دراسة التغيرات النسيجية المصاحبة لتشوب مزارع أنسجة نخيل التمر ***Phoenix dactylifera*** **L.** بالفطريات

محمد عبد الرزاق حميد   محمد حمزة عباس

مركز ابحاث النخيل-جامعة البصرة

البصرة- جمهورية العراق

الاستلام 2005/10/19, القبول 2005/11/29

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة في مختبرات مركز ابحاث النخيل –جامعة البصرة لمعرفة التغيرات النسيجية المصاحبة لتشوب كالس أصناف مختلفة من نخيل التمر *Phoenix dactylifera* (أم الدهن و الحلاوي و الشويثي والبريم والبرحي والساير) بالفطريات التي شخصت على إنها تعود إلى ألاجناس *Alternaria alternata* و *Aspergillus clavatus* و*A.niger* و *Penicillium* spp. و*Rhizopus* sp. و *Scytalidium lignicola* و *Stemphylium* sp. و *Ulocladium atrum*، ولقد بينت نتائج اختبار الفعالية الإنزيمية خارج خلوية تباين قدرة الفطريات المعزولة على إفراز إنزيم الفينول اوكسيديز والسليلوليز، فقد تفوقت الفطريات *S. lignicola* و *A.niger* و *A. alternata* في إفرازها الإنزيمين المدروسين ، في حين لم يسجل الفطران *Stemphylium* sp. و *U. atrum* أية فعالية تذكر مع هذين الإنزيمين.وقد أوضحت نتائج التشريح النسيجي لكالس أصناف نخيل التمر المشوب بالفطريات حدوث تحلل واضح في الأنسجة البارنكيمية للكالس، واختلفت درجة التحلل بين الأصناف ولوحظ أعلى تحلل في كالس نخيل التمر صنف الحلاوي والساير، إذ كانت الخلايا محطمة بشكل كامل مع تحلل كلي للجدران مقارنة بمعاملة السيطرة التي أتضح إن خلاياها سليمة مع وجود صبغات داخل وخارج خلايا الكالس ، وسجل تواجد ابواغ الفطريات المشوبة في أنسجة كالس صنف الساير والحلاوي بنسبة عالية داخل وخارج الخلايا، وكانت اقل درجة تحلل للأنسجة في كالس صنفي النخيل البرحي و الشويثي وأم الدهن وذلك لاقتصار التحلل في بعض الخلايا.

المقدمة

يعد نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. من الأشجار الاقتصادية المهمة التي تنتمي إلى العائلة النخيلية Arecaceae، وتعود أهميتها لتعدد جوانب الإفادة منها، فثمارها غنية بالمواد السكرية والأملاح والفيتامينات والبروتينات(مطر، 1986)، وتدخل أوراقها في الصناعات التقليدية وأعلافا للحيوانات وصناعة الورق وسمادا للتربة(الجبوري، 2002).تتكاثر نخلة التمر خضرياً باستخدام الفسائل Offshoots التي تنشأ من قواعد الأوراق في طور الحداثة، وانتاجها للفسائل قليل نسبيا في دورة الحياة((Tisserat, 1991)، لذا توجهت الجهود العلمية إلى تقانة زراعة الأنسجة Tissue culture لإنتاج آلاف النبيتات Plantlets اعتمادا على زراعة الأنسجة القمية لنخيل التمر على أوساط غذائية صناعية أثبتت كفاءتها في إكثار نخيل التمر بنجاح(مطر، 1988، المعري والغامدي، 1998، محسن، 2004)، إلا إن الزراعة النسيجية تواجه تحدياً جدياً متمثلا بمشكلة التشوب بالأحياء المجهرية Microbial contamination التي تسبب تلفا للجزء النباتي المزروع وسرعة تحطم أنسجته وبالتالي موته(Leary et al.,1986، الكعبي،2004)، ويتأتى هذا التلف من الفعل الإنزيمي للكائنات المجهرية مضافا إليه دور المركبات السامة والنواتج الايضية الثانوية الأخرى المثبطة للنمو التي تفرزها(Bohojowani & Razdan,1983)،لذا توجهت الدراسة الحالية التي تعد الأولى من نوعها إلى معرفة التغيرات النسيجية المرافقة للتلوث الفطري في مزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر، وعزل الفطريات المرافقة ودراسة فعاليتها الإنزيمية خارج خلوية لإنزيمي الفينول أوكسيديز والسليليز.

مواد العمل وطرائقه

1- عزل وتشخيص وتنقية الفطريات المشوبة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر

تم دراسة مزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر هي أم الدهن وحلاوي وشويثي وبريم وبرحي وساير في مرحلة الكالس الجنيني Embryogenic callus، شملت الدراسة عزل الأنابيب الملوثة بمستعمرات الفطريات على الوسط الغذائي الصلب PDA المعقم في جهاز التعقيم البخاري Autoclaveوالمضاف إليه المضاد الحياتي Chloramphenicol بتركيز 250 ملغم/لتر، حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30±1°م وتمت مراقبتها يومياً لعزل النموات الفطرية على الوسط الغذائي نفسه.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

نقيت العزلات الفطرية عن طريق زرع بوغ واحد Single spore، شخصت الفطريات اعتماداً على المفاتيح التصنيفية Ellis(1976) و Domsch et al.(1980) .

