

## المسح الحقلية وعزل مسببات مرض تعفن النورة الزهرية على اشجار النخيل وتشخيصها جزيئياً

خلف عطيه محمد  
Khalaf2017vi@gmail.com  
معاذ عبد الوهاب الفهد  
maadh.alfahd@tu.edu.iq  
البحث مستل من اطروحة الدكتوراه للباحث الاول

### مستخلص:

تضمنت الدراسة اجراء مسح ميداني لمرض تعفن النورة الزهرية في مناطق مختلفة من محافظة صلاح الدين وبعض المدن من محافظة نينوى وكركوك والانبار وديالى وتم عزل مسببات مختلفة عن الفطر *Mauginiella scaettae* الذي يعتبر المسبب الرئيسي لمرض تعفن النورة الزهري وهي *F. oxysporum* و *F. solani* و *Alternaria radicina* ومعرفة نسبة الاصابة وحساسية بعض الاصناف المختلفة من نخيل التمر للإصابة بهذه المسببات اوضح المسح الحقلية ان انتشار المرض بنسبة مختلفة حسب المناطق اذ بلغ اعلى معدل للاصابة 15.5% في قضاء الشرقاط - محافظة صلاح الدين وفي الاسحافي 13.6% وفي سامراء 13.2% اما في بقية المحافظات كانت اعلى نسبة اصابة في نينوى - ناحية القيارة بلغت 14.8%، وبينت نتائج العزل ظهور الفطرين *AI-ternaria radicina* و *F. oxysporum* بنسبة عالية حيث بلغت 93.3% و 86.6%، اما العزل من العذوق الجافة فقد بينت نتائج العزل ظهور الفطر *F. solani* فقط، اما نتائج المسح الحقلية فقد تبين ان الاصناف خستاوي و خضراوي و بصراوي كانت اكثر الاصناف حساسية للاصابة بمرض تعفن النورة الزهرية حيث بلغت نسبة الاصابة 19.5% و 15.5% و 13.5%، وتم تشخيص المسببات المرضية جزيئياً باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase Chain Reaction وذلك باستخدام البادئ ITS1-ITS4 Universal Primer والمستخدم في تضخيم جزء من جين ITS ومقارنتها مع سلالات في البنك الوراثي تبين ان هناك نسبة تطابق 99.45% لعزلة الفطر *Alternaria radicina* و 99.44% لعزلة الفطر *M. scaettae* و 100% لعزلة الفطر *F. oxysporum* و 99.59% لعزلة الفطر *F. solani*.  
الكلمات المفتاحية: تعفن النورة الزهرية، *Mauginiella scaettae*، مسح حقلية، تشخيص جزيئي.

## Field survey and isolation of the causes of inflorescence rot disease on palm trees and their molecular diagnosis

Khalaf Atiyah Mohammed  
Khalaf2017vi@gmail.com  
Maadh Abdulwahab Alfahad  
maadh.alfahd@tu.edu.iq

### Abstract :

The study included conducting a field survey of the inflorescence disease in different regions of Salah al-Din governorate and some cities of Nineveh, Kirkuk, Anbar and Diyala governorates. Different pathogens were isolated from the fungus *Mauginiella scaettae*, which is the main cause of the inflorescence disease, namely *F. oxysporum*, *F. solani* and *Alternaria radicina* and knowing the rate of infection and the sensitivity of some different varieties of date palm to infection with these causes. The field survey showed that the disease spread at a different rate according to the regions, as the highest rate of infection reached 15.5% in Al-Sharqat region - Salah Al-Din Governorate, 13.6% in Ishaqi, 13.2% in Samarra, and 13.2% in the rest The governorates had the highest infection rate in Nineveh - Qayyarah district, which amounted to 14.8%, and the results of isolation showed the appearance of the two fungi *Alternaria radicina* and *F. oxysporum* with a high rate of 93.3% and 86.6%. As for the isolation from dry taste, the results of isolation showed the appearance of the fungus *F. solani* only. As for the results of the field survey, it was found that the cultivars Khastawi, Khadrawi and Basrawi were the most sensitive cultivars to inflorescence rot disease, where the infection rate was 19.5%, 15.5% and 13.5%, and the causes were diagnosed. Molecularly satisfactory using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, using the ITS1-ITS4 Universal Primer, which is used to amplify a part of the ITS gene and compare it with strains in the genome bank. It was found that there is a matching percentage of 99.45% for *Alternaria radicina* isolate and 99.44% for isolate *M. scaettae* and 100% of *F. oxysporum* isolate and 99.59% of *F. solani* isolate.

