

PhD. thesis abstract**Application of Nanomaterials to Rice for Disease Resistance****Sherihan Mahmoud Mohamed Bekheet¹, Sayed Saad El-Din Aboshosha¹, Mohsen El-Sayed Saleh², Ahmed Farag El-Bebany¹, Amany Hasan Shams¹**¹Department of Plant pathology, Faculty of Agriculture, Alexandria University²Seed pathology, Plant pathology institute, Agriculture Research center (ARC)**ABSTRACT**

Rice (*Oryza sativa*), a monocot gramineae plant, is one of the world's most significant food crops. Rather, it is the primary source of food for half of the world's population, particularly in Asia's southeastern areas. Rice is one of Egypt's most significant major grain crops, ranking second after wheat in terms of importance as a source of food for Egyptians. It is also one of the most important summer crops. This is owing to rice's nutritional value, as well as the fact that it is one of the most profitable crops for farmers. Rice is affected by many pathogens, the most important of which are brown spot disease caused by the fungus *Bipolaris oryzae* and leaf blight caused by the bacteria *Xanthomonas oryzae*. The following are the most important obtained results of the current work:

- 1- Ten Egyptian rice cultivars Sakha 101, Sakha 104, Sakha 106, Sakha 107, Giza 176, Giza 177, Giza 178, Giza 182, Egyptian hybrid and Egyptian jasmine were obtained from the Rice Technology Research Center - Sakha, Kafr El-Sheikh / Egypt and screened for pathogen association.
- 2- The obtained fungi were initially identified in terms of the morphological shape of the fungal cultures and the shape of the fungal spores as *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Bipolaris hawaiiensis*, *Cephalophora tropica*, *Curvularia lunata*, *Curvularia tuberculata*, *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium verticillioides*, *Negrospora sp.*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus oryzae*, and *Trichoderma sp.* as well as *Bipolaris oryzae* (10 isolates) that causes brown leaf spot disease on rice.
- 3- The fungal identification was confirmed using molecular method. Genomic DNA of the isolates were extracted, and a pair of primers for the internal transcribed spacer (ITS) regions (ITS1, ITS4) were used to amplify the ITS2 region 5.8 ITS1s - from the rRNA (rDNA) genes using the Polymerase chain reaction (PCR). The nucleotide sequences were determined using a sequencer and using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) in GenBank, and by comparing the sequences obtained for the tested isolates in isolates of each isolate separately with the isolates recorded in the gene bank, it was found that there is a similarity rate of up to 100% For *Alternaria alternata*, 100% for *Curvularia lunata*, 100% for *Cephalophora tropica*, 99% for *Fusarium chlamydosporum*, 98.5% for *Fusarium verticillioides*, and a percentage ranging between 92 and 99% for *Bipolaris oryzae* (10 isolates recorded with global isolates). Using the MEGA 6 program, a genetic tree was created to study the phylogeny of the different isolates based on the similarity in the nucleotide sequence.
- 4- Two bacterial isolates were associated with varieties Giza 178 and Sakha 104 isolated and the initial identification using semiselective medium indicated that they are *Xanthomonas oryzae* the causal agent of rice bacterial leaf blight (BLB).
- 5- The isolated bacteria were initially identified in terms of cell shape, their interaction with Gram stain and the shape of the developing colonies on some differential environments, including nutrient agar, yeast extract and Peptone Sucrose Agar, in addition to the physiological and biochemical tests adopted to identify the genera that cause leaf blight on rice, including the tests that performed: Indole formation, starch hydrolysis, hydrolysis of Tween 80, fermentation of some sugars such as acid production from lactose, glucose, fructose, sorbitol, mannitol, and sucrose, growth in 5% NaCl.
- 6- the isolated bacteria genomic DNA was extracted for their use in PCR identification experiments, and accordingly: the obtained isolates were identified by using the 16S rRNA gene using a pair of global primers (P0, P6) and then showing its sequence of nucleotides using Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) search in GenBank. It was found that 2 isolates belong to the bacterium *Xanthomonas oryzae* and these isolates were recorded with an accession number. MZ714131 and MZ714557.

