

THE EFFICIENCY OF TWO ANTIOXIDANTS AND GROWTH REGULATORS AGAINST *Botrytis cinerea*

El-Gali, Z. I.; N. A. Mohamed and A. A. Larbod

Dept. of Plant Protection, Fac. of Agric., Omer Al-Mukhtar Univ. El-Beida, P.O. 919. Email: Z_Elgali@yahoo.com

تقييم فعالية التأثير التثبيطي لأثنين من مضادات الأكسدة ومنظمات النمو ضد الفطر *Botrytis cinerea*

زهرة إبراهيم الجالي ، نوارة علي محمد و أمينة أمبارك لأربيد
قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

الملخص

أجري هذا البحث في مختبرات كلية الزراعة بجامعة عمر المختار، ليبيا خلال الموسم الزراعي 2012/2011 لمعرفة مدى تأثير إضافة مضادات الأكسدة ومنظمات النمو على النمو الخضري أو الميسليومي للفطر *Botrytis cinerea* المسبب لمرض العفن الرمادي أو عفن الرقبة في البصل، وقد أدت المعاملة بالهيدروكوبون إلى خفض معنوي في النمو القطري للفطر عند جميع التراكيز المستعملة مقارنة بالشاهد، في حين أدت المعاملة بالامونيوم تريتيت إلى تشجيع النمو الميسليومي في البداية وبارتفاع التركيز إلى 5% لم يحصل نمو وتوقف على الإطلاق، كما خفضت المعاملة بمنظم النمو الجبرلين النمو القطري للفطر بنسب بسيطة جدا في حين أن المعاملة بمنظم النمو النفتالين اسيتك أسيد أدت إلى تشجيع النمو القطري للفطر بشكل معنوي أكثر من الشاهد وعند جميع التراكيز المستخدمة.
الكلمات المفتاحية: البصل ، مضادات الأكسدة ، منظمات النمو، *Botrytis cinerea*، النمو الخضري ، العفن الرمادي ، عفن الرقبة.

المقدمة

ينتمي فطر *Botrytis cinerea* إلى مجموعة الأعفان التي تهاجم عدداً كبيراً من المحاصيل الزراعية في الحقل (Coly-Smith وآخرون، 1980) والبيت الزجاجي (Eden وآخرون 1996)؛ الفطر بخصائص فسيولوجية (Sutton و Sirjusingh، 1996) وأيضاً في المخزن (Reyes، 1990؛ EL-Abd، 2002). يتصف هذا الفطر بمقاومته للمبيدات العضوية وغير العضوية (Parry و Wood، 1958، 2004) من حيث مقاومته للمبيدات العضوية وغير العضوية (Moncomble و Leroux، 1993)، وحيث أن الاستعمال المتكرر والعشوائي لمبيدات الآفات في الزراعة يتسبب عنها ظهور العديد من المشاكل البيئية منها تلوث الماء والتربة والحيوانات والغذاء بالإضافة إلى تلوث المنتجات الزراعية إضافة إلى القضاء على الميكروبات النافعة بالتربة ، بالإضافة إلى فقدان اختيارية المبيد ضد الكائنات الممرضة والآفات والحشائش (Stangarlin وآخرون، 1999)، لذا كان السبيل الأمثل للتقليل من التأثيرات السلبية لاستخدام هذه المبيدات هو تطوير برامج لمكافحة أمراض النبات لتشمل استخدام المقاومة الحيوية عن طريق إدخال الكائنات المضادة مثل البكتيريا، الخمائر و الفطريات أو نواتجها الايضية أو عن طريق استخدام مبيدات ذات أصل نباتي مثل المستخلصات أو الزيوت النباتية أو الأحماض العضوية وأملحها وخاصة ضد فطريات الأعفان وذلك لحث المقاومة وتنشيط أنظمة دفاع النبات المستترة والتي تظهر نفسها بمجرد حدوث تلامس أو اتصال بين النبات والمثير الحي (Stangarlin و Pascholati، 1994؛ Di Piero و Pascholati، 2002؛ Sun وآخرون 2007؛ Stangarlin وآخرون، 2008؛ Stangarlin وآخرون، 2010) (Larous وآخرون، 2007؛ Carré-Missio وآخرون، 2010). وقد أكدت دراسات عديدة على أن استخدام مضادات الأكسدة (Antioxidants) لها تأثيراً فعالاً في تثبيط النمو القطري للفطريات الممرضة ، حيث استخدم Galal و Abdou (1996) ستة عشر نوعاً من مضادات الأكسدة والتي أثبتت فعاليتها في تثبيط النمو القطري للفطريات *Fusarium moniliforme* ، *F. solani* و *F. oxysporum*. بينما استخدم Elwakil و El-Metwally (2000) مجموعة من مضادات الأكسدة اشتملت على: Sodium Salicylic acid، Citric acid، Benzoic acid.