2-دراسة الفعالية الإنزيمية خارج خلوية للفطريات المشوبة لمزارع أنسجة نخيل التمر

2-1-إنزيم الفينول اوكسيديز Phenol oxidase activity:

اعتمد الوسط الغذائي الموصوف من قبل Gessner (1980) والذي يتكون من خلاصة الشعير (15غم/لتر) و حامض التانيك (0.8 غم/لتر) و أكار(20غم/لتر) وماء مقطر(1لتر).تمت إذابة حامض التانيك في 100 مل ماء مقطر معقم، ومزج مع مكونات الوسط الأخرى المذوبة في 900 مل ماء مقطر معقم على حدة، وحددت الفعالية بظهور لون بني غامق في ظهر المستعمرة للدلالةعلى إفراز هذا الإنزيم وانتشار اللون يدل على مدى الفعالية.

2-2-أنزيم السليلوليز Cellulolytic activity:

اعتمدت الطريقة الموصوفة من قبل Reese & Mandels (1963) والوسط المتكون من فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KH_2Po_4(2 غم/لتر) وكبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$(1.4غم/لتر) و يوريا Urea(0.3غم/لتر)وكبريتات المغنيسيوم $MgSO_47H_2O$(0.3غم/لتر) وكلوريد الكالسيوم $CaCl_2.2H_2O$(0.3غم/لتر) و بيبتون Peptone (1غم/لتر) و ملح الصوديوم لكربوكسي مثيل السليلوز CMC (10غم/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 15 باوند/انج^2 وحرارة 115 ^{o} م لمدة 20 دقيقة، أما الكاشف المستخدم للاستدلال على إنزيم السليلوليز هو محلول يود حامض الهايدروكلوريك HCl-Iodine solution ، والمحضر بمزج 100 مل من الحامض (HClعياري0.1) و500 مل من KI (2%) + I (1%) بدلالة وزن/حجم (Yeoh et al. ,1985)،وان تكون هالة صفراء حول المستعمرة الفطرية بعد تفاعل الكاشف يدل على قدرة الفطر على تحليل السليلوز.

بعد تحضير الأوساط الغذائية الخاصة بالكشف النوعي أخذت أقراص متساوية من مزارع نقية للفطريات الملوثة النامية على الوسط الغذائي PDA بعمر سبعة أيام، لقحت الأطباق الحاوية على الأوساط الغذائية الخاصة بالكشف النوعي عن إفراز إنزيمي الفينول اوكسيديز والسليلوليز، وبثلاث مكررات لكل معاملة، حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30±1^o م لمدة سبعة أيام، بعد ذلك تم الكشف عن الإنزيمين.

اعتمد مقياس السعدون(1989) لتحديد درجة النشاط الإنزيمي وكما يلي:

درجة النشاط	حيز النشاط/ ملم	الفعالية
–	سالب	لا يفرز
±	من 1-3	ضعيف
+	أكثر من 3-5	متوسط
++	أكثر من 5-8	جيد
+++	أكثر من 8-11	نشيط
++++	أكثر من 11	نشيط جداً

3-دراسة التغيرات النسيجية المصاحبة لتشوب مزارع أنسجة أصناف مختلف من نخيل التمر بالفطريات

جمعت عينات مختلفة تمثل كالس أصناف نخيل التمر(أم الدهن وحلاوي وشويثي وبريم وبرحي وساير) ملوثة بالفطريات واجري عليها ما يلي:

أ-قطع الكالس إلى قطع صغيرة بطول 0.5سم وثبتت العينات مباشرة في المثبت FAA (فورمالين، حامض الخليك، كحول اثيلي)لمدة 24-72 ساعة ثم غسلت بالكحول الاثيلي 70% لإزالة أثار المثبت.

ب-مررت الأجزاء المقطوعة في سلسلة متصاعدة من الكحول الاثيلي (70-80-90- 100%) لمدة ساعتين في كل تركيز، ثم وضعت في الكحول الاثيلي المطلق 100%لمدة ليلة كاملة.

ج-مررت النماذج في محلول الترويق المكون من كحوا اثيلي مطلق وزايلول بثلاث نسب مختلفة (3:1، 1:1، 1:3) على التوالي ولمدة ساعة واحدة في كل تركيز، ثم نقلت النماذج إلى زايلول نقي أخر وبقيت لمدة ساعة واحدة.

د-نقلت النماذج إلى قناني تحوي خليطا من شمع البرافين وزايلول بنسبة 1:1 وبدرجة حرارة 60° م لمدة أربع ساعات.

هـ-وضعت بعدها النماذج بعدها في قناني تحوي شمع البرافين النقي وبدرجة حرارة 60° م في فرن كهربائي لمدة 48 ساعة، استبدل الشمع بأخر بعد مرور 24 ساعة.

و-وضع شمع برافين جديد بدرجة حرارة 60° م في قوالب خاصة ثم نقلت النماذج إليها وعلمت.

ز-تركت القوالب لتبرد تحت الماء البارد لمدة 12-24ساعة، بعدها أصبحت جاهزة للتقطيع.

ح-قطعت النماذج بوساطة المشراح الدوار Rotary microtome بسمك 8-20مايكروميتر.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