- 7- The pathogenicity of *Bipolaris oryzae* isolates on 21 days old rice cultivars (Sakha 108, Sakha Super 300, Giza 177, and Giza182 and Egyptian hybrid) were carried out. Disease severity was estimated using a numerical scale from 0 to 9 as a criterion for differentiating between isolates. The results showed significant differences between the different isolates in their pathogenicity, as isolates BOS104 and BO2G177 were the most virulent isolates for cultivar Giza 177 and the isolate BO2G177 was the highest on Giza 182. The cultivar Giza 177 had the highest susceptibility to infection and it was found that Sakha 108 had the lowest susceptibility to infection, while the cultivars Sakha Super 300, Giza 182 and the Egyptian hybrid were moderate of susceptibility.
- 8- The pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* isolates on rice cultivars (Sakha104 and Giza 178), was conducted by Cassette Holder Method. The obtained results indicated that typical BLB symptoms were observed after rice plants were inoculated with bacteria.
- 9- Nano-emulsions were used for three natural oils, which are cinnamon, mint and tea tree, as one of the modern methods used to combat rice diseases, as follows:
An analysis of the three oils was done using Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to determine the active compounds and the percentage of their presence in each oil. revealed that the following components, cinnamaldehyde, eugenol, benzyl benzoate, methyl eugenol, eugenol, linalool, β - caryophyllene and estragole were identified as major components in *Cinnamomum zeylanicum* essential oil. *Melaleuca alternifolia* essential oil chemical composition indicated that Terpinenol-4, Aromandendrene , alpha-Terpineol as major components were the major components in *Mentha piperita* essential oil are Pulegone (D) , Mint Furanone, Isomenthone, Levomenthol, Eucalyptol , and Caryophyllene .
The oils were converted to a nano-formulation using a sonicator probe to connect to nano-sized particles. Particle characterization was done using a droplet size device and confirmed using a Transmission Electron Microscopy (TEM) and the diameter of the particles ranged from 17 to 60 nm.
- 10- Emulsion and nano-emulsions of (*Cinnamomum zeylanicum*, *Melaleuca alternifolia* and *Mentha piperita*) oils were used with different concentrations of 12.5, 25, 50, 100, 200, 375, 750 and 1500 $\mu\text{g/ml}$ against ten isolates of the fungus *Bipolaris oryzae* and two isolates of bacteria *Xanthomonas oryzae* in the laboratory. The results showed that the use of oils in the nano form was more effective. Compared to the raw image, there was a difference in the used concentrations, where cinnamon nanoemulsion showed the best effect at a concentration of 200 $\mu\text{g/ml}$ compared to emulsion at 375 $\mu\text{g/ml}$, followed by nano-emulsion of tea tree oil and then nano-emulsion of peppermint oil.
- 11- The abovementioned essential oils emulsion and nanoemulsion were used as grains treatment for Giza 177 cultivars as susceptible to infection and Sakha 108 as resistant cultivars by soaking for 12 hours to study their effect on germination rate the obtained data indicated that cinnamon (*C. zeylanicum*) essential oils nanoemulsion formulation concentrations were more efficient than Tea tree and Mentha in decreasing the percent of rice grain infection compared to control. The percentage of infection in control grains (0 $\mu\text{g/ml}$) was 34% in Giza 177 and 25.75% in Sakha 108, while the percentages of infection were declined after rice seeds were treated with *C. zeylanicum* at concentrations 350 $\mu\text{g/ml}$ and 750 $\mu\text{g/ml}$ up to 0%. On the parallel, the same concentration of *M. alternifolia* decreased the infection percent up to 8% in Giza 177 and 8.5 in Sakha 108 and *M. piperita* to an inhibition of 2.5% in Giza177 and 5.25% in Sakha108.
- 12- Cinnamon oil nanoemulsion was used as the best treatment to study its effect on the mycelial growth and spores of one of the isolates of the fungus *Bipolaris oryzae* by examining by scanning electron microscope. The microscopic observations showed the images of conidia and mycelia of the control for *B. oryzae* with typical net structure and smooth surface. While the nanoemulsion treatment clearly damaged the hyphae and conidia of *B. oryzae* as fungal mycelia and conidia were sunken, wrinkled and damaged after 24 h.
- 13- the efficacy of *C. zeylanicum* nanoemulsions against brown spot disease under greenhouse condition was determined. The disease severity was significantly reduced by the treatments compared with the untreated control for two rice cultivars Giza 177 (susceptible) and Sakha 108 (resistant). The lowest disease severity percentages, being 0.6 and 0.01% were detected with nanoemulsion treatment in cultivar Giza 177 and Sakha 108, respectively followed by 1.44 and 0.15 in case of plants infected with isolate 10 and nano emulsion with cultivars Giza177 and Sakh108, respectively.
- 14- This was followed by a scanning electron microscope imaging of the prepared and untreated leaves of cinnamon oil nanoemulsion. In the inoculated control, *B. oryzae* succeeded to infect and colonize rice leaf segments. Conidia germinated and produce hyphal filaments that adhered to the host surface. Small oval lesions began to appear, and long hyphal strands were visible at lesion margins. In rice leaves segments treated with *Cinnamomum zeylanicum* nanoemulsion, conidia did germinate, the hyphae failed to penetrate the rice leaves and no appressoria were formed some of the appressoria were deformed, and most were not able to penetrate the rice leaf epidermis.