Hydroquinone، و Sodium citrate، benzoate، و كان الـ Hydroquinone أكثرهم فعالية في تثبيط نمو الفطريات: *F. solani*، *F. oxysporum*، *F. moniliforme*، *Cephalosporium*، كذلك اثبت Larous و آخرون (2007) فعالية استخدام Sodium benzoate في تقليل الوزن الجاف لميسليوم للفطر *Penecillium expansum* وتقليل إنتاج سم الباتوليون، أما عن تأثير مركب امونيووم ترترتيت على النمو الفطري لعزلات مختلفة من الفطر *R. solani* فقد أوضحت الدراسة مقدرة الفطر على استخدام المركب كمصدر للنتروجين وزيادة النمو الميسليومي لجميع العزلات المختبرة (Umpanya و Gupta، 2009)، كما أكد Lopez-Berges وآخرون (2010) على إن اختلاف شدة وضراوة للفطر الممرض يختلف باختلاف مصدر النتروجين في البيئة.

و عن مدى فعالية استخدام منظمات النمو (Growth Regulators) لمقاومة الفطريات الممرضة للنبات فقد اثبتت دراسات عديدة فعالية التركيزات المرتفعة (10%) من منظم النمو NAA في تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* (Dimond، 1970) والفطر *Nectria gallgina* (Anand وآخرون، 1975)، كذلك وجد El-Abd (2002) أن استخدام كل من منظم النمو الجبرالين والنفتالين اسيتك اسيد أدى إلى زيادة النمو القطري للفطر *B. cinerea* وحتى تركيز 50 جزء في المليون لكلا المركبين ثم تناقص النمو بعد ذلك بارتفاع التركيز. كما اثبت Al-Gorani و Lopez (2009) فعالية استخدام حمض الجبرالين بتركيز 500 ميكروجرام/مل/طبق في تقليل مساحة المستعمرة النامية للفطرين *Penecillium digitatum* و *Penecillium italicum* في الأطباق المعاملة وتقليل تكوين الجراثيم وفي ذات الوقت أدى إلى حدوث تشوه ونمو غير طبيعي للهيئات.

أما هذه الدراسة فقد أجريت بهدف اختبار فعالية التأثير التثبيطي لاثنين من مضادات الأكسدة هما (Hydroquinone و Ammonium tartrate) بالإضافة إلى اثنين من منظمات النمو (Gibberellic acid، Naphthalene acetic acid) على النمو القطري للفطر *Botrytis cinerea* معملياً وهي جزء من رسالة ماجستير تهدف إلى مقاومة مرض العفن الرمادي على البصل بدون استخدام المبيدات.

المواد والطرق:

الفطر الممرض:

تم الحصول على عزلة نقية من فطر *B. cinerea* وذلك بأخذ جزء من النمو الفطري من تحت حراشيف أبيض مصابة بمرض عفن الرقبة أو العفن الرمادي وذلك بعد تنقيتها وتعريفها.