**Keywords:** Inflorescence rot, *Mauginiella scaettae*, field survey, molecular diagnosis.

دراسات وافية عن مقدار الخسارة الناجمة عن المرض أذ ان معظم الدراسات كانت عبارة عن تقديرات لنسب الاصابة نسبة النخيل المصاب من مجموع عدد النخيل في العينة . قدرت نسبة الاصابة بخيلاس طلع النخيل في العراق عام 1989 75٪ وفي عام 2005 تراوحت بين 22,8٪ - 29,3٪ وفي عام 2009 قدرت نسبة الاصابة 10,3٪ - 16,4٪ اما في بعض الدول العربية مثل المملكة العربية السعودية فقد قدرت الاصابة 75٪ عام 2002 (3)

وهدفت الدراسة الى اجراء دراسة مسحية تتضمن تحديد نسبة الاصابة بمرض خيلاس طلع النخيل في مناطق

مختلفة لم تدرس مسبقاً في محافظة صلاح الدين مع التشخيص الجزيئي للعزلات المحلية المسببة للمرض وتحديد التسلسل الوراثي لها

### المواد وطرق العمل

#### المسح الحقلي :

تم اجراء المسح الحقلي للأشجار المصابة من نخيل التمر في مناطق من محافظة صلاح الدين ونيوى وهي الضلوعية والعلم والاسحاقي وسامراء والشرقاط وناحية القيارة في محافظة نينوى للموسم الزراعي 2019-2020، 2020-2021 وتم حساب نسبة الاصابة بشكل عشوائي في البساتين التي تم اختيارها في كل مناطق الدراسة وحسب المعادل:

$$\% \text{ للإصابة حسب المنطقة} = \frac{\text{عدد النخيل المصاب}}{\text{عدد النخيل الكلي}} \times 100$$

### المقدمة Introduction

تعود نخلة التمر *Phoenix dactylifera* (Date Palm) إلى العائلة Arecaceae حسب تصنيف العالم النباتي Linnaeus (1) وتعتبر شجرة نخيل التمر من الاشجار المباركة التي كرمها الله سبحانه وتعالى في كتابة الكريم واعلى من شأنها فقصة مريم بنت عمران وولادتها لعيسى ترتبط ارتباطاً عظيماً بالنخلة في قوله تعالى ((وهزي اليك بجذع النخلة تساقط عليك رطباً جنياً)) سورة مريم (الآية 25) وأكد الرسول الأعظم محمد (ﷺ) على الاهتمام بزراعة النخيل إذ قال (أكرموا عمتمكم النخلة) ((صدق رسول الله)).

وان انواع النخيل المنتسب لهذه الرتبة منتشرة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية ولبعضها القدرة على أن يعيش في المناطق المعتدلة، تعد نخلة التمر من أقدم الأشجار التي عرفها الإنسان إذ يعود تاريخها إلى أكثر من 4000 سنة قبل الميلاد حيث اهتم بها البابليون والآشوريون وكانت مقدسة عند السومريين، كما تعد من أهم أشجار الفاكهة واحدرواقتصاد الأساسية للملايين من الناس في منطقتي الشرق الأوسط وشمال أفريقيا (2) و(8) تصاب اشجار النخيل بافات عديدة ويعد مرض خيلاس طلع النخيل أحد أهم الامراض التي تصيب أشجار النخيل حيث يسبب تلف كامل أو شبه كامل للنورات الزهرية ينتشر المرض في بساتين نخيل العراق و البحرين والامارات العربية المتحدة والمملكة العربية السعودية ودول المغرب العربي ومصر وايران كما سجل عام 2005 على بعض نخيل التمر في اسبانيا (9) تتفاوت الخسارة الناجمة عن المرض من عام الى اخر تبعاً للظروف البيئية السائدة اذ تزداد الاصابة بهذا المرض فيالمواسم التي تتميز بشتاء بارد طويل مصحوب بارتفاع الرطوبة النسبية. لا توجد

الفطر *Fusarium spp* ووفقاً للصفات التي ذكرها Siger (3) بعدها تم حساب نسبة ظهور الفطريات وفق المعادلة التالية :

$$\% \text{الظهور} = \frac{\text{عدد مرات ظهور الفطر}}{\text{عدد العينات الكلية}} \times 100$$

التشخيص الجزيئي لمسببات مرض تعفن النورة  
الزهريّة على النخيل  
استخلاص الحامض النووي الكلي Genomic  
DNA Isolation

تم استخدام عدة الاستخلاص للحامض  
النووي الدنا ZR Fungal / Bacterial / Yeast  
DNA Mini Prep الشركة المجهزة ZR الأمريكية  
لاستخلاص الحامض النووي الجينومي الكلي وحسب  
تعليمات الشركة المرفقة في العدة .

تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain  
Reaction (PCR)

تم استخدام عدة محاليل ومواد في تجربة تضاعف  
الحامض النووي الجينومي المستخلص تبعاً للطريقة  
المذكورة في الفقرة (1-3-3) جهزت المحاليل من  
شركة -Integrated DNA Technologies com  
(.pany, Canada). وحسب الخطوات التالية :-

1. عدة (Maxime PreMix Kit (i-Taq)  
المستخدمة في تضاعف عينة الحامض النووي  
المستخلص والمكونة من المحاليل التالية والمبيّنة في  
الجدول (1).