ط-سطحت المقاطع على ماء بدرجة حرارة 30-45° م ثم حملت على شرائح زجاجية، وضعت بعدها على صفيحة ساخنة درجة حرارتها 40-50° م لمدة 24 ساعة.
ي-روقت النماذج بوضعها في الزايلول النقي لمدة 24 ساعة بعدها مررت بسلسلة متنازلة من الكحول الاثيلي (100-90-80-70%) وصولاً إلى الماء ولمدة خمس دقائق لكل تركيز.
ك-صبغت النماذج بصبغة السفرانين المحضرة بإذابة واحد غرام منها في 100 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 70% وبقيت في الصبغة لمدة 45 دقيقة، بعدها غسلت الماء.
ل-صبغت النماذج بعدها بصبغة Fast greenالمحضرة بإذابة غرام واحد من الصبغة في 100 مل من الكحول الاثيلي المطلق ولمدة 15 ثانية، بعدها غسلت الشرائح بالكحول الاثيلي المطلق لمدة خمس دقائق ثم غسلت بالزايلول النقي ثلاث مرات ولمدة خمس دقائق في كل مرة للتخلص من الشوائب العالقة بالشريحة.
م-حملت الشرائح على صفيحة ساخنة من بلسم كندا على النماذج وبعدها وضع غطاء الشريحة برفق.
ن-وضعت الشرائح على صفيحة ساخنة بدرجة حرارة 60° م لمدة 1-10 ساعات، بعدها أصبحت الشرائح جاهزة للفحص المجهري(الربيعي، 1998).
قسم من النماذج صبغت بصبغة Cotten blue وذلك لتشخيص النمو الفطري داخل أنسجة الكالسز
فحصت النماذج بوساطة المجهر المركب من نوع Zeiss، صورت بعدها النماذج بالكاميرا المنصوبة على المجهر Olympusعلى قوتي تكبير 10 و X40.

النتائج والمناقشة

1- الفطريات المشوبة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر

أوضحت نتائج عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لمزارع الأنسجة عزل سبعة أجناس فطرية مختلفة من أصناف نخيل التمر المدروسة أم الدهن وحلاوي وشويثي وبريم وبرحي وساير، وتفاوتت الأجناس الفطرية في ظهورها على مزارع كالس الأصناف فقد سجل الفطر *Asp. niger* ظهوراً على خمسة أصناف، والفطر *Alt. alternata* على أربعة أصناف، في حين سجل الفطر *Rhizopus* sp. ظهورا واحدا مع الصنف شويثي، ولوحظ الفطر *Penicillium* spp. بنوعيه على ثلاثة أصناف وكما موضح في الجدول (1)، ومن الجدير بالذكر أن المستعمرات الفطرية الملوثة للكالس قد غطت النمو بالكامل وطغت عليه.، وان تفاوت الفطريات في الظهور على أصناف النخيل المختلفة قد يعود إلى طبيعة الفطريات المعروف انتشارها بشكل واسع على مصادر مختلفة مقارنة بالفطريات الأخرى، اتفقت نتائج البحث مع ما بينته الكعبي(2004) من سيادة التلوث الفطري في مزارع أنسجة نخيل التمر المكثر في مختبرات مركز أبحاث النخيل-جامعة البصرة.

جدول(1)الفطريات المشوبة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر

الفطريات	أصناف نخيل التمر					
	أم الدهن	حلاوي	شويثي	بريم	برحي	ساير
Alternaria alternata	+	-	+	+	-	+
Aspergillus clavatus	+	-	-	+	-	-
Aspergiluus niger	-	+	+	+	+	+
Penicillium sp1.	+	+	-	+	-	-
Penicillium sp2.	+	-	+	-	+	-
Rhizopus sp.	-	-	+	-	-	-
Scytalidium lignicola	+	-	-	-	+	+
Stemphylium sp.	-	+	+	-	-	-
Ulocaldium atrum	+	-	+	+	-	-

+ تم عزله، - لم يتم عزله.

2- فعالية الفطريات المعزولة في إفراز إنزيمي الفينول اوكسيديز والسليلوليز

بينت النتائج الموضحة في الجدول(2)تباين الفطريات المعزولة في قدرتها على إفراز الأنزيمين المدروسين في الأوساط الغذائية الصلبة، إذ تفوق الفطر *S. lignicola* في إفرازه لإنزيم الفينول اوكسيديز مسجلاً أعلى حيز للنشاط بلغ 30.10ملم وقطراً للنمو 45.60ملم وبدرجة نشاط مرتفعة، كذلك سجل الفطران *A.niger*و *A. alternata* نشاطاً مرتفعا في إفراز هذا الإنزيم وبحيزي نشاط بلغا 25.00 و 18.60ملم، على التوالي، وقطري نمو 55.60 و 45.50 ملم، على التوالي، في حين سجل الفطر *Rhizopus* sp. نشاطا جيدا ، ولم تعط الفطريات *Penicillium* spp.و *Stemphylium* sp.و *U. atrum* أي مؤشر لإنتاج إنزيم الفينول اوكسيديز وسجلت كشفا سالبا معه.
إن أكسدة حامض التانيك Tannic acidتعد كشفاً موجباً لفعالية الفطريات في إفراز إنزيم الفينول اوكسيديز(Mai et al.,2000)، فقد أشارت العديد من الدراسات إلى قدرة الفطريات المختلفة على إنتاج هذا الإنزيم بنسب متفاوتة، فقد بين السعدون(1989) كفاءة عزلات مختلفة من الفطر *Mauginiella scaettae* في إنتاج إنزيم الفينول اوكسيديز، في حين سجلت بعض الدراسات فعالية متوسطة لهذا الإنزيم مع الفطريات *Fusarium solani*و *Thielaviopsis paradoxa* (عباس، 2005).

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

أما عن فعالية إنزيم السليلوليز Cellulase فقد تفوق الفطر *S.lignicola* في إنتاجه هذا الإنزيم بناءً على مؤشر حيز النشاط الذي بلغ 28.25 ملم وبدرجة نشاط مرتفعة وقطر نمو 50.00ملم ن كذلك أظهر الفطران .*Rhizopus* sp و *A. alternata* قدرة نشيطة جيدا ً{حسب مقياس السعدون (1989) } على إنتاج هذا الإنزيم بحيزي نشاط بلغا 16 و11.50ملم، على التوالي، وقطري نمو 46.10و35.75ملم، على التوالي. في حين سجل الفطر *A. niger* فعالية نشيطة في إفراز هذا الإنزيم بحيز نشاط 8.60ملم، والفطر .*Penicillium* sp2 كان ذا فعالية متوسطة، و أعطى الفطر *A. clavatus* و .*Stemphylium* sp كشفا سالبا مع السليلوليز.

