الفعالية التثبيطية لبعض المبيدات الفطرية في تقليل التلوث الفطري في مزارع أنسجة نخيل التمر *Phoenix dactylifera L.*

نجلاء حسين محمد

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة- جامعة البصرة

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة لتشخيص التلوث الفطري المصاحب للزراعة النسيجية لكالس أصناف مختلفة من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. ومحاولة اختبار كفاءة بعض المبيدات الفطرية في تقليل التلوث في مختبرات مركز أبحاث النخيل /جامعة البصرة. أوضحت نتائج عزل وتشخيص الفطريات الملوثة عزل أجناس فطرية مختلفة، سجل فيها الفطر *Aspergillus niger* أعلى النسب المئوية للظهور بلغت ٢٥%، تلاه الفطر *Penicillium* sp2 20% وسجلت النسب المئوية لظهور الفطريات *Alternaria alternata* و *Penicillium* sp1 و *Rhizopus* sp. معدل ١٥% لكل الفطريات. وبينت نتائج غربلة المبيدات الفطرية (بنليت وكاربندازايم) تفوق المبيد البنليت الذي أدت معاملته إلى تثبيط نمو الفطريات الملوثة بصورة كلية على الأوساط الغذائية الصلبة والسائلة، كما أثبتت النتائج عدم معنوية تأثير المبيد الفطري البنليت (١غم/لتر) في مؤشرات النمو المدروسة للكالس الجنيني لصنف نخيل التمر الأشقر والتي لم يختلف فيها الوزن الطري والجاف للكالس الجنيني بوجود المبيد عن معاملة المقارنة، كما أدت معاملة المبيد البنليت إلى اختزال النسبة المئوية للتلوث الفطري من ١٠٠% إلى ٤٥%.

الكلمات المفتاحية: زراعة الأنسجة، نخيل التمر، التلوث الفطري، المبيدات الكيميائية.

المقدمة

تعد نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. أحدى أهم أشجار النخيل المثمرة في العالم سيما في بلدان الشرق ألأوسط. وبلغ معدل أنتاج النخيل العالمي من التمور بأكثر من ٧.٥ مليون طن في عام ٢٠٠٩، وغطت المساحة المزروعة بنخيل التمر ما يقارب الـ ١.٣ مليون هكتار، شكلت دول الشرق الأوسط وشمال أفريقيا الجزء الأعظم منها (FAO, 2011، Abass, 2013). ويتأتى هذا الاهتمام المتزايد بنخيل التمر للقيمة الغذائية العالية لتمورها كونها تمثل مصدراً مهماً للطاقة والعناصر الغذائية الضرورية، وتشكل الكربوهيدرات ما معدله ٧٠% من المحتوى الكلي، و ١٥-٣٠% محتوى مائي، مع العديد من العناصر المعدنية المهمة مثل الحديد والبوتاسيوم والكالسيوم (Thabet *et al.*, 2010 ، Dayani *et al.*, 2012).

تتكاثر نخيل التمر بطرق مختلفة منها الإكثار بالبذور Seed Propagation والإكثار بالفسائل Offshoot Propagation والإكثار بزراعة الأنسجة Tissue Culture Propagation، وتتميز تقنية زراعة الأنسجة بالعديد من المزايا المهمة ومنها:

١-أنتاج أعداد كبيرة من نخيل التمر.

٢-عدم وجود أي تأثيرات بيئية أو موسمية تؤثر في أنتاج النخيل النسيجي كون العملية تتم في ظروف تحكمية.

٣-أنتاج نباتات خالية من العوامل الممرضة.

٤-أنتاج نباتات مطابقة من الناحية الوراثية للنبات الأم.

(Kriaa *et al.*, 2011).

وتواجه هذه التقنية الدقيقة العديد من التحديات التي تحد من نجاحها أحياناً ، ومنها التلوث المايكروبي Microbial Contamination بشقيه الفطر Fungal Contamination والبكتيري Bacterial Contamination، وتبرز الفطريات باعتبارها المصدر الرئيس للتلوث في مزارع أنسجة نخيل التمر، والذي ممكن أن يحدث خلال أي مرحلة من مراحل الزراعة النسيجية وذلك لتوافر الظروف الملائمة لنموها من حرارة ورطوبة وضوء، فضلا ً عن التنوع الغذائي الذي يوفره الوسط الزرعي المستخدم في الزراعة النسيجية (Falnnigan and Morey, 1997). وتتسبب الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة نخيل التمر العديد من المشاكل، ومنها تغيير درجة حموضة الوسط و زيادة العكورة و التحلل الإنزيمي بفعل أنزيماتها المحللة وتأثيراتها السامة على الأنسجة (حميد وعباس، ٢٠٠٦).

هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة نخيل التمر ومحاولة تحديد أفضل المبيدات الفطرية التي تحد من تأثيراتها السلبية.

مواد وطرق العمل

١-عزل وتشخيص الفطريات

عزلت الفطريات من أنابيب الاختبار الخاصة بزراعة أنسجة عدة أصناف من نخيل التمر كانت ملوثة ظاهرياً بالفطريات، وبلغ مجموع ألأنابيب ١٠٠ انبوباً ملوثاً .

زرعت الفطريات المعزولة في وسط غذائي مكون من البطاطا والدكستروز والاكار (PDA) مع إضافة المضاد الحيوي كلورومفينيكول بمعدل ١٥٠ ملغم/لتر، وحضنت الإطباق على درجة حرارة ٣٠° م ±١ ، تمت تنقية المستعمرات الفطرية بطريقة البوغ المفرد وعلى الوسط PDA وشخصت طبقاً إلى Eilis (1971). حسبت النسبة المئوية لتكرار الأنواع حسب المعادلة التالية:-

عدد الأنواع الفطرية/عينه

% للتكرار =---------- ١٠٠x

العدد الكلي للأنواع /كل العينات

٢- دراسة تأثير المبيدات الفطرية في نمو الفطريات الملوثة لمزراع أنسجة نخيل التمر.

٢-١ المبيدات الفطرية.

اختبرت المبيدات بنليت و كاربندازايم لبيان تأثيراتها المثبطة في نمو الفطريات المعزولة وبالتراكيز الموصى بها ١مل أو غم/ لتر.

2-2 تأثير المبيدات الفطرية في نمو الفطريات المعزولة.

حضر الوسط الغذائي الصلب PDA والوسط السائل PDوعقم بجهاز التعقيم البخاري Autoclaveعلى درجة حرارة ١٢١ درجة مئوية وضغط ١.٥ باوند/انج٢ لمدة ٢٠ دقيقة ثم عوملت بتراكيز المبيدات الموصى بها في أطباق بتري حاويه على الوسط PDA ولقحت مراكز الأطباق بقرص قطره ٠.٥سم من مستعمرات الفطريات المدروسة، وحضنت بدرجة حرارة ٣٠±١ ° م (عباس، ٢٠٠٤) وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي والوزن الجاف للفطريات المعاملة بالمبيدات.

٢-٣ تأثير المبيدات في نمو الكالس الجنيني.

نفذت هذه التجربة في مركز أبحاث النخيل إذ استخدمت مادة الـ MS العضوية (١٠ سم^{٣}/٧٠٠ سم^{٣} ماء مقطر (Murashing and Skoog, 1962)، كما أضيفت معادن غير عضوية للوسط (Tisserat, 1991) وقد أضيفت منظمات النمو و كالآتي:

٣ ملغم لكل لتر من مادة نفثالين حامض الخليك NAA و ٣ ملغم من مادة zip ونظمت حموضة الوسط على ٥.٧ باستخدام هيدروكسيد الصوديوم NaOH وحامض الهيدروكلوريك HCl وأضيف ٨ غم من الأكار لكل لتر من الوسط ثم صب ٢٥ مل في أنابيب الاختبار، وبعد التعقيم بالبخار أجريت المعاملات التالية:

١- المعاملة بالبنليت (١ غم/لتر) في أنابيب اختبار مزروعة بالكالس.

٢- معاملة السيطرة زرعت بالكالس فقط .

٣- المعاملة بالبنليت لكالس صنف الأشقر.

٤- معاملة السيطرة لكالس صنف الأشقر.

