مما يحفز نشاط العديد من الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل الـ SOD, POD and CAT (Farag *et al.*,2017; Han *et al.*,2008; Sarafi *et al.*,2017)

يزداد نشاط أنزيم البولي فينول أوكسيداز بوجود الفينولات، مما يساهم في تشكيل مركبات وسيطة شديدة التفاعل كالكوينون كافييك في الجدار الخلوي.

كذلك يزداد نشاط أنزيم الـ PPO عند زيادة أو انخفاض تراكيز البورون، ولعل تراكم مركبات phenol proponoids سبباً في ذلك، أو لانخفاض محتوى البروتينات (Camacho-Cristobal *et al.*,2002)، أو نتيجة خلل أو تراكم تصنيع مركبات فينولية جديدة (Marschner, 1995).

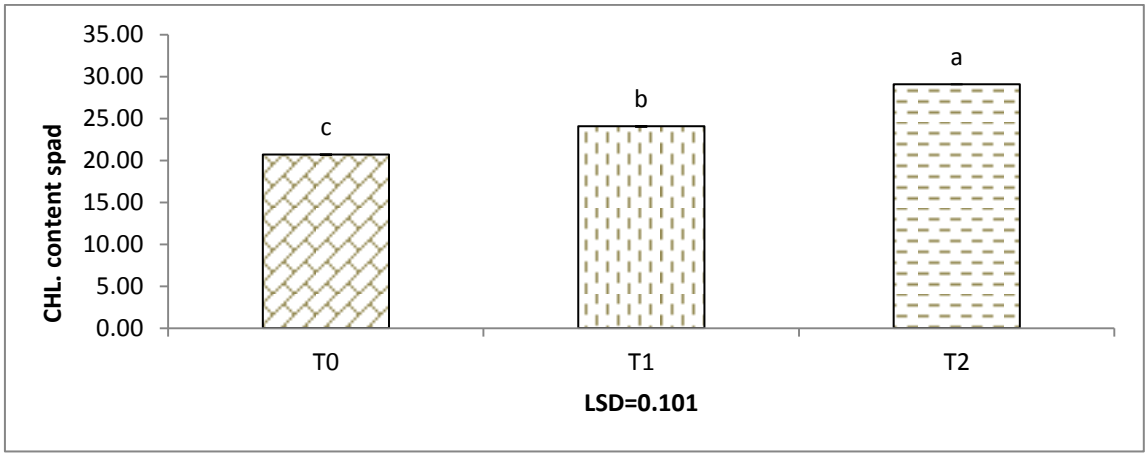
حيث يوجد جدل حول تدخل البورون في الفينولات، فقد أشار Ruuhola و آخرون (2011) إلى عدم وجود أي تأثير للتسميد بالبورون على الفينولات، وإنما حسنت المعاملة تركيز أنزيم الفينول أوكسيداز والبولي فينول أوكسيداز.

كذلك أوضح Kutschera and Niklas (2017)، أن المعاملة بالبورون قد خفضت محتوى الأوراق من الفينولات، وقد وجد أن محتوى أوراق التبغ من الفينولات قد ازداد عند نموها في ظروف نقص أو سمية البورون (Ruiz *et al.*,1998; Chamacho-Cristobal *et al.*,2002) ، ويزيد البورون صلابة الجدر الخلوية والغشاء البلازمي، حيث يشكل 90% من البورون الورقي معقدات مع البكتين والفينول في جدار الخلية والغشاء البلازمي، وعندما تكون التغذية بالبورون كافية، يكون أكثر من 60% من البورون بالشكل الحر في أنسجة الورقة (Brown and Hu, 1996)، لذلك، فإنه في ظروف زيادة البورون يمكن أن تلعب الفينولات دوراً في حجز البورون بدلاً من النشاط المضادة للأكسدة.

لقد تحسن نشاط أنزيمي الـ POD,PPO عند استخدام البورون بتركيز مرتفع نسبياً 1000 ppm وخلال فترة الإصابة بالحشرة، وترافق هذا التحسن مع انخفاض محتوى الأوراق من الفينولات الكلية، وقد يعزى هذا التحسن لارتفاع تركيز الماء الأوكسجيني في الأوراق المصابة نتيجة هذين الإجهادين مما قد يؤدي إلى زيادة نشاط الـ POD ، وانخفاض TPCقد يشير لتحفيز نشاط هذين الأنزيمين، في حين أن التركيز 500 ppm لم يساهم في هذا التحسن بالرغم من وجود الإصابة الحشرية، بل انخفض نشاط الأنزيمين، في حين أن محتوى الفينولات الكلية لم يتأثر.