يعد السليلوز المكون الأساس لجدران الخلايا النباتية والذي تشكل جزيئات الكلوكوز الوحدة الأولى لبناءه، ويوجد في جميع النباتات الراقية بهيئة لييفات دقيقة، ويتم تحليله بواسطة إنزيم السليلوليز Cellulaseالمكون من Exoglucanaes وEndoglucanaseو *B*-glucanase(Bhat &Bhat, 1997)، إن تباين الفطريات في إنتاج إنزيم السليلوليز على الأوساط الزرعية الصلبة تمت الإشارة إليه مع الفطر *M. scaettae* و *T. paradoxa*(السعدون،1989 ، غالي،2001)، واتفقت نتيجة تباين الفطريات بشكل عام في إنتاجها للسليلوليز مع دراسة عباس (2005)الذي أشار في كشفه النوعي Quantative عن هذا الإنزيم إلى ضعف عزلتي الفطرين *M. scattae* و*T. paradoxa* في إنتاجه، في حين كان الفطر *F. solani* نشيطاً في إفرازه.

جدول(2) الفعالية الإنزيمية خارج خلوية للفطريات المشوبة لمزارع أنسجة نخيل التمر

الفطريات	إنزيم الفينول اوكسيديز /ملم			إنزيم السليلوليز /ملم		
	قطر النمو	حيز النشاط	درجته	قطر النمو	حيز النشاط	درجته
Alternaria alternata	45.50*	18.60	++++	35.75	11.50	+++
Aspergillus niger	55.60	25.00	++++	25.20	8.60	+++
A. clavatus	30.10	15.00	+++	10.50	-	-
Penicillium sp1.	18.00	-	-	28.10	5.40	++
Penicillium sp2.	25.40	-	-	30.00	3.50	+
Rhizopus sp.	17.10	5.10	+	46.10	16.00	++++
Stemplylium sp.	10.40	-	-	13.50	-	-
Scytalidium lignicola	45.60	30.10	++++	50.00	28.25	++++
Ulocladium atrum	20.10	-	-	18.10	-	-

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات.

3- التغيرات النسيجية المصاحبة لتشوب مزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر بالفطريات

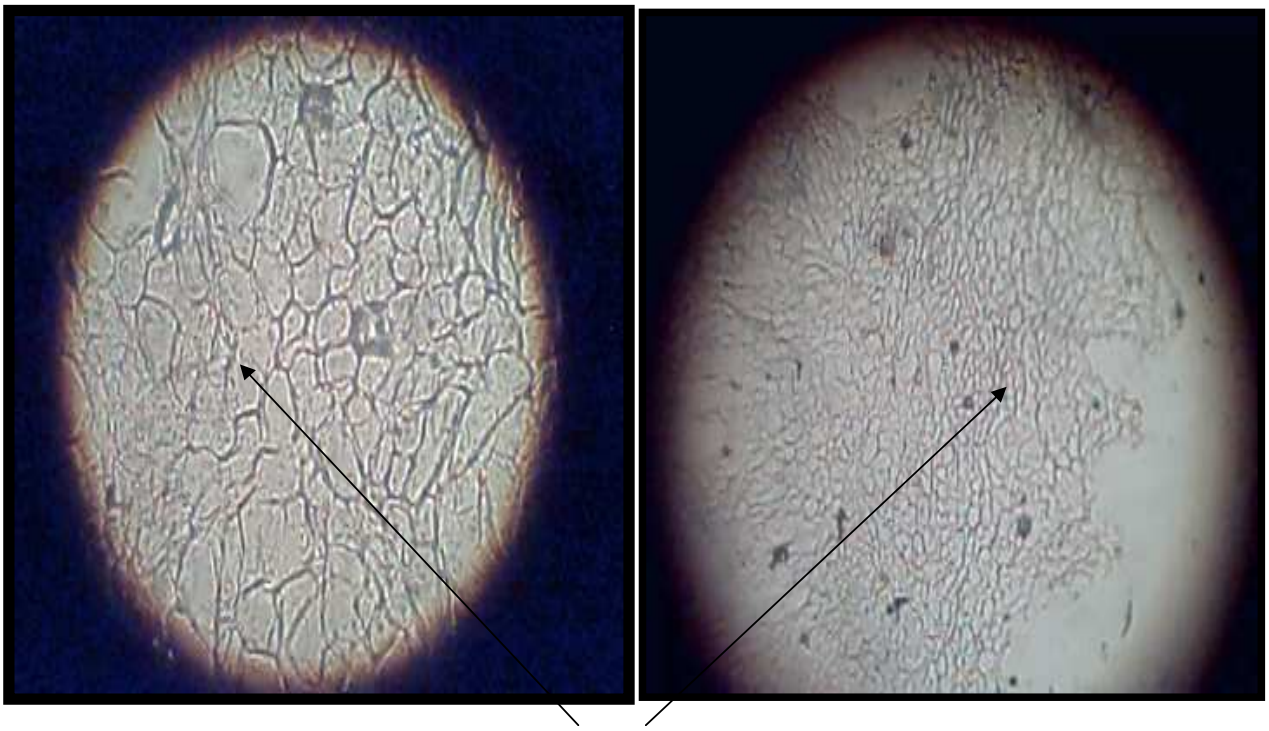
بينت نتائج التشريح النسيجي لكالس صنف نخيل التمر الساير وجود تحلل عالٍ للأنسجة البارنكيمية بفعل التلوث الفطري صورة{1}، وذوبان تام للجدران الخلوية واندماجها وفقدانها للشكل المتكامل مقارنة بمعاملة السيطرة التي يشاهد فيها الخلايا سليمة , كما يلاحظ تغلغل ابواغ الفطريات داخل خلايا كالس الساير الملوثة .

