دراسة للتعرف على مصدر التلوث الفطري للأجزاء النباتية لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي

لونا قحطان محسن

مركز أبحاث النخيل - جامعة البصرة

البصرة/العراق

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في مختبرات مركز ابحاث النخيل – جامعة البصرة للفترة من(٣/١/ ٢٠٠٩- ٢٠٠٩/١٠/١) ، إذ تم عزل خمسة انواع فطرية من القمة النامية لثلاثة اصناف من نخيل التمر (البريم والساير والحلاوي) ، وهي :

Aspergillus niger , *Fusarium* sp , *penicillium Sp.* , *Alternaria alternata* , *Rhizopuss* sp.

كما تم عزل سبعة انواع من الفطريات الملوثة لمزارع انسجة كالس اصناف (البريم والحلاوي والساير) وهي

A. alternata , *Penicillium* sp. , *A. niger* , *A. clavatus* , *Ulocladium atrum* , *Rhizopus* sp. , *Stemphylium* sp.

واظهرت الدراسة إن فطريات *A. alternata* *Rhizopus* sp , *A. niger* *Penicillium* sp كانت مشتركة في تواجدها على الاجزاء النباتية قبل وبعد زراعتها خارج الجسم الحي

كما اظهرت النتائج تفوق مبيد Mancozeb في تثبيط نموالفطريات المعزولة من القمة النامية إذ اعطى نسبة تثبيط بلغت 92.7 % بالمقارنة مع المبيدين الاخرين Ridomal gold M272 , Switch إذ اعطيا نسبتا تثبيط 82 % 54.6 % على التوالي.

المقدمه

تنتمي نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. إلى العائلة النخيلية Arecacae وهي من اشجار الفاكهة شبه الاستوائية التي تحتل مكانة متميزة من الناحية الاقتصادية خاصة في القطاع الزراعي لما تحتويه تمارها من قيمة غذائية عالية كالمواد السكرية والاملاح المعدنية وبعض الفيتامينات فضلا عن نسبة من البروتينات (Kruger,1998) ، تتعرض نخلة التمر إلى العديد من الامراض وتعد الفطريات من المسببات المرضية المهمة إذ تسبب عدد من الامراض منها مرض خياس طلع النخل الذي يسببه الفطر Mauginiella Scaettae (Abdullah *et al* . , 2005) ومرض تبقع اوراق نخيل التمر الذي تسببه الفطريات *Acremonium strictum* و *A. alternata* و *A. niger* و *Cladosporium herbarum* و *Stemphylium botryosum* و *U. atra* (فياض ومانع، ٢٠٠٨) .

تعد تقانة الزراعة النسيجية Tissue Culture من التقنيات الحديثة لإكثار نخيل التمر التي يمكن من خلالها الحصول على إعداد كبيرة من اشجار النخيل خلال فترة زمنية قصيرة إذ يمكن الحصول على نباتات خالية من الامراض والفيروسات (Al-Ghamdi , 1993 ; Al-Wasel , 2002).

وعلى الرغم من وجود العديد من الدراسات والابحاث في مجال إكثار نخيل التمر خارج الجسم الحي *In vitro* إلا إن الزراعة النسجية تواجه تحدياً جدياً متمثلاً بمشكلة التشوب بالاحياء المجرية (كالفطريات) التي تسبب تلفاً للجزء النباتي المزروع وسرعة تحطم انسجته وبالتالي موته (Leary *et al.*,1986 ، الكعبي،٢٠٠٤). لذا تهدف هذه الدراسة لمعرفة مصدر التلوث الفطري المتواجد على الانسجة خارج الجسم الحي وإمكانية الحد من الفطريات الملوثة باستخدام بعض الانواع من المبيدات الفطرية .

المواد وطرائق العمل

١ عزل وتشخيص وتنقية الفطريات من القمة النامية

تم تشريح فسائل ثلاث اصناف من نخيل التمر وهي(البريم والساير والحلاوي) إذا ازيلت الاوراق والالياف بشكل تصاعدي لغاية الوصول إلى قلب النخلة Shoot Tip ومن ثم استئصال

القمة النامية ، ثم قطعت إلى قطع صغيرة بطول ١سم غسلت بالماء المقطر ثم وضعت في المحلول المانع للاكسدة الذي يتكون من 100 ملغم / لتر حامض الاسكوربيك Ascorbic Acidو 150 ملغم / لتر من حامض السيتريك Citric Acid وحفظت الاجزاء النباتية في الثلاجة على درجة حرارة ٤ مّ ، ثم عقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 10% لمدة ثلاث دقائق ، ثم غسلت بماء مقطر معقم وجففت بورق الترشيح ، وزعت القطع النباتية على وسط اكار مستخلص البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) في المختبر والمضاف إليه المضاد الحياتي Chloramphenicol بمعدل 250 ملغم/لتر ، والمعقم بجهاز التعقيم البخاري (Autoclave) .

حضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 + 2 مّ وتم متابعة النمو الفطري يوميا ومن ثم تنقية العزلات الفطرية عن طريق زرع جزء من المستعمرة الفطرية على وسط PDA ، وشخصت الفطريات اعتمادا على المفاتيح التصنيفية Ellis (1976) و Domschet *et al.* (1980).

٢- عزل وتشخيص وتنقية الفطريات الملوثة للمزارع النسيجية

تم عزل الفطريات من انسجة ثلاثة اصناف من النخيل وهي(البريم والحلاوي والساير) في مرحلة الكالس الجيني Embryogenic callus ، على الوسط الغذائي الصلب PDA المعقم بجهاز التعقيم لبخاري (Autoclave) والمضاف إليه المضاد الحياتي Chloramphenicol بتركيز 250 ملغم/لتر ، تم حضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 + 2 مّ وشخصت الفطريات اعتمادا على المفاتيح التصنيفية Ellis (1976). و (1980 و Domsch - (*et al* .

٣ دراسة تاثير بعض المبيدات الكيميائية في تثبيط نمو الفطريات المعزولة من القمة النامية

استخدمت ثلاثة مبيدات فطرية في هذه التجربة وهي :

1- Switch(Cyprodini+Fluid ¯ Oxnil).
2- Ridomal gold M272(metalaxyl+mancozeb).
3-Mancozeb(zincion manganese ethulene pis dithiocar bamate)

حضر الوسط الغذائي PDA وعقم بالاوتوكليف واضيفت المبيدات الثلاثة إلى الوسط الغذائي وبالتركيز الموصى به 2.5 غرام / لتر بعد تبريده وكل على حده ، ثم رج الوسط الغذائي بشكل جيد لغرض تجانس المبيدات مع الوسط ثم صبت في اطباق بتري معقمة قطر ٩ سم . لقح مركز كل طبق من الاطباق السابقة بقرص قطره 0.5 سم اخذ من حافة مستعمرة الفطريات المعزولة من القمة النامية و بمعدل ثلاث اطباق إما معاملة المقارنة استخدم وسط غذائي PDA خالي من اي مبيد ، ثم حضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 + 2 مّ لحين وصول النمو في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق .

تم قياس النمو في كل معاملة باخذ معدل قطريين متعامدين يمران بمركز الطبق .

التحليل الإحصائي

حللت تجربة المبيدات باستخدام تصميم التام العشوائية الكامل متعدد العوامل C. R. D. عند مستوى احتمالية 0.01 وقورنت المتوسطات وفق طريقة اقل فرق معنوي معدل R. L. S. D. (الراوي وخلف الله ، ١٩٨٠) .

النتائج والمناقشه

اظهرت نتائج العزل كما في الجدول (١) إلى إن الفطريات المعزولة من القمة النامية من فسائل الاصناف الثلاثة من النخيل كانت متفاوتة في نسبة ظهورها

إذ ظهر كل من الفطر *A.niger* و *A. alternata* على الاصناف الثلاثة ، في حين ظهر كل من الفطر *Fusarium* sp. والفطر *Penicillium* sp على صنف واحد هو البريم ، وظهر الفطر *Rhizopus* sp. على صنفين هما البريم والساير .

جدول (١) الفطريات المعزوله من القمه الناميه لثلاثه اصناف من نخيل التمر

الفطريات	اصناف نخيل التمر		
	بريم	حلاوي	ساير
A. niger	+ *	+	+
Fusarium sp.	+	-	-
Rhizopus sp.	+	-	+
A. alternata	+	+	+
Penicillium sp	+	-	-

*+ تعني وجود الفطر

- عدم وجود الفطر

تم عزل سبعة انواع من الفطريات في انسجة الكالس الجدول(٢) وتفاوتت هذه الانواع في ظهورها على مزارع كالس الاصناف الثلاثة فقد ظهر الفطر

A. alternata على صنفين هما البريم والساير وظهر كل من الفطر

A. clavatus والفطر *Penicillium* sp. والفطر *Rhizopus* sp. والفطر Ulocladium atrum على صنف واحد هو البريم ، والفطر Stemphylium sp على صنف واحد هو الحلاوي في حين ظهر الفطر *A. niger* على مزارع كالس اصناف النخيل الثلاثة .