تأثير المعاملة بالبورون في محتوى الأوراق من الكلوروفيل Chl:

لقد حسنت المعاملة بالبورون محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي، فقد زادت المعاملتان T1, T2 محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي معنوياً (29.07-24.06 spad) على التوالي، مقارنة مع الشاهد (20.69 spad)، (**الشكل 2**).



الشكل (2) محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي نتيجة المعاملة بتراكيز مختلفة من البورون

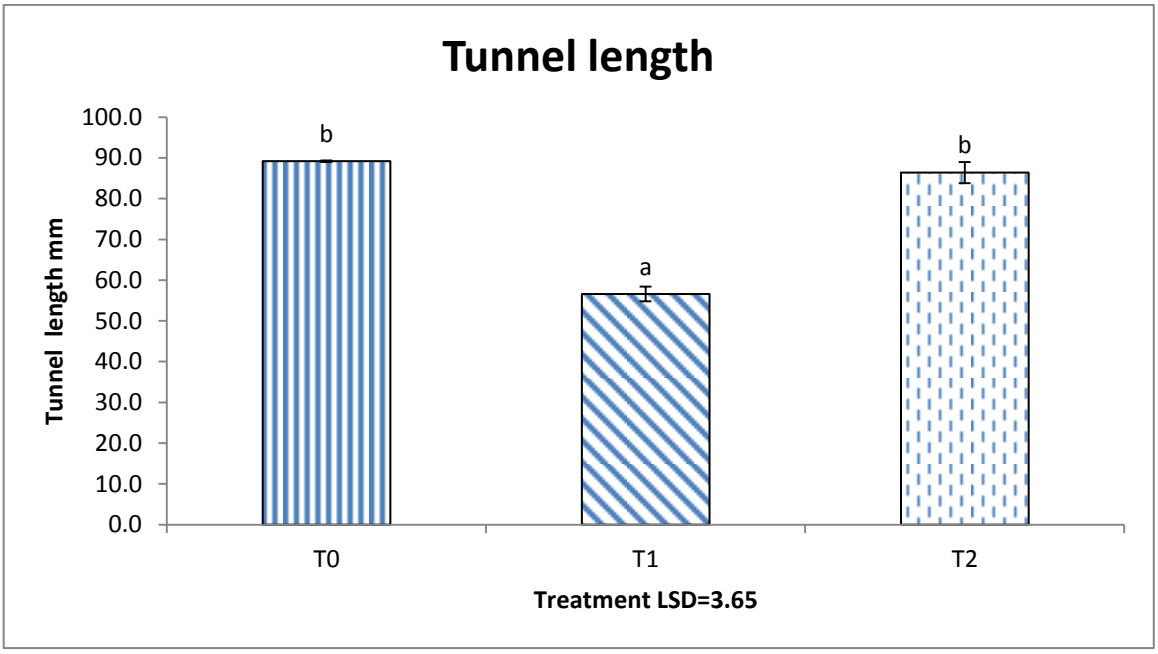
يؤثر النتروجين في محتوى الأوراق من الكلوروفيل، فهو جزء أساسي من جزيئة الكلوروفيل، وكذلك للفوسفور تأثير مهم حيث يساهم في تشكيل الأدنوزين ثلاثي الفوسفات، والذي يتدخل في تصنيع الكلوروفيل (Chen *et al*., 2011; Netto *et al*., 2005)، وتتدخل العناصر المعدنية الأخرى في تصنيع الكلوروفيل مثل البورون والحديد والبوتاسيوم من خلال المحافظة على بنية ووظيفة الكلوروبلاست (Collins and Duke, 1981; Shireen *et al*., 2018)، وبذلك فإن تحسن التغذية المعدنية يساهم في تحسن محتوى الأوراق من الكلوروفيل، وقد خفض نقص البورون محتوى الأوراق من الكلوروفيل وبالتالي كفاءة التمثيل الضوئي (Brown *et al*., 2002; Wang *et al*., 2015)

تتطابق هذه النتائج مع نتائج (Hossain *et al*.,2015)، حيث أوضحت أن المعاملة بالبورون قد ساهمت في تحسين التمثيل الضوئي وعمليات التبادل الغازي المرتبطة بها، مما سبق تظهر أهمية البورون في عملية تصنيع الكلوروفيل في الخلايا النباتية.