كما لوحظ التحلل الواضح للأنسجة المرستيمية لكالس صنف الحلاوي الملوث بالفطريات على قوتي تكبير 10 و40 X(صورة {2})، إذ تبين وجود فراغات داخل الأنسجة البارنكيمية ، وأتضح أن هذه الفراغات تمثل تحلل الجدران الخلوية واندماج الخلايا مع بعضها البعض)، كما لوحظ تغلغل ابواغ الفطريات الملوثة داخل الخلايا مما يثبت غزوها لأنسجة كالس صنف الحلاوي.

كما أشرت الصورة {3} وجود تحلل ضعيف في كالس صنف الشويثي على قوة تكبير X10 مع اتضاح التحلل بدرجة اكبر على قوة تكبير X 40، مقارنة بمعاملة السيطرة السليمة، وعند مقارنة درجة التحلل يتبين أنها الأقل مقارنة ببقية الأصناف المدروسة مع وجود صبغات كثيرة داخل خلايا الكالس، أما عن كالس صنف البريم فقد أوضحت نتائج التشريح النسيجي وجود تحلل في جدران الخلايا والاندماج الكلي لها مقارنة بمعاملة السيطرة السليمة والواضحة المعالم (صورة

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

{4})، كذلك لوحظ التحلل بالوصف نفسه من تحطم للجدران الخلوية اندماج خلايا الكالس في صنف البرحي(صورة {5}) وكما موضح على قوتي تكبير 10 و X40، وان درجة التحلل في الأنسجة البارنكيمية هي الأقل مقارنة بالأصناف الأخرى(عدا صنف الشويثي).أما عن كالس صنف أم الدهن فقد بينت نتائج التشريح النسيجي وجد تحلل للجدران الخلوية مع اندماج لخلاياه مع تاشير وجود صبغات في الخلايا قد تكون مركبات فينولية مستحثة، وان درجة التحلل هي قليلة ومقاربة لصنف الشويثي (صورة {6}).أن مقدرة الفطريات المشوبة على تحليل جدران الخلايا لكالس أصناف نخيل التمر شديدة الحساسية مثل الساير والحلاوي قد تعزى إلى دور الإنزيمات المحللة Cell wall degredating enzymeمثل Cellulaseو Phenol oxidase و Protease و Lipase (Bhat & Bhat,1997)،ولقد بينت نتائج فحص الفعالية الإنزيمية للفطريات الملوثة تفوق العديد منها على إفراز إنزيمي Phenol oxidase و Cellulase وبفعالية نشطة جداً حسب مقياس السعدون (1989) مما يوفر بذاته تفسيراً للتحلل الذي أثبتته نتائج التشريح النسيجي، أما عن اختلاف درجة التحلل بين الأصناف قد يعزى إلى العوامل الوراثية فأصناف نخيل التمر تختلف عن بعضها البعض في تركيباتها الوراثية التي تتحكم في التعبير عن الصفات المورفولوجية والفسلجية(ابوزيد،2000).إما عن الصبغات التي سجل تواجدها في خلايا كالس صنف الشويثي وأم الدهن قد تكون عبارة عن مركبات فينولية والمعروف دورها في مقاومة الممرضات النباتية كالفطريات والتي قد تكون ناتجة عن الإصابة بالتلوث الفطري مما حث تكونها في تلك الخلايا التي تميزت بنوع من المقاومة للفطريات والتي انعكست على قلة درجة التحلل في خلاياها مقارنة بالأصناف الأخرى(Agrios, 1997).



كالس صنف الساير سليم (قوة تكبير X10) **شكل متكامل للخلايا** **كالس صنف الساير سليم (قوة تكبير X40)**

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

كالس مصاب صنف الساير (قوة تكبير X40) كالس مصاب صنف الساير (قوة تكبير X40)

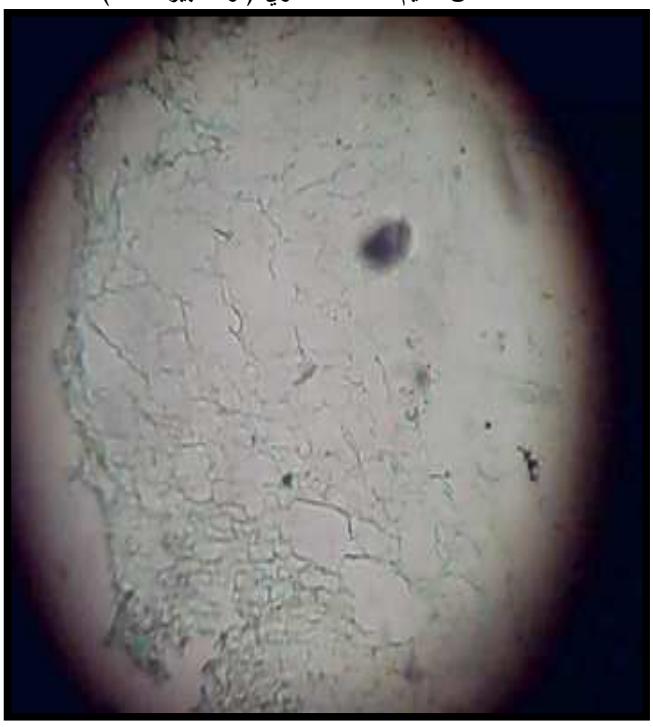
تحلل للأنسجة واستطالة للخلايا
مع تحلل الجدران الخلوية