حضنت أنابيب الاختبار في الحاضنة لمدة ٤٥ يوماً وبدرجة حرارة ٢٧±١ °م وفترة إضاءة ١٦ ساعة / لوكس وبعد انتهاء مدة الحضن أخذت القراءات التالية الوزن الرطب والجاف للكالس (ملغم) والنسبة المئوية للتلوث الفطري باستخدام المعادلة التالية :

$$\% \text{ للتلوث الفطري} = \frac{\text{عدد أنابيب الاختبار الملوثة}}{\text{عدد الأنابيب الكلي}} \times ١٠٠$$

حسبت هذه العوامل باستخدام كالس جنيني ملوث وسطح معقم ٥% هايبوكلورايت الصوديوم وإضافة قطرتين من مادة Tween ٢٠ لمدة ١٠ دقائق ثم زرع في وسط غذائي مضاف له المبيد الفطري البنليت بتركيز ٠ و١غم /لتر.

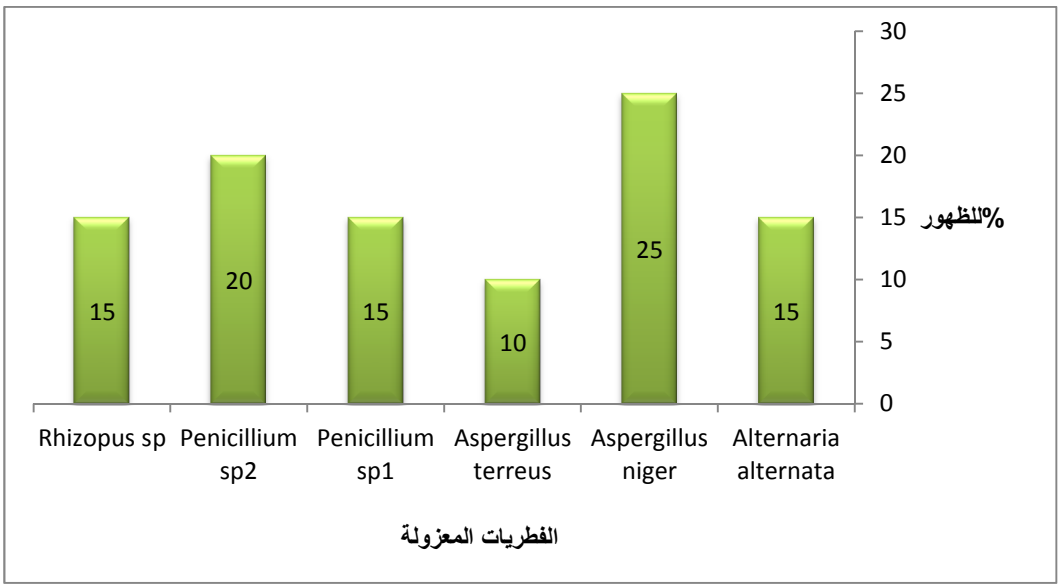
٣- التحليل الإحصائي.

استخدم التصميم العشوائي الكامل CRD لكافة التجارب باستخدام ٤ مكررات لكل عامل، حولت النسب المئوية زاوياً وقورنت المتوسطات باستخدم اقل فرق معنوي RLSD تحت مستوى احتمال ١% (الراوي وخلف الله، ١٩٨١).

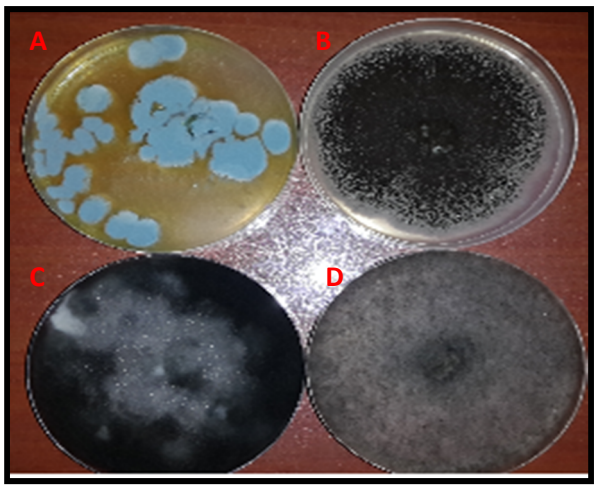
النتائج والمناقشة

١- التلوث الفطري لزراعة نخيل التمر النسيجية.