15- The relationship between the activity of enzymes associated with resistance and the accumulation of phenolic substances and resistance in rice leaves was studied. The enzymatic activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes and phenolic compounds were estimated after 6, 12 and 24 hours of infection in the case of treatment with cinnamon nanoemulsion 24 hours before infection. Spray on the leaves compared to the untreated spray for the Giza 177 and Sokha 108 items. Sakha 108 cultivar plants infected with *B. oryzae* isolate 10 and treated with nanoemulsion had highest total phenolic content (0.505 mg/g fresh weight) compared with control and plants of the same cultivar infected with another isolate. The same trend was noticed with plants of Giza 177 cultivar when infected with *B. oryzae* isolate 10 and treated with nanoemulsion (0.5840 mg/g fresh weight). In two cultivars total phenolic content continued to increase gradually over the test period, as the highest was recorded after 24 hrs. of treatments.

الملخص العربي

تطبيقات مركبات النانو في مقاومة أمراض الأرز

شريهان محمود محمد بخيت¹، سيد سعد الدين أبو شوشه¹، محسن السيد صالح²، أحمد فرج البيباني¹،

أمانى حسن شمس¹

¹ قسم أمراض النبات- كلية الزراعة - جامعة الأسكندرية

² أمراض البذور - معهد بحوث أمراض النباتات- مركز البحوث الزراعية

يعتبر محصول الأرز (*Oryza sativa*)، (الذي يتبع العائلة النجيلية (Family Gramineae) من أهم المحاصيل الغذائية في العالم بل أنه يحتل المركز الرئيسي في تغذية نصف سكان العالم خاصة في المناطق الجنوبية الشرقية من آسيا. ويحتل الأرز أحد أهم محاصيل الحبوب الرئيسية في مصر ويأتي في المرتبة الثانية بعد القمح ويصاب الأرز بالعديد من مسببات المرضية ومن أهمها مرض التبغ البني المتسبب عن الفطر *Bipolaris oryzae* ولفحة الاوراق المتسببة عن البكتيريا *Xanthomonas oryzae* وفيما يلي أهم النتائج المتحصل عليها:

1- تم عزل عدد 14 جنس من الفطريات المصاحبة للحبوب وهي

(*Curvularia lunata*, *Asprgillus niger*, *Asprgillus flavus*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium chlamydosporum*, *Rhizopus oryzae*, *Curvularia tuberculata*, *Cephalophora tropica*, *Negrospora oryzae* and *Bipolaris hawaiienses*). منها 10 عزلات من الفطر

Bipolaris oryzae المسبب لمرض التبغ البني للاوراق على الارز الى جانب عزلتين من البكتيريا المسببه لمرض لفحة الاوراق على الارز، *Xanthomonas oryzae* وذلك من اصناف (سحا 101، سحا 104، سحا 106، سحا 107، جيزة 176، جيزة 177، جيزة 178، جيزة 182، هج ين مصري وياسمين مصري)

2- تم التعرف المبدئي على الفطريات المعزولة من حيث الشكل المورفولوجي للمزارع الفطرية وشكل الجراثيم.

3- تم تعريف الفطريات المعزولة على أساس جزيئي كما يلي:

- تم عزل الحمض النووي DNA الخاص بالعزلات كما تم استخدام زوج من البوادئ المتخصصة لمناطق ال internal transcribed spacer (ITS) والبوادئ هي (ITS1,ITS4) باستخدام تفاعل ال Polymerase chain Reaction (PCR).

- تم تحديد تتابع النيوكليوتيدات باستخدام جهاز ال sequencer وبعمل (BLAST) Basic Local Alignment Search Toll في GenBank وبعمل مقارنه بين النتائج التي تم الحصول عليها للعزلات المختبرة بعزلات كل جنس على حده مع العزلات المسجلة في الجين بنك تبين ان هناك نسبة تماثل تصل الى 100% للفطر *Alternaria alternata* و100% للفطر *Curvularia lunata* و100% للفطر *Cephalophora tropica* و99% للفطر *Fusarium chlamydosporum* و98.5% للفطر *Fusarium verticillioides* و92% للفطر *Bipolaris oryzae* (10 عزلات) عند المقارنه مع العزلات العالمية المسجلة. وباستخدام برنامج MEGA 7 تم عمل

شجرة وراثية تحدد درجة القرابة بين العزلات المختلفة للفطر *Bipolaris oryzae* على اساس مدى التشابه فى تتابع النيوكليوتيدات.

4 - تم التعرف المبدئى على البكتيريات المعزولة من حيث شكل الخلايا وتفاعلها مع صبغة جرام وشكل المستعمرات النامية على بعض البيئات التفرقية منها nutrient agar و yeast extract و Peptone Sucrose Agar بالإضافة الى الأختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية المعتمدة لتعريف الاجناس المسببة للفحة الاوراق على نبات الارز شمل الاختبارات التي تم إجراؤها: تكوين الإندول ، والتحلل المائي للنشا، والتحلل المائي ل Tween 80، وتخمر بعض السكريات مثل إنتاج الحمض من اللاكتوز، والجلوكوز، والفركتوز، والسوربيتول، والمانيتول، والسكرور، والنمو فى 5٪ كلوريد الصوديوم.

5- تم عزل الـ DNA الكلي من العزلات البكتيرية المدروسة تمهيدا لاستخدامها فى تجارب التعريف بالـ PCR، وعليه: تم تعريف العزلات المتحصل عليها عن طريق استخدام جين 16S rRNA باستخدام زوج من البودئ العالمية (P₀,P₆) ومن ثم بيان تتابعه من النيوكليوتيدات باستخدام جهاز الـ sequencer ويعمل (BLAST) Basic Local Alignment Search Toll فى GenBank

6- تبين أن عزلتين تنتمى إلى البكتيريا *Xanthomonas oryzae* وتم تسجيل هذه العزلات برقم كودى accession number .

