Basrah Journal of Date Palm Research
Volume 22 Issue (2) 2023
BJDPR
مجلـــة البصـرة لأبحاث نخلـة التمـر
المجلد 22 العدد (2) 2023

عزل وتشخيص مظهري وجزيئي للفطريات المرافقة لثمار النخيل المتعفنة

منتهى جواد كاظم[1*] محمد عامر فياض[2] يحيى عاشور صالح[2]

[1]مركز ابحاث النخيل- جامعة البصرة -العراق

[2] قسم وقاية النبات-كلية الزراعة – جامعة البصرة- البصرة-العراق

[*]gmuntaha37@gmail.com

الخلاصة

اجريت الدراسة في قسم وقاية النبات- كلية الزراعة -جامعة البصرة, بهدف عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لمرض تعفن ثمار نخيل التمر. بينت نتائج الدراسة، عزل عدة انواع من الفطريات المرافقة لمرض تعفن ثمار نخيل التمر ولمراحل النضج المختلفة (الخلال والرطب والتمر) ولسبعة اصناف هي البرحي والبريم والحلاوي والخضراوي والزهدي والديري والساير. شخصت الفطريات الى مستوى الجنس اعتماد على الصفات المظهرية ومن هذه الفطريات، *Cladosporium spp* و *Alternaria spp.* و *Aspergillus spp.* و *Chaetomium globosum* و *Rhizopus stolinfer* و *spp.* Fusarium *Penicillium spp* و Stemphylium *spp* و *Drechslera spp* و *Nigrospora spp* و *Pestalotia spp* و *Mucor spp* و *Ulocladium spp*. أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي ان اهم الفطريات المعزوله هي *Aspergillus flavus* و *niger Aspergillus* و *Aspergillus parasticus* و *A.alternata* , سجل التسلسل النيوكليتدي للانواع المشخصة في بنك الجينات تحت التسلسل LC752801.1 و Op602315.1 و LC752805.1 و LC752802.1 و LC752803.1 للانواع *A.flavus* و*A.niger* و*A.parasticus* و *A.alternata* و *Chaetomium globosum* على التوالي. وبينت النتائج وجود تطابق ما بين الأنواع الفطرية المذكورة وما بين الأنواع المسجلة في بنك الجينات العالمي NCBI GenBank، بنسبة تراوحت بين99-100 %.

الكلمات المفتاحية : التشخيص الجزيئي، تعفن ثمار نخيل التمر، فطريات التعفن.

المقدمة Introduction

يعد العراق من بين أهم الدول المنتجة للتمور في العالم, الا ان قطاع نخيل التمر تعرض منذ بداية عقد الثمانينيات من القرن العشرين الى عدة مشاكل اقتصادية وسياسية واجتماعية وبيئية أدت الى تراجع موقع العراق من الصدارة الى المرتبة الخامسة في انتاج التمور (فياض وأخرون، 2022). وتعد المشاكل البيئية كتغير المناخ وارتفاع نسبة الملوحة في التربة وشحة المياه فضلا عن الاصابة ببعض الامراض من التحديات التي تؤثر في أنتاج النخيل كماً ونوعاً، تعد أمراض النخيل المتسببة عن الفطريات كمرض البيوض وخياس طلع النخيل وتعفن القمه النامية وتبقع أوراق النخيل من اكثر الامراض المؤثرة في نمو وانتاج نخيل التمر (الزبيدي، 2005). كما يعد مرض تعفن ثمار النخيل من الامراض المهمة والشائعة والتي تسبب خسائر تتراوح بين 5-40% اعتمادا على الظروف السائدة والصنف (عبد الحسين، 1985)، تتسبب امراض تعفن ثمار النخيل عدة فطريات اهمها *Stemphylium* spp. و *Cladosporium* spp. و *Alternaria* spp. و *Aspergillus* spp. وغيرها (Elhassan et al., 2017). أن الاضرار الناجمة عن هذه الفطريات هي تقليل كمية الحاصل وانخفاض قيمته فضلا عن أن بعض هذه الفطريات يمتاز بقدرته على افراز مركبات سامه تعرف بالسموم الفطرية تتلوث بها المنتجات الزراعية التي تنمو عليها هذه الفطريات (البهادلي,2011). هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لمرض تعفن ثمار نخيل التمر وتشخيصها مظهرياً وجزيئياً.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

المسح الحقلي

شمل المسح الحقلي لتقدير نسبة الاصابة بمرض تعفن الثمار اربعة مواقع مختلفة من محافظة البصرة هي ابو الخصيب والقرنة والجزيرة ومحطة البحوث الزراعية في الهارثة، واختيرت ثلاث بساتين لكل موقع، وحددت اصناف السابر الحلاوي البرحي البريم الزهدي الخضراوي والديري لإجراء الدراسة، وتم اختيار ثلاث عذوق من كل شجرة واختير منها عشرة شماريخ وذلك في مرحلة الخلال. وحسبت النسبة المئوية للثمار المصابة حسب المعادلة الاتية:

$$\text{نسبة الاصابة}(\%) = \frac{\text{عدد الثمار المصابة}}{\text{عدد الثمار الكلية المحسوبة}} * 100$$