التجارب المختبرية:

تحضير الاوساط الزرعية :

وسط البطاطا دكستروز آكار PDA الجاهز

تم تحضير الوسط بإذابة 39 غم PDA لكل لتر ماء  
مقطر وحسب تعليمات الشركة المنتجة وقسم في دوارق  
حسب الحاجة، ثم عقم في جهاز المؤصدة في درجة  
حرارة 121 م وضغط 15 باوند / انج<sup>2</sup> لمدة 20 دقيقة،  
واستعمل هذا الوسط لتنمية وتنقية بعض الفطريات  
بوصفه وسطاً قياسياً يستخدم لعزل الفطريات والخمائر  
الخيضية .

عزل وتشخيص المسببات المرضية من النورات

الزهريّة المصابة

تم جلب نماذج من عينات من النورات الزهرية  
الذكرية والانثوية المصابة بالمرض والتي تظهر عليها  
اعراض الاصابة بمرض تعفن النورة الزهرية والمتمثلة  
بضهور البقع البنية على غلاف النورة قبل تفتحها او  
بعد تفتحها وكذلك على الشماريخ الزهرية من مناطق  
مختلفة (بساتين نخيل العلم، سامراء، الضلوعية،  
الاسحاقى التابعة لمحافظة صلاح الدين، القيارة تابعة  
لمحافظة نينوى ، الخالص التابعة لمحافظة ديالى ، الزاب  
التابعة لمحافظة كركوك ) اخذت منها قطع صغيرة بقطر  
(0.5 - 1) سم عقت بواسطة محلول هايوكولورات  
الصوديوم (NaOCl) بتركيز 10 % لمدة 2-3 دقائق  
ثم غسلت بماء مقطر معقم ، جففت على ورق ترشيح  
ثم زرعت بواقع خمس قطع من النورات المصابة في  
كل طبق بتري الحاوي على وسط (-Potato Dex  
trose Agar) الذي تم تحضيره مسبقاً والمضاف اليه  
المضاد الحيوي ثم وضعت الاطباق في الحاضنة عند  
درجة الحرارة 27 ± 2م ولمدة ثلاث ايام وبعد ظهور  
المستعمرات الفطرية تم تنقيتها وتشخيصها وفقاً  
لصفات الت ذكرها Samson (10) بالنسبة لعزلات

جدول (1) يمثل عدة بريمكس Maxime PreMix Kit

Material	Volume
i-Taq DNA Polymerase	5U/ $\mu$ l
DNTPs	2.5mM
(10X) Reaction buffer	1X
Gel loading buffer	1X

2. البادئ ITS1-ITS4 Universal Prim- تسلسل قواعد النروجينية في الجدول (2) لتحديد er والمستخدم في تضخيم جزء من جين ITS والمبين العزلات المنتخبة لمنطقة ITS (12)

جدول (2) يمثل البادئات المستخدمة في التشخيص

Primer	Sequence	( $^{\circ}$ C) Tm	(%) GC	Product
Forward	'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3 5'	60.3	% 50	600 base pair
Reverse	'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3 5'	57.8	% 41	

عبارة عن خليط من بفر خاص لتضخيم الجزء المطلوب من الدنا ووفق مقادير وفترة تخمين معينة ودقيقة وكما في الجداول (3).

جدول (3) يمثل مزيج التفاعل لتضخيم جزء الدنا

Components	Concentration
Taq PCR PreMix	5 $\mu$ l
Forward primer	10 picomols/ $\mu$ l (1 $\mu$ l)
Reverse primer	10 picomols/ $\mu$ l (1 $\mu$ l)
DNA	1.5 $\mu$ l
Distill water	16.5 $\mu$ l
Final volume	25 $\mu$ l

طريقة تحضير البادئات المستخدمة في التفاعل تم تجفيف البادئات بالتجميد، وتم إذابتها في ddH<sub>2</sub>O الحرا لإعطاء تركيز نهائي قدره 100 بيكومول / ميكرو لتر كمحلول مخزون والاحتفاظ بالمخزون عند -20 لتضخيم تركيز 10 بيكومول / ميكرو لتر كعامل تمهيدي معلق، 10 ميكرو لتر من محلول المخزون في 90 ميكرو لتر من الماء المجاني ddH<sub>2</sub>O للوصول إلى الحجم النهائي 100 ميكرو لتر، طريقة تحضير مكونات التفاعل لتضخيم الدنا بتقنية PCR

تم مزج مكونات التفاعل من خلال اضافة زوج البادئات والتي تعمل على تضخيم منطقة ITS من الدنا المستخلص مع الحامض النووي الكلي الى عدة (i-Taq) Maxime PreMix Kit والتي هي

جدول (4) يمثل فترات التحظين المثلى لتضخيم جزء الدنا

.No	Phase	(Tm (°C	Time	No. of cycle
1-	Initial Denaturation	94°C	.min 3	cycle 1
2-	Denaturation -2	94°C	45sec	cycle 35
3-	Annealing	52°C	min 1	
4-	Extension-1	72°C	min 1	
5-	Extension -2	72°C	.min 7	cycle 1

فولت/ 2 سم من القطب السالب الى القطب الموجب  
ولمدة 1-2 ساعة حتى تصل الصبغة الى الجانب الاخر  
من الجل .