كالس مصاب صنف الساير (قوة تكبير X40) جراثيم الفطر *S.lignicola*

صورة(1) المقاطع النسيجية لكالس صنف الساير.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

كالس سليم صنف الحلاوي (قوة تكبير X10)



كالس سليم صنف الحلاوي (قوة تكبير X40)

كالس مصاب صنف الحلاوي (قوة تكبير X10) جراثيم الفطر *Stemphylium* sp. كالس مصاب صنف الحلاوي (قوة تكبير X10)

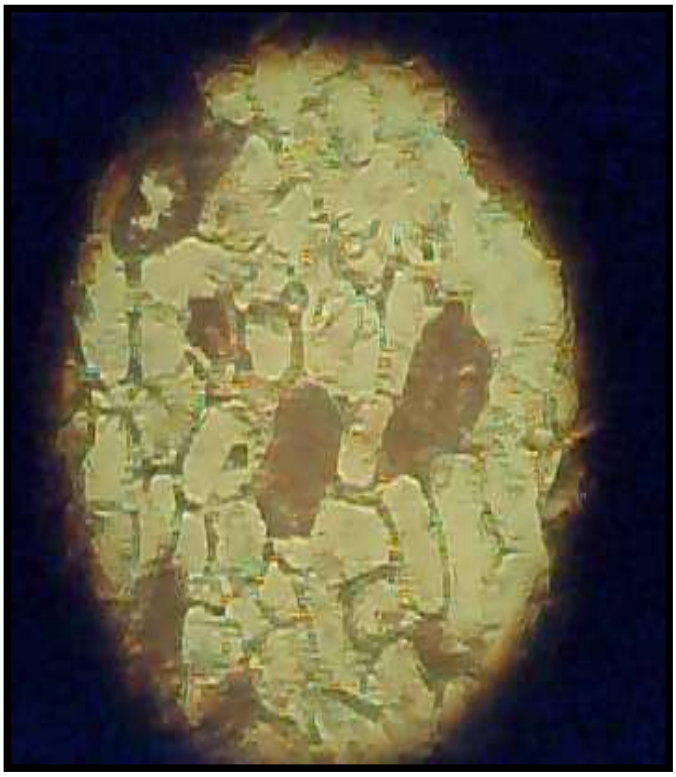
PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

تدهور كامل لانسجة الكالس

اندماج الخلايا

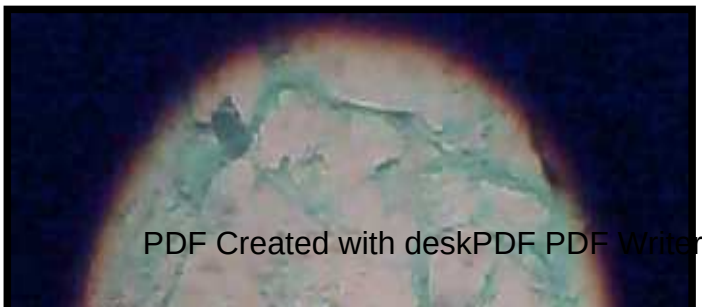
كالس مصاب صنف الحلاوي (قوة تكبير X40)

صورة(2) المقاطع النسيجية لكالس صنف الحلاوي.



كالس سليم صنف الشويثي (قوة تكبير X10)

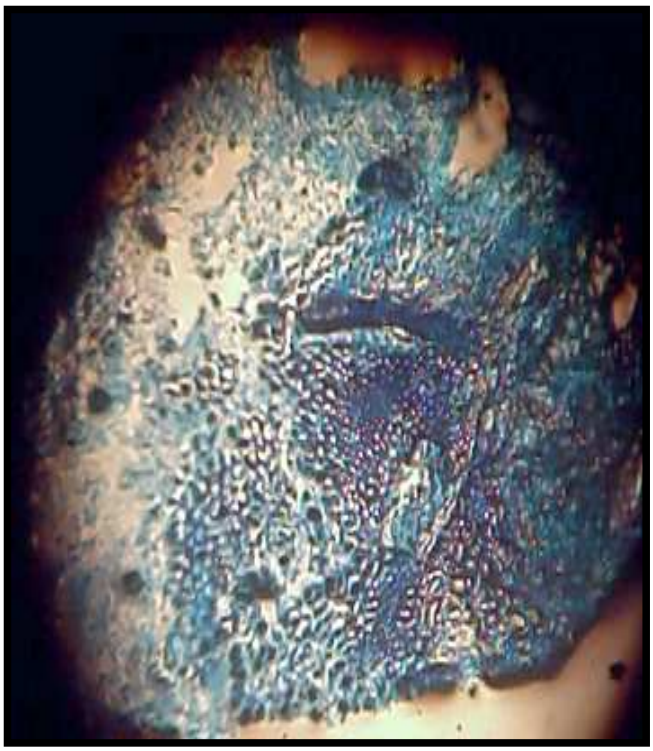
كالس سليم صنف الشويثي (قوة تكبير X40)



