# Determination of the total phenolic content of tomato plant treated with exteacts of banana peels(*Musa sp*.)and horsetail plant(*Equsietum arvense*) and their effects in stimulating plant resistance against thefungus(*Botrytis cinerea*).

**Dr.Nawal Ali** [*]
**Dr.Omar Hamoudi** **
**Eid Habib** ***

**(Received 17 / 10 / 2023. Accepted 14 / 12 /2023 )**

## □ ABSTRACT □

The results showed that the methanolic extract of banana peels, when applied sprayed to the leaves at concentrations (1-2-5%), gave successive pathogenicity to the isolate of the fungus *B. cinerea* (91.66 - 41.66 - 33.33%) compared to the control (91.66%), When used as irrigation in the soil at same concentrations, it gave respectively a pathogenicity intensity for the fungus isolate (66.66 -50 – 25)%

When applying the methanol extract of the horsetail plant L. E. arvense sprayed on the leaves at concentrations (1-2-5%), it gave successive pathogenicity to the isolate of the fungus B. cinerea (66.66 - 33.33 - 16.66%) compared to the control (91.66%), when used as irrigation in the soil at same concentrations, it gave, respectively, a pathogenicity intensity for the fungus isolate (58.33 - 41.66 - 8.33 %).

The results showed an increase in the total phenolic content of tomato plants under the influence of horsetail extract, as it reached in the spraying treatment on the leaves at concentrations (1-2-5%), respectively, mg/L (60-90-115), and in the soil irrigation treatment it reached mg/L (85-125-153), and under the influence of banana peel extract the total phenolic content of tomato plants in the foliar spraying treatment reached at same concentrations, respectively, mg/L (54-63-70). In the soil irrigation treatment, it reached (56-66-80) mg/L, compared to the control (60 mg/L (without treatment and with infection).

**Key words**: gray mold, Botrytis cinerea, banana peel extract, horsetail extract.

**Copyright** **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

[*] **Professor, Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria**
**** Biological Control of Fungal Diseases, Agricultural Scientific Research Center -Lattakia, Syria.**
***** Postgraduate student (PhD ) -Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

# تحديد المحتوى الفينولي الكلي في نبات البندورة المعامل بمستخلص الميثانول لقشور ثمار الموز *Musa sp.* ونبات أذناب الخيل *Equsietum arvense* L. ودورهما في تحفيز مقاومة النبات تجاه العدوى بمرض العفن الرمادي المتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* .

**د. نوال علي** [*]

**د. عمر حمودي** [**]

**عيد حبيب** [***]

**(تاريخ الإيداع 17 / 10 / 2023. قبل للنشر في 14 / 12 / 2023)**

## □ ملخّص □

أُجري هذا البحث لدراسة إمكانية استخدام مستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل في تحفيز المقاومة لنبات البندوره تجاه الإصابة بالفطر الممرض *B.cinerea*.

أظهرت النتائج بأن مستخلص الميثانول لقشور ثمار الموز عند تطبيقه رشاً على الأوراق عند التراكيز (1–2–5%) أعطى على التتالي شدة إمراضية لعزلة الفطر *B. cinerea* (91.66 –41.66–33.33% ) مقارنة بالشاهد (91.66 %) توافقت مع فعالية (0–54.54 –63.63 %) في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل تجاه الفطر الممرض مقارنة بالشاهد، عند استخدامه رياً في التربة بنفس التراكيز أعطى على التتالي شدة امراضية لعزلة الفطر (66.66 –50 –25 %) مقارنة بالشاهد مع فعالية بنسبة(27.27 –45.45 –72 %) مقارنة بالشاهد.

عند تطبيق مستخلص الميثانول لنبات أذناب الخيل .L *E. arvense* رشاً على الأوراق عند التراكيز ( 1–2 – 5 % ) أعطى على التتالي شدة امراضية لعزلة الفطر *B. cinerea* (66.66 –33.33– 16.66–33.33%) مقارنة بالشاهد(91.66 %) توافقت مع فعالية (27.27– 63.63– 81.82%)في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل تجاه الفطر الممرض مقارنة بالشاهد، عند استخدامه رياً في التربة بنفس التراكيز أعطى على التتالي شدة امراضية لعزلة الفطر(58.33– 41.66 –8.33 %) مقارنة بالشاهد مع فعالية بنسبة(36.36 –54.54–90.91 %) مقارنة بالشاهد.

أظهرت النتائج ارتفاع المحتوى الفينولي الكلي لنبات البندورة تحت تأثير مستخلص نبات أذناب الخيل حيث بلغ في معاملة الرش على الاوراق عند التراكيز ( 1– 2– 5 %)على التتالي mg/L(60–90–115) وفي معاملة الري في التربة بلغ على التتالي mg/L(85–125–153)، وتحت تأثير مستخلص قشور ثمار الموز بلغ المحتوى الفينولي الكلي لنبات البندورة في معاملة الرش على الاوراق عند نفس التراكيز على التتالي mg/L(54–63–70) وفي معاملة الري في التربة بلغ mg/L(56–66–80) مقارنة بالشاهد 60mg/L (بدون معاملة ومع عدوى).

**الكلمات المفتاحية** : العفن الرمادي ، *Botrytis cinerea* ، مستخلص قشور الموز ، مستخلص نبات أذناب الخيل

**حقوق النشر** : مجلة جامعة تشرين– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY–NC–SA 04

[*] **أستاذ –قسم علم النبات ، كلية العلوم ، جامعة تشرين ، اللاذقية ، سورية.**

[**] **المكافحة الحيوية للأمراض الفطرية ، مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية ، سورية.**

[***] **طالب دكتوراه –قسم علم النبات ، كلية العلوم ، جامعة تشرين ، اللاذقية ، سورية.**

**مقدمة :**

يعد كل من الأنزيمين، البيروكسيداز وبولي فنيل أوكسيداز، ومحتوى الفينول الكلي أحد الأنظمة الدفاعية للنبات إذ توجد الانزيمات في النبات كأسلحة بيوكيمائية دفاعية مهمة ويتم تحفيزها وتحفيز تراكم الفينولات كرد فعل على استخدام بعض المركبات الكيميائية والحيوية لتحفيز مقاومة النبات وكرد فعل على هجوم المسببات المرضية حيث يؤدي نشاطها الى تكوين الفينولات والكينونات السامة لمسببات الأمراض (Subramnian,1968).

