كفاءة البكتريا *Bacillus subtilis* وحامض السالسليك Salicylic Acid في تثبيط نمو وأمراضية الفطر *Fusarium moniliforme* Shelden المسبب لمرض تدهور وموت فسائل نخيل التمر

ناجـي سـالم جاسـم

مركز أبحاث النخيل / جامعة البصرة

الخلاصـــة

هدف الدراسة الحالية أجراء مسح في عدد من بساتين النخيل في منطقتي الهارثة وشط العرب من محافظة البصرة،و معرفة النسبة المئوية للإصابة بمرض تدهور وموت فسائل النخيل وتشخيص المسببات المرضية المسببة للمرض اذ بلغت النسبة المئوية للإصابة في منطقتي الهارثة وشط العرب ١٧ و٣٤% على التوالي وعزلت عدد من الفطريات وكان اكثرها تكرار هي *Fusarium moniliforme* و*Chalaropsis radicicola* و *Thielaviopsis paradoxa* و *F.oxysporum* على التوالي ، أثبت اختبار المقدره الامراضية أن الفطر *F.moniliforme* كان أكثر المسببات المرضية أصابة اذ بلغت النسبة المئوية لأصابة بادرات النخيل هو ٥٥ و٤٠% لكل من عزلتي الهارثة وشط العرب على التوالي ،كما أظهر اختبار الكفاءة التضادية لكل من البكتريا *Bacillus subtilis* وحامض السالسليك Salicylic acid عند التركيز (0.8mM)على الوسط الزراعي P.D.A تثبيطاً بلغ 100% و83.2% على التوالي ، أظهرت نتائج تجربة البيت البلاستيكي فعالية البكتريا *B.subtilis*+حامض السالسليك (SA) في خفض النسبة المئوية للأصابة في التربة الملوثة بالفطر الممرض *F.moniliforme*/اذ بلغت هذه النسبة 26.67% في حين ارتفعت هذه النسبة في معاملة الفطر الممرض لوحده الى 66.67% كما أدت هذه التوليفة الى تحسين مؤشرات النمو المدروسة وبشكل معنوي اذ ادت الى زيادة الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري وكذلك الى زيادة محتوى الأوراق الكلي من الكلورفيل مقارنةً بمعاملة الفطر الممرض لوحده .

المقدمـــــة:

تعود نخلة التمر *Phoenix dactylifera* الى العائله النخيلية Arecaceae التي تضم200جنساً أهمها من الناحية ألاقتصاديه جنس نخيل التمر Phoenix (مطر 1991) وهي شجرة مباركه ورد ذكرها في القرآن الكريم ، تشير الاحصائيات الاخيرة الى ان اعداد النخيل في العراق يبلغ ٢١ مليون نخلة(احتفالية النخيل والتمور الثامنة في ٢٥ايلول ٢٠١١) . جرت محاولات عديدة للنهوض بإعادة زراعة النخيل ومنها أنشاء مشاتل لزراعة الفسائل لاستخدامها كأمهات في المستقبل وقد تعرضت المحاوله لعديد من المشاكل ومن أهمها ظاهرة موت فسائل النخيل بعد الزراعة مباشرة أو بعد فتره قصيرة من النمو (مديرية زراعة البصرة /قسم النخيل 2008) ،وبينت دراسات عدة أسباب فشل الفسائل بالنمو واتضح بأنها تسبب عن الاصابه بمجموعة من الفطريات الممرضة والتي من أهمها الفطريات: *Fusarium moniliforme* و *Chalaropsis radicicola* و *Thielaviopsis paradoxa* و *F.oxysporum* (Sarahan ,2001 و غالي ،٢٠٠١ و Monsoori and Kord ,2006 و Samir *et al*., 2009 و Arafat,2011)وقد سجل الفطر *F.moniliforme* أول مره في مصر سنه 1982 كمسبب لمرض تدهور النخيل (Barakat *et al*. .1992) ،كما وجد Arafat *et al*.(2012) أن اكثر المسببات الممرضه في حدوث أمراض تدهور وموت النخيل هوالفطر*F. moniliforme* .

تتميز الاعراض المرضيه على النخيل المصاب *بالفطر F.moniliforme* بان الأوراق تكون مصفرة بشكل خطوط وظهور تنخرات رمادية على الاوراق وتكون الاعراض المرضيه على الاوراق الداخليه بشكل واضح وتؤدي الاصابه الشديدة الى موت النخلة ومنذ عزل الفطر *F. moniliforme* لم تتوفر دراسات داخليه حول الاصابة بالفطر كما تم عزل الفطر من النخيل المصاب في عدد من البلدان التي تشتهر بزراعة النخيل فقد تم عزله بواسطة AL-Arosi(1983)في جمهورية مصر كمسبب لمرض تدهور النخيل. أدى استخدام المبيدات الكيميائية الى حدوث مشاكل عديدة تتعلق بعضها بتلوث البيئة وتأثيراتها المباشره على صحة الانسان والحيوان مما حفز الباحثين والمؤسسات البحثية والعلمية الى التفكير بوسائل اكثر آماناً للبيئة وذات نتائج مقبولة ومن هذه الوسائل هي استخدام عوامل المقاومة الاحيائية والتي نالت اهتمام كبير خلال السنوات الاخيرة بوصفها أحدى أهم البدائل المطروحة (Compant *et al*., 2005) .تتصف المقاومة الاحيائية بكونها متخصصة في تأثيراتها كما أن لها القدرة على الزيادة والانتشار طبيعياً ولا تسبب أي ضرر للنظام البيئي(Agrios, 1997 , Howarth, 1991) .ذكر (2002) Guetsky *et al*., أن عوامل المقاومة الاحيائية لها القدره على كبح نشاط العديد من المبسببات الممرضة باستخدام آليات متنوعة وكذلك مقدرتها على تحمل الظروف البيئية. تعد البكتريا *Bacillus subtilis* من بين تلك العوامل الاحيائية التي أعطت نتائج جيده في التجارب الزراعية في الزراعة المحمية والحقلية (Larkin ,2004 , Morsy *et al* , 2009) وهذه البكتريا لها القدرة على تشجيع نمو النبات من خلال افرازها بعض المركبات المحفزه للنمو حيث يطلق على هذه الانواع اسم البكتريا المشجعه لنمو النبات Plant Growth Promoting (PGPR) Rhizobacteria (Bashan *et al* .1993, Barger ,Kloepper *et al*,2004.) أظهرت بعض الدراسات أن النباتات المعامله بالبكتريا *B.subtilis* تزيد من انتاج حامض السالسليك (SA) مقارنه مع النباتات غير المعامله كذلك حصول تغيرات فسلجية في النباتات المعاملة مثل تثخن الجدران الخلوية وانسداد الفراغات الموجودة بين الخلايا