عزل الفطريات : جمعت عينات من ثمار نخيل التمر خلال مراحل النضج المختلفة وهي الخلال والرطب والتمر تظهر عليها اعراض التعفن من اصناف مختلفة من نخيل التمر هي (السابر، الحلاوي، الخضراوي، البريم، الزهدي، البرحي، الديري). ومن مناطق مختلفة من محافظة البصرة هي ابو الخصيب, القرنة, الجزيرة ومحطة البحوث الزراعية التابعة لكلية الزراعة موقع كرمة علي. جمعت الثمار المصابة التي لاتزال معلقة في العذوق كما جمعت الثمار المصابة المتساقطة على الارض, بعد استبعاد الثمار المصابة بحشرة الحميرة. وضعت الثمار المصابة في اكياس معقمة من البولي اثلين وجلبت الى مختبر السموم في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة. غسلت ثمار النخيل المصابة بمرض التعفن بالماء الجاري لمدة 10 دقائق, ثم عقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl 10% من المستحضر التجاري لمدة ثلاث دقائق, بعدها غسلت بماء مقطر معقم ونشفت على ورق ترشيح بعدها قطعت الثمار الى قطع صغيرة، نقلت قطع الثمار الى أطباق بتري بقطر 9 سم تحوي وسط Potato (PDA)

Dextrose Agar المعقم بجهاز التعقيم البخاري (autoclave) والمضاف له المضاد الحياتي (Tetracycline) بنسبة 100 ملغم/لتر وبواقع 4-5 قطع /طبق حضنت الاطباق في درجة حرارة 25±2°م لمدة3- 5 ايام .

التشخيص المظهري نقيت العزلات الفطرية النامية من قطع ثمار النخيل وذلك بنقل طرف من الخيط الفطري لكل عزلة الى اطباق تحوي وسط زرعي PDA, حضنت العزلات في درجة حرارة 25±2°م لمدة 5-7 ايام, شخصت الفطريات المعزولة الى مستوى الجنس اعتماداً على الصفات المظهرية كشكل ولون المستعمرات الفطرية وشكل الكونيدات وشكل ولون الابواغ وتقاسيمها وشكل الحوامل البوغية (صورة 1)، وشخصت الفطريات بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية الاتية (Ellis, 1976; Domsch, 1980; Nelson et la., 1983; Arx et al., 1986; Leslie and Summerbell, 2006; Guarro et al., 2012; Woudenberg et al., 2013; Watanabe, 2002 and 2018).

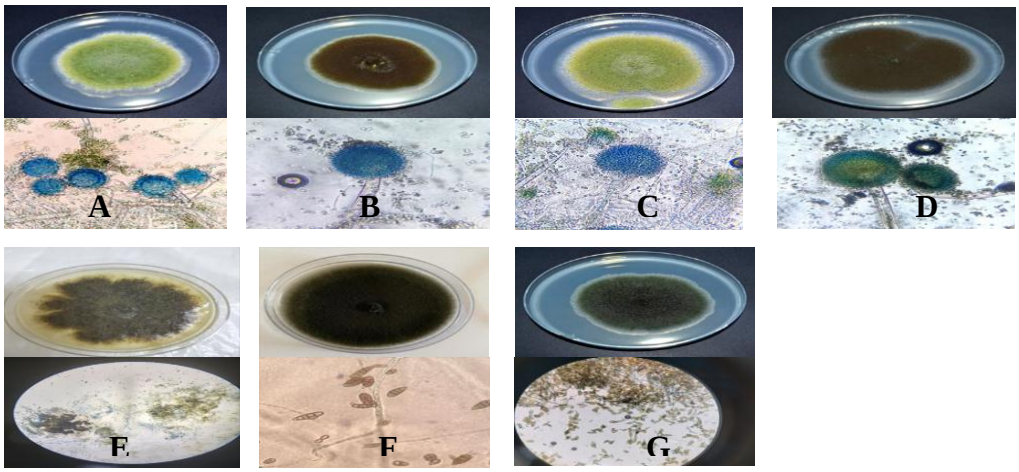
التشخيص الجزيئي للفطريات Molecular identification