الكيمويات:

مضادات الأكسدة: الهيدروكويون ($C_6H_6O_2$ Hydroquinone) والأمونيوم ترترتيت (Ammonium tartrate) تم الحصول عليهما من (Lausen, Switzerland). منظمات النمو: الجبرالين (Gibberellic acid- GA3- $C_{19}H_{22}O_6$) و النفتالين اسيتك اسيد (Naphthalene acetic acid- NAA $C_{12}H_{10}O_2$) تم الحصول عليها من (Sigma-Aldrich - Sigma Chemical Co. GmbH. Sternheim. Germany). ومن ناحية أخرى فإن كل الكيمياويات السابقة تمت إذابتها في الماء المقطر والمعقم للحصول على التركيزات المطلوبة.

التأثير على النمو القطري:

اتبعت في هذه الطريقة تقنية الغذاء المسموم (Dixit وآخرون، 1974) لتحضير التراكيز المطلوبة من مضاد الأكسدة (الهيدروكويون) وزعت الكميات التالية من التركيز الأساس: 0، 5، 10، 20، 40 ميكرومول انفراديا في دوارق زجاجية مخروطية تحوي 100، 95، 90، 80، 60 مل من الوسط المغذي أجار البطاطس والسكر المعقم والمبرد بحدود 45م°. صبت الأوساط الغذائية المدعمة بمضاد الأكسدة في أطباق بتري بواقع 4 مكررات/تركيز، وبعد تصلب الوسط تم تلقيحه من مزرعة نقية للفطر *B. cinerea* بعمر 7 أيام بقرص 0.4 مم وضع بشكل مقلوب على سطح الوسط وفي منتصف الطبق وحضنت الأطباق في درجة حرارة 20 ± 2 م°. تم تسجيل معدل النمو القطري للفطر بعد 3 و 5 أيام من التحضين من خلال قياس قطر متعامد لمستعمرة نمو الفطر واخذ معدل القراءتين، وحساب مساحة المستعمرة النامية في كل طبق ومقارنتها بمعاملة الشاهد (0%).

في حال استخدام مضاد الأكسدة (أمونيوم ترترتيت) تم تعديل كمية الوسط الغذائي بما يتناسب مع التراكيز: 0، 0.5، 1، 2، 4، 5 ميكرومول. وفيما يتعلق باستخدام منظمات النمو (حمض الجبرالين، النفتالين اسيتك أسيد) تم إتباع نفس الخطوات السابقة ولكن بتركيزات 0، 12.5، 25، 30، 37.5 جزء في المليون.

التحليل الإحصائي:

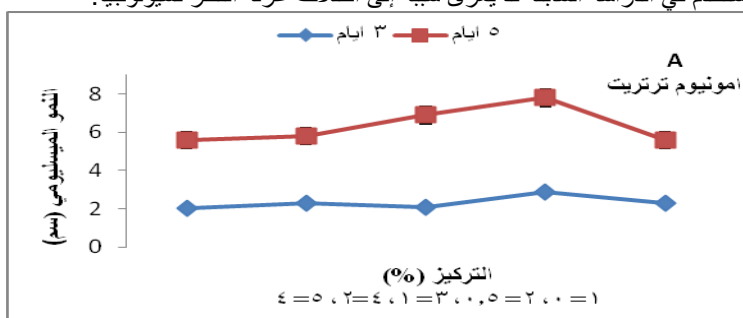
صممت التجربة باستخدام التصميم العشوائي التام CRD في أربع مكررات وحللت النتائج إحصائياً باستخدام طريقة تحليل التباين ANOVA على حاسوب شخصي بواسطة برنامج COSTAT وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار Duncan's multiple ranges عند مستوى احتمال 5%.

