النشاط الإنزيمي خارج خلوي لبعض الفطريات الممرضة لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* والسايكس *Cycas revoluta*

محمد حمزة عباس

مركز ابحاث النخيل –جامعة البصرة

البصرة–العراق

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة في مختبرات مركز ابحاث النخيل /جامعة البصرة لتحديد الفعالية الإنزيمية خارج خلوية لبعض الفطريات الممرضة لنخيل التمر والسايكس *Fusarium solani* و *Mauginiella scaettae* و *Thielaviopsis paradoxa* في إنتاجها لإنزيمات البروتيز والسليليزواللاييز والاميليز والفينول الاوكسيديز على الأوساط الصلبة الخاصة بالكشف النوعي.

وبينت النتائج تفاوت الفطريات الممرضة في إنتاجها للإنزيمات المدروسة فقد أعطى الفطر المسبب لتدهور نخيل السايكس *F.solani* كشفاً موجباً لجميع الإنزيمات المدروسة وبدرجات فعالية متفاوتة، وكانت أعلى فعالية إنزيمية لهذا الممرض مع إنزيمي البروتيزوالاميليز، في حين سجل الفطر *M.scaettae* المسبب لخياس طلع النخيل أعلى فعالية مع إنزيم البروتيز، وفعالية مع إنزيم الفينول اوكسيديزوأعطى كشفاً سالباً مع إنزيم اللاييز، وكان الفطر الممرض *T.paradoxa* المسبب لمرض تعفن القمة النامية في النخيل متوسط الفعالية لإنزيمات البروتيز والفينول اوكسيديزوأعطى كشفاً سالباً لإنزيمي اللاييز والاميليز.

المقدمة

تلعب الإنزيمات دوراً أساسياً ومهماً في أحداث المرض على النبات العائل كونها تعمل على تحطيم المحتويات البنائية لخلايا النبات، فضلاً عن تحللها المواد الغذائية غير الحية في الخلية وتؤثر بشكل مباشر في البروتوبلاست وتخل في أجهزته الفعالة، وان معظم الممرضات النباتية تفرز طيلة وجودها أو خلال ملامستها للمادة الخاضعة Substrate(Agrios,١٩٩٧).وأن أول اتصال بين الممرض والعائل يحدث عند سطح النبات، ومثل هذا السطح يتكون أساساً من السليلوز الذي يشكل جدران البشرة ، أو من السليلوز زائداً الكيوتين في الأجزاء الهوائية من النبات ، كما قد يوجد بكتين ولكنين في جدران خلايا البشرة(العروسي ووصفي، ١٩٧٩).

وتمتاز الفطريات الممرضة للنبات بمقدرتها على إفراز طيف واسع من الازيمات المحللة مثل Protease و Cellulase وLipase وAmylase وPhenol oxidase و Tyrosinase و Peroxidase. وليست

لجميع الفطريات الممرضة المقدرة على إفراز كل هذه الإنزيمات فقد ذكر Hankin & Anagnostakis(١٩٧٥) أن عزلات الفطر *Phytophthora parasitica* ليست لديها المقدرة على إفراز الإنزيم المحلل للبروتينات، في حين كان لباقي الفطريات الممرضة مثل *F. oxysporum* المقدرة على إنتاج هذا الإنزيم، كما أشار السعدون (١٩٨٩) في دراسة النشاط الإنزيمي خارج خلوي لعزلات مختلفة من الفطر *M. scattae* إلى فشل جميع العزلات المدروسة في إعطاء كشفاً موجباً لإنزيم الاميليز، بينما تفاوتت العزلات في درجة نشاطها الإنزيمي لإنزيمات مختلفة.

نفذت هذه الدراسة لتحديد النشاط الإنزيمي خارج الخلوي لثلاث ممرضات هي *F. solani* المسبب لمرض تدهور نخيل السايكس و المسبب لمرض خياس طلع النخيل*M.scaettae* والفطر *T.paradoxa* المسبب لمرض تعفن القمة النامية في النخيل.