استخدمت تقانة التشخيص الجزيئي لتشخيص انواع الفطر *Aspergillus* spp وكذلك الفطرين *Alternaria alternata* و*Chaetomium globosum* وذلك لتكرارها العالي في العينات, اضافة لكون انواع الفطر *Aspergillus* spp. من اهم الانواع المشخصة للسموم الفطرية. قشط سطح المستعمرات النقية لعزلات الفطريات المعزولة من ثمار النخيل والنامية في وسط PDA ونقل الغزل الفطري الى انابيب اختبار تحوي على النتروجين السائل، واستخلص الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA الذي تم تحديد نقاوته باستخدام جهاز Nanodrop باستخدام DNA Extraction Kit المجهز من شركة Genaid الامريكية- واستخدمت البادئات الاتية:-

forward primer (ITS1 F: 5′- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3′)

reverse primer (ITS4 R:5′ TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′)

لتضخيم منطقة الجين ITS1-ITS4 وتضمن برنامج التضخيم خمسة دقائق في درجة حرارة 90°م لخطوة التنشيط ودقيقة واحدة لخطوة المسخ في درجة حرارة 94°م لمدة دقيقة واحدة لخطوة الالتصاق في درجة حرارة 58°م ودقيقتين لخطوة التمدد وفي درجة حرارة 72°م . وتضمنت خطوات مضاعفة الجين 35 دوره (Kerenyi et al., 1999) و (Murray,1980). ارسلت نواتج تضخيم الجين ITS1-ITS4 لكل عزلة الى الشركة الكورية لتحديد تتابع النيوكليتدات لمنطقة الجين المضخمة وقورنت هذه التتابعات مع تتابعات العزلات الفطرية في بنك الجينات لتحديد نسبة التشابه معها.



صورة (1) الصفات المظهرية للفطريات المعزولة (مستعمرات وابواغ الفطريات)

A. ***Aspergillus parasticus***
B. ***As. niger***
C. ***As.flavus***
D. ***As.carbonius***
E. ***Cheatomium globosum***
F. ***Aternaria alternate***
G. ***Curvularia lunata***

النتائج والمناقشة Results and Discussion

عزل وتشخيص الفطريات من ثمار نخيل التمر

اظهرت نتائج المسح الحقلي جدول (1) ان النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن ثمار نخيل التمر تراوحت بين (5–27 %) في مناطق الدراسة , كما يلاحظ من الجدول نفسه ان اعلى شدة اصابة سجلت في بساتين ابي الخصيب بمتوسط اصابة بلغ 17.5%, تلتها محطة بحوث كلية الزراعة بمتوسط اصابة بلغ 10.6%. كما اختلفت اصناف التمور في نسبة اصابتها بمرض تعفن الثمار سجلت اعلى نسبة اصابة في برحي وحلاوي في منطقة ابي الخصيب بلغت 27 و22% على التوالي ,في حين سجلت اقل نسبة اصابة في الصنف ديري في منطقة الجزيرة بلغت 2% مقارنة مع المناطق الاخرى. ان ارتفاع نسبة الاصابة في بساتين ابو الخصيب قد يعود الى ارتفاع نسبة الرطوبة فيها لقربها من شط العرب والخليج مقارنة مع القرنة او ارتفاع نسبة الرطوبة في بعض الاصناف مثل البرحي مقارنة مع الاصناف الاخرى للثمار فقد يكون عائدا الى ان هذا الصنف عادة ما تكون العذوق كبيرة مزدحمة فيقلل التهوية كما ان معظم نخيل البرحي الذي يتم جمع عينات الثمار منه تميزت بكونها صغيرة العمر مما يجعل العذوق قريبة من سطح التربة وبالتالي تكون الرطوبة مرتفعة. يعد مرض تعفن الثمار النخيل من الامراض المهمة في جميع مناطق زراعته الاخرى الا ان شدة الاصابة بهذا المرض تختلف من موسم لآخر تبعا للظروف البيئية وخاصة ارتفاع الرطوبة وسقوط الامطار، وتختلف الخسارة الناجمة عن هذا المرض باختلاف مناطق زراعة النخيل ففي الامارات العربية قدرت الخسارة الناجمة عن هذا المرض بين 10–40% وفي تونس قد تصل الى 50 في المناطق التي تمتاز بالرطوبة العالية (Dejrbi,1983). وفي العراق تتراوح نسبة الاصابة بين1–6% تبعاً للظروف البيئية (عبد الحسين, 1985). يطلق على مرض تعفن ثمار النخيل مسميات متعددة فقد يسمى تعفن الثمار الجانبي اذ يظهر على احد جانبي الثمرة بهيئة بقع صغيرة سمراء او داكنة ذات حواف محددة غالبا ما تكون هذه الاعراض متسببة عن الفطر *Alternaria* spp. و *Stemphylium* spp. كما يسمى المرض احياناً بالعفن الاسود حيث تظهر الاعراض بهيئة تعفن على شكل حلقة قرب عذق الثمرة وغالبا ما تكون هذه الاعراض متسببة عن انواع الفطر . *Aspergillus* spp (صورة 2).