بمواد ناضحة Osmophili ومواد غير متبلورة Amorphous تعمل على اعاقة دخول الممرضات (Zhang *et al.*,2002) .وفي دراسة وجد أن هذه البكتريا لها القدره على انتاج مواد ببثيديه Lipopeptide مثل Surfactin, و Fengycin التي تعمل على استحتاث المقاومة الجهازية في نبات الطماطة والفاصوليا ضد كثير من المسببات المرضيه التي تصيب جذورها من خلال زيادة انزيم Lipoxygenaseأو عند معاملة تلك النباتات بمادة Fengycin مما يؤكد دور هذا الانزيم في زيادة مقاومة النباتات ضد المسببات المرضيه (Kloepper *et al.*,2004 , Ongena,2007) ،كما تركزت الجهود على الكشف عن المركبات الكيميائيه التي تستحث المقاومة في النباتات ضد العديد من مسببات امراض النبات وهذه المركبات ليس لها أي تأثيرات سلبيه على الانسان أو البيئة ومن أهم هذا المركبات هو حامض السالسليك (Morphy *et al.*,2000) يدخل حامض السالسليك في آلية دفاع النباتات ضد المسببات الممرضة اذ يلعب دوراً في تحفيزا لمقاومة في النبات عن طريقه تحفيز أنتاج البروتينات المرتبطة بالامراضية Pathogensis Related Protiens(PR) مثل انزيمات Chitinase و B.1,3 glucanase (Durrand and Dong ,2004) فقد وجد أن حامض السالسليك يؤدي الى تجميع بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وانزيم Peroxidase الذي له تأثير كبير في تحلل جدران الخلية الفطرية كما يعمل على زيادة سمك جدران خلايا النباتات العائل عن طريق زيادة مادة اللكنين (Matheron , 2001) وقد اضيف هذا المركب الى قائمة الهرمونات النباتيه كالاوكسينات والجبرلينات والسايتوكاينن (Hayat and Ahmad , 2007,Astrid *et al.*,2009).

الهدف من الدراسة :-

هدف الدراسة الحالية اجراء مسح ميداني في بعض مناطق البصرة للوقوف على مسببات موت الفسائل حديثة الزراعة وتشخيص الممرضات الفطرية ومحاولة الحد من تأثيراتها الضارة باستعمال بعض العوامل الاحيائية والكيميائية .

٢- المواد وطرائق العمل

2-1- الدراسه المسحية

أجري المسح خلال المرسم 2013- 2014 وشمل مواقع عديدة في منطقتي الهارثه وشط العرب أذ اختير عدد من البساتين بصورة عشوائية وحسبت نسبه الفسائل الميتة وضعيفة النمو (المتدهورة) في كل منطقه وفقاً المعادلة الاتية :-

(النسبه المئوية للفسائل الميتة أو المتدهورة = عدد الفسائل الميتة أو المتدهورة ×100)

العدد الكلي للفسائل

2-2 عزل الفطريات من الفسائل الميتة وضعيفة النمو

جلبت فسائل ميتة او ضعيفة النمو الى المختبر من المناطق التي شملها المسح شرحت الفسائل وأخذت قطع بطول 0.5- 1 سم من نسيج الجذور وغسلت بماء الحنفيه ثم عقمت سطحياً بمحلول هايبو كلورايت الصوديوم ١٠% من المستحضر التجاري لمدة 2-3 دقيقه بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم لإزالة أثار المادة المعقمه ثم وضعت على ورق ترشيح معقم لتجف في غرفة العزل ثم نقلت بواسطة ملقط معقم الى أطباق بتري قطرها 9سم تحتوي على الوسط الزراعي بطاطا ودكستروز اكر (P.D.A) Potato Dextrose Agar المعقم والمضاف اليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 250ملغم /لتر وضعت الاطباق في الحاضنه تحت درجه 25 $\pm$ 2م لمدة 3-7أيام بعدها عزلت النموات الفطريات وتم تنقيتها وشخصت حسب المفاتيح التصنيفيه . (Ellis, 1971, ,Domsch Pitt and Hocking , 1997) *et al.*,1980 , وتم تأكيد التشخيص من قبل أ. عبدالله السعدون(كلية العلوم،جامعةالبصرة) كما حسبت النسبه المئويه لظهور الفطريات حسب المعادله الاتيه:

% للظهور = عدد مرات ظهور الفطر في العينات ×100

عدد العينات الكلي

2-3-اختيار المقدره الامراضيه للفطريات المعزوله على بادرات نخيل :

تم أختبار المقدره الامراضيه للفطريات المعزوله بتكرار عالي من الفسائل المصابه والميته وكانت الفطريات هي : *Fusarium moniliforme* و *Chalaropsis radiciol* و *Theilaviopsis paradoxa* و *F.oxysporum* .حضرت تربه مكونه من خليط البتموس وتربه مزيجيه بنسبه 2:1 وعقمت بجهاز المؤصده لمدة ساعه على درجة حرارة (121م) وضغط 1.5 كغم/ س2 ثم أعيد تعقيمها مره اخرى بعد 48 ساعة . حضر لقاح الفطريات المعزولة باستخدام بذور الدخن المحلي*L. Panicum aestivum* تم تلويث التربه المعقمه بلقاح الفطريات المحمل على بذور الدخن بنسبه (4غم /كغم تربه)ووضعت في سنادين بلاستيكيه حجمها 5كغم ثم سقيت التربه الملوثه يومياً بالماء لمدة سبعة أيام لإعطاء فرصه للفطريات المختبره بالنمو كما أخذت بذور نخيل صنف حلاوي وعوملت بمحلول هيدروكسيد الصوديوم 10%لمدة 10 دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم للتخلص من المحلول ثم نقعت بماء مقطر معقم ووضعت في الحاضنه على درجه حرارة 25+ 2م مع مراعاة تبد يل الماء المقطر المعقم كل 48 ساعة لحين أنبات البذور (العاني ، 1998) أخذت البذور النابتة وزرعت في التربه الملوثه الموضوعه في الاصص (سنادين) وبمعدل 5 بادرات لكل أص نفذت التجربة بثلاث مكررات لكل فطر ، استمرت التجربة لمدة 6أشهر أولحين تكون 2- 3 ورقه(Arafat *et al.*,2012) بعدها حسبت النسبه المئوية للإصابة .

% للإصابة = عدد البادرات المصابة × 100

العدد الكلي للبادرات

4-2 اختبار الكفاءة التضادية بين البكتريا *Bacillus subtilis* والفطر الممرض *F.moniliforme*

تم الحصول على عزله البكتريا *B. subtilis* من المبيد الحيوي BioHealth انتاج الشركة الالمانية Humin Ten نميت البكتريا على وسط الزراعي Nutrient Agar(NA) أخذت مسحه من البكتريا النامية في الطبق ولقح وسط Nutrient Broth المعقم ووضع الوسط في الحاضنه لمدة 48 ساعة على درجه حرارة 25-2م واخذ واحد مل منه بواسطة ماصة دقيقه معقمة وأضيف الى اطباق بتري معقمه تحتوي على وسط P DA المعقم بشكل بقع في محيط الطبق تبعد 1.5 سم على حافة الطبقه وبمعدل 4 بقع ،ووضعت في الحاضنه لمدة 48 ساعة (Paulitz *et al,* 1992) أخرجت الاطباق ولقح مركز كل طبقه بقرص دائري (0.5سم) مأخوذ من حافة مستعمره الفطر *F.moniliforme*بعمر أربعة أيام مع إضافة معاملة مقارنه تحتوي على أطباق محتويه على الوسط نفسه وغير معامله بالبكتريا اذ لقح مركزها بقرص مأخوذ من مستعمرة الفطر وبمعدل ثلاثة أطباق لكل معامله اعيدت الاطباق الى الحاضنه على درجه حرارة 25±2م لحين وصول النمو في معامله المقارنه الى حافه الطبق حسب معدل النمو القطري للفطر لممرض وحسبت النسبه المئوية للتثبيط وفق معادله Abbottالواردة في شعبان والملاح (1993) :