عزلت مجموعة مختلفة من الفطريات من أصناف متعددة لنخيل التمر المزروعة نسيجياً، من المجموع الكلي لأعداد العينات المحسوبة (١٠٠) عينة كان الفطرِ *Aspergillus niger* من أكثرها ترددا وقد بلغت النسبة المئوية للتردد ٢٥%، تلاه الفطر *Penicillium* sp2 بنسبة ظهور بلغت ٢٠%. وبلغت النسب المئوية للظهور ١٥ % للفطريات *Alternaria alternata* و sp1 *Penicillium* و .sp *Rhizopus* على التوالي وكما موضح في الشكل (١) الصورة (١). اتفقت نتائج دراسة مسح الفطريات الملوثة لمزراع أنسجة نخيل التمر مع بعض الدراسات التي بينت سيادة أنواع تابعة للأجناس *Aspergillus* و *Penicillium* و *Alternaria* (حميد وعباس، ٢٠٠٦، عباس وجماعته، ٢٠٠٧، المياحي وجماعته، ٢٠١٠). أن السيادة العالية لنوع الفطر *Aspergillus niger* قد تعزى إلى مقدرته العالية على النمو في بيئات مختلفة وسيادته في مجتمع الفطريات الهوائية ومجتمع فطريات التربة (Samson *et al.*, 2002)، فضلاً عن كونه من الفطريات المترممة ذات النشاط الإنزيمي العالي (Schuster *et al.*, 2002) مما يوفر فرصة تنافسية جيدة له للنمو في مزارع أنسجة نخيل التمر. أما ما يخص الفطر *A. alternata* فقد بينت بعض الدراسات مقدرته العالية على إفراز الإنزيمات التحليلية مثل السليليز واللايبيز والبروتيز بكفاءة عالية (حميد وعباس، ٢٠٠٦)، ومقدرته على النمو وبكفاءة عالية في بيئات مختلفة وتحت ظروف متباينة (Shelton *et al.*, 2002).



شكل (١): النسب المئوية لظهور الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة نخيل التمر.



الصورة (١): الفطريات الملوثة والسائدة في مزارع أنسجة نخيل التمر.

Penicillium sp. B- *Aspergillus niger* C- *Alternaria alternata* D. *Rhizopus* sp. -A

٢- فعالية المبيدات في تثبيط النمو الفطري لفطريات الملوثة لزراعة أنسجة نخيل التمر.

أشارت نتائج فعالية المبيدات الفطرية إلى مقدرة المبيد بنليت في تركيز ١ ملغم/ لتر في تثبيط كلاً من مؤشري النمو الطري والوزن الجاف بصورة كلية (١٠٠%)، إذ لم تتمكن جميع الفطريات المختبرة من النمو على الأوساط السائلة والصلبة الحاوية على المبيد بنليت (جدول ١ و ٢). وسجل الفطر *A. alternata* أعلى معدلي تثبيط للنمو القطري والوزن الجاف بلغتا ٧٨.٣٠ و ٨١.٦٧%، على التوالي.

جدول(١) فعالية المبيدات الفطرية في تثبيط النمو القطري(%) للفطريات الملوثة لمزراع أنسجة نخيل التمر.

الفطريات	المبيدات		معدل الفطر
	بنليت	كاربندازايم	
Alternaria alternata	١٠٠	٦٥	a٨٢.٥
Aspergillus niger	١٠٠	٥٠	b٧٥
Penicillium sp2	١٠٠	٤٠	b٧٠
معدل المبيدات	a١٠٠	b٥١.٦٧	

جدول(٢) فعالية المبيدات الفطرية في تثبيط النمو الجاف(%) للفطريات الملوثة لمزراع أنسجة نخيل التمر.