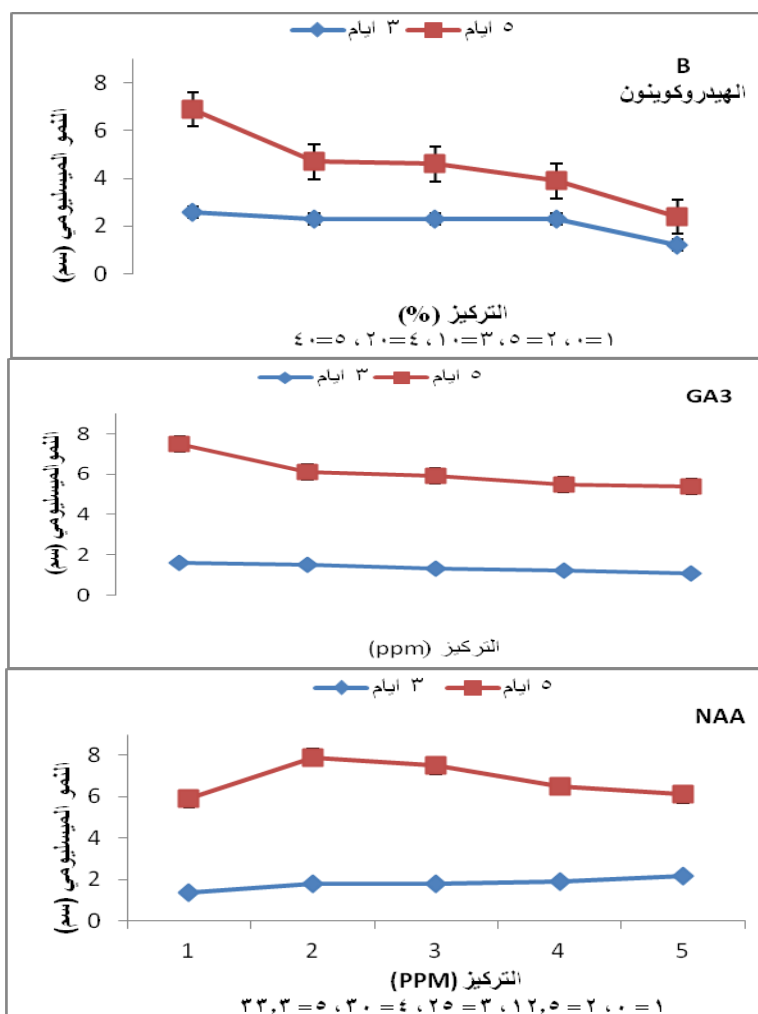
النتائج والمناقشة

يوضح الشكل 1 تأثير إضافة مضادات الأكسدة (أمونيوم ترترت و الهيدروكوبون) في الوسط المغذي على النمو الفطري (الميسليومي) للفطر *B. cinerea* ويتضح من التجربة أن استخدام الامونيوم ترترت يعمل على تشجيع النمو الخضري وزيادة مساحة المستعمرة النامية مقارنة بالهيدروكوبون، ويلاحظ من الشكل 1- A انه عند إضافة الامونيوم ترترت يزداد النمو الميسليومي للفطر بزيادة التركيز المستخدم من 0.5% وحتى 2% حيث بلغ اكير قطر له أعلى من الشاهد (تركيز 0%) وهذه النتيجة تتفق مع ما وجده Gupta و Upmanya (2009) وقد يعزى ذلك إلى قدرة الفطر على استخدام الامونيوم كمصدر للنيتروجين في البيئة والذي يشجع نمو الفطر، أما عند ارتفاع التركيز إلى 4% فقد سجلت النتائج انخفاض ملحوظ في النمو الفطري. وباستقراء النتائج (جدول 1) يبين ارتفاع معدل مساحة نمو المستعمرة عند التركيزات الأولى وبارتفاع التركيز إلى 5% لم يظهر نمو للفطر على الإطلاق وربما يعود ذلك إلى زيادة سمية النيتروجين بزيادة تركيزه في البيئة، وهذا يتفق مع نتائج Lopez-Berges وآخرون (2010) في حدوث تثبيط تام للنمو الخضري للفطر *F. oxysporum* المسبب للذبول في الطماطم في حالة استخدام مركبات الامونيوم مثل امونيوم نترت و امونيوم ترترت كمصدر للنيتروجين في البيئة.