7. فحص الهلام وذلك بتعريضه الى الاشعه فوق  
البنفسجية عند الطول الموجي 260 نانومتر بواسطة  
جهاز UV-Transilluminator للتمكن من رؤيه  
حزم ال DNA وتقدير حجمه.

8. صور الهلام في غرفه معتمه و باستخدام كاميرا  
رقميه ذات دقه عاليه.

تحديد تتابعات القواعد النيتروجينية Determine  
the sequences of the nitrogenous bases

حددت تتابعات القواعد النيتروجينية لنتائج تفاعل  
البلمرة المتسلسل للجين (S rRNA 5.8) للفطريات  
المراد تشخيصها لنتائج تفاعل PCR

حللت التتابعات التي تم الحصول عليها من الشركة  
الكورية Bioneer باستخدام الموقع العالمي للمركز  
الوطني لمعلومات التقنية الحيوية - National Cen-  
ter Biotechnology Information (NCBI)  
ضمن النافذة الفرعية Blast ثم اختيرت النافذة الفرعية  
الثانوية Nucleotide blast اجريت عملية المحاذاة  
والتطابق مع السلالات المسجلة في البنك الوراثي  
العالمي (ملف المحاذاة)، وبعدها سجلت العزلات

### الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز

1. حضر هلام الاكاروز بتركيز 1.5% عن طريق  
اذابة 1.5 غم من الاكاروز في 100 مل من محلول  
TBE المصنع مسبقاً يسخن الاكاروز ليغلي ثم يترك  
ليبرد عند (45-50 درجة مئوية) ثم يسكب في لوح  
الصب .

2. صب محلول هلام الاكاروز 1.5% في حوض  
خاص tray بجهاز الترحيل بعد تثبيت المشط الخاص  
لتكوين الحفر Well عند احد طرفي الهلام ويكون  
الصب بهدوء لتجنب تكون الفقاعات وذا تكونت  
فيجب ازلتها باستخدام الماصة بعد ذلك يترك الهلام  
الى ان يتصلب.

3. رفع المشط من الهلام وبحذر لكي لا تتحطم  
الحفر ويوضع في حوض جهاز الترحيل الكهربائي  
الحاوي على كميته كافيه من محلول الترحيل TBE  
وبتركيز 1X لتغطي حفر التحميل من محلول .

4. حضرت العينات من خلط 3 ميكروليتر من  
محلول التحميل Loading buffer مع 7 ميكروليتر من  
العينة بعد الخلط تحمل العينات في فتحات الهلام .

5. حمل الدليل الحجمي DNA Ladder Mark-  
er 100bp في حفره على احد جانبي الهلام.

6. رحلت العينات بامرار التيار الكهربائي بقوة 7

الموسم الثاني (2020 - 2021) فقد سجل الصنف خستاوي اعلى نسبة اصابة بلغت 16.5 % و اقل نسبة اصابة سجلت للصنف برين حيث بلغت 4.6 % اما الصنف برحي لم يسجل اي اصابة للموسمين ، ان ارتفاع نسبة الاصابة في بعض الاصناف قد يرجع الى ارتفاع محتوى الطلع من النايتروجين والمواد الكاربوهيدراتية والتي تساعد المسببات المرضية في فعاليتها الحيوية اذ تعد المواد الكاربوهيدراتية واحد من المصادر التي تمد الكائنات الحية بالطاقة وهذا يتوافق مع ما توصل اليه (6) وكذلك اختلاف نسبة مكونات طلع النخيل من الالياف والبروتين والكالسيوم لها دوراً مهماً في احداث الاصابة واختلافها حسب الصنف (5) وايضاً تعد التانينات من وسائل الدفاع في النباتات ضد العديد من المسببات المرضية (13) اعتماداً على نتائج هذه الدراسات يمكن تفسير اختلاف نسبة حساسية بعض اصناف النخيل للاصابة بمرض تعفن النورة الزهرية .

العراقية في بنك الجينات العالمي تحت الرقم العالمي ازاء كل عزلة .