مواد العمل وطرائقه

١-الفطريات الممرضة Fungal pathogens

تم الحصول على عزلة الفطر *T. paradoxa* المسبب لمرض تعفن القمة النامية على النخيل من قسم وقاية النبات –كلية الزراعة ،أما الفطر *M.scaettae* و*F. solani* فقد عزلا من عينات نخيل تمر وسايكس مصابة بمرض خياس طلع النخيل وتدهور السايكس ، على التوالي(عباس، ٢٠٠٤و عباس وآخرون ،٢٠٠٤).

٢-دراسة النشاط الإنزيمي خارج خلوي Extra cellular enzymatic activity study

استخدمت أوساط زرعية صلبة للكشف النوعي Quantative عن فعالية الفطريات الممرضة الثلاث في إنتاجها الإنزيمات :Proteaseو Lipase Cellulase و Amylase و Phenol oxidase .

أخذت أقراص ذات أقطار متساوية من مزارع نقية لعزلات الفطريات النامية على الوسط الزرعي PDA بعمر سبعة أيام، لقحت الأطباق الحاوية على الأوساط الغذائية الخاصة بالاختبارات الأنزيمية المختلفة وبثلاث مكررات لكل عزلة فطر ممرض.حضنت الأطباق الملقحة في درجة حرارة ٣٠+ ¯ ١°م لمدة سبعة أيام لجميع الإنزيمات ، بعدها اجري الكشف عن الإنزيمات المدروسة.

٢-١-الكشف عن نشاط البروتيز Proteolytic activity:

أستخدم الوسط الحاوي على الجلاتين والموصوف في Society of American Bacteriologist(١٩٥١) لملاحظة إنتاج الإنزيم المحلل للبروتين والذي يتكون من:-

الاكر المغذي الصلب Nutrient Agar ٩٥٠ مل

الجلاتين ٠،٤% Gelatin

حضر محلول الجلاتين ٨% وعقم على حدة، وأضيف الاكار المغذي الصلب بنسبة ٥ مل لكل ١٠٠ مل من الوسط، وللكشف عن فعالية الإنزيم استخدم كاشف فريزر Frazier's reagent كما ورد في Bisson & Cabelli(١٩٧٩) :

كلوريد الزئبقيك $Hgcl_2$ (٥ غم) وحامض الهيدروكلوريك المركز Con.Hcl (٢٠ غم)و ماء مقطر Dist. water (١٠٠مل)، وان تكون هالة شفافة حول المستعمرة بعد إضافة الكاشف وتركه بعض دقائقه ثم سكبه ، يدل على مقدرة الفطر المدروس على استغلال البروتين وإنتاج إنزيم البروتيز، وقطر الهالة يعبر عن مدى فعالية الفطريات على إنتاج هذا الإنزيم.

٢-٢-الكشف عن نشاط السليليز Cellulolytic activity:

اعتمدت الطريقة الموصوفة من قبل (١٩٦٣) Reese & Mandels والوسط المتكون من :-

المادة	التركيز	الوحدة
فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KH_2Po_4	٢	غم/لتر
كبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$	١،٤	غم/لتر
يوريا Urea	٠،٣	غم/لتر
كبريتات المغنيسيوم $MgSO_4 7H_2O$	٠،٣	غم/لتر
كلوريد الكالسيوم $CaCl_2,2H_2O$	٠،٣	غم/لتر
بيبتونPeptone	١	غم/لتر
ملح الصوديوم لكربوكسي مثيل السليلوز CMC	١٠	غم/لتر

أضيفت اليوريا بعد التعقيم،أما الملح CMC-Na (Carboxymethylcellulose sodium salt) فيضاف بالتدريج مع التحريك باستخدام خلاط مغناطيسي والتسخين حتى يذوب ثم أضيفت مكونات الوسط الأخرى وتم التعقيم بجهاز التعقيم البخاري على ضغط ١٥ باوند/انج^2 وحرارة ١١٥ ^{o} م لمدة ٢٠ دقيقة، أما الكاشف المستخدم للاستدلال على إنزيم السليليز هو محلول يود حامض الهيروكلوريك HCl-Iodine solution ، والمحضر بمزج ١٠٠ مل من الحامض (٠,١ HCl) و٥٠٠ مل من (١٪) I + (٢٪) KI بدلالة وزن/حجم (١٩٨٥, Yeoh et al.).وان تكون هالة صفراء حول المستعمرة الفطرية بعد تفاعل الكاشف يدل على قدرة الفطر على تحليل السليلوز.