يسيطر أنزيم البيروكسيداز على تطور ونمو النبات ويشارك في بناء وتصلب جدر الخلايا ،وفي تخليق الإيتلين والماء الأكسجيني، وتنظيم مستوى الأكسين، وحماية الانسجة من الضرر والعدوى بالأحياء الدقيقة الممرضة، كما يحفز تشكيل اللجنين وأنزيم phenyl alanine ammonia–lyase اللذان يدخلان في تركيب المركبات الفينوليه والفيتوالكسينات (Wakamastu and Takahama,1993;Ramamoorthy *et al*.,2002;Dunford,2013)

إن زيادة نشاط أنزيم البيروكسيداز يزيد من نشاط أنزيم بولي فنيل أوكسيداز المسؤول عن زيادة محتوى النبات من الفينول الكلي، ولكلا الأنزيمين دور في مقاومة النبات للممرضات حيث أن لهما دوراً في أكسدة المركبات الفينولية إلى مركب الكينون السام للممرضات (Manilaand Nelson, 2014;Sarika *et al*.,2015).0

كما يعد أنزيم بولي فنيل أوكسيداز من مجموعة الأنزيمات التي تحتوي على النحاس والتي تحفز أكسدة العديد من الفينولات إلى كينون O–quinones وبدورها تعد الكينونات جزيئات شديدة التفاعل ،إذ يمكن أن تخضع لتفاعلات ثانوية غير أنزيمية لتشكيل بوليميرات معقدة بنية تعرف بإسم الميلانين والبوليميرات المرتبطة مع مجموعات وظيفية للبروتين (Olivera *et al* .,2011; Rolf *et al* .,2011).

توجد أنزيمات بولي فنيل أوكسيداز في كل أجزاء النبات حتى في البلاستيدات الخضراء، وتقع ركائزها الفينولية بشكل رئيسي في الفجوات (Mayer,2006).

إن الأنزيمات المؤكسدة مثل بولي فنيل أوكسيداز والبيروكسيداز مهمة جداً في ألية الدفاع ضد مسببات الأمراض، وذلك من خلال دورها في أكسدة الكينين ، مما يؤدي إلى زيادة نشاط مضادات الميكروبات، وبالتالي قد يشارك هذان الأنزيمان مباشرةً في وقف تطور العوامل الممرضة .(Melo *et al* .,2006; Shimzu *et al*., 2006)

وجد حديثاً ارتباط بين وجود الفينولات ومقاومة النبات للممرضات في محاصيل عديدة منها البندوره، وإن تراكم وتأكسد مركبات الفينول يمكن أن يكون مرتبط بآليات الدفاع في النبات، إذ ثبتت قدرة هذه الفينولات على تشكيل معقدات غير ذائبة تتأكسد بدورها إلى عناصر سامة تؤثر بشكل كبير على الفطر الممرض .(Anjum *et al*.,2012)

أشار Benhamou *et al*(2000) و Vanloon *et al*(1998) إلى أن زيادة محتوى الفينول دليل على تفعيل آلية المقاومة الجهازية في النبات كما أن تراكم الفينولات في مواقع العدوى له ارتباط بالحد من تطور الفطر الممرض من خلال تأثيرها السمي عليه كما يمكن أن تعيق العدوى بالفطر من خلال زيادة صلابة جدر الخلايا وبالتالي منع اختراق الفطر الممرض للنبات ومنع الإصابة .

أن زيادة تراكم الفينولات تؤدي لزيادة تركيب الفينيل بروبان الذي يدخل في تركيب اللجنين حيث أن تراكم مركبات الفينول واللجنين له ارتباط بمقاومة النبات للعديد من الممرضات كالفطر *Fusarium graminearum* على القمح والفطر *Pythium aphani dermatum* على الخيار، والفطر *Botrytis cinerea* على البندورة (Manila and Nelson, 2014).

استخدم نبات أذناب الخيل كمبيد حيوي للفطريات، كما أنه استخدم لوقاية النبات من الإصابة بالأمراض الفطرية من خلال تحفيز آليات الدفاع والمقاومة في النبات من خلال احتوائه على تراكيز عالية من حمض السيليك والذي يعمل على زيادة تركيز أنزيمات البيروكسيداز وبولي فنيل أوكسيداز وتراكم الفينولات الكلية في النبات (Wang *et al* .,2017; Deniau,2019; Zhn,2019).

كما أشار Andreu *et al* (2018) إلى امكانية استخدام مستخلص أذناب الخيل كمضاد لفطريات مابعد الحصاد مثل (*Penicillium expansum, B.cinerea*).

كما أشار Daulagala ( 2014 ) إلى أن مستخلصات قشور ولب ثمار الموز يمكن أن تلعب دوراً هاماً في تحفيز المقاومة في النبات من خلال تنشيط اصطناع الفينوالكسينات والبروتينات الدفاعية وتراكم الفينول الكلي وبالتالي تخفض من الإصابة بالأمراض الفطرية .

## أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية هذا البحث من خلال استخدام مستخلصات نباتية كمستخلصات (قشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل ) كبدائل طبيعية آمنة للحد من استخدام المبيدات الكيميائية ذات الكلفة الإقتصادية العالية وما تسببه من تلوث للبيئة وسمية للإنسان والحيوان ، وذلك من خلال إمكانية استخدامها في تحفيز المقاومة لنبات البندورة تجاه الإصابة بالفطر الممرض *B.cinerea* وتنشيط تراكم الفينولات الكلية المسؤولة عن مقاومة النبات .

## طرائق البحث ومواده:

تم تنفيذ هذا البحث في مختبر الدراسات العليا في قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم– جامعة تشرين ومركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية خلال العام الدراسي2021 – 2022 .

**عزل الفطر :**

تم الحصول على عزلة نقية من فطر العفن الرمادي *B.cinerea* من نباتات بندورة تبدي اعراض الإصابة بالعفن الرمادي من بيت بلاستيكي في منطقة جبلة (رويسة الحجل)، استخدم للعزل مستنبت PDA لتنمية الفطر الممرض وحضنت الأطباق عند درجة حرارة $22 \pm 2\ ^0C$ حتى اكتمال النمو والتبوغ وبعد تنقيتها تم حفظها في أنابيب مائلة على وسط PDA بالدرجة $4\ ^0C$ لحين الاستخدام.

**تحضير مستخلص الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل *E.arvense l.* :**

جمعت عينات قشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل كل على حده وتم تجفيفها في الظلام بعدئذ في المرمدة عند الدرجة $50^0C$ لحين ثبات الوزن ،ثم طحنت بالمطحنة الكهربائية وحضرت المستخلصات كل على حده بإضافة 100g من المسحوق الجاف إلى 500ml من مذيب الميثانول ، نقعت لمدة 14 يوم في الظلام مع مراعاة التحريك المستمر لها، رشحت باستخدام ورق ترشيح watman وتم تبخيرها بالمبخر الدوار على الدرجة $40^0c$ حتى الحصول على الخلاصة السائلة النهائية ، حفظت الخلاصات بعبوات زجاجية معتمة عند الدرجة $4^0c$ لحين استخدامها في تحضير التراكيز المطلوبة.

**تحضير المعلق البوغي للفطر ( *B.cinerea* ):**

حضر المعلق البوغي من مستعمرات فطرية بعمر أسبوع وذلك بإضافة 10 ml ماء مقطر معقم لكل طبق وحرك حركة رحوية للحصول على معلق فطري رشح للحصول على معلق بوغي، حدد تركيزه بوساطة شريحة العد مالاسيه يمدد للحصول على التراكيز المطلوبة لاستخدامها لاحقاً في عدوى النباتات.

**دراسة القدرة الإمراضية للفطرالممرض *B. cinerea* :**

1. اختبرت القدرة الإمراضية لعزلة من النوع *B.cnerea* على نبات البندورة باستخدام معلق بوغي للفطر بتركيز $10^6$ بوغة / مل ،تمت عدوى النباتات بعمر 40 يوم من تنميتها في درجة حرارة $18-22^0$c ورطوبة نسبية بين % (80–85) (في طور من 3–5 اوراق ).
2. رشت النباتات بالمعلق البوغي بوساطة بخاخ اليد ، وتغطى بأكياس من البولي ايثلين لضمان الرطوبة المناسبة للعدوى لمدة 24 ساعة .
3. أجريت ثلاث مكررات للتجربة كل مكرر 5 نباتات.
4. **حسبت نسبة الإصابة، وعدد بؤر الإصابة من العلاقتين:**

**نسبة الإصابة** = عدد النباتات المصابة في المكرر× 100/ عدد النباتات الكلي للمكرر

**عدد بؤر الإصابة** = مجموع البؤر في كل مكرر/ عدد نباتات المكرر.

**شدة الإصابة :** يتم اعتماد سلم لتقدير درجة إصابة النباتات مؤلف من 5 درجات: ( 0)لاتوجد اصابة (1) بؤرة إصابة.(2) ثلاث بؤر إصابة .(3) خمس بؤر إصابة. (4) أكتر من خمس بؤر إصابة على النبات.

تقاس شدة الإصابة بمؤشر الشدة الإمراضية DII

**DII** = مجموع(درجة الاصابة× عدد النباتات عندها)/(4× العدد الاجمالي للنباتات) × 100

**اختبار نصف حقلي لفعالية مستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل .L *Equisetum arvense*عند التراكيز (1 –2 –5 %)في تثبيط نمو الفطر *B cinerea* :**

**1– معاملة الرش على الأوراق :**

a) رشت النباتات بمستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل .L *Equisetum arvense* من كل تركيز وكل مستخلص كل على حده بوساطة بخاخ يدوي، قبل إجراء العدوى الصناعية باسبوع .

b) رشت نباتات الشاهد بالماء.

c) إجريت العدوى الصناعية برش المعلق البوغي للفطر الممرض *B.cinerea* بتركيز$10^6$بوغة /مل وبمعدل 10 مل/نبات وتغطى بأكياس من البولي ايتلين لضمان الرطوبة المناسبة للعدوى لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة بين $18^0$c –22 .

d) أجريت ثلاث مكررات للتجربة كل مكرر 5 نباتات.

**2– معاملة الري في التربة :**

a) تم ري النباتات بمعدل10مل/ نبات(أصيص) من مستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل .*Equisetum arvense* L من كل تركيز وكل مستخلص كل على حده قبل إجراء العدوى الصناعية ب 5 أيام.

b) تم ري نباتات الشاهد ب 10 مل ماء /نبات.