صورة (2) اعراض الاصابة بمرض تعفن ثمار نخيل التمر

وقد يسمى بالتعفن اللين، يظهر بشكل منطقة سمراء لينة خاصة في مرحلة الرطب وفي ثمار الاصناف ذات الرطوبة العالية والتمور اللينة وتبعث من الثمار المصابة رائحة الانسجة المتخمرة وغالبا ما تكون هذه الاعراض مصاحبة للإصابة بالفطر . *Rhizopus* spp (عبد الحسين, 1985).

جدول (1) النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن ثمار النخيل في مناطق مختلفة من البصرة

الصنف	ابي الخصيب %	الجزيرة %	القرنة %	محطة البحوث كلية الزراعة %
برحي	27	20	12	15
بريم	6	4	6	-
حلاوي	22	17	6	-
خضراوي	-	5	17	6
ديري	-	2	14	-
زهدي	-	5	9	-
ساير	15	12	10	11
المعدل	**17.5**	**9.2**	**10.5**	**10.6**

– الصنف غير موجود في البساتين المدروسة

اظهرت نتائج العزل جدول (2) عزل عدة فطريات من ثمار اصناف نخيل مختلفة تم جمعها جمعها من مناطق مختلفة من محافظة البصرة من أهمهاانواع الفطرِ *Aspergillus*.spp و A.niger و *Alternaria alternata* و *Cladosporium spp* و *Curvularia lunata* و *Penicillium* spp و *Stemphylium* spp و *Drechslera* spp و *Nigrospora spp* و *Pestalotia spp* و *Chaetomium* spp و *Ulocladium* spp و *Mucor* spp و *Rhizopus* spp. وبينت نتائج الجدول ان بعض انواع الفطريات مثل انواع الفطر *Alternaria* و*Aspergillus* عزلت من جميع اصناف التمور قيد الدراسة، في حين تم عزل عضها من صنفين او ثلاثة كما في الفطر التي عزلت من ثمار الخضراوي والبريم فقط. وتتفق هذه الدراسة مع عدة دراسات سابقة اشير فيها الى عزل معظم الفطريات المشار اليها من ثمار النخيل و فقد اشار Sarhan (2001) الى عزل الفطريات *A.flavus* و *A.niger* و *Alternaria alternata* و*A.ochraceus* و*Rhizopus stolifer* من صنف البرحي ,البريم ,الحلاوي, الخضراوي, الخستاوي والزهدي, كما اشار عباس (2014) الى عزل عدة فطريات مصاحبة لمرض تعفن ثمار النخيل من اهمها *Aspergillus* و*Curvularia* و *Alternaria*. . وفي باكستان عزلت عدة انواع من الفطريات مصاحبة لمرض تعفن ثمار النخيل من اهمها *Alternaria sp* و *Cladosporium sp* و*Aspergillus sp* *Stemphylium sp* *Microsprium* (Iqbal, 2014). كما ذكر Palou *et al* (2016) أن أكثر الفطريات المصاحبة للتمور الطازجة للصنفين بوفقوس ومجهول في اسبانيا هي *Penicillium expansum* و *A.alternata* و *C. cladosporioides* و *A.niger* وذكر Ibrahim and Rahman (2009)الى عزل عدة انواع من الفطريات و*Aspergillus sp* و*Alternari a* و*Penicillium* من ثمار النخيل في نيجيريا . وذكر Bokhary (2010) عزل عدة انواع من الفطر و*Aspergillus spp* و*Curvularia* و *Penicillium,* *Drechslera* من ثمار النخيل في السعودية. تصاب ثمار النخيل(التمور) بعدة فطريات أثناء وجودها في الحقل او بعد الحصاد والنقل او اثناء الخزن خاصة في المواسم التي تتميز بارتفاع الرطوبة (Kader و Hussein، 2006). تسبب هذه الفطريات تلف

ثمار النخيل مما يقلل من كمية الحاصل ويخفض من قيمتها الاقتصادية وقد قدرت الخسائر في انتاج التمور نتيجة اصابتها بفطريات التعفن بحدود 15-40%(عبد الحسين،1985) وفي باكستان قدرت الخسائر في التمور الناتجة عن الاصابة بالفطريات في الحقل بحدود 29.6% في حين قدرت الخسائر الناجمة عن اصابة التمور في المخزن بحدود 41.33% مما يشير الى ان التلوث بالفطريات هو احد اهم اسباب هذه الخسائر (Suhail et al., 2020)

جدول (2) الفطريات المعزولة من ثمار نخيل التمر المصابة بمرض التعفن باختلاف الاصناف