أما عن نتائج تأثير الهيدروكوبون على النمو الفطري (شكل B-1) ومساحة المستعمرة الفطرية (جدول 1) فقد تلاحظ انخفاض النمو الخضري للفطر *B. cinerea* في جميع التراكيز المستخدمة وفي كلا قترتي التحضين مقارنة بالشاهد (تركيز 0%)، وقد كان التركيز 40% أكثرهم فعالية حيث بلغ معدل مساحة المستعمرة الفطرية 4.73 سم² بينما بلغ معدل مساحة المستعمرة النامية لمجموعة الشاهد 37.8 سم². وتتفق هذه النتائج مع النتائج التي تحصل عليها Galal و Abdou (1996) و El-Metwally، Elwakil، و Fusarium spp (2000) والتي تؤكد على قدرة الهيدروكوبون على إعاقة النمو الخضري لأنواع الفطر *Fusarium spp* وعلى تثبيطه لمجموعة من فطريات البذرة في الفول السوداني وربما تعود قدرة هذا المركب التثبيطية إلى خواص المركب الكيميائية (The Marck index، 1976).

وباستعراض نتائج دراسة تأثير منظمات النمو حمض الجبرليك (GA3) و النفتالين اسيتك اسيد (NAA) كما هو في الشكل 1. والجدول 2. والتي يظهر منها مدى فعالية حمض الجبرليك في خفض النمو الميسليومي وزيادة مساحته في الطبق مقارنة باستخدام النفتالين اسيتك اسيد الذي شجع النمو الفطري في جميع التركيزات المستعملة. فإن النتائج تشير إلى مقدرة GA3 على إعاقة النمو الفطري عند جميع التركيزات المستخدمة مع ملاحظة أن تأثيره كان محدوداً خلال الثلاث أيام الأولى من التحضين ثم زادت فاعليته بعد ذلك بزيادة فترة التحضين حتى (5 أيام) مقارنة مع NAA والذي كان تأثيره مشجعاً للنمو الفطري ليتفوق على الشاهد في جميع التركيزات. وبزيادة تركيز NAA في البيئة بدأ النمو الفطري ينحسر ولكن ليس أقل من الشاهد. وهذه نتائج تتفق مع ما تحصل عليه El-Abd (2002) والتي أثبتت ان الجبرلين والنفتالين كانا مشجعان للنمو الخضري للفطر *B. cinerea* عند التركيزات المنخفضة وأنه بزيادة التركيز إلى 50 جزء في المليون حدث تثبيط للنمو الفطري للفطر، كما وجد أن اختلاف تأثير التركيز المستخدم في هذه الدراسة عن التركيز المستخدم في الدراسة السابقة قد يعزى سببه إلى اختلاف عزلة الفطر فسيولوجياً.





شكل 1. تأثير تركيزات مختلفة من مضادات الأكسدة (أمونيوم تارتريت و الهيدروكوينون) والنمو (NAA، GA3) على النمو القطري للفطر *B. cinerea* ومنظمات

جدول 1: تأثير مضادات الأكسدة على مساحة المستعمرة النامية (سم²) للفطر *B. cinerea*

الهيدروكوينون (Hydroquinone)			أمونيوم تارتريت (Ammonium tartrate)		
أيام التحضين		التركيز	أيام التحضين		التركيز
5	3	Conc. (%)	5	3	Conc. (%)
37.8 a	5.12 a	0	34.2 bc	3.14 b	0
17.0 b	4.37 a	5	29.7 bc	3.98 ab	0.5
16.3 b	4.34 a	10	38.2 ab	4.19 ab	1
11.8 c	4.19 a	20	47.3 a	5.76 a	2
4.71 d	2.0 b	40	26.1 c	3.77 ab	4
—	—	—	NG	NG	5

الأرقام داخل الجدول متوسط 4 مكررت.