تأثير المعاملة بالبورون في طول نفق حشرة حافرة الأنفاق وشدة ضررها:

1) تأثير المعاملة بالبورون في طول النفق :

ساهمت المعاملة بالبورون في تخفيض طول النفق، فقد خفضت المعاملة T1 معنوياً طول النفق مقارنة مع المعاملة T2 والشاهد (86.4–56.6–89.2 mm)، على التوالي.



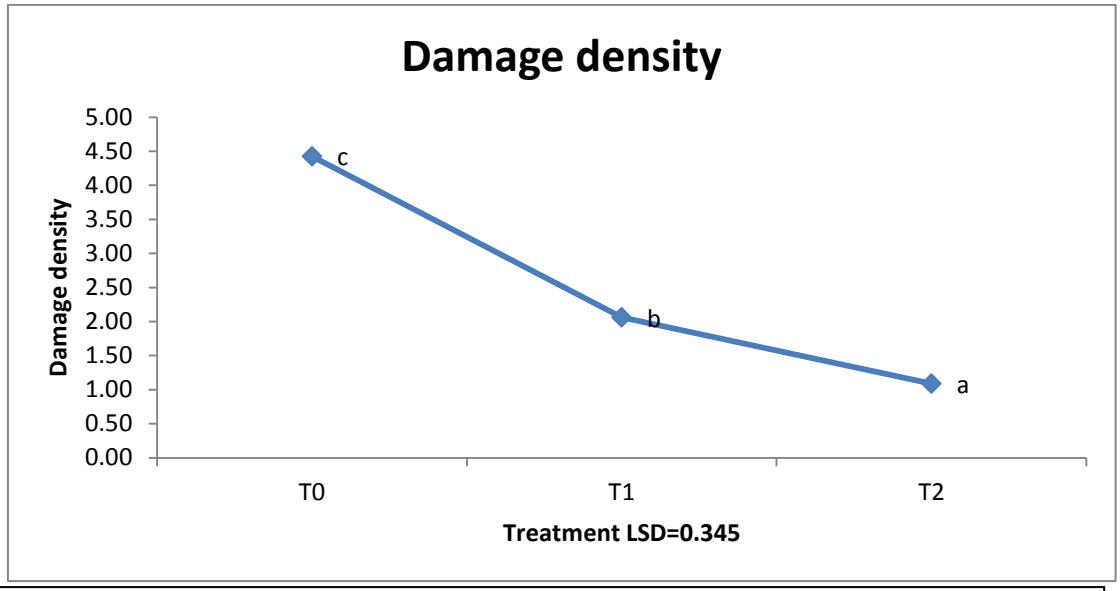
الشكل (3) طول نفق يرقات حافرة الأنفاق CLM نتيجة المعاملة بتراكيز مختلفة بالبورون

ينتج حمض البوريك جذور حرة في جسم الآفات، مما يسبب أضراراً تأكسدية لدى بعض أنسجة الآفة وزيادة نسبة الموت (Habes *et al*., 2006)، وغالباً ما يرتبط ازالة المواد الكيميائية الأليلية (allelochemicals) التي تتناولها الآفات، مع انتاج الجذور الحرة التي تتلف الأنسجة الحشرية، عن طريق أكسدة مكونات الخلايا الحية للمعي المتوسط (Krishnan and Sehnal.2006; Krishnan *et al*., 2006) ، وأن الظروف القلوية المؤكسدة في المعدة الوسطى لحرشفيات الأجنحة Lepidopteran (Terra *et al*.,1996) قد تسهل تفكيك حمض البوريك، مما يؤدي لتشكل الـ ROS (Jolly, 1991).

تحفر اليرقات النفق أثناء تغذيتها، وبالتالي فإن انخفاض التغذية سينعكس سلباً على طول النفق، فالمعاملة T1 لم تخفض محتوى الفينولات في الأوراق المصابة، مما يدل على أن ارتفاع محتوى الفينولات قد أثر في تغذية الحشرة، وبالتالي انعكس ذلك على طول النفق.