الفطريات	ساير	خضراوي	ديري	برحي	زهدي	حلاوي	بريم
A.niger	+	+	+	+	+	+	+
Alternaria spp.	+	+	+	+	+	+	+
Aspergillus spp.	+	+	+	+	+	+	+
Cheatomium spp.	+	-	-	+	-	-	+
Cladosporium spp.	+	-	+	+	-	+	-
Fusarium monilliform	+	+	-	+	-	+	-
Mucor spp.	-	+	-	-	-	-	+
Pestalotia spp.		-	+	+	-	-	+
Rhizopus spp.	-	+	-	-	-	-	+
Stemphylium spp.	-	+	-	+	-	+	-
Curvularia sp	+	+	+	-	+	+	+
Penicillium spp	+	-	+	+	+	-	-
Drechslera spp	+	-	-	-	+	+	-
Nigrospora spp	+	-	-	+	+	-	-
Ulocladium spp	-	+	+	_	+	_	+

+ الفطر موجود في العينة – الفطر غير موجود في العينة

جدول (2) النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن ثمار النخيل في مناطق مختلفة من البصرة

الصنف	ابو الخصيب %	الجزيرة %	القرنة %	محطة البحوث كلية الزراعة %
برحي	27	20	12	15
بريم	6	4	6	-
حلاوي	22	17	6	-
خضراوي	-	5	17	6
ديري	-	2	14	-
زهدي	-	5	9	-
ساير	15	12	10	11

النسبة المئوية للظهور والتردد

أظهرت نتائج الجدول(3) ان انواع الفطر *Aspergillus spp .* سجلت اعلى نسبة مئوية للظهوربمعدل 73.4% , واحتلت انواع الفطر *Alternaria spp* المرتبة الثانية في النسبة المئوية للظهور بمعدل 62.6 % , واحتل الفطر *Cladosporium sp* المرتبة الثالثة بالنسبة المئوية للظهور بمعدل بلغ 22.06 % , كما احتل انواع الفطر *Aspergillus spp* اعلى نسبة مئوية للظهورفي جميع مراحل تطور الثمار اذ بلغت 62.2 و 80 و78 % في مرحلة الجمري والخلال والرطب على التوالي من بين الفطريات

المعزولة الاخرى ولجميع مراحل تطور الثمار, واحتل الفطر *Alternaria alternate* المرتبة الثانية باعلى نسبة مئوية للظهوراذ بلغت في هذا الفطر55 و65 و68% لمرحلة الجمري والخلال والرطب على التوالي , واحتل الفطر *Cladosporium sp* المرتبة الثالثة بالنسبة المئوية للظهور بلغت 18 و28و20.2% لمرحلة الجمري والخلال والرطب على التوالي وتراوحت النسبة المئوية للظهور للفطريات الاخرى بين 2 و12.6%. اما بالنسبة للنسبة المئوية للتردد فقد احتل الفطر *Aspergillus spp* سجلت اعلى نسبة مئوية بمعدل للتردد بمعدل 37.2 %، واحتل الفطر *Alternaria spp* المرتبة الثانية في النسبة المئوية للتردد بمعدل 24.6% من بين الفطريات المعزولة الاخرى ولجميع مراحل تطور الثمار, و احتل الفطر *Cladosporium sp* على التوالي المرتبة الثالثة بالنسبة المئوية لتردد بمعدل 7.5 % ,كما احتلت انواع الفطر . *Aspergillus spp* اعلى نسبة مئوية للتردد اذ بلغت44 و 28 و36.6% في جميع مراحل تطور الثمار ,الجمري والخلال, واحتل انواع الفطر *Alternaria spp* المرتبة الثانية اذ بلغت النسبة المئوية للتردد في هذا 34 و22 و18% لمرحلة الجمري والخلال والرطب على التوالي, تلاها انواع الفطر *Cladosporium sp* بلغت 6.4 و8 و8.2 % لمرحلة الجمري والخلال والرطب على التوالي , وتراوحت النسبة المئوية للتردد للفطريات الاخرى بين 0.1 و10.4%. كما يلاحظ في الجدول نفسه ان بعض الفطريات لم يتم عزلها من الثمار في مرحلة الجمري مثل الفطر *Stemphylium , Fusarium.* و *Mucor* و*Nigrospora* و *Drechslera* و *Penicillium* وقد يكون ذلك عائدا الى ان هذه الفطريات لا تفضل النسبة العالية من التانين التي تتميز بها في مرحلة الجمري في ثمار النخيل الا انه ذلك يحتاج الى دراسات تأكيدية. وتتفق هذه النتائج مع عدة دراسات سابقة فقد اشار(Palou, 2016) عزل عدة فطريات من ثمار النخيل المصابة بمرض التعفن من اهمها *A.niger* و *Cladosporium sp* و .*Penicillium sp* و *Alternaria alternata*.