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل النمو في معاملة المقارنه} - \text{معدل النمو في معاملة المعامله}}{\text{معدل النمو في معاملة المقارنه}} \times 100$$

٢-5 اختبار الكفاءة التثبيطية لتراكيز من حامض السالسليك Salicylic acid في نمو الفطر *F. moniliforme*

أختيرت التراكيز (0,0.5,0.7,0.8, 1mM) وذلك بعمل محلول قياسي من الحامض و باذابة ١غم من الحامض في ٣مل من الايثانول (99%) ثم أضيف الى لتر من الماء المقطر المعقم وأخذت كميات معلومه منه أضيفت الى ١٠٠مل من وسط PDA المعقم للحصول على التراكيز المطلوبه عقمت الاوساط الغذائيه المحتويه على هذه التراكيز بجهاز المؤصده ثم تركت لتبرد ، صبت الاوساط في اطباق بتري معقمه وبمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز ثم لقح مركز كل طبق بقرص قطره(**0.5سم**)مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر***F. moniliforme*** بعمر خمسة أيام ثم وضعت الاطباق في الحاضنه على درجة حرارة **2+**25م وبعد وصول النمو القطري للفطر الممرض في معاملة المقارنة (تركيز0) الى حافة الطبق حسب معدل النمو القطري للفطر الممرض في الاطباق وحسبت النسبه المئوية للتثبيط وفق معادله Abbott السابقة الذكر واعتمد التركيز التثبيطي الاكبر والذي ليس له تأثيرات جانبيه على بادرات النخيل .

٢-٦ أختبار فعاليه حامض السالسليك في نمو البكتريا *B. subtilis* في الوسط الزرعي

حضر وسط Nutrient Agar ووزع في دوارق زجاجية سعة 150مل وبمعدل 100مل/ دورق.عقمت الدوارق .بجهاز المؤصده تحت درجه حرارة ١٢١ م وضغط ١,٥كغم /سم٢ لمدة 30دقيقة ثم أضيفت تراكيز من حامض السالسليك المدروسة رجت الدوارق جيداً لغرض تجانس الحامض مع الوسط الغذائي ثم صبت في اطباق بتري معقمه قطرها 9سم بعدها أضيف لكل طبقه 1مل من اللقاح البكتري المخفف 10^{-6} وبمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز من الحامض حركت الاطباق حركة رحويه لضمان توزيع المعلق البكتيري على سطح الطبق حضنت جميع الاطباق على درجه حرارة ٢٧±٢م لمدة ٢٤ساعه بعدها حسبت اعداد مستعمرات البكتريا لكل تركيز من حامض السالسليك .اما اعداد البكتريا فحسبت حسب المعادلة الاتية :

عدد البكتريا في (١ مل)= معدل عدد المستعمرات * مقلوب التخفيف .

٢-٧ تجربة البيت البلاستيكي Green house test

أستخدمت في هذه التجربة بادرات نخيل بعمر 6 أشهر ناتجة من زراعة بذور تمر صنف حلاوي في أصص بلاستيكيه محتوية على تربة مزيجية مع بتموس بنسبه 1:2 (كما في فقرة الامراضية) وكل أصص تحتوي على ثلاثة بادرات وشملت المعاملات ما يأتي :

(١- معاملة المقارنة (بدون أي معاملة) ٢- معامله الفطر *المرض F. moniliforme*بمفرده ٣- معاملة الفطر الممرض + حامض السالسليك (تركيز 0.8mM) ٤-معاملة الفطرالممرض +البكتريا *B. subtilis* ٥- معاملة الفطرالممرض +حامض السالسليك +البكتريا*B. subtilis* ٦- معاملة البكتريا بمفردها ٧- معاملة حامض السالسليك بمفرده ٨- معاملة البكتريا *B. subtilis*+معاملة حامض الساليسليك).أضيف المعلق البكتيري المنمى على وسط N. Broth وبتركيز1.4×10^{6} وحده تكوين مستعرة مع ماء السقي الى المعاملات التي تدخل البكتريا *B. subtilis* فيها كما أضيف حامض السالسليك (تركيز0.8mM) الى المعاملات التي يدخل فيها وبمعدل ٥٠٠مل لكل مكرر وبعد إضافة العالق البكتيري وحامض الساليسليك تم إضافة العالق الجرثومي للفطر الممرض *F. moniliforme* ويتركز ٤×١٠بوغ لكل ١٠٠مل مع ماء السقي (EL. Zawabry *et al* ., 2000) أما معاملة المقارنة فقد سقيت بالماء المقطر المعقم فقط وبعد يومين من تطبيق المعاملات استمر سقي المعاملات بماء (R.O) وحسب الحاجه أستمرت التجربة 60 يوم بعدها تم قلع الفسائل بعناية وأخذت القياسات التالية :

١- النسبة المئوية للإصابة (% للأصابة = عددالنباتات المصابة في كل معاملة × 100)

العددالكلي للنباتات المعاملة

2 - الوزن الطري و الجاف للمجموع الجذري والخضري (غم)

٣- حساب كمية الكلوروفيل الكلي (ملغم/ غم)

٢ -٨ تقدير كمية الماده الخضراء (الكلوروفيل) في اوراق بادرات النخيل .

أخذت اوراق حديثة من بادرت كل معاملة وتم استخلاص الكلوروفيل من العينات وذلك باخذ **2غرام** من كل عينه وهرسها مع **5**مل من الاسيتون تركيز 80% بعدها تم قراءة الكثافة الضوئية للعينة باستخدام جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometerعلى الطولين الموجبيين 663 و645 نانومتر ،بعد ذلك قدر الكلوروفيل الكلي وفق ما ذكره Lichtenthaler (1987) .حولت الكميات من ملغم /لتر الى ملغم /غرام .

٣- النتائج والمناقشه

٣-١- الدراسة المسحية

أظهرت النتائج المسحية لمنطقتي الهارثه وشط العرب ارتفاع نسبة الاصابة بمرض تدهور وموت فسائل النخيل حيث بلغت هذه النسبه 34% في منطقة شط العرب وانخفضت الى 17% في منطقة الهارثة (جدول ١) وتمثلت اعراض الاصابة أصفرار السعف وتوقف النمو وانفراج كبير في السعف كما يلاحظ تلون المجموع الجذري في الفسائل الميتة باللون البني وتكون الانسجة الداخلية هشة ومتفككة ومتعفنة ويعود سبب ارتفاع النسبة المئوية للإصابة في منطقة شط العرب الى ارتفاع ملوحة التربة وماء السقي وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي اشارت الى زيادة نشاط الفطريات الممرضة المسببة لتدهور النخيل بسبب ضعف النخيل نتيجة ارتفاع ملوحة ماء السقي والتربة (Carpenter and Elmer ,1978 وغالي 2001 الاسدي,2004)وعدم العنايه بالنخيل كما أظهرت نتائج العزل للفطريات من الفسائل المتدهورة والميته ومن التربه المحيطه بالجذور وجود العديد من الفطريات وكان أكثر الفطريات تكراراً هوالفطر*Fusarium moniliforme* حيث بلغت 45و40% في كل من منطقتي الهارثه وشط العرب على التوالي أذ تم عزل هذا الفطر من جميع أجزاء الفسائل الميتة ومنطقة الجذور المتأثره والتربه القريبه . Rhizosphareوجاء الفطر *C.radicicola* بالدرجة الثانية من حيث الظهور كما تم عزل الفطريات *Th. paradoxa*و *F. oxysporum* بظهور عال . أن هذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات التي أشارت الى مرافقة العديد من الفطريات الممرضة الى حالات تدهور وموت فسائل النخيل ، فقد عزل عباس ومهدي (١٩٩٦) العديد من الفطريات وكان أكثارها تكراراً في الظهور الفطريات *F.moniliforme*، *F.solani*، *C.radicicola* . وفي دراسة أجراها غالي (٢٠٠١) أظهرت عزل العديد من الفطريات الممرضة المسببة لمرض تدهور وموت النخيل منها الفطريات *F.moniliforme*، *F.oxysporum*، *C.paradoxa* . ووجد عباس ومهدي (١٩٩٦) أن المسبب المرضي لمرض انحناء الرأس في النخيل هو الفطر*F.moniliform* .