جدول (٢) الفطريات الملوثه لمزارع انسجه ثلاثه اصناف من نخيل التمر

الفطريات	اصناف نخيل التمر		
	بريم	حلاوي	ساير
A.alternata	+	-	+
A.clavatus	+	-	-
A.niger	+	+	+
Penicillium sp.	+	-	-
Rhizopus sp.	+	-	-
Stemphylium sp.	-	+	-
U. atrum	+	-	-

وهذه النتائج مشابهة لما اشار إليه حميد وعباس (٢٠٠٦) إذ عزل سبعة اجناس فطرية مختلفة من ستة اصناف من نخيل التمر وهذه الفطريات هي :

A. alternate و *A. clavatus* و *A. niger* و *Penicillium sp* و *Penicillium sp* و *Rhizopus sp* و *Scytalidium.lignicola* و *Stemphylium sp* و *U. atrum* من ستة اصناف من نخيل التمر وهي ام الدهن والحلاوي والشويتي والبريم والبرحي والساير، وتفاوتت هذه الفطريات في ظهورها على مزارع كالس الاصناف الستة .

ومن الجدير بالذكر إن المستعمرات الفطرية الملوثة للكالس قد غطت الكالس بالكامل وطغت عليه وان تفاوت الفطريات في الظهور على اصناف النخيل المختلفة قد يعود إلى طبيعة الفطريات المعروف انتشارها بشكل واسع على مصادر مختلفة مقارنة بالفطريات الاخرى مثل الفطر

A, alternata و *A. niger* و *Rhizopus sp* و *Penicillium sp* .

كما اتفقت النتائج مع ما بينته الكعبي(٢٠٠٤) من سيادة التلوث الفطري للفطريات التي تصيب المزارع النسيجية لنخيل التمر .

وعند مقارنة الفطريات المعزولة من القمة النامية بالفطريات الملوثة للمزارع النسيجية نجد إن بعض الفطريات مشتركة في الحالتين مثل فطر *A. niger* و *Rhizopus sp.* و *A.alternata* و *Penicillium sp* .من هذا نستنتج إن بعض الفطريات قد تكون انتقلت من الاجزاء النباتية اثناء عملية الزراعة النسيجية وسببت التلوث للمزارع النسيجية كما ذكر(محمد وعمر، ١٩٩٠) إن الهواء او الوسط الغذائي المستعمل والادوات المستعملة للزرع ممكن إن تكون سبب في التلوث .

كما تشير النتائج في الجدول (٣) إلى وجود فروقات معنوية بين المبيدات الفطرية المستخدمة في تثبيط نمو الفطريات المعزولة من القمة النامية إذ بلغ معدل النسبة المئوية في نمو الفطريات المختبرة 82% و 92.7% و 54.6% للمبيدات Switch و Mancozeb و Ridomal gold. على التوالي ، حيث ظهر اعلى معدل للتثبيط للمبيد Mancozeb يليه المبيدSwitch وتم . Ridomal gold . وظهر إن الفطر *Rhizopus sp.* هو اكثر الفطريات حساسية للمبيدات إذ بلغ معدل تثبيطه 91.2% يليه الفطر *Fusarium sp* 77% تم الفطر *A.alternata* تم 73.9% ثم الفطر. *Penicillium* sp 71% ثم الفطر .A. niger 69.1%

جدول (٣) تاثير بعض المبيدات الفطريه على الفطريات المعزوله من القمه الناميه

المبيدات الفطرية / الفطريات	% للتثبيط في النمو			متوسط تاثير الفطر
	Switch	Mansozeb	Ridomal g.	
A. niger	83.4	91.5	32.4	69.1
Fusarium sp.	76.3	100	54.8	77
Rhizopus sp.	92.1	95.5	86.2	91.2
A. alternata	84.1	76.7	61.1	73.9
Penicillium sp.	74.5	100	38.5	71.
معدل التثبيط للمبيدات	82	92.7	54.6	

R. L. S. D. = لمعدل تثبيط المبيد = 6.083 R. L. S. D. = لمعدل الفطر = 5.461

R. L. S. D. = للتداخل = 8.610

إن الية عمل المبيدات في تثبيط نمو الفطريات قد تعود إلى تثبيط عمل الانزيمات الحيوية في الخلية او تثبيط عمليات الاكسدة والاختزال مما يؤثر في عمليات انتاج الطاقة او ان المبيد يؤثر في الصناعة الحيوية للبروتينات او بتداخل مع عمليات تضاعف الاحماض النووية مما يؤثر في الإنقسام الخلوي او ان تاثير المبيد يكون على نفاذية غشاء الخلية (شعبان والملاح ، ١٩٩٣) وهذا يشير إلى إن استخدام المبيدات الفطرية وبالتراكيز التي لا تؤثر على الجزء النباتي المزروع يقلل من التلوث الفطري الحاصل اثناء عملية الزراعة النسيجية.