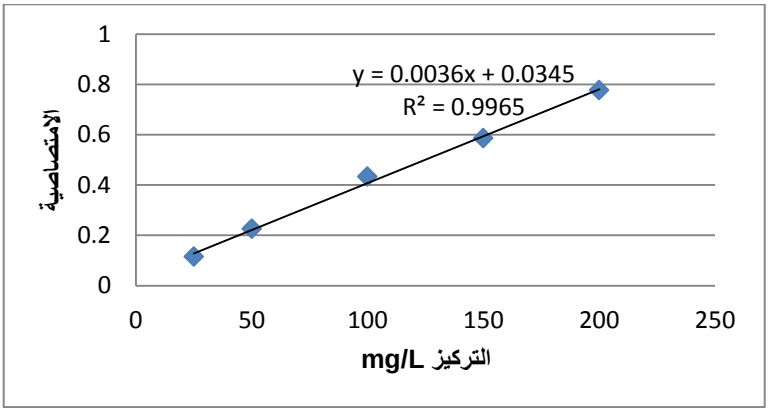
c) تم إجراء العدوى الصناعية بالطريقة المذكورة سابقاً

d) تم إجراء ثلاث مكررات للتجربة كل مكرر 5 نباتات.

**تقدير المحتوى الفينولي الكلي في نباتات البندورة :**

قدر المحتوى الفينولي الكلي من خلال طحن 2g من أوراق نباتات البندورة الممثلة لكامل النبات في 10ml ميتانول 80% ومن ثم الطرد المركزي (10000 دورة/دقيقة ) لمدة 10 دقائق عند الدرجة $25^0c$، حضر مزيج مكون من 40 ميكروليتر من مستخلص العينة و200 ميكروليتر من كاشف فولن و(3.16 مل) من الماء المقطر و600 ميكروليتر من كربونات الصوديوم (20%)، بما يحقق حجم كلي 4 مل، حفظ المزيج في الظلام لمدة ساعة ونصف لحين تمام التفاعل، أُجري المسح الطيفي لمركب الكاتيكول (تركيزه 200 mg/L) باستخدام جهاز (Spectrophotometer UV-Visible, 1700, SHIMADZU) والذي استخدم كعياري حضر بنفس الطريقة السابقة، حددت امتصاصيته عند طول موجة امتصاص أعظمي 650nm ، حُسب المحتوى الفينولي كمتوسط حسابي $\bar{X}$ لخمسة مكررات، كما حُسب الانحراف المعياري SD، الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD%، حد الكشف الكيفي LOD، وحد الكشف الكمي LOQ (Singleton and Rossi, 1965).

تم حساب المحتوى الفينولي الكلي بواحدة mg/L من المنحني العياري لمركب كاتيكول قياسي، الشكل (1).




**الشكل (1) المنحني العياري لمركب الكاتيكول**

## النتائج والمناقشة :

**نتائج دراسة القدرة الامراضيه للفطر *B. cinerea* :**

يبين الجدول (1) أن نسبة إصابة الفطر الممرض *B. cinerea* لنباتات البندوره كانت 100% في جميع مكررات التجربة بينما توزعت عدد بؤر الإصابة مابين 7 بؤر في المكرر الأول مع شدة إصابة من الدرجة الرابعة العالية و6 بؤر في المكرر الثاني مع شدة إصابة من الدرجة الرابعة العالية و 5 بؤر في المكرر الثالث مع شدة إصابة من الدرجة الثالثة المتوسطة، بالتالي كان مؤشر القدرة الإمراضية إجمالاً عالياً فقد سجل 91,66%، أي أن عزلة الفطر *B. cinerea* كانت ذات قدرة امراضية عالية .

**الجدول (1): نسبة الإصابة وعدد بؤر الإصابة وشدة الإصابة ومؤشر القدرة الامراضية لعزلة الفطر *B. cinerea* على البندورة (معاملة الشاهد).**

| المكرر | نسبة الإصابة % | عدد بؤر الإصابة | شدة الإصابة | مؤشر القدرة الإمراضيةDII |
|---|---|---|---|---|
| م1 | 100 | 7 | من الدرجة 4 | 91,66% |
| م2 | 100 | 6 | من الدرجة 4 | |
| م3 | 100 | 5 | من الدرجة 3 | |

**نتائج الاختبار نصف الحقلي لفعالية مستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل *Equisetum arvense* L عند التراكيز (1 –2 –5 %)في تخفيض شدة الاصابة للفطر *B. cinerea* على نبات البندورة في معاملة الرش على الأوراق :**

يبين الجدول (2) بأن مستخلص الميثانول لقشور ثمار الموز عند استخدامه رشاً على الأوراق عند التركيز1% أعطى شدة إصابة من الدرجة الثالثة والرابعة مترافقة مع شدة إمراضية 91,66% مقارنة بالشاهد 91,66% أي انه لم يعط أي فعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل تجاه الفطر الممرض ***B. cinerea*** مقارنة بالشاهد، وعند زيادة التركيز الى 2% بدأت تظهر الفعالية وانخفضت شدة الإصابة إلى الدرجة الاولى والثانية وانخفضت الشدة الإمراضية لعزلة الفطر الى 41,66% مع فعالية 54,54% في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مقارنة بالشاهد، وعند التركير 5% لحظ انخفاض شدة الإصابة بالفطر الممرض إلى الدرجة الأولى والثانية مترافقة مع انخفاض الشدة الإمراضية الى 33,33% وزيادة الفعالية الى 63,63% مقارنة بالشاهد .

أظهرت النتائج انخفاض شدة الإصابة والشدة الإمراضية للفطر الممرض ***B. cinerea*** وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مع زيادة تركيز المستخلص مقارنة بالشاهد ويعزى السبب في ذلك وفق ما أشار إليه Daulagala(2014) إلى أن مستخلصات قشور ولب ثمار الموز يمكن أن تلعب دوراً هاماً في تحفيز المقاومة في النبات من خلال تنشيط اصطناع الفيتوالكسينات والبروتينات الدفاعية وتراكم الفينول الكلي وبالتالي تخفض من الإصابة بالأمراض الفطرية .