الفطريات	المبيدات		معدل الفطر
	بنليت	كاربندازايم	
Alternaria alternata	١٠٠	٧٠	a٨٥
Aspergillus niger	١٠٠	٥٨	b٧٩
Penicillium sp2	١٠٠	٥٠	b٧٥
معدل المبيدات	a١٠٠	b٥٩.٣٢	

أثبتت نتائج الدراسة الحالية تأثيرا واضحاً لمبيد البنليت في تقليل النمو الشعاعي للفطريات المستخدمة وهذا يتفق مع دراسات أخرى أوضحت كفاءة استخدام مبيد البنليت في تثبيط النمو للفطر *M. scattae* المسبب لمرض تعفن النورات الزهرية الذي يصيب نخيل التمر، والفطر *F. solani* العامل المسبب لتدهور السايكس (عباس، ٢٠٠٤ و عباس وجماعته،٢٠٠٤). كذلك اتفقت مع نتائج دراسات أخرى بينت أمكانية استخدام

المبيدات الفطرية وبكفاءة جيدة للحد من تأثيرات الملوثات الفطرية في مزارع أنسجة نخيل التمر، كمبيد الكاربندازايم والسكور (الكعبي، ٢٠٠٤).

إن قابلية المبيدات الفطرية على تثبيط نمو الفطريات يعود إلى تأثيرها في عمل الإنزيمات التنفسية والذي ينعكس سلباً على إنتاج الطاقة، ومن ناحية أخرى فان للمبيد القدرة على التفاعل مع الأحماض الامينية المكونة للبروتين (Gottel and Jaronski, 1997)، أو قد يعزى تأثير مبيد البنليت من خلال إنتاج مركب (MBC) (Methyl Benzimidazole Carbomat) المعروف بتأثيره في إنبات الفطريات طبقاً لدراسة (Darvas 1977).

٣-فعالية المبيد بنليت في نمو الكالس الجنيني لنخيل التمر.

بينت نتائج تأثير المبيد بنليت بتركيز ١ غم/ لتر عدم وجود أي تأثير تثبيطي يذكر في مؤشرات النمو المتعلقة بكالس صنف نخيل التمر الاشقر، فقد كان معدل الوزن الطري (ملغم) للكالس ٤٥٠ ملغم في معاملة المقارنة ولم يختلف معنويا عما مسجل في معاملة المبيد بنليت والذي بلغ ٤٤٠ ملغم. كذلك لوحظ عدم التأثير لمؤشر الوزن الجاف (ملغم) والذي كان ٢٥ ملغم في معاملة المقارنة و ٢٤ ملغم في معاملة المبيد، ومن الجدير بالذكر أن معاملة المبيد بنليت أدت إلى تقليل معدلات التلوث الفطري من ١٠٠% إلى ٤٥% عند التركيز ١ غم/لتر.

من خلال ما قدمته النتائج السابقة من كفاءة المبيد بنليت في الحد من النمو الفطري بمؤشري النمو القطري والجاف، فضلاً عن عدم وجود تأثيرات معنوية للمبيد البنليت في مؤشرات الأنسجة المدروسة، لذا فان التركيز ١ ملغم /لتر من المبيد ينصح باستخدامه بشكل آمن وتطبيقي للسيطرة على التلوث الفطري في مزارع أنسجة النخيل.

المصادر

حميد، محمد عبد الرزاق، عباس، محمد حمزة. ٢٠٠٦. دراسة التغيرات النسيجية المصاحبة لتشوب مزارع أنسجة نخيل التمر بالفطريات. مجلة أبحاث البصرة (العلميات).٣٢ (١ب): ١٥-٢٧.

عباس، محمد حمزة. 2004 . كفاءة بعض المبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطر *Mauginilla scattae* ، المسبب لمرض خياس طلع النخيل في البصرة. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد17 العدد ٢.

عباس، محمد حمزة، حميد، محمد عبد الرزاق وجاسم، عباس مهدي. 2004 . أول تسجيل لمرض الذبول الفيوزارمي على نخيل السايكس *Cycas revolute* المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* في العراق. مجلة البصرة للعلوم الزراعية .المجلد17، العدد3.

عباس، محمد حمزة، العبادي، أسامة علي محسن، الكعبي، أنسام مهدي. ٢٠٠٧. كفاءة مستخلص أوراق نبات الحناء وبعض المبيدات الفطرية في تقليل التلوث .L *Phoenix dactylifera* الفطري في مزارع أنسجة نخيل التمر. المجلة العراقية لعلوم التقانات الإحيائية، ٦(٢): ٢١-٤٠.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز. 1980 . تصميم وتحليل التجارب الزراعية .مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، ص488.