جدول (1) الفطريات الممرضه الاكثر تكراراً المعزولة من منطقه الجذور المصابه

الموقع	*F.oxysporum*	*F.moniliforme*	*C.radiciola*	*T.paradox*a	%للاصابة
الهارثة	١٠	٤٠	٢٥	٢٠	١٧
شط العرب	٢٠	٤٥	٣٥	١٥	٣٤

3-٢- اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المعزولة في بادرات النخيل .

اوضحت نتائج اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المختبرة (جدول ٢)الى أن كل بادرات النخيل أصيبت بجميع الفطريات الممرضة ولكن هناك درجات مختلفه من الاصابة وكان اكثر الفطريات شدة في الاصابة هو الفطر *F. moniliforme* حيث بلغت النسبه المئوية **55 و 40%** في العزلتين المأخوذه من الفسائل المصابه من الهارثه وشط العرب على التوالي وجاءت عزلتي الفطر *C.radicicola* بالمرتبه الثانيه حيث بلغت النسبه المئوية للإصابة**25 و ٣٥%** على التوالي أن نتيجة هذا الاختيار تتفق مع ما ذكره العديد من الباحثين من وجود العديد من المسببات المرضيه المستوطنه في التربه تسبب امراض خطيره وان عدد منها يسبب امراض تعفن الجذور على النخيل (ElDeeb *et al.,2006*، Mansoori and Kord , 2007 ,Samir *et al* ,2009 .Arafat ,2011) كما وجد (Arafat *et al*. 2012) أن اكثر المسببات المرضية أمراضية هو الفطر *F.oxsporum*و *F.moiliforme* وعلى ضوء نتائج هذا الأختبار تم ترشيح العزله المأخوذة من منطقة الهارثة لأجراء التجارب اللاحقة .

جدول 2 اختبار الامراضيه للفطريات الممرضة المعزولة

الفطر المرض	% للاصابه
F. oxysporum Hartha	20
F. oxysporum . shut. Alarab	25
F. moniliforme Har.	55
F. moniliforme .sh.arab	40
C. radicicola Har	25
C*. radicicola*. Sh .arab	30
T. paradoxa Har.	10
T. paradoxa. Sh. arab	15

٣ـ ٣ كفاءة البكتريا *B.subtilis* في تثبيط نمو الفطر *F. moniliforme* على الوسط الزراعي P.D.A

أظهرت نتائج الأختبار كفاءة عالية للبكتريا *B.subtilis* في تثبيط النمو القطري للفطر الممرض *F.moniliforme* على الوسط الزراعي P.D.A حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 100% وترجع كفاءة هذه البكتريا في تثبيط نمو ونشاط للعديد من المسببات المرضية الى قدرتها في أنتاج العديد من المركبات مثل المضادات الحيوية وبعض الحوامض الأمينيه (Stein,2005) . من أهم المركبات الايضية التي تنتجها البكتريا *B.subtilis* والتي لها فعالية عالية في تثبيط الفطريات هي Iturin وbacillomycins وmycosubtilin ومركبات ببيتدية أخرى(Helbig and Bochow , ٢٠٠١ ، Lee *et al.*, ٢٠٠٨)

٣ـ ٤ اختبار الكفاءة التثبيطية لحامض السالسليك (SA) ضد الممرض *F.moniliforme* .

أظهرت النتائج (جدول ٣) أن التركيزين (٠,٨ و١ ملي مول) لها تأثير كبير في تثبيط النمو الفطري لمستعمرة الفطر الممرض على الوسط الزراعي P.D.A حيث بلغ معدل النمو الفطري فيهما 1.9و 1.1 سم على التوالي وبلغت النسبة المئوية للتثبيط 83.3، 87.7% على التوالي ولم يوجد فرق معنوي بين النسب المئوية للتثبيط بينهما بينما يلاحظ وجود فرق معنوي بينهما مع التراكيز الاخرى أن نتائج هذه التجربة تتفق مع ماذكره Ozgonen (2001) *et al.,* الى أن جميع تراكيز حامض السالسليك (0.6-1.0ملي مول) قد ثبطت معدل النمو الفطري للفطر *F.oxysporum* على الوسط الزراعي **P.D.A .**

جدول(٣) تأثير حامض السالسليك في النمو الفطري لمستعره الفطر *F.moniliforme*

تركيز SA	معدل نموالفطر (سم)	% للتثبيط
Control (بدون معامله)	9.00	0
0.5mM	7.8	15
0.7mM	3.1	71.2
0.8mM	1.9	83.2
1mM	1.1	87.7
R.L.S.D 0.01	0.43	6.33

٣ ـ ٥ اختبار فعالية حامض السالسليك في نمو البكتريا *B. subtilis* .

بينت النتائج (جدول ٤) أن حامض السالسليك تأثيراً أيجابياً في اعداد مستعمرات البكتريا *B.subtilis* وهذا التأثير يزداد بزيادة تراكيز الحامض فقد بلغت اعداد البكتريا في معاملة السيطرة (غير معاملة بالحامض) 29.5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة / مل فيما بلغت أعدادها عند التركيزين ٠,٧ و٠,٨ ملي مول اذا بلغت ٣٣,٩ ×10^8 و ٣٨,٣ ×10^8وحدة تكوين مستعمرة على التوالي بينما كانت الزيادة معنوية في معاملة التركيز ١ ملي مول حيث بلغت

٤٨,٢ وحدة تكوين مستعمرة بالمقارنة مع معاملة السيطرة ، وتعود التأثيرات الأيجابيه للحامض على اعداد البكتريا الى أن البكتريا لها القدرة على انتاج الحامض بكميات قليلة وذلك لأهميته في تنظيم الفعاليات الحيوية التي تجري في الكائنات المجهرية (Zhang *et al.* , .2002)

جدول رقم (4) اختبار فعالية حامض السالسليك في نمو البكتريا *B. subtilis*

تركيز الحامض (مولاري)	معدل عدد مستعمرات البكتريا × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرة /
معاملة السيطرة	٢٩.٥
تركيز SA (0.7mM)	٣٣.٩
تركيز SA (0.8mM)	٣٨.٩
تركيزSA (1mM)	٤٨.٢
R.L. SD 0.01	١٠.١

٣ - ٦ تأثير البكتريا *B.subtilis* وحامض السالسليك (SA) وتداخلاتهما في النسبه المئوية لاصابه بادرات النخيل بالفطر *F. moniliforme*