7- تم أختبارالقدرة المرضية لـ 10 عزلات من الفطر *B. oryzae* على احدات الاصابة لنباتات الارز بعمر 21 يوم لخمسة اصناف وهى (سحا 108 وسحا سوبر 300 وجيزة 177 وجيزة 182 وهجين مصري) وقدرت شدة الاصابة باستخدام مقياس رقمى من 0 الى 9 كمييار للتفرقة بين العزلات المختلفة فى قدرتها الامراضة وذلك بدراسة رد فعل النبات باظهار تطور الاعراض. أظهرت النتائج اختلافات معنوية بين العزلات المختلفة فى قدرتها الامراضية بحيث كانت العزلات BO7 و BO10 هى اعلى العزلات فى القدرة الأمراضية على الصنف جيزة 177 وكانت العزلة BO10 اعلى العزلات فى القدرة الأمراضية على الصنف جيزة 182. وكان الصنف جيزة 177 أكثرها قابلية للاصابة ووجد أن الصنف سحا 108 هو الاكثر مقاومة فى حين كانت الاصناف سحا سوبر 300 و جيزة 182 وهجين مصرى متوسطة القابلية للاصابة.

8- تم اجراء اختبار القدرة الامراضية على نباتات الارز لاصناف سحا 104 وجيزة 178 بطريقة Cassette Holder Method لعزلتين البكتيريا *Xanthomonas oryzae* اظهرت النتائج ان كلا العزلتين كانت لهم القدرة على احدات العدوى وظهور العرض المميز للاصابة.

9- تم استخدام مستحلبات النانو لثلاثة زيوت طبيعية وهى القرفة والنعناع وشجرة الشاى وذلك كأحد الطرق الحديثة المستخدمة فى مقاومة امراض الارز وذلك كالتالى:

أ- تم عمل تحليل للزيوت الثلاثة باستخدام جهاز Gas chromatography–mass spectrometry وذلك لتحديد المركبات الفعالة ونسبة تواجدها بكل منها وكانت كالتالى سينمالدهيد (26.93٪)، يوجينول (15.84٪)، بنزيل. بنزوات (9.41٪) ، ميثيل يوجينول (8.12٪)، لينالول (7.0٪)، بيتا-كاريوفيلين (6.38٪) واستراجول (6.27٪) وذلك لزيت القرفة بينما احتوى زيت شجرة الشاى على مكونات اهمها اروماندادين (4.94٪) ، الفا تربينول (7.41٪) ، ايزوبيلجول (1.69٪).

بينما مركبات دى بيولوجون (14.89%)، منتقيوران (14.36%)، ايزومنتون (7.86%)، ليفومنتون (7.78%)، ايوكالبيبتول (6.15%)، كرايوفيللين (4.82%). تم تحديدها على أنها المكونات الرئيسية لزيت النعناع العطري.

ب- تم تحويل الزيوت لصورة النانو باستخدام الموجات فوق الصوتية sonicator probe وذلك للوصول بالجزيئات لحجم النانو.

ج- تم عمل توصيف للجزيئات باستخدام جهاز Droplet size والتأكد باستخدام Transmission electron microscopy (TEM) وكانت قطر الجسيمات تتراوح من 17 الى 60 nm .

10- استخدمت مستحلبات النانو بتركيزات مختلفة وهى 12.5، 25، 50، 100، 200، 375، 750 و 1500 ميكروجرام/ملييلتر مقارنة بالصورة الخام وذلك على العشر عزلات للفطر *Bipolaris oryzae* وعزلتين للبكتيريا *Xanthomonas oryza* معمليا ووضحت النتائج ان مستحلبات الزيت العطري ومستحلبات النانو بتركيزات مختلفة أثرت بشكل كبير على النمو القطرى للعزلات . بحيث تم زيادة تثبيط نمو *B. oryzae* مع زيادة تركيز مستحلبات الزيت العطري والمستحلبات النانوية. حيث وجد أن جميع مستحلبات الزيت العطري ومستحلبات النانو بتركيز 375 ميكروجرام / مل تمنع نمو الفطريات تمامًا.