## النتائج والمناقشة

### الدراسات المسحية :

اظهرت نتائج الدراسات المسحية المبينة في الجدول (5) انتشار ظاهرة تعفن النورة الزهرية في بساتين محافظات صلاح الدين وديالى ونيوى والانبار وكركوك والتي شملتها الدراسة المسحية اذ تراوحت نسبة الاصابة ما بين 9.7 - 15.5 % للموسمين 2019-2020 و 2020-2021 حيث كانت اعلى نسبة للإصابة في قضاء الشرقاط من محافظة صلاح الدين بلغت (15.5%) تلتها منطقة القيارة من محافظة نيوى بلغت 14.8 % و اقل نسبة اصابة في منطقة العلم من محافظة صلاح الدين بلغت 10.4% للموسم الاول للمسح (2019-2020) بينما كانت اعلى نسبة اصابة للموسم التالي 2020-2021 في منطقة القيارة من محافظة نيوى بلغت 14.3% و اقلها سجلت في منطقة الضلعوية من محافظة صلاح الدين بلغت (9.7%) وقد يعود السبب في اختلاف نسبة الاصابة بين الموسمين الى اختلاف الظروف البيئية المتمثلة بدرجات الحرارة والرطوبة النسبية ونوع التربة فضلاً عن الاهمال الكبير الذي تعاني منه بساتين النخيل مما ادى الى انعكاس ذلك سلباً على نمو اشجار النخيل وبالتالي عمل على اضعافها وجعلها اكثر عرضة للاصابة بمرض تعفن النورة الزهرية (3) (4) . اما نسبة الاصابة للإصناف وللموسم الاول فقد بينت نتائج التحليل الاحصائي جدول (6) ان اعلى نسبة اصابة سجلت للصنف خستاوي والصنف خضراوي بلغت 19.5 و 15.3 % على التوالي ، في حين ان اقل نسبة اصابة كانت للصنفين برين وزهدي بلغت 8.4 , 10.9 % على التوالي ، اما

جدول (5) يبين النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن النورة الزهرية في مناطق مختلفة من بعض المحافظات العراقية للموسمين 2019-2020 و 2020-2021

المحافظة	المنطقة	نسبة الإصابة للموسم 2019-2020	نسبة الإصابة للموسم 2020-2021
صلاح الدين	العلم	10.4	10.5
	الشرقاط	15.5	12.2
	الضلعوية	11.8	9.7
	سامراء	13.2	10.8
	الاسحافي	13.6	13.3
	بلد	11.1	11.5
نينوى	القيارة	14.8	14.3
كركوك	الحويجة	12.6	11.8
ديالى	الخالص	11.3	9.8
الانبار	هيت	14.4	12.9

جدول (6) يبين النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن النورة الزهرية حسب الصنف في بعض المحافظات العراقية للموسمين 2019-2020 و 2020-2021

الصنف	نسبة الإصابة للموسم 2019-2020	نسبة الإصابة للموسم 2020-2021
خستاوي	19.5	16.5
زهدي	10.9	10.2
برحي	00	00
خضراوي	15.3	10.7
بربن	8.4	4.6
جويزي	12.9	12.5
بصراوي	13.5	13.5

عزل وتشخيص المسببات المرضية من النورات الزهرية المصابة  
بينت نتائج العزل المختبري من النورات الزهرية المصابة ان هناك اربع عزلات فطرية وهي *F. solani* و *M. scaettae* و *F. oxysporum* و *Alternaria radicina* صورة (1) حيث كان اكثر الفطريات تواجداً هما الفطران *F. oxysporum* و *Alternaria radicina* وبنسبة تردد بلغت 86.6٪، و 93.3٪ على التوالي بينما بلغت نسبة ظهور الفطر *F. solani* و *Alternaria radicina* 80٪ في حين كانت اقل نسبة ظهور هي للفطر *M. scaettae* بلغت 73.3٪ كما مبين في الجدول (7) ان نتائج الدراسات السابقة اغلبها تشير الى ان الفطر *M. scaettae* هو المسبب الرئيسي لمرض تعفن النورة الزهرية والتي لا تطابق نتائج هذه الدراسة بنسبة ظهور اقل من الفطريات المرافقة، ربما يرجع السبب الى قلة سقوط الامطار وانخفاض الرطوبة النسبية وارتفاع درجات الحرارة وهي ظروف ملائمة لنمو وظهور عزلات الفطر *F. solani* و *Alternaria radicina*

عزل وتشخيص المسببات المرضية من النورات الزهرية المصابة  
بينت نتائج العزل المختبري من النورات الزهرية المصابة ان هناك اربع عزلات فطرية وهي *F. solani* و *M. scaettae* و *F. oxysporum* و *Alternaria radicina* صورة (1) حيث كان اكثر الفطريات تواجداً هما الفطران *F. oxysporum* و *Alternaria radicina* وبنسبة تردد بلغت 86.6٪، و 93.3٪ على التوالي بينما بلغت نسبة ظهور الفطر *F. solani* و *Alternaria radicina* 80٪ في حين كانت اقل نسبة ظهور هي للفطر *M. scaettae* بلغت 73.3٪ كما مبين في الجدول (7) ان نتائج الدراسات السابقة اغلبها تشير الى ان الفطر *M. scaettae* هو المسبب الرئيسي لمرض تعفن النورة الزهرية والتي لا تطابق نتائج هذه الدراسة بنسبة ظهور اقل من الفطريات المرافقة، ربما يرجع السبب الى قلة سقوط الامطار وانخفاض الرطوبة النسبية وارتفاع درجات الحرارة وهي ظروف ملائمة لنمو وظهور عزلات الفطر *F. solani* و *Alternaria radicina*