أشارت نتائج التحليل الاحصائي المبينه في جدول (٥) ان معاملة بادرات النخيل بالبكتريا *B- subtilis* أو بحامض السالسليك (SA) تركيز (0.8mM) أدت الى خفض النسبة المئوية للإصابة بالفطر *F .moniliforme* قياساً بمعاملة الفطر الممرض لوحده ، ألا أن أفضل المعاملات كانت المتضمنة اشتراك البكتريا *B.subtilis* مع حامض السالسليك (SA)بوجود الفطر الممرض حيث أنخفضت النسبة المئوية للأصابة في هذه المعاملة الى 26.67 قياساً بمعاملة الفطر الممرض التي بلغت 66.67 %ولم نلاحظ وجود فرقاً معنوياً بين معاملتي البكتريا +الفطر الممرض وحامض السالسليك+الفطر الممرض حيث بلغت النسبة المئوية للأصابة في كل منهما 33.33 و40.0% على التوالي وتفوقت هاتين المعاملتين معنوياً على معاملة الفطر الممرض بمفرده .أن هذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات التي أشارت الى قدرة البكتريا *B.subtilis* وحامض السالسليك الى خفض النسبة المئوية للأصابة بالعديد من الممرضات في الكثير من النباتات ذكر (2004) Larkin أن استخدام البكتريا *B.subtilis* ادت الى خفض معنوي في النسبة المئوية للأصابة بمرض تقرح ساق البطاطا المتسبب عن الفطر *R.solani* حيث بلغت 9.18% قياساً بمعاملة السيطرة (الفطر الممرض بمفرده) والتي كانت 40% ووجد حسون (2005) أن معاملة درنات البطاطا بالبكتريا *B.subtilis* أدى الى خفض معنوي في نسبة الاصابة وشدتها بمرض القشرة السوداء في البطاطا ضد ست عزلات من الفطر *R.solan*i حيث بلغت هذه النسبة 7% قياساً بمعاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت

100% كما أظهرت دراسة اخرى أن معاملة بذور الطماطة بالعالق البكتيري للبكتريا *B.subtilis* بتركيز (١×١٠^٨وحده تكوين مستعمره) أدت الى خفض النسبة المئوية للإصابة بمرض الذبول الفيوزارمي المتسبب عن الفطر *F. solani* الى 17.5% في حين كانت في معامله الممرض 43.2% (Morsy *et al* .2009) ووجد ان استخدام انواع تعود الى جنس البكتريا *Bacillus* بينها *B.subtilis*ضد مسبب مرض الذبول الفيوزارمي الى خفض النسبه المئوية للاصابه الى 20%في حين كانت في معامله فطر الممرض 100%(Ajilogba *et al* ., 2013) .

أن لحامض السالسيك (SA) الذي اعتبر أحد الهرمونات النباتيه (Astrid *et al*., 2009) حيث يلعب دور اساسي في خفض الضرر المتسبب عن المسببات الممرضة المختلفه مثل الفطريات والبكتريا والفيروسات وغيرها كذلك يعتبر عامل مهم في حث ما يعرف بالمقاومة الجهازية المكتسبة Aquired Systemic Resistanceوأن لحامض السالسليك دور كبير في نقل الاشارات التي تؤدي الى الاستجابات الدفاعيه الواسعه والتي تشمل التصنيع الحيوي لبعض المركبات الايضيه الثانويه (Pieterse and Vanloon, 1998,Astrid *et al* . 2009 , Hayat *et al* . 2010) وجد أن المعامله بحامض السالسيك عند التركيزين (0.5 -١ ملي مول) قد خفض من النسبة المئوية للإصابة بمرض الذبول الفيوزارمي على الطماطة الى ٤٣.٧٥ و٢٥% على التوالي مقارنه بمعاملة الفطر الممرض حيث ارتفعت هذه النسبة الى 62.5% (Ozogonen *et al* . 2001) وفي دراسة اجراها El. Mougy(2003) أوضح فيها كفاءة حامض السالسيك في خفض شدة الاصابة بمرض تعفن جذور اللوبياء المتسبب عن الفطريات *Rhizoctonia ,F.solani ,Sclerotium rolfsii* حيث وجد ان معامله البذور بحامض السالسيك بمعدل ٢أو٣غم/كغم بذور او رش التربه بالحامض بالتركيز ٣غم/لتر ماء ادت الى خفض أصابة البادرات قبل البزوع بالفطريات الممرضة الى (٤و١٢.٥%) و(١٢و٢٢,٧%) و(٢٤و٣١,٦%) على التوالي كما بلغت النسبه المئوية للإصابة بالفطريات المذكوره في مرحلة بعد بزوغ البادرات الى (١٦و١٩,٦%) و(١٦و٢٣,٨%) و(٢٠و٢٥%) على التوالي .

جدول رقم (5) تأثير البكتريا *B.subtilis* وحامض السالسليك (SA) وتداخلاتهما في النسبه المئوية لاصابه بادرات النخيل بالفطر *F. moniliforme*

	المعاملات	الاصابه %
1	الفطرالممرض*F. moniliforme*	66.67
2	الفطر الممرض +البكتريا .B..s	33.33
3	الفطر الممرض+حامض السالسليك (SA)	40.00
4	الفطر الممرض+البكترياB.s+حامض(SA)	26.67
	R .L.S.D 0.05	10.13

٣- ٧ تأثير البكتريا *B.subtilis* وحامض السالسليك (SA) وتداخلهما في بعض مؤشرات النمو لبادرات النخيل .