المعاملة بمستحلب الزيت العطري *C. zeylanicum* ومستحلب النانو عند تركيز 200 ميكروجرام / مل يمنع تمامًا النمو القطرى للعزلات 1 و 2 و 3 و 4 و 5 و 6 للفطر *B. oryzae*. وعند تركيز 100 ميكروجرام/مل، أدى مستحلب النانو إلى تثبيط النمو القطرى للعزلتين رقم 7 من *B. oryzae*. وقد لوحظ أن جميع مستحلبات النانو من الزيوت العطرية أظهرت نشاطاً أعلى ضد التجزئ من مستحلبات الزيت العطري السابق ذكرة.

أظهرت النتائج أيضًا أن تركيبة مستحلب النانو لـ *M. piperita* كانت أكثر فعالية من المستحلب حيث تم زيادة تثبيط النمو القطرى لعزلات *B. oryzae* مع زيادة تركيز مستحلبات الزيت العطري حيث أظهرت التركيزات 750 و 1500 ميكروجرام / مل أعلى نسبة تثبيط وصلت الى (100%) على جميع العزلات مقارنة بالكنترول. وبالمثل، فإن 1500 ميكروجرام / مل من المستحلب قد أعاق النمو القطرى لجميع العزلات تمامًا، بينما أظهر 750 ميكروجرام / مل أعلى نسبة تثبيط مع العزلات 2 و 9 بنسبة (100%) والعزلات الأخرى (1، 3، 4، 5).، بينما تراوحت نسبة التثبيط لعزلات 6، 7، 8 و 10 ما بين 66.67 - 86.6%.

أظهر أيضا استخدام صورة المستحلب والنانومستحلب للزيوت الثلاثة تأثير معنوي فى تثبيط النمو لكلا العزلتين للبكتيريا زانثوموناس اوريزى وكان لمستحلب النانو لزيت القرقة الاثر الأكبر فى التثبيط بنسبه وصلت الى 29.33 و 32.7 على التوالي للعزلتين Xo1 و Xo2. و لوحظ ان الحد الأقصى لمنطقة التثبيط عند 1500 ميكروجرام / مل. وعلاوة على ذلك؛ تم تثبيط العزلة Xo1 معنويا أكثر من العزلة Xo2 بتركيزات 31.6 و 30.45 على التوالي.

وبالمثل، فإن مستحلب *M. piperita* وتطبيق مستحلب نانوي بتركيزات مختلفة (0-1500 ميكروجرام / مل) يميل إلى تثبيط نمو عزلات *X. oryzae* (Xo1 و Xo2)، حيث تم تسجيل أعلى تأثير مثبط عند 1500 ميكروجرام / مل. كانت تركيبة مستحلب النانو أكثر فاعلية من المستحلب مع منطقة تثبيط قطرها 18.37 و 16.33 مم، على التوالي؛ بينما لم تختلف العزلات Xo1 و Xo2 معنويا في حساسيتها للمستحلب ومستحلب النانو.

على العكس من ذلك، أظهرت عزله Xo2 استجابة تثبيط كبيرة ضد مستحلب *M. alternifolia* وتركيبات مستحلب النانو أكثر من عزله Xo1 مع منطقة تثبيط 22.91 و 21.56 مم على التوالي. كانت صورة المستحلب النانوي أكثر فاعلية من المستحلب بمتوسط تأثير تثبيط 23.85 و 20.61 ملم على التوالي. لوحظ ايضا أن زيادة التثبيط يرتبط بزيادة التركيز حيث سجلت أعلى منطقة تثبيط بـ 1500 ميكروجرام / مل.