الكعبي، أنسام مهدي صالح .2004 . تأثير بعض المضادات الحياتية والمبيدات الفطرية في نمو الكالس الجنيني لنخلة التمر .L *Phoenix dactylifera* . مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر .مجلد3 ، العدد1.

المياحي، أحمد ماضي، ناصر، علاء أحمد، الخليفة، عقيل عبود.٢٠١٠. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لزراعة أنسجة خمسة أصناف من نخيل التمر نسيجيا وكفاء المبيدات في السيطرة عليها. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر، ٩(٢): ٧٩-٩٧.

Abass, M.H. 2013. Microbial contaminants of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Iraqi tissue culture laboratories. Emir. J. Food Agric. 25 (11): 875-882.

Darvas, J. M. 1977. Control of post harvest disease on Avocado fruit by fungicides with special emphasis on Tecto and Benlate. Association Proceeding of Technical committee. 1:11-14.

Dayani, O., A. Khezri and A.G. Moradi. 2012. Determination of nutritive value of date palm by-products using in vitro and in situ measurements. Small Rum. Res. 105:122-125.

Eillis, M. B. 1971. More Diatomaceous hyphomycetes. Commonwealth, Mycological Institute. England 608 pp.

FAO. 2011. FAOSTAT agriculture. http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor.

Flannigan B. and P.R. Morey. 1996. Control of moisture problems affecting biological indoor air quality: International Society of Indoor Air Quality and Climate, Ottawa, Canada, ISIAQ Guideline TF1-1996.

Gottel, M.S. and Jarnoski, S.T. 1997. Safety and registration of microbial agents for control grasshopper and lucost. Memories of the Entomological society of Canada. 171: 83-99.

Kriaa, W., B. Sghaire-Hammami, R. Masmoudi-Allouche and N. Drira. 2011. The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) micropropagation using completely mature female flowers. C.R. Biol. 335:194-204.

Murashig, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with Tabacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-479.

Samson R.A., J. Houbraken, R.C Summerbell, B. Flannigan and J.D. Miller. 2002. Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor nvironments. In: Flannigan, B., R.A. Samson and J.D. Miller (Eds.) pp. 287-292. Microogranisms in Home and Indoor Work Environments. New York, Taylor & Francis.

Schuster, E., N. Dunn-Coleman, J.C. Frisvad and P.W. Van Dijck. 2002. On the safety of Aspergillus niger- a review. Appl. Microbiol. Biotech. 59(4/5):426-435.

Shelton, B.G., K.H. Kirkland, W.D. Flanders and G.K. Morris. 2002. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. Appl. Env. Microbiol. 68:1743-1753.

Thabet, I., F. Francis, E. de Paw, S. Besbes, H. Attia, C. Devanne and C. Blecker. 2010. Charcterisation of proteins from date palm sap (Phoenix dactylifera L.) by a protein approach. Food Chem. 123:765-770.

Tisserat, B. 1991. Clonal propagation of Palms Plants tissue culture manual, C2 :1-14.

Inhibitory efficiency of some chemical fungicides in reducing the fungal contamination of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue cultures.

Najlaa H Muhammed

Plant protection Department, Agriculture College

University of Basrah.

Abstract

The current study has been conducted to isolate and identify the fungal contamination associated with date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue cultures of different date palm cultivars callus, and the attempt to find the best fungicide to reduce them. Results explained that the most abundant fungal contaminant was *Aspergillus niger* and reported the frequency percent of 25%, followed by the fungus *Penicillium* sp2. Whereas, the genera of *Alternaria*, *Penicillium* and *Rhizopus* reported the percents of 15%. The test of inhibitory efficiency of different fungicides revealed the activity of Benlate in reduction of both fungal radial growth and dry growth at the concentration of 1 g/l. All of tested contaminants failed completely in their growth on solid and liquid PD media containing Benlate fungicide. Its noteworthy, that the concentration of Benlate 1 g/l had no significant effect on the callus growth, the fresh and dry weight of date palm cv. Asker did not differed in both control and Benlate treatment. The percent of fungal contamination was reduced significantly from 100% to a 45% at the treatment of Benlate at 1 g/l concentration.

Keywords: Tissue culture; Date palm; Fungal contamination; Chemical fungicides.