اشارت عدة دراسات الى ان انواع sp *Aspergillus* او sp *Alternaria* تعد من اهم الفطريات المرافقة لمرض تعفن ثمار النخيل (الزبيدي, 2005) و(AL-Mayahi *et al.*, 2010). وفي دراسة اجريت في وسط العراق وجد ان اكثر الفطريات المصاحبة لتعفن ثمار النخيل البرحي ,البريم ,الحلاوي, الخضراوي, الخستاوي والزهدي هي *A.flavus* و *A.niger* و *Alternaria alternata* و*A.ochraceus* و*Rhizopus stolifer* (Sarhan,2001)، وفي دراسة اجريت في وسط العراق وجد ان اكثر الفطريات المصاحبة لتعفن ثمار نخيل البرحي ,البريم ,الحلاوي, الخضراوي, الخستاوي والزهدي هي *A.flavus* و *A.niger* و *Alternaria alternata* و*A.ochraceus* و*Rhizopus stolifer* (Sarhan, 2001), كما اشار (Abass and Mohammed, 2014) الى عزل عدة فطريات مصاحبة لمرض تعفن ثمار النخيل من اهمها .sp *Aspergillus* و.sp *Curvularia*و.sp *Alternaria* . وفي باكستان عزلت عدة انواع من الفطريات مصاحبة لمرض تعفن ثمار نخيل التمر من اهمها .sp *Alternaria* و .sp *Cladosporium* و sp. *Aspergillus* sp. *Stemphylium* و*microsporium* (Iqbal et al., 2014). وفي دراسة اخرى اجريت في الهند تم عزل عدة فطريات من ثمار النخيل *Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger* و *Mucor sp* (Kumar and Suresh, 2019) .

جدول(3)النسبة المئوية للظهور وتردد الفطريات المعزولة من ثمار اصناف تمور مختلفة

الفطريات	مرحلة الثمار							
	جمري	خلال	رطب	المعدل	جمري	خلال	رطب	المعدل
	النسبة المئوية للظهور				النسبة المئو ية للتردد			
***Aspergillus* spp.**	62.2	80	78	73.4	44	28	36.6	37.2
***Alternaria* spp.**	55	65	68	62.6	34	22	18	24.6
***Chaetomium* spp.**	10.2	22.5	18	16.9	4	10	6.5	6.8
***Fusarium* spp.**	-	10	6	5.3	-	2	2	1.3
***Stemphylium* spp.**	_	12.6	12	8.2	-	2.6	6.6	3.0
***Cladosporium* spp.**	18	28	20.2	22.06	6.4	8	8.2	7.5
***Mucor* spp.**	-	8.6	18	8.8	-	2.8	8.6	3.8
***Rhizopus* spp.**	6	10.4	14.6	10.3	4.2	4.4	10.4	6.3
***Petalotia* spp**	-	6.6	4	3.5	-	2	0.6	0.8
***Curvularia* spp.**	8	8.2	10	8.7	2.8	5	1.8	3.2
***Nigr spora* spp**	_	6	2	2.6	-	4.6	0.8	1.8
***Ulocladium* spp.**	2.4	4.2	2	2.8	4.5	4.2	0.2	2.9
***Drechslera* spp.**	-	2	-	0.6	-	0.4	-	0.1
***Penicillium* spp.**	-	4	2	2	-	4	0.1	1.3

التشخيص الجزيئي للفطريات

اظهرت نتائج التشخيص الجزيئي جدول(4) ان عزلات الجنس*Aspergillus* المعزولة من ثمار النخيل تعود الى للانواع *flavus niger, parasiticus,* تراوحت نسبة التطابق لهذه العزلات مع العزلات المسجلة في بنك الجينات بين 99–100**%**. سجلت عزلة الفطر *Aspergillus flavus* في بنك الجينات برقم تسلسلي Op602315.1 وسجلت عزلة الفطر *Aspergillus niger* في بنك الجينات برقم تسلسلي LC752801.1 وسجلت عزلة الفطر *A.parasticus* في بنك الجينات برقم تسلسلي LC752805.1 وسجلت عزلة الفطر *Aternaria alternata* في بنك الجينات برقم تسلسلي LC752802.1 وسجلت عزلة الفطر *Chaetomium globosum* في بنك الجينات برقم تسلسلي LC752803.1 وسجلت عزلة الفطر *Aspergillus carbonius* في بنك الجينات برقم تسلسلي LC752804.1 وسجلت عزلة الفطر *Aspergillus terreus* في بنك الجينات برقم تسلسلي OP620979.1 وسجلت عزلة الفطر *Aspergillus fumigatus* في بنك الجينات برقم تسلسلي OP620980.1. واظهرت نتائج الجدول ان عزلة الفطر *A.flavus* كانت متطابقة بنسبة 99 % مع العزلة المسجلة في بنك الجيني تحت رقم تسلسلي OM319570.1 اما بالنسبة لعزلة الفطر *Chaetomium globosum* فقد بلغت نسبة تطابقها مع العزلة المسجلة في بنك الجينات 99.17 % تحت الرقم التسلسلي MT341778.1 . استخدمت تقانة التشخيص الجزيئي بشكل واسع في العقود الاخيرة لتشخيص الفطريات وخاصة تلك الفطريات التي يصعب تشخيصها الى مستوى النوع وذلك للتقارب المظهري فيما بينها فضلا عن عدم ثبات الصفات المظهرية

نتيجة لتاثرها في البيئة ، فقد استخدم التحليل النيوكليوتيد للجين في تشخيص انواع الفطر .*Aspergillus* sp (Abass,2017 ; Nooralden,2022).