NG: لا يوجد نمو
الأرقام في نفس العمود والمتبوعة بنفس الحرف تعني عدم وجود فروق معنوية

جدول 2. تأثير منظمات النمو على مساحة المستعمرة النامية (سم²) للفطر *B. cinerea*

النفثالين اسيتك اسيد (NAA)		الجبيرالين (GA3)		التركيز Conc.(ppm)
أيام التحضين		أيام التحضين		
5	3	5	3	
28.5 c	1.58 b	43.7 a	2.0 a	0
51.1 a	2.60 b	29.3 b	1.6 ab	12.5
48.7 ab	2.71 b	25.8 b	1.4 ab	25
46.3 ab	2.80 b	23.0 b	1.2 b	20
37.9 bc	4.56 a	22.4 b	1.0 b	27.3

الأرقام داخل الجدول متوسط 4 مكررات.
الأرقام في نفس العمود والمتبوعة بنفس الحرف تعني عدم وجود فروق معنوية

المراجع

- 1- Al-Gorani, R.U.M. and Lopez, A.M. 2009. Effect of plant hormone (GA3) on the fungi causing green and blue mold of citrus. (Abstract). 10th Arab congress of plant protection, October, 2009, Beirut, Lebanon.
- 2- Anand, V.K.; Bauer, C. and Heberlind, T. 1975. Pathways of carbon fixation in green plant. Ann. Reiv. Biochem. 44:125-145.
- 3- Carré-Missio, V.; Rodrigues, F.Á.; Schurt, D.A.; Rezende, D.C.; Ribeiro, N.B. and Zambolim, L. 2010. Foliar application of potassium silicate, acibenzolar-S- methyl and fungicides on the reduction of Pestalotia leaf spot on strawberry. Tropical Plant Pathology.35:182-185.
- 4- Coly-Smith, J.R.; Verhoff, K. and Jarvis, W.R. 1980. The Biology of *Botrytis*. Academic Press, London.
- 5- Dimond, A.E. 1970. Composition factors associated with the growth responses of young cotton plants to GA3 . Plant physiol. 33:344-346.
- 6- Di Piero, R.M., and Pascholati S.F. 2002. Effect of the cyanobacteria *Synechococcus leopoliensis* and *Nostoc* sp. on *Colletotrichum sublineolum* and on the interaction of the fungus with sorghum plants. Fitopatologia Brasileira.;27:163-169.
- 7- Dixit, S.N., Tripathy, S.C. and Upadhyey, R.R. 1974. The anti-fungal substances of role flower (*Rose indica*). Economic Bot. 30: 371-374.
- 8- Eden, M.A., Hill, R.A. and Stewart, A. 1996. Biological control of botrytis stem infection of greenhouse tomatoes. Plant Pathol. 45: 276-284.
- 9- EL-Abd, S.M. 2002. Studies on some fungal diseases infection crop in Egypt. Ph. D. Thesis Submitted to Univ. of Alexandria. Pp 204.
- 10- Elad Y, Evensen K (1995) Physiological aspects of resistance to *Botrytis cinerea*. Phytopathology 85: 637-643.
- 11- Elad, Y. Williamson, B. Tudzynski, P. and Delen, N.(2004). Botrytis: Biology, Pathology and control. Kluwer Academic publisher 428pp
- 12- Elwakil, M. and Ei-Metwally. 2000. Hydroquinone, A Promising antioxidant for managing seed-borne pathogenic fungi of peanut. Pakistan J. of Bio. Sciences 3(3): 374-375.