خلية قديمة واضحه . وشخص الفطر *M.scaetiae* من الشكل المميز للكونيدات والتي تكون برميلية اما على شكل سلسلة طويلة او تتكون من خليتين او من اربع خلايا بالاضافة الى ان لون المستعمرة يكون ابيض (كريمي) (16). اما الفطر *Alternaria radicina* فتكون ابواغة منفردة وعلى هيئة سلسلتين وونادراً على شكل ثلاث سلاسل ومختلفة الاشكال ومتباينة على الاغلب تكون اهليجية أو كمثرية الشكل ، لونها يتدرج من ما بين البني الغامق والبني الذهبي ولها منقاراً يكون جدارها املس غير مخرصة عند الحواجز لها حواجز عرضية (3 - 7) و حاجز طولي او مائل (15).

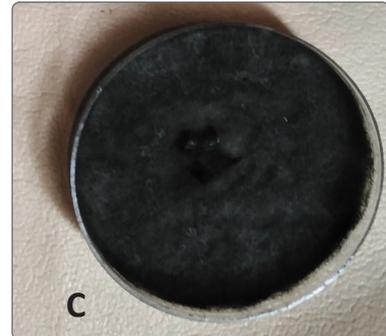
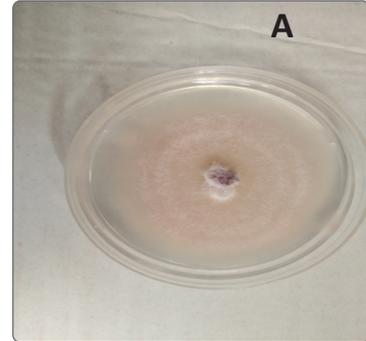
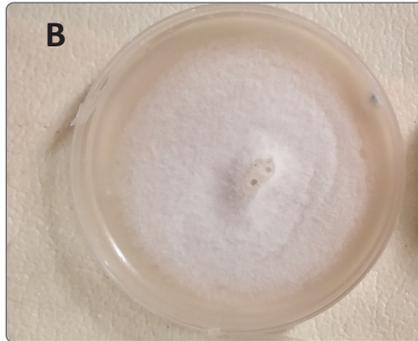
وغير ملائمة للفطر *M.scaetiae* ، (3) .  
تم تشخيص العزلات الفطرية وفق للمفاتيح التصنيفية التي استعملها (10)، (14) اذ شخصت عزلت الفطر *F. solani* من خلال لون المستعمرة الوردي و *Microconidia* عادة تكون بيضوية او متطالولة الشكل وال *Macroconidia* تكون خلايا قمية ومستديرة لا تحتوي على الخلايا القدمية *foot cell* اما *Chlamyospore* تكون شفافة كروية او بيضوية الشكل بينية او طرفية الموقع ومقسمة تقسيم ثنائي وذات جدار ناعم او خشن ، اما الفطر *F.oxysporum* تكون على شطل ضمة comma -shaped وشكل *Macroconidia* يحتوي على خلية قمية مستدقة ذات

جدول (7) النسبة المئوية لظهور الفطريات المعزولة من النورات الزهرية المصابة

النسبة المئوية للظهور في الموقع الاول	الفطريات المعزولة
73.03%	<i>M.scaetiae</i>
86.6%	<i>F.oxysporum</i>
80%	<i>F.solani</i>
93.3%	<i>Alternaria radicina</i>

صورة (1)

تمثل الفطريات المعزولة من النورات المصابة



A. الفطر *F.oxysporum*

B. الفطر *F.solani*

C. الفطر *Alternaria radicina*

D. الفطر *M.scaetiae*

ZR Fungal /Bacterial / Yeast DNA Mini Prep والذي تبين انه كان ذو نوعية جيدة اثبتت كفاءة بالاختبارات اللاحقة . حيث لوحظت حزم الحامض النووي DNA واضحة عند ترحيلها كهربائياً على هلام الاكاروز وبتركيز 1.5 % كما مبين في الصورة (2) كما لوحظ كفاءة الاستخلاص بطريقة استخدام عدة الاستخلاص اعلاه في الحصول على كميات وافره من الحامض النووي من جينوم الفطريات المدروسة .

التشخيص الجزيئي لمسببات مرض تعفن النورة الزهرية على النخيل  
1. استخلاص DNA من عزلات الفطريات المعزولة من النورات الزهرية  
اشارة نتائج استخلاص الحامض النووي الجينومي DNA لعزلات الفطريات *F. oxysporum* و *M. scaettae* و *F. solani* و *Al. radicina* المدروسة باستخدام عدة الاستخلاص

*Al. radicina*      *F. solani*      *M. scaettae*      *F. oxysporum*



صورة (2) الترحيل الكهربائي لجينوم عزلات الفطريات المدروسة على هلام الاكاروز وبتركيز 1.5 %