أوضحت نتائج التحليل الاحصائي (جدول ٦)أن للفطر *F.moniliforme* تأثيراً واضحاً في خفض مؤشرات النمو المدروسه مثل الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري حيث بلغت في معامله البادرات الملقحه بالفطر الممرض 1.11و0.39غم على التوالي قياساً ب 1.90 و0.76 غم على التوالي في معامله السيطره (البادرات غير الملقحه بالفطر الممرض) كما بلغ الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري في معامله البادرات الملقحه بالفطر الممرض 0.40 و0.08 غم على التوالي في حين كان 0.61 و0.16غم على التوالي في معامله السيطره ويتضح من الجدول نفسه أن استخدام البكتيريا *B.subtilis* وحامض السالسيلك (SA) قد قلل بشكل كبير من التأثير السلبي للفطر الممرض عند استخدام المعاملات المتضمنه اشتراك البكتيريا وحامض السالسيلك (*B.*+SA+*F.mon.*) اذ بلغ الوزن الطري للمجموع الخضري والجذري 1.83و 0.85غم على التوالي كما بلغ الوزن الجاف 0.62 و0.17غم على التوالي ٠وجاءت هذه النتيجه متفقه مع ما ذكره العديد من الباحثين الذي أشاروا الى قدرة البكتيريا *B. subtilis* الى خفض التأثيرات السلبيه لكثير من المسببات المرضيه وبآليات متنوعة تعود الى البكتريا *B.subtilis* مما يؤدي الى تحسين مؤشرات النمو في النبات فقد وجد أن لها دور في تحفيز النبات على انتاج مركبات **الفايتو الكسين** وكذلك تؤدي دور في التحولات البايوكيميائيه المختلفه وتنعكس هذه التحويلات على نمو النبات (Denisen ,2000)وفي دراسة اجراها (2004), Ryu *et al.* وجدو أن البكتريا *Bacillus* تنتج مركبات متطايراً هو 2,3 Butanediol الذي له دور في تحفيز المقاومه الجهازيه في النبات. أشار (2009). Morsi *et al* الى مقدرة البكتريا *B.subtilis* الى تثبيط نشاط الفطر الممرض *R. solani* المسبب لمرض موت البادرات وتعفن جذور الطماطه حيث أدت المعامله بالبكتريا الى زيادة مؤشرات النمو والانتاج حيث بلغ معدل الوزن الطري والجاف لنباتات الطماطه المعامله بالبكتيريا بوجود الفطر الممرض 337.4 و44.9غم/ نبات على التوالي في حين كانت معدل هذه الاوزان في معامله الفطر الممرض 138.7و 17.2غم/نبات على التوالي .أن حث المقاومه Induced Resistance(IR) ينتج عن تفعيل استجابة الدفاعات الخلويه ضد المسببات المرضيه وأن هذه المقاومه المحتثه تسيطر عليها بواسطة العديد من الآليات تعتمد على تراكم حامض السالسيلك داخلياً (Durrant and Dong .،١٩٩٧) وأن تراكم حامض السالسليك يؤدي الى انتاج مركبات ترتبط بعمليه الدفاع ضد المسببات المرضيه مثل البروتينات المرتبطه بالامراضيه Pieterse *et al.,* 1998)Pathogenesis Related Protien(PR) اوضح Alamri *et al.,* (2013) أن رش نباتات الطماطه بالتركيز ٠,٥ -١ ملي مول من حامض السالسيلك (SA)شجع نمو نباتات الطماطه وزيادة الأنتاج كما أدى الى خفض الاصابه بالفطر *Alternaria tenuissima*المسبب لمرض تبقع أوراق الطماطه كذلك وجد أن رش اوراق نباتات القرع Cucurbita بتركيز من حامض السالسليك (SA)الى تقليل الاعراض المرضيه وزيادة صبغه الكلوروفيل والكاربو هيدرات والدهون مقارنه مع النباتات المصابه بفيروس Zucchini yellow mosaic Virus كما ادى الى تثبيط حركة ونشاط الفيروس وحصره في النسيج المصاب منع عملية التكاثر Replication(Alawlaqi, 2014) ويفسر انخفاض الوزن الطري للمجموع الخضري في النباتات المصابة بالمرض ربما يعود الى السموم المنتجه من الممرض والتي تؤثر في أمتصاص ايون البوتاسيوم K وكذلك وظيفة الثغور والذي يؤدي الى عدم السيطرة على

عملية النتح والذي ينتج عنه فقد كمية كبيرة من الماء مما يسبب في عملية الذبول كما أن انخفاض الوزن الجاف ينتج عن زيادة معدل التنفس وخلل في وظيفة الغشاء البلازمي مما يؤدي الى تحلل الغشاء البلازمي (Orcutt and Nilsen،2000).

جدول رقم (6)تأثير البكتريا *B.subtilis* وحامض السالسليك (SA) وتداخلهما في بعض مؤشرات النمو لبادرات النخيل

المعاملات	معدل الوزن الطري(غم)		معدل الوزن الجاف(غم)	
	المجموع الخضري	المجموع الجذري	المجموع الخضري	المجموع الجذري
المقارنهcontrol	1.90	0. 76	0. 61	0. 16
للفطرالمرض*F.moniliforme*	1. 11	0. 39	0. 40	0. 08
الفطر المرض+البكتريا*B.sub*	1. 65	0. 60	0. 53	0. 12
الفطرالممرض+حامضالسالسليكSA	1. 72	0. 70	0. 57	0. 13
الفطرالممرض+البكتريا+حامض السالسليك	1.83	0. 85	0. 62	0. 17
حامض السالسليك(SA)لوحده	2. 20	1.10	0.74	0.19
البكتريا*B.subtilis*لوحدها	2. 25	1.12	0. 75	0. 20
البكتريا*B.sub*+حامض السالسليك	2. 33	1.15	0. 78	0. 22
R.L.S.D 0.0 5	0. 15	0.10	0.0 5	0. 02

٣ ـ 8 تأثير البكتريا *B. subtilis* وحامض السالسليك (SA)وتداخلاتهما في محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل Chlorophyll.

أظهرت النتائج الموضحه في جدول (٧) انخفاض محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل في النباتات المعاملة بالفطر الممرض لوحدة *F.moniliforme* حيث بلغت ٠.٨٥ ملغم /غم في حين كان محتوى الاوراق في معاملة السيطرة (بدون أي معاملة) 1.05ملغم/غم كما بينت النتائج أن استخدام البكتريا *B.subtilis* أو حامض السالسليك (SA) كلاً على انفراد أو تداخلهما بوجود الفطر الممرض الى ازدياد محتوى الاوراق من هذه الصبغه حيث بلغت 1.19 و1.15ملغم /غم على التوالي في حين كان في معاملة التداخل 1.20ملغم/غم أن انخفاض محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل في معامله الفطر الممرض لوحده يعود الى انتقال السموم المنتجه من قبل الفطر الممرض داخل النبات مما يؤدي الى تحرير جذور الاوكسجين الفعال (reactive oxygen species) مما يؤدي الى موت الخلايا بصورة سريعه(Howlett , 2006) أما زيادة محتوى الاوراق في النباتات المعامله بحامض السالسليك من صبغات الكلوروفيل والكاروتن فيرجع الى الدور التحفيزي الذي يلعبه الحامض في زيادة فعاليه انزيم rubico(ribulose l, 5-biphosphat carboxylase) (Khodary ,2004) كما أن معامله النباتات بالبكتريا *B.subtilis*تؤدي الى تحفيز النباتات على زيادة انتاج حامض السالسليك (SA)والذي يقوم بالدور التحفيزي في النباتات المصابة .أن هذه

النتائج تتفق مع ما ذكره (2002) . Ghai *et al* حيث وجد أن رش نباتات الروتاباجا *Brassica napus* بحامض السالسليك (SA) بتركيز 20ملغم/ مل على المجموع الخضري يؤدي الى زيادة محتواها من مادة الكلوروفيل ،في دراسة وجد أن معاملة بذور الحنطة بحامض السالسليك بتركيز ٠.٠١ ملي مول يؤدي الى زيادة صبغة الكلوروفيل (Hayat *et al* .2005) وفي دراسة اجراها (2003). Fariduddin *et al* وجد أن رش نباتات الخردل *Brassica Juncea* بعمر 30 يوم بحامض السالسليك بتركيز ٠.٠١ ملي مول أدى الى تحسين كمية الكلوروفيل في النباتات بمقدار 20% اكثر من النباتات التي رشت بالماء فقط ووجد Agamy وأخرون (2013)أن رش نباتات الطماطه بحامض السالسليك(٥. ٠ ــ ١ ملي مول)أدت الى زيادة محتوى الاوراق من صبغه الكلوروفيل الى 1.2و 1.17 ملغم /غم على التوالي في حين انخفضت هذه الكمية في معاملة الفطر الممرض *Alternaria tenuissim*الى 0.8ملغم /غم فيما كان محتوى الاوراق من الصبغه في معامله المقارنة هو 1.6 ملغم /غم .