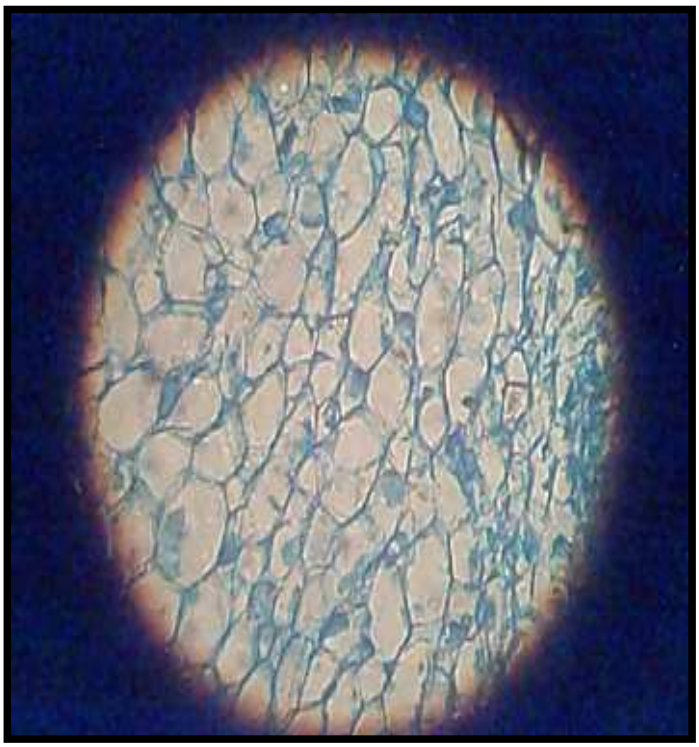
PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

كالس مصاب صنف الشويثي (قوة تكبير X10) و جود صبغات واضحة كالس مصاب صنف الشويثي (قوة تكبير X4)

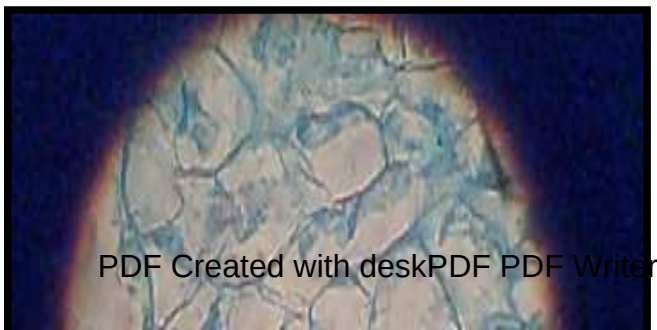
صورة(3) المقاطع النسيجية لكالس صنف الشويثي.



كالس سليم صنف البريم (قوة تكبير X10)



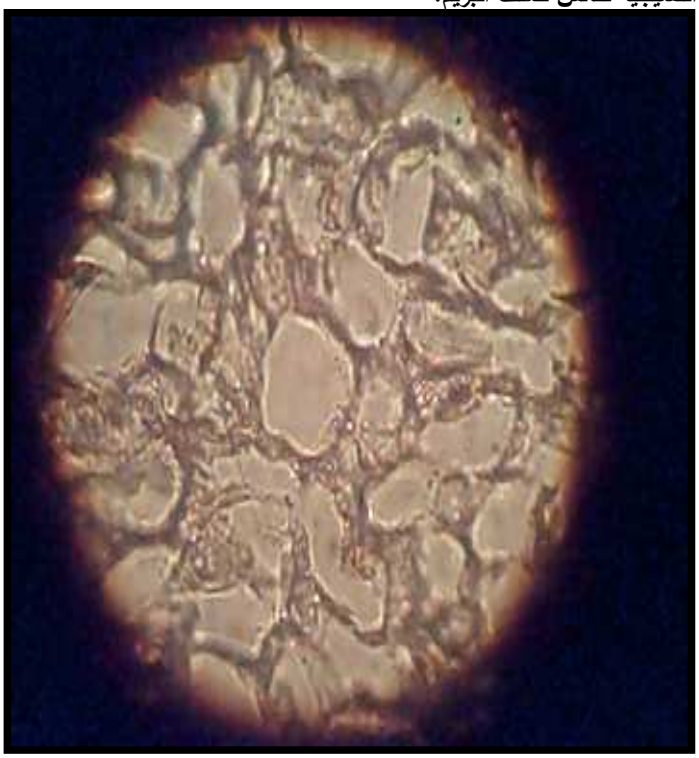
كالس سليم صنف البريم (قوة تكبير X40)



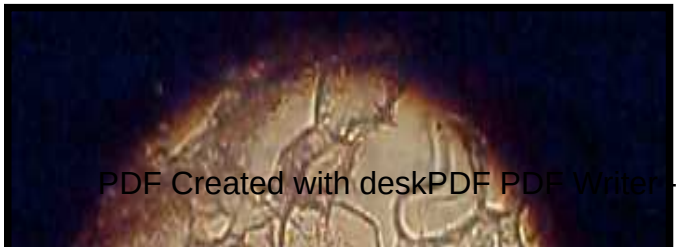
PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

كالس مصاب صنف البريم (قوة تكبير X10) كالس مصاب صنف البريم (قوة تكبير X40)

صورة(4) المقاطع النسيجية لكالس صنف البريم.