**الجدول (2): نسبة الإصابة وعدد بؤر الإصابة وشدة الإصابة والفعالية لعزلة الفطر *B. cinerea* على نبات البندورة المعامل بمستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز عند التراكيز (1 –2 –5 %) رشاً على الأوراق .**

| التركيز | المكرر | نسبة الإصابة | عدد بؤر الإصابة | شدة الإصابة | الشدة الامراضيةDII% | الفعالية% مقارنة بالشاهد |
|---|---|---|---|---|---|---|
| %1 | م1 | 100 | 5 | درجة 3 | 91,66% | 0% |
| | م2 | 100 | 6 | درجة 4 | | |
| | م3 | 100 | 6 | درجة 4 | | |
| %2 | م1 | 100 | 3 | درجة 2 | 41,66% | 54,54% |
| | م2 | 100 | 3 | درجة 2 | | |
| | م3 | 80 | 2 | درجة 1 | | |
| %5 | م1 | 100 | 3 | درجة 2 | 33,33% | 63,63% |
| | م2 | 80 | 1 | درجة 1 | | |
| | م3 | 80 | 1 | درجة 1 | | |

بين الجدول (3) بأن مستخلص الميثانول لنبات أذناب الخيل .*Equisetum arvense* L عند استخدامه رشاً على الأوراق عند التركيز1% أعطى شدة إصابة من الدرجة الثانية والثالثة مترافقة مع انخفاض الشدة الإمراضية الى 66,66% مقارنة بالشاهد 91,66% مع فعالية بنسبة 27,27% في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل تجاه الفطر الممرض ***B. cinerea*** مقارنة بالشاهد (0%) ، وعند زيادة التركيز الى 2% انخفضت شدة الإصابة إلى الدرجة الأولى والثانية وانخفضت الشدة الإمراضية لعزلة الفطر الى 33,33% مع فعالية 63,63% في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مقارنة بالشاهد، وعند التركير 5% لحظ انخفاض شدة الإصابة بالفطر الممرض إلى

الدرجة الأولى في المكرر الأول والثاني وانعدامها في المكرر الثالث مترافقة مع انخفاض الشدة الإمراضية الى 16,66%وزيادة الفعالية الى 81,82% مقارنة بالشاهد .

بينت النتائج انخفاض شدة الإصابة والشدة الإمراضية للفطر الممرض ***B. cinerea*** وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مع زيادة تركيز المستخلص مقارنة بالشاهد.

**الجدول (3): نسبة الإصابة وعدد بؤر الإصابة وشدة الإصابة والفعالية لعزلة الفطر *B. cinerea* على نبات البندورة المعامل بمستخلصات نبات أذناب الخيل *Equisetum arvense* L. عند التراكيز (1 -2 -5 %) رشاً على الأوراق .**

| التركيز | المكرر | نسبة الإصابة | عدد بؤر الإصابة | شدة الإصابة | الشدة الامراضيةDII% | الفعالية% مقارنة بالشاهد |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1% | م1 | 100 | 4 | درجة 2 | 66,66% | 27,27% |
| | م2 | 100 | 5 | درجة 3 | | |
| | م3 | 100 | 5 | درجة 3 | | |
| 2% | م1 | 80 | 3 | درجة 1 | 33,33% | 63.63% |
| | م2 | 100 | 3 | درجة 2 | | |
| | م3 | 80 | 2 | درجة 1 | | |
| 5% | م1 | 80 | 2 | درجة 1 | 16,66% | 81,82% |
| | م2 | 60 | 1 | درجة 1 | | |
| | م3 | 0.0 | 0 | درجة 0 | | |

**نتائج الاختبار نصف الحقلي لفعالية مستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل *Equisetum arvense* L عند التراكيز (1 -2 -5 %)في تخفيض شدة الاصابة للفطر *B. cinerea* على نبات البندورة في معاملة الري في التربة:**

يبين الجدول (4) بأن مستخلص الميثانول لقشور ثمار الموز عند استخدامه رياً في التربة عند التركيز1% اعطى شدة اصابة من الدرجة الثانية والثالثة مترافقة مع انخفاض الشدة الامراضية الى 66.66% مقارنة بالشاهد (91.66 %) مع فعالية بنسبة 27.27% في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل تجاه الفطر الممرض ***B. cinerea*** مقارنة بالشاهد (0%) ، وعند زيادة التركيز الى 2% انخفضت شدة الاصابة الى الدرجة الثانية وانخفضت الشدة الامراضية لعزلة الفطر الى 50% مع فعالية 45.45% في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مقارنة بالشاهد، وعند التركير 5% نلاحظ انخفاض شدة الاصابة بالفطر الممرض الى الدرجة الاولى مترافقة مع انخفاض الشدة الامراضية الى 25% وزيادة الفعالية الى 72% مقارنة بالشاهد .

نلاحظ من خلال النتائج انخفاض شدة الاصابة والشدة الامراضية للفطر الممرض ***B. cinerea*** وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مع زيادة تركيز المستخلص مقارنة بالشاهد

**الجدول (4): نسبة الإصابة وعدد بؤر الإصابة وشدة الإصابة والفعالية لعزلة الفطر *B. cinerea* على نبات البندورة المعامل بمستخلصات الميثانول لقشور ثمار الموز عند التراكيز (1 -2 -5 %) رياً في التربة.**

| التركيز | المكرر | نسبة الإصابة | عدد بؤر الإصابة | شدة الإصابة | الشدة الامراضيةDII% | الفعالية% مقارنة بالشاهد |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1% | م1 | 100 | 5 | درجة 3 | 66,66% | 27,27% |
| | م2 | 100 | 4 | درجة 2 | | |
| | م3 | 100 | 5 | درجة 3 | | |
| 2% | م1 | 100 | 4 | درجة 2 | 50% | 45,45% |
| | م2 | 100 | 4 | درجة 2 | | |
| | م3 | 100 | 4 | درجة2 | | |
| 5% | م1 | 80 | 2 | درجة 1 | 25% | 72% |
| | م2 | 60 | 1 | درجة 1 | | |
| | م3 | 40 | 1 | درجة 1 | | |