جدول رقم (7) تأثير البكتريا *B. subtilis* وحامض السالسليك (SA)وتداخلاتهما في محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل Chlorophyll

المعاملات	كمية الكلوروفيل الكلي ملغم /غم
المقارنه Control	**1.05**
الممرض*F. monilifor me*	**0.85**
الممرض+البكتريا*B. subtilis*	**1.19**
الممرض+حامض السالسليك SA	**1. 15**
الممرض+البكتريا*B.sub*+حامض السلسيلكSA	**1. 20**
البكتريا *B. sub.* لوحدها	**1. 27**
حامض السالسليك SAلوحده	**1.28**
البكتريا *B.sub*+حامض السالسليك (SA)	**1.33**
R.L. S.D. 0.01	**0. 09**

كل رقم يمثل ثلاث مكررات

المصادر

الأسدي ، رامز مهدي صالح (٢٠٠٤) ، دراسة حساسية أصناف مختلفة من نخيل التمر للأصابة بمرض تعفن القمة النامية المتسبب عن الفطر *Thielaviopsis paradoxa*.رسالة ماجستير كلية الزراعية .جامعة البصرة

حسون،ابراهيم خليل (٢٠٠٥) . المكافحة البايلوجية والكيمياوية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا المتسبب عن الفطر Rhizoctonia solani Kuhn .اطروحة دكتوراة ،قسم وقاية النبات .كلية الزراعة ،جامعة بغداد ١٣٣ص .

شعبان ،عواد ونزار مصطفى الملاح (١٩٩٣) المبيدات ،دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .

العاني ، مؤيد رجب (١٩٩٨) .دراسة امكانية تميز جنسي النخيل في مرحلة البادرات بأستخدام الهجره الكهربائية للبروتينات والمادة الشبيهة بالجبرلينات .أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعية ،جامعة بغداد .

عباس ،عماد حسين وهادي مهدي (١٩٩٦) . عزل وتشخيص المسبب المرضي لأنحناء الرأس في النخيل . مجلة علوم المستنصرية ، ١٤:٦-١٦

غالي ،فائز صاحب (٢٠٠١) . تدهور النخيل المتسبب عن الفطر *Chalara Paradoxa* ، ظروف الأصابة والمقاومة ، أطروحة دكتوراه كلية الزراعة ،جامعة بغداد ،١٩٠ صفحة .

مطر، عبد الامير مهدي (١٩٩١). زراعة النخيل وانتاجة .مطبعة دار الحكمة .جامعة البصرة ،العراق.٤٢٠صفحة .

Refrences

-**Agamy,R;ALamri , S.Mahmoud ,F.M.,and Mohamed .H. 2013.** Manage of Tomato leaf spot caused by *Alternaria tenuissima* wilt shire using salicylic acid and agrileen. Int.J.Agric .Biol.15.266-272

-**Agrios G.N. (1997)** .Plant Pathology .4 th ed . Academic Press . I nc . New York . P 635.

-**Ajilogba ,C.F. Babalola , O.O., and Ahmad , F. 2013**. Antagonistic effects of *Bacillus* species in biocontrol of tomato Fusarum wilt . Ethno . Med , 7(3): 205-216 .

-**AL-Arosi , H.,H. EL-said , M.A.Najien and N.Jabeen . 1983.** AL-wijam , decline date palm disease . Proceeding of the first symposium on Date palm . AL-Hassa –Saudi Arabia , pp:23-25 .

-**ALawlaqi , M.M. 2014**:Impact of salicylic acid and *Juniperus procera* extract as defense mechanism against Zucchini Yellow Mosaic Virus and host biochemical characterization .J.of Microb .Research ,4(3):141-147.

-**Arafat , K.H. 2011** .Studies of fungal rool diseases of date palm and its control .Ph.D. Thesis , Fac . Agric ., suez canal Univ ., pp:517.

-**Arafat , K.H. , A.M. Mohamad , S.Elsharabasy. 2012.** Biological control of Date palm root rot disease using Egyption isolates of *Streptomycetes* . .J. Agric . Biol . Sci, 8(2). 224-230. -

Astrid ,R., Riedrger, N.,Tiedemanri , A. and Karlvsky ,P. 2009. Salicylic acid glucoside xylem sap of *Brassica napus* infected with *Verticllium longisporium* .J . Plant .Res ,122:571-579.

-**Barakat ,F.M. , sabet ,K.K.Hussien, S.A. and Rashed ,M.F .1992** .Pathological studies on the deterioration of date palm off-shoot caused by*Botryodiplodia* the obromae Bulletin of Faculty of Agriculture, Univ .of Cairo .

Bashan , Y.,Holguin ,G.and Lifshitz ,R .1993. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria . In : Glick , B.R., Tand Thompson (ed)

Methodss in Plant Molecular Biology and biotechnology : 331. CRC Press , USA .

-Barger, F., Li .H., white , D., Frazer, R .and Leifert , C. 1996. Effect of pathogen incolum , antagonist density and plant species on biological control of *Phytophthora* and *Pythium* damping –off by *Bacillus subtilis* in high humidity fogging glasshouses . Phytopathology ,86:428-433.

-Carpenter ,J.B . and Elmer , H.S. 1978 . Pests and diseases of date palm . Dep.Agri. Handbook . 527 pp

-Compant ,S., Duffy ,F., Nowak ,J.,Clement,C. and Actbarka ,E. 2005 .Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases : Principles , mechanism of action and future Prospects . Appl . Environmental . MicrobioL . 61(9):4951-4959.

-Denison ,R.F. 2000. Legume sanction and the evaluation of symbiotic cooperation by rhizobioa . The American Naturalist , 156(6):567-576.

-Domsch , K.H. Gams , W. and Anderson , T.H. 1980 . Compendium of soil fungi . Vol.(l). Academic Press . London . New York , Toronto, Sydney , san Francisco, 859 pp.

-Durrant , W.E., and Dong , X. 2004. Systemic Aequired Resistance .Ann .Rev .PhytopthoL .42:185-209.

-EL – Mougy. N. 2004 .Preliminary of salicylic acid and acetylsalicylic acid efficacy for controlling root rot disease of Lupin under green house condition . Egypt .J.phytopathol. 32:11-21.

-EL.Deep , H.M.,S.M.Lashin and Y.A. Arab. 2007. Distribution and pathogenesis of date palm fungi in Egypt . Acta Hort ., 736:421-429.

-EL-Morsi ,M.E.A ,Abdel – Monaim ,M.F , Ahmad , E.F.S. 2014. Management of root rot and wilt diseases of data palm off shoots using certain biological control agent and its effect ongrowth parameters in the New Vally Governorate ,Egypt. . Journal of phyto .and Pest Mang .

- **ELLis , M.B. 1971** .Dematiaceous hyphomycetes . Common Wealth Mycol. Inst. London. 608 pp

- **EL.Zawabry ,A.M., EL. Morsi ,M.A. and Abd –Elrozik , A.A. 2000**.Occurence of fungal disease on date Palm trees and offshoot in New Valley governorate and their biological control . Assiut J.Agric .sci.31(3):189-121 .

-Fariduddin ,Q., Hayat ,S., and Ahmad ,A. 2003 . Salicylic acid influences net photosynthetic rate , carboxylation efficiency , nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica Juncea* . Photosynthetica .41:281-284.

-Ghai , N., setia .R.C., and setia , N. 2002. Effects of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content ,hill activity and yield components in *Brassica nopus* L. Phytomorphol .52:83-87.