- 11- تم استخدام المركبات موضع الدراسة التي تم ذكرها سابقا في معاملة الحبوب لأصناف جيزة 177 كصنف قابل للإصابة وصنف سخا 108 كصنف مقاوم وذلك بالنقع لمدة 12 ساعة وذلك لتقدير نسبة الفطريات المحمولة على الحبوب المخزنة بعد معاملتها بنفس المعاملات السابقة ، حيث وجد أن معاملة الحبوب بمستحلب النانو لزيت القرفة كان له الأثر الأكبر في خفض نسبة الفطريات النامية مقارنة بالمستحلبات الأخرى حيث لم يسجل ظهور نمو أي فطريات عند تركيز 375 ميكروجرام/ ميليلتر لكلا الصنفين جيزة 177 وسخا 108. في الوقت التي كانت فيه نسبة الإصابة للحبوب الغير معاملة 34% للـصنف جيزة 177 و25.75% للـصنف سخا 108
- 12- استخدم المستحلب النانوى لزيت القرفة كأفضل معاملة وذلك لدراسة تأثيره على النمو الميسيلومى والجراثيم لآحد عزلات الفطر *Bipolaris oryzae* وذلك بالفحص عن طريق الميكروسكوب الإلكتروني الماسح حيث أظهر الرش تأثير إيجابى عن طريق حدوث تشوهات للجراثيم.
- 13- استخدم أيضا المستحلب النانوى لزيت القرفة بالتركيز الأفضل للرش على أوراق نباتات الأرز بعمر شهر لتقدير شدة الإصابة في حالة عدوى النباتات صناعية بعزلتين أحدهما قوية والأخرى الضعيفة من الفطر *Bipolaris oryzae* على الصنفين جيزة 177 وسخا 108. وأوضحت النتائج ان المعاملة بالرش أدت الى تقليل شدة المرض بصورة كبيرة وصلت الى 0.6% فى الصنف القابل للإصابة و0.01% فى الصنف المقاوم. تبع ذلك تصوير بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح للأوراق المعده المعاملة والغير معاملة بالمستحلب النانوى لزيت القرفة حيث أوضح ذلك تأثير الرش على فقد الجراثيم القدرة على الاختراق.
- 14- تم دراسة العلاقة بين نشاط الانزيمات المرتبطة بالمقاومة وتراكم المواد الفينولية والمقاومة فى أوراق الأرز، حيث تم تقدير النشاط الانزيمى لانزيمات البيروكسيديز والبولى فينول اوكسيديز وتقدير المركبات الفينولية بعد 6 و12 و24 ساعة من العدوى فى حالة المعاملة بمستحلب القرفة النانوى قبل العدوى ب 24 ساعة رشا على الأوراق مقارنة بالغير معاملة بالرش وذلك لأصناف جيزة 177 وسخا 108 حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها وجود فرقاً معنوياً عالياً في المحتوى الفينولي لكل من صنف "جيزة 177" و"سخا 108" حيث اختلف الصنفان في استجابتهما للإصابة بالعزلات المختبرة. حيث كانت نباتات الصنف سخا 108 المصابة بالعزلة الشديدة الامراضية للفطر *B. oryzae* والمعاملة بمستحلب النانو تحتوي على محتوى فينولي بنسبة أعلى من نباتات نفس الصنف المصابة بالعزلة الضعيفة فى القدرة الامراضية لنفس الفطر. ولوحظ نفس الاتجاه مع نباتات الصنف جيزة 177 عند إصابتها بالعزلة الشديدة الامراضية للفطر *B. oryzae* ومعاملتها بمستحلب النانو. وفي الصنفين استمر المحتوى الفينولي الكلي في الزيادة تدريجياً خلال فترة الاختبار.
- أظهرت النتائج أيضا ان زيادة نشاط انزيم البيروكسيديز والبولى فينول اوكسيديز فى الصنف سخا 108 المقاوم مقارنة بالصنف "جيزة 177" القابل للإصابة وذلك فى حالة العدوى بالفطر *B. oryzae* والمعاملة بالمستحلب النانوى.