٢-٣-الكشف عن نشاط اللايبيز Lipolytic activity:

تم تحديد فعالية الممرضات الفطرية في إنتاج إنزيم اللايبيز حسب طريقة Sierra(١٩٥٧) والوسط المكون من :-

المادة	التركيز	الوحدة
بيبتون Peptone	٨	غم/لتر
كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$	٠،١	غم/لتر
توين ٨٠ Tween ٨٠	١٠	مل/لتر
أكر Agar	٢٠	غم/لتر
ماء مقطر Dist. water	١	لتر

عقم التوين ٨٠ (Sorbitan polyxythylene mono-oleic) على حدة ثم أضيف إلى الوسط القاعدي المبرد بعد التعقيم.استدل على إفراز إنزيم اللايبيز في الوسط الصلب أما بتكون راسب ابيض مرئي تحت النمو أو بلورات بيضاء مغمورة بالوسط حول المستعمرة.

٢-٤-الكشف عن نشاط الاميليز Amylolytic activity:

اعتمدت الطريقة الموصوفة من قبل Hankin & Anagnostakis(١٩٧٥) والوسط المتكون من :-

المادة	التركيز	الوحدة
نشأ ذائب Soluble starch	٨	غم/لتر
خلاصة الخميرة Yeast extract	٠،١	غم/لتر
أكر Agar	١٨	غم/لتر
ماء مقطر Dist. water	١	لتر

واستعمل الكاشف محلول ايوديد البوتاسيوم KI (I_2 ٣ غم/لتر+ KI ٥ غم/لتر) بإضافته إلى الوسط الخاص بإنزيم الاميليز وترك لمدة عشرة دقائق ثم سكب وترك لمدة خمس دقائق وان تكون هالة صفراء حول المستعمرة وتلون باقي الوسط باللون الأزرق دليل على إنتاج الإنزيم، قطر الهالة يدل على نشاط الفطر

٢-٥-الكشف عن نشاط الفينول اوكسيديز Phenol oxidase activity:

اعتمدت طريقة(١٩٨٠) Gessner والوسط المكون من :-

المادة	التركيز	الوحدة
خلاصة الشعير Malt extract	١٥	غم/لتر
حامض التانيك Tannic acid	٠،٨	غم/لتر
أكر Agar	٢٠	غم/لتر
ماء مقطر Dist. water	١	لتر

يذوب حامض التانيك في ١٠٠ مل ماء مقطر معقم، ثم يمزج مع مكونات الوسط الأخرى المذوبة في ٩٠٠ مل ماء مقطر معقم على حدة، ظهور لون بني غامق في ظهر المستعمرة وحولها يدل على إفراز هذا الإنزيم وانتشار اللون يدل على مدى الفعالية.

وأعتمد مقياس السعدون(١٩٨٩) لتحديد درجة النشاط الإنزيمي وكالاتي:-

درجة النشاط	حيز النشاط/ ملم	تفاصيله
-	سالب	لا يفرز
+⁻	من ١-٣	ضعيف
+	أكثر من ٣-٥	متوسط
++	أكثر من ٥-٨	جيد
+++	أكثر من ٨-١١	نشيط
++++	أكثر من ١١	نشيط جداً

النتائج والمناقشة

١-النشاط الإنزيمي خارج خلوي للفطريات *F. solani* و *M. scaettae* و *T. paradoxa* لإنزيمات البروتيز والسليليز واللايبيز:

تشير النتائج الموضحة في الجدول(١) إلى تباين الطريات الممرضة *F. solani* و *M. scaettae* و *T. paradoxa* في قدرتها على إنتاج الإنزيمات المحللة للبروتين و السليليز و اللايبيز، فبالنسبة للبروتينات Proteins والتي تتكون عن طريق اتحاد جزيئات كثيرة تصل إلى حوالي ٢٠ نوعاً من الأحماض الامينية Amino acids المختلفة، لها أهمية أعظمى باعتبارها إنزيمات ومكونات لأغشية الخلية وعناصر بنائية للخلايا النباتية ، لذا فان عملية تحللها بوساطة الإنزيمات المحللة للبروتين Protease يؤثر بدرجة كبيرة في نظام ووظيفة خلايا العائل ، وهنا تفوق الفطر *F. solani* في إنتاجه لإنزيم البروتيز في الكشف النوعي مسجلاً حيزاً للنشاط بلغ ١٥,٢ سم ، تلاه الفطر *M. scaettae* الذي كان نشيطاً جداً في إفراز لإنزيم البروتيز وفقاً لمقياس السعدون (١٩٨٩) وسجل الفطران قطرا نمو بلغا ٣٤,٦ و٢٩,٤ ملم، على التوالي، بينما كان الفطر المسبب لمرض تعفن القمة النامية على النخيل *T. paradoxa* ذي فعالية إنزيمية ضعيفة بلغ حيز النشاط البروتيز ١,٢ ملم.