يبين الجدول (5) بأن مستخلص الميثانول لنبات أذناب الخيل *Equisetum arvense* L. عند استخدامه رياً في التربة عند التركيز1% أعطى شدة إصابة من الدرجة الثانية والثالثة مترافقة مع انخفاض الشدة الإمراضية إلى 58,33% مقارنة بالشاهد (91,66%) مع فعالية بنسبة 36,36% في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل تجاه الفطر الممرض ***B. cinerea*** مقارنة بالشاهد (0%) ، وعند زيادة التركيز الى 2% انخفضت شدة الإصابة إلى الدرجة الأولى والثانية وانخفضت الشدة الإمراضية لعزلة الفطر الى 41,66% مع فعالية 54,54% في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مقارنة بالشاهد، وعند التركير 5% نلاحظ انخفاض شدة الإصابة بالفطر الممرض الى الدرجة الأولى في المكرر الثاني وانعدامها في المكرر الأول والثالث مترافقة مع انخفاض الشدة الإمراضية إلى 8,33% وزيادة الفعالية الى 90,91% مقارنة بالشاهد .

نلاحظ من خلال النتائج انخفاض شدة الاصابة والشدة الامراضية للفطر الممرض ***B. cinerea*** وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة المعامل مع زيادة تركيز المستخلص مقارنة بالشاهد ويعود السبب في ذلك وفق ما أشار إليه Deniau(2019) و Zhn (2019) إلى تحفيز آليات الدفاع والمقاومة في النبات من خلال احتواء المستخلص على تراكيز عالية من حمض السيليك والذي يعمل على زيادة تركيز أنزيمات البيروكسيداز وبولي فنيل أوكسيداز وتراكم الفينولات الكلية في النبات والتي بدورها تخفض من شدة الاصابة .

**الجدول (5): نسبة الإصابة وعدد بؤر الإصابة وشدة الإصابة والفعالية لعزلة الفطر *B. cinerea* على نبات البندورة المعامل بمستخلصات نبات أذناب الخيل *Equisetum arvense* L. عند التراكيز (1 -2-5%) ريا في التربة.**

| التركيز | المكرر | نسبة الإصابة | عدد بؤر الإصابة | شدة الإصابة | الشدة الامراضيةDII% | الفعالية% مقارنة بالشاهد |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1% | م1 | 100 | 5 | درجة 3 | 58.33% | 36.36% |
| | م2 | 100 | 4 | درجة 2 | | |
| | م3 | 100 | 3 | درجة 2 | | |
| 2% | م1 | 100 | 4 | درجة 2 | 41.66% | 54.54% |
| | م2 | 80 | 4 | درجة 2 | | |
| | م3 | 80 | 2 | درجة1 | | |
| 5% | م1 | 0.0 | 0.0 | درجة 0 | 8.33% | 90.91% |
| | م2 | 40 | 1 | درجة 1 | | |
| | م3 | 0.0 | 0.0 | درجة 0 | | |

يبين الجدول (6) تفوق مستخلص نبات أذناب الخيل على مستخلص قشور ثمار الموز في خفض الشدة الامراضية من جهة وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة تجاه الإصابة بالفطر الممرض *B.cinerea* في معاملتلي الرش على الأوراق والري في التربة ويعزى السبب في ذلك لاحتوائه على تراكيز عالية من حمض السيليك والذي يعمل على زيادة تركيز أنزيمات البيروكسيداز وبولي فنيل أوكسيداز وتراكم الفينولات الكلية في النبات وهذا ما أشار إليه كل من Zhn (2019) Deniau(2019) Wang *et al* (2017).

لحظ من خلال المقارنة أيضاً بأن معاملة الري في التربة سواء لمستخلص نبات أذناب الخيل او مستخلص قشور ثمار الموزأعطت نتائج أفضل من الرش على الأوراق في خفض الشدة الإمراضية من جهة وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة تجاه لإصابة بالفطر الممرض *B.cinerea* من جهة اخرى .

**الجدول (6): مقارنة الشدة الامراضية والفعالية لعزلة الفطر *B. cinerea* على نبات البندورة المعامل بمستخلصات قشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل .*Equisetum arvense* L كل على حده عند التركيز (5 %) رشا على الاوراق وريا في التربة كل على حده.**

| | مستخلص نبات أذناب الخيل | | مستخلص قشور ثمار الموز | |
|---|---|---|---|---|
| عند التركيز 5% | رشاً على الأوراق | رياً في التربة | رشاً على الأوراق | رياً في التربة |
| الشدة الإمراضية | 16.66% | 8.33% | 33.33% | 25% |
| الفعالية | 81.88% | 90.91% | 63.63% | 72% |

**نتائج تقدير المحتوى الفينولي الكلي في نباتات البندورة المعاملة بمستخلصات قشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل *Equisetum arvense* L كل على حده عند التركيز ( 1- 2- 5 %) رشا على الأوراق وريا في التربة كل على حده:**