2) تأثير المعاملة بالبورون في شدة الضرر:

لقد خفضت المعاملة بالبورون شدة ضرر الحافرة على أوراق الليمون المصابة، وخفضت كلتا المعاملتين عدد الأنفاق على الأوراق (شدة الضرر) معنوياً مقارنة مع الشاهد (1.09–2.06–4.42) على التوالي.



الشكل (4) شدة ضرر الحشرة على أوراق ليمون سانتا تيريزا نتيجة المعاملة بتراكيز مختلفة من البورون

تساهم الفعالية السريعة للنظام المضاد للأكسدة في استمرارية النباتات، ويقود هذا النظام مجموعة من الأنزيمات مثل الكاتلاز والبيروكسيداز، مما يحسن نمو وتطور النبات ((Mishra *et al*., 2009 ; Farag *et al*., 2017 ،

ففي المعاملة T2 وبحسب الشكل (1)، ازداد نشاط أنزيمي البيروكسيداز والبولي فينول أوكسيداز، وبذلك تكون أكسدة الفينولات إلى كوينونات قد ازدادت، والتي تعتبر بحد ذاتها سامة للآفة، حيث يمكن أن تقوم بتحويل الأحماض الأمينية إلى قلويات، أو أنها قد تؤذي أمعاء الحشرة بشكل مباشر (War *et al*.,2011)، وينتج أنزيم البيروكسيداز مواد سامة ومنها الفينوكسي (phenoxy) (Zhang *et al*.,2008; Chen *et al*.,2009)، وقد تكون هذه هي الأسباب التي ساهمت في انخفاض شدة ضرر الحشرة أثناء المعاملة بالبورون 1000 ppm، وكذلك لحمض البوريك تأثيرات سامة على الحشرة بشكل مباشر (Habes *et al*., 2006)، مما قد يفسر انخفاض شدة الضرر في المعاملة T1 500 ppm.

الاستنتاجات والتوصيات:

من النتائج السابقة نستنتج الآتي:

- ☒ ازداد نشاط أنزيمي البيروكسيداز والبولي فينول أكسيداز نتيجة المعاملة بالبورون 1000ppm.
- ☒ خفضت المعاملة بالبورون 1000ppm محتوى الفينولات الكلية في أوراق الليمون الحامض سانتا تيريزا.
- ☒ ازداد محتوى الأوراق من الكلورفيل نتيجة المعاملة بالبورون.
- ☒ انخفض طول نفق حشرة حافرة الأنفاق في الحمضيات وشدة الضرر نتيجة المعاملة بالبورون.

ننصح بالمعاملة بالبورون لتحسين نمو أشجار الليمون وتخفيض أضرار حشرة حافرة أنفاق الحمضيات.

References:

1. Abd-Ghafar, M. F., K. N. Prasad, K. K. Weng and A. Ismail. Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. Afr. J. Biotechnol. (2010). 9(3):326-330.
2. Achor, D.S., H. Browning and L.G. Albrigo Anatomical and histochemical effects of feeding by Citrus leafminer larvae (Phyllocnistiscitrella Stainton) in Citrus leaves. J.Am. Soc. Hort. Sci., (1997).122: 829–836.
3. Argenta S, Silva PR, da Bartolini CG Leaf chlorophyll as an index of nitrogen status in cereal. Cienc Rural (2001) 31:715–722.
4. Arnnok, P., Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongstien, S., & Chanthai, S. Optimization and determination of polyphenol oxidase and peroxidase activities in hot pepper (Capsicum annuum L.) pericarb. Int. food res. J, (2010). 17, 385-392.
5. Beattie, A. Citrus leafminer, 4th edn. NSW Department of Primary Industries, University of Western Sydney,Sydney(2004).
6. Bonilla I, Blevins D, Bolanos L. Boron Functions in Plants: Looking Beyond the Cell Wall. (Ch. 5) In: Taiz L. and Zeiger E. (eds). Plant Physiology. IOP publishing physics. retrieve from web(2009).
7. Brown, P.H and H. Hu, Phloem mobility of boron is species dependent: Evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. Ann. Bot. 1996. 77: 497-506.
8. Chamacho-Cristobal, J.J., D. Anzellotti and A. Gonzàlez-Fontez, Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency. Plant Physiol. Biochem. 2002. 40: 997-1002.
9. Chen Y, Ni X, Buntin GD. Physiological, nutritional,and biochemical bases of corn resistance to foliage-feeding fall armyworm. J Chem Ecol 2009; 35:297-306;PMID:19221843.
10. Chen, M., Li, J., Dai, X., Sun, Y., Chen, F. Effect of phosphorus and temperature on chlorophyll a contents and cell sizes of Scenedesmus obliquus and Microcystis aeruginosa. Limnology 2011.12, 187–192.
11. Collins, M., Duke, S.H., Influence of potassium-fertilization rate and form on photosynthesis and N2 fixation of alfalfa 1. Crop Sci. 1981.21, 481–485.
12. DUNCAN B, D, Multiple range and multiple F-test Biometricalf. Vol:11, 1955,1- 42.
13. Fahad, S., et al. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. Front Plant Sci. 8, 1147 (2017).
14. Farag, M.,Najeeb, U.,Yang, J.,Hu, Z.,Fang, Z.M., Nitric oxide protects carbon assimilation process of watermelon from boron-induced oxidative injury. Plant Physiol Biochem, 2017.111: 166–173 .
15. FELTON, G. W., DONATO, K. K., BROADWAY, R. M., and DUFFEY, S. S. Impact of oxidized plant phenolics on the nutritional quality of dietary protein to a noctuid herbivore, Spodoptera exigua. J.Insect Physiol. 1992.38:277–285.
16. FELTON, G. W., DONATO, K., DEL VECCHIO, R. J., and DUFFEY, S. S. Activation of plant polyphenol oxidases by insect feeding damage reduces nutritive quality of foliage for noctuid herbivores. J. Chem.Ecol.1989. 15:2667–2694.
17. FELTON, G. W., SUMMERS, C. B., and MUELLER, A. J. Oxidative responses in soybean foliage to herbivory by bean leaf beetle and 3-cornered alfalfa hopper. J. Chem. Ecol. 1994.20:639–650.
18. Garcia Mari, F., C. Granda, S. Zaragoza and M. Agusti Impact of Citrus leafminer (Lepidoptera, Gracillariidae) on leaf area development and yield of mature Citrus trees in the Mediterranean area. J. Econ. Entomol. (2002)., 95: 966-974.

19. Ghosh, P. K. Ajay, K. K. Bandyopadhyay *et al.*, "Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. II. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll content and enzyme activity," Bioresource Technology,vol. 95, no. 1, pp. 85–93, 2004.
20. Gill RS, Gupta K, Taggar GK, Taggar MS. Role of oxidative enzymes in plant defenses against herbivory. Acta Phytopathol Entomol Hung 2010; 45:277-90;
21. Goldbach, H.E. and Wimmer, M.A.. Boron in plants and animals: is there a role beyond cell-wall structure. J. Plant Nutr. Soil Sci. (2007) 170 (1): 39.48.
22. Habes, D., S. Morakchi, N. Aribi, J.-P. Farine, and N. Soltani.. Boric acid toxicity to the German cockroach, Blattella germanica: alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S- transferase activity.Pestic. Biochem. Physiol.2006. 84: 17Ð24.
23. Hajiboland, R., Farhanghi, F. Remobilization of boron, photosynthesis, phenolic metabolism and antioxidant defense capacity in boron deficient turnip (Brassica rapa L.) plants. Soil Sci & Plant Nutr.56,427- 437(2010).
24. Hall, D.G., T.R. Gottwald and C.H. Bock. Exacerbation of Citrus canker by Citrus leafminer Phyllocnistiscitrella in Florida. Florida Entomologist, (2010)93: 558-566.
25. Hammerschmidt, R., Nuckles, E. M., & Kuć, J.. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to Colletotrichum lagenarium. Physiological Plant Pathology, (1982)20(1), 73-82.
26. Han, S., Chen, L. S., Jiang, H. X., Smith, B. R., Yang, L. T., & Xie, C. Y.. Boron deficiency decreases growth and photosynthesis, and increases starch and hexoses in leaves of citrus seedlings. *Journal of plant physiology*, (2008)*165*(13), 1331-1341.
27. He J, Chen F, Chen S, Lv G, Deng Y, Fang W,et al. Chrysanthemum leaf epidermal surface morphology and antioxidant and defense enzyme activity in response to aphid infestation. J Plant Physiol 2011; 168:687-93; PMID:21145126.
28. Heng-Moss TM, Sarath G, Baxendale F, Novak D, Bose S, Ni X. Characterization of oxidative enzyme changes in buffalograsses challenged by Blissus occiduus. J Econ Entomol 2004; 97:1086-95;PMID:15279295;
29. Herrera-Rodríguez, M.B., González-Fontes, A., Rexach, JRole of boron in vascular plants and response mechanisms to boron stresses. Plant Stress 4 (2): .(2010). 115–122.
30. Hossain MF, Shenggang P, Meiyang D, Zhaowen M, Karbo MB, Bano A, Xiangru T Photosynthesis and antioxidant response to winter rapeseed (Brassica napus L.) as affected by boron. Pak J Bot (2015) 47(2):675–684
31. Howe GA, Jander G. Plant immunity to insect herbivores. Annu Rev Plant Biol 2008 ;59:41-66;PMID:18031220; arplant.59.032607.092825.
32.Jesus, Jr. W.C., Jr. J. Belasque, L. Amorim, R.S.C. Christiano,J.R.P. Parra and A. Bergamin Filho Injuries caused by Citrus leafminer (Phyllocnistiscitrella) exacerbateCitrus canker (Xanthomonasaxonopodispv. citri) infection. Fitopatologia Brasileira, (2006). 31: 277-283.
33. Jolly WL. 1991. Modern inorganic chemistry, 2nd ed. New York: McGraw-Hill.
34. Krishnan N, Kodrík D, Turanli F, Sehnal F. Stage specific distribution of oxidative radicals and antioxidant enzymes in the midgut of Leptinotarsa decemlineata. J Insect Physiol. 2006. 53:67–74.
35. Krishnan N, Sehnal F. Compartmentalization of oxidative stress and antioxidant defense in the larval gut of Spodoptera littoralis. Arch Insect Biochem 2006.63:1–10.
36. Kutschera, U., Niklas, K.J. Boron and the evolutionary development of roots. Plant Signal & Behav.12,132-136 (2017).
37. Lee, S. G.; Aronoff, S. Boron in Plank A biochemical role. Science 1967,158,798.