أما عن السليلوز الذي يعد المكون الأساس لجدران الخلايا النباتية وهو عبارة عن سكر مكون من جزيئات الكلوكوز ويوجد في جميع النباتات الراقية كمادة هيكلية بهيئة لييفات دقيقة و يتم تحليله بوساطة إنزيم السليلز Cellulase المتكون Exoglucanase و Endogolucanase و*B*-glucanas (Bhat & Bhat,١٩٩٧) فقد أبدى المسبب لمرض تدهور نخيل السايكس *F. solani* نشاطاً في إفرازه مسجلاً حيزاً للنشاط بلغ ١١,١ ملم ومعدل نمو بلغ ٤٨,٢ ملم، بينما أعطى الفطران *M. scaettae* و *T. paradoxa* كشفاً موجباً وبفعالية ضعيفة بلغ فيهما حيزا النشاط ٢,٢ و ٣,٠ ملم، على التوالي.

أن الفعالية الضعيفة لإنزيم السليليز للفطر *M. scaettae* جاءت متفقة مع ما بينه السعدون (١٩٨٩)في دراسته لنشاط عزلات مختلفة من الفطر المسبب لخياس طلع النخيل *M. scaettae*، فقد كانت جميع العزلات المدروسة ضعيفة الفعالية ، كذلك أتفقت نتيجة الفطر *T. paradoxa* مع ما أثبته غالي(٢٠٠٢) من الفعالية الضعيفة جداً على إنتاج إنزيم السليليز إذ بلغ معدل المسافة ٠,٩٣ ملم، في حين سجل الفطر *F. oxysporum* أعلى نشاطاً انزيمياً بلغ ٦,١٣ ملم، أما عن إنزيم اللايبيز Lipase فيعد من الإنزيمات المهمة في إحداث المرض لكونه يهاجم المكون الثاني لسطوح الخلايا في العائل وهو الغشاء البلازمي(Griffin,١٩٨١)، ويوضح الجدول(١) النشاط المتوسط للفطرين *F. solani* و*M. scattae* في أنتاجهما للإنزيم المحلل، وبلغ معدل نموهما على الوسط الغذائي الحاوي على مادة التوين ٨٠ Tween (٨٠) [Sorbitan polyxythylene mono-oleic] ١٨,١ و ١٦,٢ ملم، على التوالي، بينما فشل الفطر *T. paradoxa* أي كشف موجب لهذا الإنزيم.

جدول(١) الفعالية الإنزيمية للفطريات الممرضة لنخيل التمر والسايكس لإنزيمات البروتيز والسليليز و اللاييبز.

الفطر الممرض	إنزيم البروتيز/ملم			إنزيم السليليز/ملم			إنزيم اللاييبز/ملم		
	قطر النمو	حيز النشاط	درجته	قطر النمو	حيز النشاط	درجته	قطر النمو	حيز النشاط	درجته
F. solani	*٣٤,٦	١٥,٢	++++	٤٦,٢	١١,١	+++	١٨,١	٥,٠	+
M. scaettae	٢٩,٤	١٢,٠	++++	٤١,٢	٢,٢	$+^{-}$	١٦,٢	٤,١	+
T. paradoxa	٢١,٤	١,٢	$+^{-}$	١٢,٤	٣٠,٠	$+^{-}$	١١,٢	–	–

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات.