يبين الجدول (7) ارتفاع المحتوى الفينولي الكلي لنبات البندورة تحت تأثير مستخلص نبات أذناب الخيل مع زيادة التركيز حيث بلغ في معاملة الرش على الأوراق عند التراكيز ( 1- 2- 5 %)على التتالي 115-90-60)mg/L)وفي معاملة الري في التربة بلغ على التتالي mg/L(153-125-85) ، وتحت تأثير مستخلص قشور ثمار الموز بلغ المحتوى الفينولي الكلي لنبات البندورة في معاملة الرش على الأوراق عند التراكيز (1- 2- 5%)على التتالي mg/L(70-63-54)وفي معاملة الري في التربة بلغ على التتالي mg/L(80-66-56) مقارنة بالشاهد سواء الاول 60mg/L (بدون معاملة ومع عدوى)أو الشاهد الثاني (بدون معاملة وبدون عدوى)52mg/L ، ومن خلال المقارنة وجد أن معاملة الري في التربة كانت أكثر فعالية سواء في مستخلص نبات أذناب الخيل أو مستخلص قشور الموز في زيادة المحتوى الفينولي الكلي للنبات المعامل مقارنة بالشاهد مع تفوق لمستخلص نبات أذناب الخيل وبالتالي زيادة تحفيز المقاومة الداخلية لنبات البندورة تجاه الإصابة بالفطر الممرض حيث أن زيادة محتوى الفينول دليل على تفعيل آلية المقاومة الجهازية في النبات كما أن تراكم الفينولات في مواقع العدوى له ارتباط بالحد من تطور الفطر الممرض من خلال تأثيرها السمي عليه كما يمكن أن تعيق العدوى بالفطر من خلال زيادة صلابة جدر الخلايا وبالتالي منع اختراق الفطر الممرض للنبات ومنع الإصابة كما أن زيادة تراكم الفينولات يؤدي لزيادة تركيب الفينيل بروبان الذي يدخل في تركيب اللجنين حيث أن تراكم مركبات الفينول واللجنين له ارتباط بمقاومة النبات للعديد من الممرضات الفطرية وهذا يتوافق مع ما أشار إليه كل من (Manila and Nelson, 2014 ; Anjum *et al*.,2012 ; Benhamou *et al*.,2000; Vanloon *et al* .,1998).

**الجدول (7) المحتوى الفينولي الكلي في نباتات البندورة المعاملة بمستخلصات قشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل *Equisetum arvense* L. كل على حده عند التركيز ( 1- 2-5 %) رشا على الأوراق وريا في التربة كل على حده.**

| المحتوى الفينولي الكلي عند التركيز | الشاهد 1 بدون معاملة ومع عدوى | الشاهد 2 بدون معاملة وبدون عدوى | مستخلص نبات أذناب الخيل | | مستخلص قشور ثمار الموز | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | رشاً على الأوراق | رياً في التربة | رشاً على الأوراق | رياً في التربة |
| %1 | 60mg/L | 52mg/L | 60 mg/L | 85mg/L | 54mg/L | 56mg/L |
| 2% | | | 90 mg/L | 125mg/L | 63mg/L | 66mg/L |
| 5% | | | 115mg/L | 153mg/L | 70mg/L | 80mg/L |

*** المحتوى الفينولي الكلي مأخوذ كمتوسط حسابي لخمسة مكررات.**

يبين الجدول (8) قيمة المتوسط الحسابي للتركيز الكلي للفينولات في نباتات البندورة لخمسة مكررات معاملة بمستخلص الميثانول لنبات أذناب الخيل وقشور ثمار الموز عند التركيز 5 %، كما يبين قيم الانحراف المعياري SD، الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD%، إضافة إلى حد الكشف الكيفي LOD، وحد الكشف الكمي LOQ، حيث كان متوسط التركيز الكلي للفينولات في نبات البندورة تحت تأثير مستخلص الميثانول لنبات أذناب الخيل عند معاملة الرش على الأوراق 115 mg/L، مقارنةً بمعاملة الري في التربة 153 mg/L، وبلغ تحت تأثير مستخلص قشور ثمار الموز في معاملة الرش على الأوراق 70 mg/L، مقارنةً بمعاملة الري في التربة إذ بلغ 80 mg/L، وبالنظر إلى قيم RSD% فقد كانت محصورة في جميع المعاملات بين %(0.45-2.5)، وبالتالي فإن طريقة التحليل جيدة، تراوح حد الكشف الكيفي LOD بين mg/L (770-2794)، وحد الكشف الكمي LOQ تراوح بين mg/L (2333-8466).

**الجدول (8) متوسط المحتوى الفينولي الكلي في نباتات البندورة المعاملة بمستخلص الميثانول لقشور ثمار الموز ونبات أذناب الخيل عند التركيز 5 %، إضافةً لقيم SD، RSD%، LOD، و LOQ مقارنةً بالشاهد**

| التركيز | | الشاهد | | مستخلص أذناب الخيل | | مستخلص قشور ثمار الموز | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | شاهد 1 | شاهد 2 | رش على الأوراق | ري في التربة | رش على الأوراق | ري في التربة |
| 5% | $\bar{X}$ | 60 | 52 | 115 | 153 | 70 | 80 |
| | SD | 2.34 | 1.87 | 2.54 | 0.70 | 1.58 | 2 |
| | RSD% | 3.9 | 3.59 | 2.20 | 0.45 | 2.25 | 2.5 |
| | LOD | 2574 | 2057 | 2794 | 770 | 1738 | 2200 |
| | LOQ | 7800 | 6856 | 8466 | 2333 | 5266 | 6666 |

## الاستنتاجات والتوصيات:

- أظهرت نتائج هذا البحث أن معاملة الري في التربة سواء لمستخلص نبات أذناب الخيل او مستخلص قشور ثمار الموز اعطت نتائج أفضل من الرش على الأوراق في خفض الشدة الإمراضية من جهة وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة تجاه الاصابة بالفطر الممرض *B.cinerea* من جهة أخرى .
- بينت النتائج تفوق مستخلص نبات أذناب الخيل على مستخلص قشور ثمار الموز في خفض الشدة الامراضية من جهة وزيادة الفعالية في تحفيز مقاومة نبات البندورة تجاه الاصابة بالفطر الممرض *B.cinerea* في معاملتلي الرش على الأوراق والري في التربة.