38. Mao, L. Z.- Lu, H. F- Wang, Q. and Cai, M. M. "Comparative photosynthesis characteristics of Calycanthus chinensis and Chimonanthus praecox," Photosynthetica, vol. 45, no. 4, pp.601–605, 2007.
39. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press,New York, N.Y.
40. Mayer, A.M. and E. HarelPolyphenol oxidases in plants.Phytochemistry . 1979. 18:193–215.
41. Mishra, S.,Heckathorn, S.,Frantz, J.,Yu, F.,Gray, J., Effects of boron deficiency on geranium grown under different nonphotoinhibitory light levels. J Am Soc Horticul Sci, 2009. 134: 183–193 .
42. Müller K, Bottche U, Meyer-Schatz F, Kage H Analysis of vegetation indices derived from hyperspectral reflection measurements for estimating crop canopy parameters oilseed rape (Brassica napus L.). Biosys Eng (2008) 101:172–182. biosy stems eng.2008.07.004
43. Netto, A.T., Campostrini, E., de Oliveira, J.G., Bressan-Smith, R.E., Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. Sci. Hortic.-Amst. 2005. 104, 199–209.
44. Paiva, P.E.B. and P.T. Yamamoto Natural parasitism of Citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) over eight years in seven Citrus regions of Sa˜o Paulo, Brazil. Fla.Entomol., (2015). 98: 660–664.
45. Pandey N, Gupta B The impact of foliar boron sprays on reproductive biology and seed quality of black gram. J. Tra. Elem. Medi. Biol. (2013). 27(1): 58– 64.
46. Parr AJ, Loughman BC Boron and membrane function in plants. In: Metals and Micronutrients, Uptake and Utilisation by Plants. Robb D.S., Pierpoint W.S. (Eds.).Academic Press, New York. pp. (1983). 87-107.
47. Riaz, M., Yan, L., Wu, X.W., Hussain, S., Aziz, O., Wang, Y.H., Imran, M., Jiang, C.C., Boron alleviates the aluminum toxicity in trifoliate orange by regulatingantioxidant defense system and reducing root cell injury. J. Environ. Manag. 2018. 208, 149e158.
48. Ruiz, J.M., G. Bretones, M. Baghour, A. Belakbir and L.Romero, Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves. Phytochem. 1998.,48: 269-272
49.Ruuhola T, Lepp€anen T, Julkunen-Tiitto R, Rantala MJ, Lehto T. Boron fertilization enhances the induced defense of silver birch. Journal of Chemical Ecology 2011.37: 460–471.
50. Sala F Agrochimie, Ed, Timisoara, Romania, pp: (2011).40-41.
51. Sarafi, E., Tsouvaltzis, P., Chatzissavvidis, C., Siomos, A., & Therios, I. Melatonin and resveratrol reverse the toxic effect of high boron (B) and modulate biochemical parameters in pepper plants (Capsicum annuum L.). *Plant Physiology and Biochemistry*(2017)., *112*, 173-182.
52. Saud, S., et al. Effects of nitrogen supply on water stress and recovery mechanisms in Kentucky bluegrass plants. Front. Plant Sci. 8, 983 (2017).
53. Schaffer, B., J.E. Peña, A.M. Colls and A. Hunsberger Citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) in lime:Assessment of leaf damage and effects on photosynthesis.Crop Prot.(1997).., 16: 337–343.
54. Sethi A, McAuslane HJ, Rathinasabapathi B, Nuessly GS, Nagata RT. Enzyme induction as a possible mechanism for latex-mediated insect resistance in romaine lettuce. J Chem Ecol 2009; 35:190-200; PMID:19184224;
55. Sharma, H. C., G. Sujana, and D. Manohar Rao. "Morphological and chemical components of resistance to pod borer, Helicoverpa armigera in wild relatives of pigeonpea." Arthropod-Plant Interactions 3.3 (2009): 151-161..