٢-النشاط الإنزيمي خارج خلوي للفطريات *F. solani* و *M. scaettae* و *T. paradoxa* لإنزيمي الاميليز والفينول اوكسيديز:

إن معظم الممرضات النباتية لها المقدرة على تمثيل النشأ كمصدر للكربون في نشاطاتها الايضية ويتم تحليل النشا بفعل الإنزيمات المسماة بالاميليز Amylases (Agrios,١٩٩٧)، تبين النتائج الموضحة في الجدول(٢) فشل الفطران *M. scaettae* و *T. paradoxa* على إنتاج إنزيم الاميليز، بينما سجل الفطر *F. solani* فعالية عالية جداً في إنتاجه إذ بلغ حيز النشاط فيه ١٢,٢ ملم، وجاءت نتائج فشل الفطر المسبب لخياس طلع النخيل *M. scaettae* في إنتاجه هذا الإنزيم متفقة مع ما أثبته السعدون(١٩٨٩) من فشل عزلات الممرض المختلفة في إعطاء كشفاً موجباً لهذا الإنزيم، بينما أشار Hankin & Anagnostakis(١٩٧٥) في دراستهما للنشاط الاميليز لعدد من الفطريات الممرضة منها *F. oxysporum* إلى قدرته العالية على إفراز إنزيم الاميليز.

أما عن فعالية إنزيم الفينول أوكسيديز فتعد أكسدة حامض التانيك Tannic acid كشفاً موجباً لفعاليته ويدخل هذا الإنزيم في تحليل مادة اللكنين (Mai et al.,٢٠٠٠)، وان محتوى النبات من هذه المادة يتراوح بين ١٥-٣٨%وهو المركب الثاني بعد السليلوز(Agrios,١٩٩٧)، وهو عبارة عن معقد عضوي عالي التعقيد مقاوم المهاجمة اغلب الكائنات المجهرية، وتعد الفطريات المجموعة الوحيدة القادرة على تحليله(Saparat at al., ٢٠٠٠).وأوضحت النتائج المبينة في الجدول(٢) إن الفطر المسبب لخياس طلع النخيل أعطى أعلى كشفاً موجباً لهذا الإنزيم، وكان نشاطه جيداً حسب مقياس السعدون(١٩٨٩) إذ سجل حيزاً للنشاط ٦,٢ ملم، بينما أبدى الفطران *F. solani* و *T. paradoxa* فعالية متوسطة في إنتاج إنزيم الفينول اوكسيديز، وجاءت نتيجة كفاءة الفطر *M. scaettae* متفقة مع ما أشار إليه (Duran et al.(٢٠٠٢

من مقدرة هذا الفطر على تحليل المركبات الفينولية بكفاءة عالية، واختلفت كفاءة الفطر *F. solani* المتوسطة في إنتاج هذا الإنزيم مع ما أثبته Saparat et al.(٢٠٠٠) من الفعالية العالية لهذا الفطر على إفراز إنزيم الفينول اوكسيديز، وقد يعزى هذا الاختلاف إلى نوع العزلة المستعملة ومصدر عزلها.

جدول(٢) الفعالية الإنزيمية للفطريات الممرضة لنخيل التمر والسايكس لإنزيمات الاميليز والفينول اوكسيديز

الفطر الممرض	إنزيم الاميليز/ملم			إنزيم الفينول اوكسيديز/ملم		
	قطر النمو	حيز النشاط	درجته	قطر النمو	حيز النشاط	درجته
F. solani	٣٣,٦*	١٢,٢	++++	٢١,٨	٤,١	+
M. scaettae	٢٨,٤	–	–	١٧,٤	٦,٢	++
T. paradoxa	١٧,٥	–	–	٢٢,٥	٣,٤	+

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات.

- المصادر:-

- ***السعدون،*** عبد الله حمود (١٩٨٩).دراسة حول الفطر *Mauginiella scattae* Cav. المسبب لمرض خياس طلع النخيل، رسالة ماجستير، كلية العلوم جامعة البصرة ١٤٠ صفحة.
- ***العروسي،*** حسين و وصفي، عماد الدين، (١٩٧٩).مورفولوجيا وتشريح النبات، كلية الزراعة، جامعة الإسكندرية-مصر، ٣٤٤ص.
- ***عباس،*** محمد حمزة، (٢٠٠٤).كفاءة بعض المبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطر *Mauginiella scaettae* المسبب لمرض خياس طلع النخيل في البصرة.مجلة البصرة للعلوم الزراعية،المجلد ١٧،العدد ٢.
- ***عباس،*** محمد حمزة،حميد، محمد عبد الرزاق وجاسم، عباس مهدي(٢٠٠٤).أول تسجيل لمرض الذبول الفيوزارمي على نخيل السايكس *Cycas revoluta* المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* (Mart)Sacc. في العراق. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد ١٧، العدد ٣.
- ***غالي،*** فائز صاحب(٢٠٠١). تدهور النخيل المتسبب عن الفطر *Chalara paradoxa* ظروف الإصابة والمقاومة.أطروحة دكتوراة، كلية الزراعة-جامعة بغداد. ١٩٠ صفحة.