- لحظ ارتفاع المحتوى الفينولي الكلي لنبات البندورة تحت تأثير مستخلص نبات أذناب الخيل ومستخلص قشور ثمار الموز مع زيادة التركيز مقارنة بالشاهد وبالتالي زيادة تحفيز المقاومة لنبات البندورة تجاه الإصابة بالفطر الممرض .
- وبناء على ماسبق يوصى باختبار تأثير مستخلص نبات أذناب الخيل و مستخلص قشور ثمار الموز حقلياً سواء في ظروف الزراعات المحمية أو الحقل المفتوح.

## References:


1-ANJUM,T; FATIMA, S. and AMJAD,S. *physiological changes in wheat during development of loose smut* .Tropical Plant Pathology, Vol(37) 2012, 102-107.

2-ANDREU, V., LEVERT, A., AMIOT, A., COUSIN, A., AVELINE, N. and BERTRAND, C. *Chemical composition and antifungal activity of plant extracts traditionally used in organic and biodynamic farming*. Environmental Science and Pollution Research Vol(25) No(30) 2018, 29971–29982.

3-BENHAMOU, N; GAGNE, S; QUERE, D. and DEHBI, L.*Bacterial-Mediated induced Resistance in cucumber :Beneficial effect of endophytic bacterium serratia plymuthica on the protection against infection by pythium ultimum* .Phytopathology,Vol(90) 2000, 45-56.

4-DUNFORD, H.B. *Horseradish peroxidase :structure and kinetic properties thermostability at different PH levels of peroxidase extracted from four vegetables* . International Food Research Journal , Vol(20) No(2) 2013, 715-719.

5-DENIAU, M.G., MARCHAND, P.A., BERTRAND, C., BONAFOS, R., CHEVELON M., PARVAUD, C.E. and FURET, A. *Willow extract (Salix cortex), a basic substance of agronomical interests.* International Journal of Bio-resource and Stress Management Vol(10) No(4) 2019, 408–418.

6- DAULAGALA, P. W. H. K. P. *Expression of chitinase with antifungal activities in ripening Banana fruit.* , The Open University of Sri Lanka, Polgolla, Sri Lanka. An International Journal society For Tropical Plant Research – INDIA. Vol(3) 2014, 72–79.

7- MANILA ,S and NELSON,R. *Biochemical Changes Induced in Tomato as a Result of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization and Tomato Wilt Pathogen Infection* .Asian Journal of Plant Science and Research,Vol(4) No(1) 2014, 62-68.

8-MAYER,A.M. *Polyphenol oxidases in plants and fungi : Going places? A review* .Phytochemistry, Vol(67) 2006, 2318-2331.

9-MELO,G. A.; SHIMIZU,M. M. and MAZZAFERA, M.*Polyphenoloxidase activity in coffee leaves and its role in resistance against the coffee leaf miner and coffee leaf rust* .Phytochemistry,Vol(67) 2006, 277-285.

10-OLIVEIRA, C.M.; FERREIRA, A.C.S.; DE FREITAS, V.; and SILVA, A.M. *Oxidation mechanisms occurring in wines* . Food Res .Int., Vol(44) 2011, 1115-1126.

11-RAMAMOORTHY, V.;RAGUCHANDER, T. and SAMIYAPPAN, R.(2002).*Induction of defense- related proteins in tomato roots treated with Pseudomonas fluorescens PFI and Fusarium oxysporum f. sp.lycopersici.* Plant and Soil, Vol. 239,55-68.

12-ROLFF, M.; SCHOTTENHEIM , J.; DECKER, H.; TUCZEK, F. *Copper-$O_2$ reactivity of tyrosinase models towards external monophenolic substrates : Molecular mechanism and comparison with the enzyme* . Chem. Soc. Rev. Vol(40) 2011, 4077-4098.

13-SUBRAMNIAN, D. *Enzyme Pathogenesis . Current Science.* Vol(37) 1968, 35-36.

14-SHIMZU, N.; HOSOGI, N.; HYON, G. S.; JIANG, S.; INOUE, K. and PARK, P. *Reactive oxygen species(ROS) generation and ROS induced lipid peroxidation are associated with plant membrane modification in host cells in response to AK-toxin from Alternaria alternate Japanese pear pathotype* .J. Gen Plant Pathol., Vol(72) 2006, 6-15.
15-SINGLETON, V. L. and ROSSI, J. A. J.R. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic - phosphotungstic acid reagents.* Amer. J. Enol. Viticult. Vol( 16) 1965, 144-158.
16-SARIKA, D.; KUMAR, P.S.S; ARSHAD, S.; and SUKUMARAN, M. K. *Purification and Evaluation of Horseradish Peroxidase Activity.* International Journal of Current Microbiology and Applied Science. Vol(4) No(7) 2015, 367-375.
17-VAN LOON, L. C; BAKKER, C .M.J. and PIETERSE , P. A. H. M. *Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria.* Annula Review of Phytopathology. Vol(36) 1998, 453-483.
18-WAKAMATSU, K. and TAKAHAMA, U. *Changes in peroxidase activity and peroxidase isoenzymes in carrot callus* . Physiology of Plants, Vol(88) 1993, 167-171.
19- WANG, M., GAO, L., DONG, S., SUN, Y., SHEN, Q. and GUO, S. *Role of silicon on plant-pathogen interactions*. Frontier in Plant Science, 2017, 8. 20- ZHU, Y.X., GONG, H.J. and YIN, J.L. *Role of silicon in mediating salt tolerance in plants: a review.* Plants, Vol(8) No(6), 2019, 147.