جدول(4) التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة من ثمار نخيل التمر المصابة بمرض تعفن الثمار

Query cover %	Percent identity%	The identical isolate	Accession number isolate	الاسم العلمي للفطر
%100	%99.76	MT079321.1	LC752805.1	*A.parasitcus*
%99	%100	OM319570.1	Op602315.1	*A. flavus*
%95	%100	OP681425.1	OP620980.1	*A. fumigatus*
%100	%100	MZ331798.1	LC752801.1	*A. niger*
%99	%100	MZ375755.1	LC752804.1	*A.carbonius*
%99	%99.24	MT644140.1	LC752802.1	*Alternaria alternata*
%99	%100	MT558939.1	OP620979.1	*A.terreus*
%93.3	%99.17	MT341778.1	LC754203.1	*Chaetomium globosum*

المصادر References

البهادلي، حليمة زغير وذو الفقار ليث عز الدين و عدي نجم الحديثي.(2011). الندوة القطرية الاولى للسموم الفطرية ومخاطرها البيئية ، قسم وقاية النبات ،كلية الزراعة, جامعة بغداد 159 صفحة.

الزبيدي، علاء عوده مانع (2005) . دراسات حول مرض تبقع أوراق النخيل ومكافحتها كيميائياً في محافظة البصرة . رسالة ماجستير. كلية الزراعة–جامعة البصرة .67 صفحة..

عبد الحسين، علي.(1985).النخيل والتمور وأفأتهما .مطبعة جامعة البصرة، 576 صفحة.

فياض ،محمد عامر ومحمد زيدان خلف ومحمد عبد الخالق الحمداني (2022) أفات نخيل التمر. جامعة الكوت الاهلية. 274 ص.

مانع, علاء عودة, (2022) .التوصيف المظهري والجزيئي للفطريات المرافقة لفسائل النخيل النسيجية وتقييم كفاءة الفضة النانوية والفطر الاحيائي في مكافحتها في محافظة البصرة. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة البصرة – العراق.163 ص.

Abass, M. H., Al-Utbi, S. D., & Al-Samir, E. A. (2017). Genotoxicity assessment of high concentrations of 2, 4-D, NAA and Dicamba on date palm callus (*Phoenix dactylifera* L.) using protein profile and RAPD markers. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 15(1), 287-295

Abass, M. H. and Mohammed, N. H. (2014). Morphological, molecular and pathological study on *Nigrospora oryzae* and *Nigrospora sphaerica*, the leaf spot fungi of date palm. Basra J. Date Palm Res., 13(1):26-38.

Al-Mayahi, A.M.W, Ahmed, A.N. and Al-Khalifa, A.A.S (2010). Isolation and identification of associated fungi with the micropropagation of five different date palm cultivars and the effect of Benlate fungicides in their control. Basrah Journal For Date Palm Research.9(2):79-97.

Arx, A.J.; Guarro, J. and Figueras, M.J. (1986). The Ascomycetes Genus *Chaetomium*. Beihefte zur Nova Hedwigia, 84: 1-162..

Bokhary, H.A. (2010) Seed-borne fungi of date-palm, Phoenix dactylifera L. from SaudiArabia. Saudi Journal of Biological Sciences, 17 (4): 327-329.

Dejrbi, M.(1983). Diseases of the date palm (*Phonex dactylifera* L.) FAO regional for palm و dates research centerin the Near East and North Africa. Pp106.

Domsch, K. H.; Gams, W. and Anderson, T. (1980). Compendium of Edition. Springer Dordrecht. London, New York. 519p.

Elhassan, A. M., Mahir, M. A., Hamad, A. A., & Kh.Ali, M. E. (2017). Occurrence of fungal diseases and their importance on date palm in Sudan. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(5), 16–22. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.002

Ellis, M. B. (1976). More dematiaceous hyphomycetes. Common wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 507 p.

Guarro, J.; Gene, J.; Stchigel, A.M. and Figueras, M.J. (2012). Atlas of soil Ascomycetes. Printed in Hong Kong.485 Pp.

Iqbal, S., Asi, M. R., and Jinap, S. (2014). Aflatoxin in date and date products, Food control 43, 163-166.