- ***Agrios*** ,G.N.,(1997).Plant pathology.Newyork.Academic press**.**
- ***Bhat,***M.K.& Bhat,S.(1997).Cellulase degrading enzymes & their potential industrial application.Biotech.Adv.15:58-620.
- ***Bisso***n,J.W. & Cabelli,V.J.(1979).Membrane filter enumeration method for *Clostridium perfringens* .Appl.Envir.Microb.37:55-66.
- ***Duran***,N.;Rosa,M.A.;D-Annibale & Gianferdal,I(2002).Application of Laccase & Tyrosinase (Phenol oxidase) immobilized on different support: a review.Enzym.Microb.Technol.31:907-931.
- ***Gessner***,R.V..(1980).Degradative enzyme production by salt-march fung.Bot.Mar.23:133-139.
- ***Griffin***,H.A.(1981).Fungal physiology. John Wiley & sons. New York & Toronto.
- ***Hankin***,L.& Anagnostakis,S.L.(1975).The use of solid media for detection of enzyme production by fungi.Mycologia 67:597-607.
- ***Mai***,C.;Schorrman,W.;Milsten,O. & Hutterman(2000).Enhanced stability of Laccase in the presence of phenolic compounds.Appl.Microb.Biotech.54-510-514.
- ***Reese***,E.T. & Mandles,M.(1963).Enzymic hydrolysis of cellulose& its derivatives. In methods in carbohydrate chemistry.Vol.3.R.L.Whisler(ed.)Academic Press, New York, 139-143.
- ***Sapara***t,M.C.N.;Bucsinszky,A.M.M.;Tournier,H.A.;Cabello,M.N.& Arambari,A.M.(2000).Extracellular ABTS-oxidizing activity of autochthonous fungal strain from Argentina in solid medium.Rev.Iberoam Micol.17:64-68.
- ***Sierra***,G.(1975).A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms & some observation on the influence of contact between cells & fatty substrate.Antooni Van Leeuwenhoek 23:15-22.
- ***Society of American Bacteriologist*** (1951).Manual of methods for pure culture study of Bacteria .McGrraw-Hill,New York & London.
- ***Yeoh,***H.H.;Khew,E. & Lim,G(1985). A simple method of screening cellulolytic fungi.Mycologia,77(1):161-162.

EXTRACELLULAR ENZYMATIC ACTIVITY OF PATHOGENIC FUNGI TO DATE PALM *Phoenix dactylifera* & CYCAS *Cycas revoluta*

MOHAMMED H. ABASS
DATE PALM RESEARCH CENTER

Summary

This study was conducted at the Laboratories.of Date Palm Research Center-Basrah univ. to determine the extracellular enzymatic activity of some Date Palm and Cycas fungal pathogen which were *Fusarium solani* ;*Mauginiella scaettae* and *Thielaviopsis paradoxa* in their production to Protease ;cellulose ;Lipase ;Amylase and Phenol oxidase enzymes on special solid media designed to quantative test.

The results elucidated that the pathogenic fungi varied in their ability to produce degredating enzymes, the causal agent of Cycas decline *F. solani* showed a positive test for all studied enzymes with varying degree of activity , the highest extracellular activity were in Protease and Amylase test, while the causal agent of Date Palm inflorescence rot *M. scaettae* recorded highest activity for Protease test and good activity for Phenol oxidase enzyme , the pathogen gave a negative test for Amylase .

The pathogenic fungus *T. paradoxa* the causal agent of Terminal Bud rot of Date Palm had a moderate activity for Protease ; Lipase and gave a negative test for Amylase.