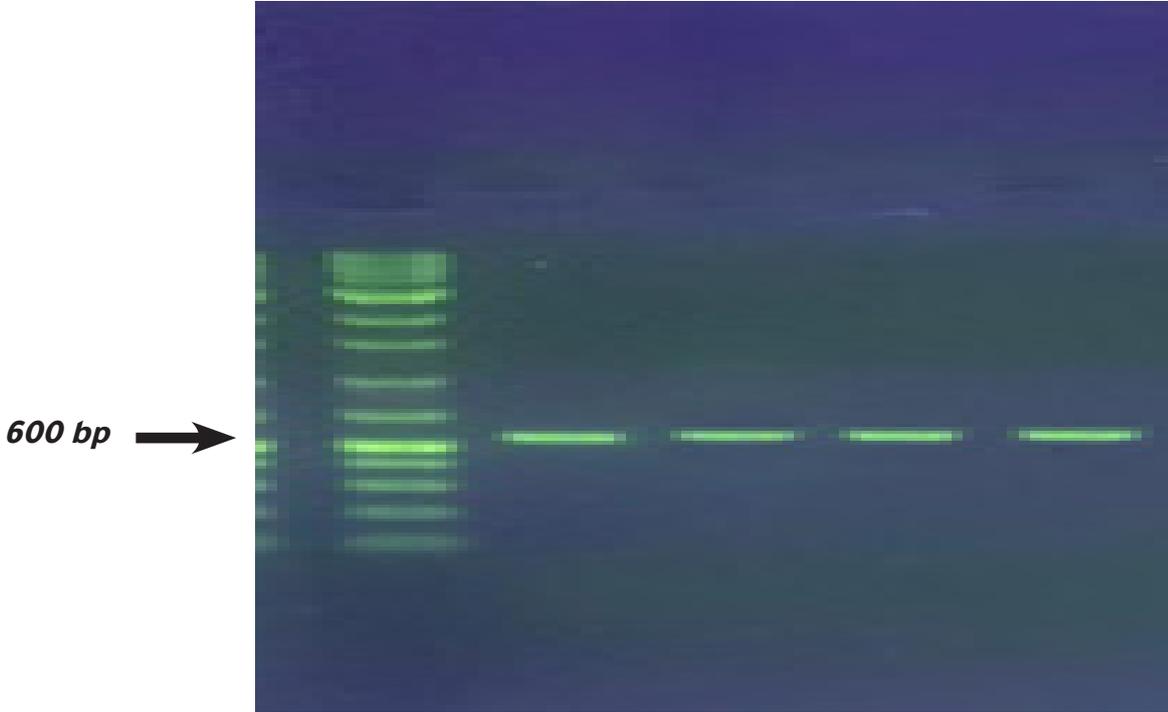
تضخيم DNA الخاص بقطعة الجين المذكور وعلى جميع العزلات الفطرية المسببة لتعفن النورة الزهرية على النخيل (*F. oxysporum* و *M. scaettae* و *F. solani* و *Alternaria radicina*) وبحجم حزم 600bp كما مبين في الصورة (3) .

2. تقانات تفاعل البلمرة المتسلسل

### Polymerase Chain Reaction

اعطت نتائج الكشف عن جين ITS باستخدام تقنية PCR وياستعمال البادئ المتخصص على الجين ITS نتائج ايجابية من خلال النجاح في عملية

*M. Al. radicina* *F. solani* *M. scaettae* *F. oxysporum*



- صورة (3) الترحيل الكهربائي لنتائج تضخيم جينوم ITS على هلام الاكاروز بتركيز 2% وبحجم حزمة 600bp
1. M . تمثل حزم الدليل الحجمي .
  2. حزمة تمثل الفطر *F. solani* .
  3. حزمة تمثل عذلة الفطر *Al. radicina* .
  4. حزمة تمثل عذلة الفطر *M. scaetta* .
  5. حزمة تمثل عذلة الفطر *F. oxysporum* .

مواقع القواعد و 99.59% لعذلة الفطر و *F. solani* مع عذلة لنفس الفطر في China ، سجلت العزلات الفطرية الممرضة والمعزولة من النورات الزهرية للنخيل المصاب في البنك الوراثي العالمي تحت اسماء Alter- naria radicina strain ICMP 5619 والعذلة Mauginiella scaettae strain OU3 والعذلة Fusarium oxysporum isolate 150515-5 والعذلة Fusarium solani isolate R5 وبالارقام العالمية MZ224457.1 ، MZ224517.1 ، MZ224479.1 ، MZ224478.1 وعلى التوالي كما مبين في الجدول (8).