Kader, A. A., & Hussein, A. M. (2009). Harvesting and postharvest handling of dates.ICARDA, Aleppo, Syria, iv +15 pp.

Kerenyi, Z.; Zeller, K.; Hornok, L. and Leslie, J. F. (1999). Molecular standardization of mating type terminology in the *Gibberella fujikuroi* species complex. Applied and Environmental Microbiology, 65(9): 4071-4076.

Kumar,S.M. and Suresh,D.(2019).Isolution,identification and detection of aflatoxinfrom date palm(phoenix dactylifera L.). Int J Pharm Bio Sci, 10 (3): 158-164. DOI: http://dx.doi.org/10.22376/ijpbs.2019.10.3.b158-164

Leslie, J. F. and Summerell, B. A. (2006). The Fusarium laboratory M. J. (2014). Redefining Ceratocystis and allied genera. Studies in manual. Blackwell Publishing. 388p

Murray, M. G. and Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res. 7:1869-1885.

Nelson, P.E.; Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. (1983). An illustrated manual for identification: *Fusarium* sp. 193Pp

Nooralden, Z. N. (2022). Isolation And Identification Of Fungi Associated With Walnuts, Almonds, Hazelnuts, Cashews, Pistachios And Peanuts Using Molecular Diagnostics Technique (PCR) In The Local Markets Of Kirkuk Governorate/Iraq. Journal of Pharmaceutical Negative Results, 156-160.

Moya, P., Pedemonte, D., Amengual, S., Franco, M. E. E., & Sisterna, M. N. (2016). Antagonism and modes of action of Chaetomium globosum species group, potential biocontrol agent of barley foliar diseases. *Boletin de La Sociedad Argentina de Botanica. Sociedad Argentina de Botanica*, *51*(4), 569–578. https://doi.org/10.31055/1851.2372.v51.n4.16334

Palou, L., Rosales, R., Taberrner, V., And Vilella-Espla.(2016). Incidence And Etiology Of Postharvest Diseases Of Fresh Fruit Of Date Palm (*Phoenix Dactylifera* L.) In The Grove Of Elx (Spain) ,Phytopathologia Mediterrarea, 55(3): 391-440.

Sarhan, A.R.T. (2001). A study on the fungi causing decline of date palm trees in middle of Iraq 2nd Int. Conf. Date Palm, 25-27 March, Al Ain, UAE pp 424430.

Suhail, M., Durrani,Y., Hashami,M.S.,Muhammed, A., Ali, S.A., Uzair, M., Shahid, M. (2020). Postharvest Losses of dhakki dates during supply chain in Pakistan, Fresenius Enviromental Bullentin, 29 (1): 299-309.

Watanabe, T. (2002). Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. 2nd ed ,CRC press.504Pp

Watanabe, T. (2018). Pictorial atlas of soilborne fungal plant pathogens and diseases. Canadian Journal of Research, 275Pp.

Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., & Crous, P. W. (2013). Alternaria redefined. *Studies in Mycology*, *75*(1), 171–212. https://doi.org/10.3114/sim0015

Isolation and molecular phenotypic identification of fungi associated with rotting palm fruits

[1*]Muntaha J. Kadhim [2]Mohammed A.Fayyadh [2]Yehya A. Salih

[1]Date Palm Research center -University of Basrah-Iraq

[2]Plant protection Department /college of Agriculture /University of Basrah-Iraq

[*]gmuntaha37@gmail.com

Abstract

A study was conducted at the College of Agriculture, University of Basrah, plant protection Department, with the aim was to isolate and identify fungi from fungi cultivars of dates. The results showed the isolation of several fungi from date palm fruit samples of different cultivars that were collected from different regions of Basrah Governorate, The results of the study showed that several types of fungi were isolated in general for the fruit rot disease of the date palm, for the new stages (Khalal, Tartib, and Tamr), and for seven different varieties: Barhi Barim, Al-Halawi, Al-Khadrawi, Al-Zahidi, Al-Dairi, and Al-Sayer. and isolation of several fungi from date palm fruit samples of different varieties that were collected from different regions of Basrah Governorate, the most important of which are *Aspergillus flavus, A. parasticus, A. niger, Alternaria alternata, Cladosporium* spp., *Curvularia lunata*, *Penicillium* spp., and *Rhizopus* spp..The results of the molecular diagnosis showed that the most important fungi isolated *were Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Aspergillus parasticus,* and *A. alternata*. The nucleotide sequences of the identified species were recorded in GenBank under the sequence LC752801.1, Op602315.1, LC752805.1, LC752802.1, and LC752803.1 for *A. flavus, A.niger, A.parasticus, and A.alternata Cheatomium globosum,* respectively. The results showed that there was a match between the mentioned fungal species and the species registered in the NCBI GenBank, with a percentage ranging between 100-99%.

Keywords: molecular diagnosis, date palm fruit rot, rot fungi