- 13- Galal, A.A. and Abdou, S. 1996. Antioxidants for the control of fusarial diseases in cowpea. Egypt. J. Phytopathol., 24:1-12.
- 14- Larous, L., Hendel, N., Abood, J.K. and Ghoul, M. 2007. The growth and production of patulin mycotoxin by *Penicillium expansum* on apple fruits and its control by the use of propionic acid and sodium benzoate. Arab J. Pl. Prot. 25: 123-128.
- 15- Leroux P., Moncomble D.1993. Lutte chimique contre la pourriture grise de la vigne (2ième partie) Phytoma déf. vég., , 461, 23-27
- 16- Lopez-Berges, M.S., Rispail, N., Prados-Rosales, R.C. and Di Pietro, A. 2010. A nitrogen response pathway regulates virulence in plant pathogenic fungi. Plant Signaling & Behavior 5(12): 1623-1625.
- 17- Parry, K.E. and Wood, R.K.S. 1958. The adaptation of fungi to fungicides: Adaptation to copper and mercury salts. Ann. Appl. Biol., 46:446-456.
- 18- Reyes, A.A.1990. Pathogenicity, growth and sporulation of *Mucor mucedo* and *Botrytis cinerea* in cold or CA storage. Hort. Science 25:549-552.
- 19- Sirjusingh, C., and Sutton, J.C. 1996. Effects of wetness duration and temperature on infection of geranium by *Botrytis cinerea*. Plant. Dis., 80: 160-165.
- 20- Stangarlin, J.R and Pascholati, S.F. 1994. Protection of maize seedlings against *Exserohilum turcicum* by *Saccharomyces cerevisiae*. Summa Phytopathologica.20:16-21.
- 21- Stangarlin, J.R., Kuhn, O.J, and Schwan-Estrada, K.R.F. 2008. Control of plant diseases by plant extracts. Revisão Anual de Patologia de Plantas.;16:265-304.
- 22- Stangarlin, J.R, Schwan-Estrada, K.R.F., Cruz, M.E.S. and Nozaki, M.H. 1999. Medicinal plants and alternative control of phytopathogens. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento.;11:16-21
- 23- Stangarlin, J.R., Schulz D.G., Franzener, G., Assi, L., Schwan-Estrada, K.R.F. and Kuhn, O.J. 2010. Induction of phytoalexins in soybean and sorghum by *Saccharomyces boulardii*. Arquivos do Instituto Biológico.77:91-98.

- 24- Sun, O.L., Gyung, J.C., Kyoung, S. J., He, K. L., Kwang, Y. C. and Jin Cheo, I K. 2007. Antifungal Activity of Five Plant Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. Plant Pathol. J. 23(2) : 97-102.
- 25- The Merck index, Ninth Edition. 1976. An encyclopedia of chemicals and drugs. Merck & Co., Inc. USA,
- 26- Umpanya S. and Gupta, K. 2009. Physiological variation among French bean isolates of *Rhizoctonia solani*. J. of Plant Diseases Sciences 4(2): 160-163.

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF TWO ANTIOXIDANTS AND GROWTH REGULATORS AGAINST *Botrytis cinerea*

El-Gali, Z. I.; N. A. Mohamed and A. A. Larbod

Dept. of Plant Protection, Fac. of Agric., Omer Al-Mukhtar Univ. El-Beida, P.O. 919. Email: Z_Elgali@yahoo.com

ABSTRACT

This study was conducted at Faculty of Agriculture, Omar El-Mokhtar University, Libya during 2011/2012, to investigate the efficiency of two antioxidants and two of growth regulators on the vegetative and linear growth of *Botrytis cinerea*. Hydroquinone was more effective than Ammonium tartrate. At 5% conc. of Ammonium tartrate, completely inhibited the growth of the fungus. The inhibition growth was less effective when GA₃ was used, while NAA stimulated the growth of the fungus.

Keywords: Onion, Antioxidants, growth regulators, *Botrytis cinerea*, linear growth, Gray mold, bulb rot.

كلية الزراعة – جامعة المنصورة
كلية الزراعة – جامعة المنصورة

قام بتحكيم البحث
أ.د / محمد عبد الرحمن الوكيل
أ.د / سمير طه العفيفي