3. تشخيص العزلات الفطرية المسببة لتعفن النورة الزهرية حسب تسلسل القواعد النروجينية بالاعتماد على تتابع تسلسل القواعد النروجينية لمنطقة الجين ITS ومن خلال مقارنة تطابق نتائج تتابع الجين مع سلالات الفطريات في البنك الوراثي العالمي بين الجدول (8) ان هناك نسبة تطابق بنسبة 99.45% لعذلة الفطر *Alternaria radicina* مع عذلة لنفس الفطر في New Zealand ، و 99.44% لعذلة الفطر *M. scaettae* مع عذلة لنفس الفطر في Algeria و 100% لعذلة الفطر *F. oxysporum* مع عذلة لنفس الفطر في USA حيث لا يوجد اي تغيير في

جدول ( 8 ) التشخيص الجزيئي لعزلات الفطريات اعتمادا على النسبة المئوية لتطابق  
تتابعات الجين 5.8S r RNA مع سلالات الفطريات في البنك الوراثي العالمي

ت	رمز عزلة الفطر	نوع الفطر الاعلى تطابقا	الرقم العالمي	الدولة	نسبة التشابه %	الرقم العالمي لعزلات الفطريات المشخصة في هذه الدراسة
1	Kh-1105	<i>Alternaria radicina strain ICMP 5619</i>	MW862781.1	New Zealand	99.45	MZ224457.1
2	Kh-1108	<i>Mauginiella scaettae strain OU3</i>	KT587193.1	Algeria	99.44	MZ224517.1
3	kh-1106	<i>Fusarium oxysporum isolate 150515-5</i>	MT460375.1	USA	100	MZ224479.1
4	Kh-1107	<i>Fusarium solani isolate R5</i>	MT937227.1	China	99.59	MZ224478.1

### المصادر

1. الشمري ، غالب ناصر و عبد الهادي حسين محمد. 2019. تأثير عدد السعف والرشد بالبنزل ادينين في صفات ثمار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنفى الخضراوي والمكاوي . مجلة العلوم الزراعية والبيئية والبيطرية. العددالثاني-المجلد الثالث م-3364-2522. ISSN: 2522-3364 .
2. البكر، عبدالجبار. 1972. نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجارتها. مطبعة العاني بغداد العراق، (2019).
3. فياض محمد عامر. 2019 . مرض خياس طلع النخيل (الخامج) كلية الزراعة - جامعة البصرة [www.iraqi-datepalms.net](http://www.iraqi-datepalms.net) .
4. المليجي، محمد عبد الستار. 2015. امراض النخيل في المملكة العربية السعودية وطرق مكافحتها قسم وقاية النبات، كلية الزراعة والطب البيطري، جامعة القصيم، امملكة العربية السعودية. 2015.
5. عباس، محمد حمزة (2005) النشاط الأنزيمي الخارج خارج الخلوي لبعض الفطريات الممرضة لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* والسايكس *Cycasrevoluta*. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. 4 (1-2): 1-10 .
6. السعدون، عبد الله حمود وسمير خلف عبد الله وعبد النبي هادي العيسى (2004) دراسة النشاط الأنزيمي الخارج الخلوي للفطر *Mauginiella scaettae Cav*. المسبب لخياس طلع النخيل. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. 3: 1-12 .

13. Agrious, G.N. (2005) Plant Pathology. New York . Academic Press. 903 pp.
14. Dugan, F.M. (2006) The identification of fungi an illustrated introduction with keys, glossary, and guide to literature. U.S. Department of Agriculture ,Agricultural Research Service Washington State University Pullman .176 pp.
15. Pryor, B.M. and Gilbertson, R.L. (2002). Relationships and taxonomic status of *Alternaria radicina*, *A. carotiincultae* and *A. petroselini* based upon morphological, biochemical, and molecular characteristics. *Mycologia*.94: 49-61.
16. Siger, L and Carmichael, J.W. (1976) Taxonomy of *Malebranche* and some other hyphomycetes with arthroconidia. *Mycotaxon*.4(2):349-488.
7. Abdulhadi Hussain Mohammed and Al-Shammari Ghaleb Nasser .(2019) Effect of Number leaves, Benzyl adenine Spraying on Characteristics of Date of Palm *Phoenix dactylifera* L. *Fruits c.v Khidrawi and Mekkawy*. Arab journal of sciencces & Research publishing. issn:2522-3364
8. Letouze, R.; F. Daguin; P. Satour; L. Hamama and F. Marionate. 1998. Somatic embryogenesis and mass micropropagation of date palm characterization and genetic stability of regenerated plantlets by RAPD markers. In: 1st. inter.conf. date palms, Mar. 1998, Al-Ain, U.A.E. pp:158-167.
9. Abdullah, S. K; Asensio, L; Monfort, E; Gomez-vidal, S; Palma-Guerrero, J; Salinas, J; Lopez, L.V; Gansson, H.B and Guarro, J. (2005). Occurrence in Elx, SE Spain of Inflorescence rot of date palm caused by *Mauginiella scattae*. *J. Phytopath.* 134:417-422.
10. Samson, R.A. ; Hoekstra, E.S. and Frivad, J.C. (2000) Introduction to food and air borne fungi. 6th ed. Centre Albureau Voor Schimmel Cultures , Utrecht, The Netherland. pp.120-157.
11. Copper, C. 1977. The Tools of Biochemistry. John Wiley and Sons Inc. USA.
12. White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J.W. (1990). "Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics". Inc: Guide to Methods and Applications, Academic Press. USA. pp. 315 -322.