المصادر

- حميد ، محمد عبد الرزاق. عباس ،محمد حمزة،(٢٠٠٦). دراسة التغيرات النسيجية المصاحبة لتشوب مزارع انسجة نخيل التمر. *Phoenix dactylifera l* بالفطريات، مجلسة ابحاث البصرة (العلميات)، العدد٣٢، الجزء الاول ، ١٥ ٢٧.
- الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، محمد عبد العزيز (١٩٨٠) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .٤٨٨ صفحة .
- شعبان ، عواد . نزار مصطفى الملاح . (١٩٩٣) . المبيدات الكيمياوية في وقاية النبات ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، ٣٩٧ صفحة
- فياض ، محمد عامر . مانع ، علاء عودة ، (٢٠٠٨) . عزل وتشخيص الفطريات المسببة لمرض تبقع اوراق نخيل التمر في البصرة ومكافحته كيميائيا . مجلة البصرة لابحاث نخلة التمر ، المجلد ٧ ، العدد ٢ ، ١٣٧ صفحة
- الكعبي ، انسام مهدي صالح، (٢٠٠٤). تاثير بعض المضادات الحياتية والمبيدين الفطريين Score ٥٠% و ٦٠% Carbendazim في نمو الكالس الجيني لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* . مجلة البصرة لابحاث نخلة التمر ، المجلد ٢ ، العدد١ ، ١٢٣ صفحة.
- محمد ، عبد المطلب سيد وعمر ، مبشر صالح (١٩٩٠) . المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والاعضاء للنبات ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مطبعة جامعة الموصل ، العراق . ( ) صفحة

Abdullah , S. K . ; Asensio, L. ; Monfort , E.; Gomes – vidal S. Palma- Guerrero , J. ; Salinas , J. Lopez – Lurca , L . V . ; Jansson , H . B and Guarro , J . (2005) . Occrrence in Elx, Se Spain of inflorescence votdisease of date palm caused by *Mauyiniella*

scaettae . J . Phyto pathology 153 : 417 – 422 .

Al-Ghamidi , A.S. (1993). True to type date palme *Phoenix dactylifera* L. throught tissue culture techniques, CV. Safry.3rd.symp. date palm, KFU. Saudi Arabia, vol.(1) 1-13.

Al-Wasel, A.S.(2002). Phenotypic comparison of tissue culture divided and conventionally propagated by offshoots date palm *phoenix dactylifera* L.CV. bahee trees. Rege tative characteristics. J.Ksu. vol. 13, Agric. Sci.(1). 65-73.

Domsch, K.H. ; Gams, W. and Anderson, T.H.(1980). compendium of soil fungi-v(1): Academic press, London, 859 PP.

Ellis , M.P. (1976.) more Dematiaceous hyphomycetes. CMI. London. PP . 608

Kruger, R.R. (1998.) date palm germplasm: Overview and vtilization in the U.S.A, Proceeding the first international conference on Date palms, Al-Ain, U.A.E: 1-37.

Leary, J.V, Nelsone, N:, Tisserate, B. and Allingham, E.A. (1986.) isolation of pathogenic B.circulas from callus culture and healthy offshoots of date palm *phoenix dactylifera* Appl. And Env. Microbiol. Vol.52, No.5:1173-1176.

A study to identify the source of fungi contamination the date palm *Phoenix dactylifera* L . In vitro.

Luna Q. Mohsin
Date palm research center – Basrah University
Basrah – Iraq

Summary

This study was conducted in the labs. of Date palm research center-Basrah University, from (1. 3 . 2009 – 1 . 10 . 2009) Isolation of five species of fungi from the shoot tip of three cultivars of date palm (Braim, Hillawi and Sayer) were carried out , wich are *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp. *Penicillium* sp ., *Alternaria alternata* ., and *Rhizopus* sp. ,

Also Isolation and of seven species of fungi that contaminate the callus tissue cultures of three cultivars of date palm (Braim, Hillawi and Sayer) were carried out, wich are *A. alternata*, *Penicillium* sp., A. *niger* , A.*clavatus*, *Ulocclodium atrum* , *Rhizopus* sp. and *Stemphylium* sp., Also the study showes that the fungi *A. niger* و *Rhizopus* sp و *A. alternata* و and *Penicillium* sp . are the same before and after invitro culture .

Evalution of three fungicide agenst the fungi isolated from the shoot tip revealed that Mancozab the most effective fungicide that give inhibited