56. Shireen, F., Nawaz, M. A., Chen, C., Zhang, Q., Zheng, Z., Sohail, H., ... & Bie, ZBoron: functions and approaches to enhance its availability in plants for sustainable agriculture. *International Journal of Molecular Sciences*, . (2018). *19*(7), 1856.
57. SINGLETON, V. L. and ROSSI, J .A. J.R. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Amer. J. Enol. Viticult. (1965). Vol. 16, 144-158.
58.Soliva-Fortuny, R. C., Grigelmo-Miguel, N., Odriozola-Serrano, I., Gorinstein, S., & Martín-Belloso, O. Browning evaluation of ready-to-eat apples as affected by modified atmosphere packaging. Journal of Agricultural and Food Chemistry, (2001). 49(8), 3685-3690.
59. Spann, T. M., & Schumann, A. W. Mineral nutrition contributes to plant disease and pest resistance. (2010). *EDIS*, *2010*(4).
60.Terra WR, Ferreira C, Baker JE. Compartmentalization of digestion. In: Lehane MJ, Billingsley PF, editors. Biology of the insect midgut. London: Chapman and Hall. 1996.P 206–235.
61. Usha Rani P, Jyothsna Y. Biochemical and enzymatic changes in rice as a mechanism of defense. Acta Physiol Plant 2010; 32:695-701;
62. Wang, N., Yang, C., Pan, Z., Liu, Y., Peng, Sa., 2015. Boron deficiency in woody plants:various responses and tolerance mechanisms. Front. Plant Sci. 6, 916.
63. War AR, Paulraj MG, War MY, Ignacimuthu S. Herbivore- and elicitor-induced resistance in groundnut to Asian armyworm, Spodoptera litura (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). Plant Signal Behav 2011; 6:1769-77; PMID:22042128.
64. Webber HJ. History and development of citrus industry. pp 1-39. In: Reuther W, Webber H J and Baxter E D (eds.) The citrus industry. Vol 1 Univ. of California, Riverside, California, 1967.
65. Wójtowicz M, Wójtowicz A Monitoring of changes in the reflectance of electromagnetic radiation from winter oilseed rape canopy with the use of field radiometer CE313. (2008) Acta Agrophys 12(1):225-268.
66. Zhang SZ, Hau BZ, Zhang F. Induction of the activities of antioxidative enzymes and the levels of malondialdehyde in cucumber seedlings as a consequence of Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) infestation.Arthropod-Plant Interact 2008; 2:209-13.
67. Zhu-Salzman K, Luthe DS, Felton GW. Arthropodinducible proteins: broad spectrum defenses against multiple herbivores. Plant Physiol 2008; 146:852-8; PMID:18316640.