-Guetsky, R.,shtienberg , D., Elad , Y.M, Fisher , F., and Dinoor ,A.2002

.Impoving biological control by combining biocontroL agents each with several mechanism of disease suppression .phytopathology,92:976- 984.

-Hayat , Q., Hayat , s., Irfan , M. and Ahmad ,A. 2010 . Effect of exogenous salicylic acid under changing invironment : Areview . Environ .Exp . Bot .68:14-25.

-Hayat ,S.,Fariduddin ,O.Ali , B., and ,Ahmad ,A. 2005 .Effect of salicylic acid on growth and enzymes activities of wheat seedling . Acta Agron .Hong .,53:433-437.

-Hayat,S.and Ahmad , A. 2007.Salicylic acid : a plant hormone. Springer (ed) Dortrecht, the Netherlands .

- **Helbig ,J .and Bochow ,H. 2001**. Effectivenss of *Bacillus subtilis* in controlling *Botryts cinerea* in strawberry .J.of Plant Disease and Protection, 108(6): 545 - 559 .

-Howart , F.G . 1991. Environmental impact of classical biological control .Annu .Rev . EntomoL . 36:485-509.

-Howlett, B.J. 2006 :Secondary metabolite toxins and nutrition of plant pathogenic fungi . Curr. Opin. Plant BioL. .,9:371-375.

-**Khodary ,S. 2004 :** Effec of salicylicacid on growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plant. Int .J. Agric Biol .6:5-8 -

KLoepper ,J.W., Ryn , C.M.and Zhang , S. 2004.Induced systemic resistance and promoting of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology , 94 : 1259-1266.

-**Larkin ,R.P. 2004.** Development of integrated biological and cultura approaches for control of powdery scab and other soil born disease.

- **Lee,k .J; kamala –Kannan,S., H.S ;Seong ,C.K ;and Lee,G.W. 2008.** Biological control of phytophthora blight in red Pepper *(Capsicum – annuum* L.) using *Bacillus subtillis* enhances the organism; antagonistic and biocontrol activities . App . Env . Micro V.71,N0.7 , pp1139-1145

-**Lichtenthaler, H.K. 1987.** Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosyn thetic biomembrace . Meth .Enzymol, 148 :350-382 .

Lee,k .J; kamala –Kannan,S.sub, H.S ;seong ,C.K ;and Lee,G.W. 2008. Biological control of phytophthora blight in red Pepper *(Capsicum – annuum* L.) using *Bacillus subtillis* enhances the organism; antagonistic and biocontrol activities . App . Env . Micro V.71,N0.7 , pp1139-1145.

-**Matheron ,M. 2001.**Mode of action for plant disease management chemistries . Annual desert vegetable crop workshop .

Morsy , M.E., Abdel-kawi, K.A. and Kalil M.N.A. 2009. Effect of *Trichoderma viride* and *Bacillus subtilis* as biocontrol agent against *Fusarium solani* on tomato plant. Egypt . J.phytopathoL. V.(37)N(1).47-57.

-**Murphy ,J.F.,Zehnder ,G.W., Shuster,D.Polston ,J.E.and Kloepper ,J.W. 2000** .Plant growth Promoling rhizobacteria mediated Protection in tomato againt tomato mottle virus . Plant disease. 48:779-784.

-**Ongena ,M. Emmanuel ,J., Akram, A . Michel , P, Alanin , B, Bernard, J.Jean-Louis , A. and Philippi, T. 2007**. Surfactin and fengycin lepopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced resistance in plants . Environmental Microbiology . 9(4),1084-1090 .

-**Orcutt ,D.M.and Nilsen ,E.T. 2000.** Influence of plant photopathogens on host physiology .In:The physiology of Plant under stress---Soil and Biotic Factors , PP:236 -239. Orcutt ,D.M. and Nilsen , E.T.(eds). John Willgy and Sons , Inc.USA

Ozognen , H., Mchemtbic and Ali,erkilic.2001. The effect of Salicylic acid and endomycorrhizal fungus *Glumus etuniceatus and Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on plant development of tomato. Turk.J.Agric.25:25-29.

-Pieterse , C.M., Van Wees , S,C., Van Pelt , J.A., Knoester , M.,Laan , R.,Gents, W.H., and Van Loon ,L.C. 1998. Anova signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis . Plant cell ,10:1572-1580.

-Pitt,J.I. and Hocking , A.D. 1997 . Fungi and food spoilage . 2nd ed Blackie Academic Professional. London, 593 pp.

- **Paulitz ,T. Zhou,T.and Rankin ,L. 1992.S**election of rhizosphare bacteiria for biological control of *Pythium aphanidermatum* on hydroponically grown cucumber.Biological Control,2;226-237.

-Ryu,C.M., Farag , M.A., Hu .C.H. ,Reddy ,M.S., Pare ,P.W. and Kloepper , J.W. 2004 .Bacterial volatiles induce systemic risistance in Arabidopsis . Plant Physiology, 134 :1017 -1026.

-Samir , K.A. , Leticia , A., Elena , M., Sonia , G., V.L.L, Luis and B.L. Hans . 2009 . Incidence of the two date palm pathogens . *Thilaviopsis paradoxa* and *T. punctulata* in soil of date palm plantations in Elx, South -East Spain .J. of plant protection res . 49(3):276-279.

-Sarhan , A.R.T. 2001. A study on the fungi causing decline of date Palm trees in middle of Iraq . the proc .2 nd interna .conf . Date palms.

- **Stein ,T. 2005** .*Bacillus subtilis* antibiotics ;structure s, syntheses and specific functions . Molecular Microbiology.56(4):845-857.

-**Zhang ,S., Moyne , A.L., Reddy , M.S. and Kloepper , J.W. 2002**. The role of salicylic acid in induced systemic resistance . Elicited by plant growth promoting rhizobacter against blue mold tobacco . Biological Control , 25:288-296

The efficiency of *Bacillus subtilis* and Salicylic Acid on the growth and pathogenecity of *Fusarium moniliforme* Sheldon the causal agent of Date Palm offshoot decline

Naji Salim Jassim

Date Palm Research Center , University of Basrah , Iraq

Abstract

The present study has been performed to survey number of date palm orchards at Al- Hartha and Shaat - Alarab areas :for the date palm offshoots decline disease as well as identify the potential pathogens ,The percentage of infection was found to be 17 and 34%at AL-Hartha and Shaat –AL-Arab respectively ,different fungal species have been isolated ,Most frequent fungi were as follow : *Fusarium moniliforme* ;*Chalaropsis radicicola* ;*Thielaviopsis paradoxa* and *F.oxysporum* respectively .Pathogenecity result analysis revealed the pathogenic ability of *F.moniliforme* which reported the values of 55 and 40% ,as infection percent for AL.hartha and shaat .ALarab isolate respectively .Antegonistic test showed the inhibition efficiency of bacterium *Bacillus subtilis* and salicylic acid (0.8mM) on PDA and reported 100 and 83.2% respectively .Green house experiment results elucidated the inhibition efficiency of both bacterial bioagent *B.subtilis* and SA in reducing the pathogensis affects of *F.moniliforme* on date palm , the infection percent was26.76% compared to pathogen treatment (untreated) which was 66.67% .All growth parameters were fresh and dry weight of date palm shoot and root system and total chlorophyll content at both *B.subtilis* and SA combination were significantly increased compared to control (untreated) treatment.