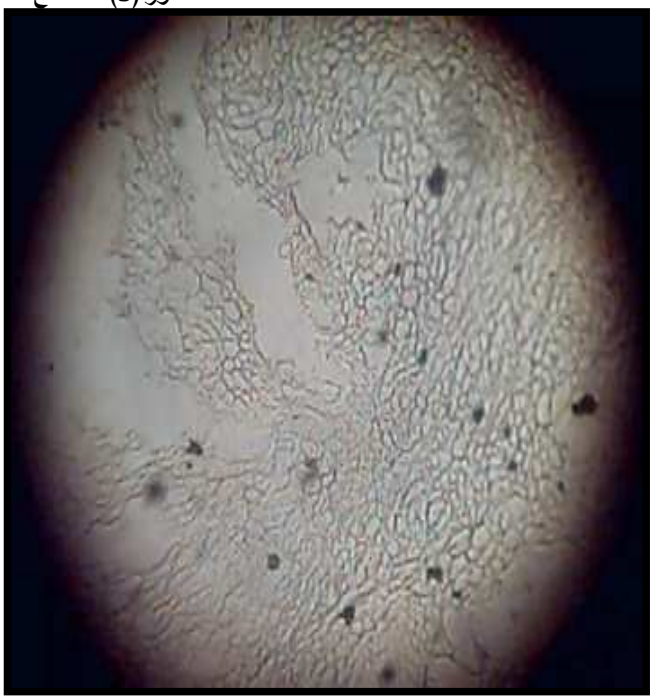


كالس سليم صنف البرحي (قوة تكبير X10) كالس سليم صنف البرحي (قوة تكبير X40)

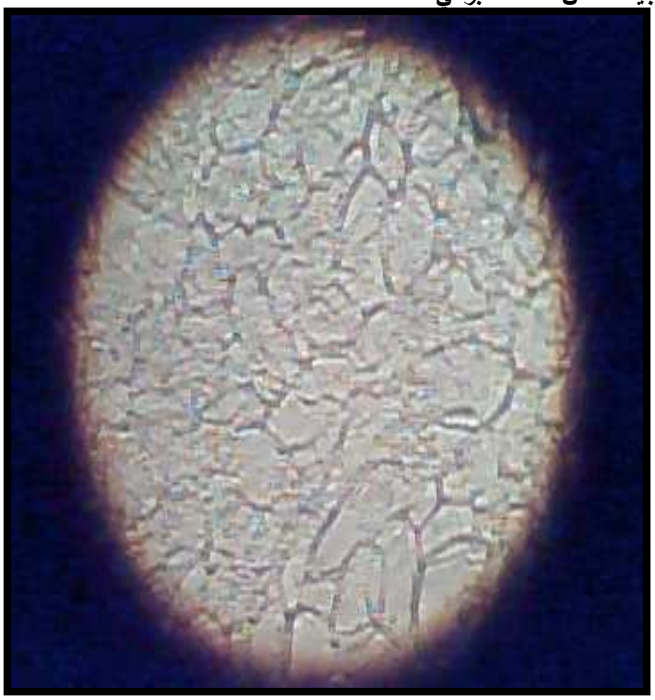


PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

كالس مصاب صنف البرحي (قوة تكبير X10)



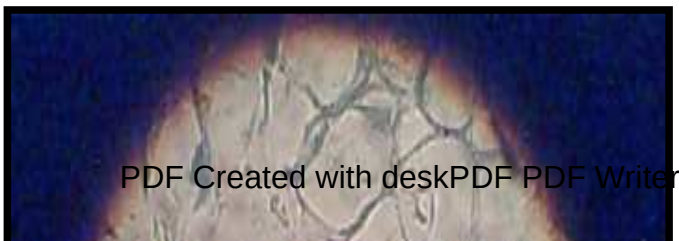
كالس مصاب صنف البرحي (قوة تكبير X40)



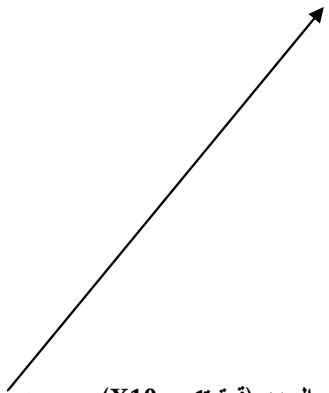
صورة(5) المقاطع النسيجية لكالس صنف البرحي.

كالس سليم صنف أم الدهن (قوة تكبير X10)

كالس سليم صنف أم الدهن (قوة تكبير X4)



PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com



كالس مصاب صنف أم الدهن (قوة تكبير X10) وجود صبغات واضحة كالس مصاب صنف أم الدهن (قوة تكبير X40)

صورة(6) المقاطع النسيجية لكالس صنف أم الدهن.

المصادر

أبو زيد، الشحات نصر، الهرمونات النباتية والتطبيقات الزراعية، الدار العربية للنشر والتوزيع، مصر. 2000.

- الجبوري، حميد جاسم، أهمية أشجار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* في دولة قطر.الدورة التدريبية حول تطبيقات زراعة الأنسجة النباتية في تحسين الإنتاج النباتي.المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الدوحة–قطر. 1–25. 2002.
- الربيعي، ايمان محمد عبد الزهرة،دراسة تصنيفية لجنس السدر *Ziziphus* (Rhamanaceae) في العراق.رسالة ماجستير، كلية العلوم–جامعة البصرة، صفحة. 173 1998.
- السعدون، عبد الله حمود ,دراسة حول الفطر *auginiella scaettae* Cav. المسبب لمرض خياس طلع النخيل، رسالة ماجستير، كلية العلوم جامعةالبصرة صفحة 140 (1989).
- عباس، محمد حمزة النشاط الإنزيمي خارج خلوي لبعض الفطريات الممرضة لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* والسايكس *Cycas revoluta* . مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر، مجلد 3، العدد 2. (2005).
- غالي، فائز صاحب تدهور النخيل المتسبب عن الفطر *Chalara paradoxa* ظروف الإصابة والمقاومة.أطروحة دكتوراة، كلية الزراعة–جامعة بغداد. صفحة 190, (2001).
- الكعبي، أنسام مهدي صالح، تأثير بعض المضادات الحياتية والمبيدين الفطريين Score 50%و Carbendazim 60%في نمو الكالس الجنيني لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* .مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر،المجلد2 ،العدد1. 2004.
- محسن، خيون علي ,دراسات في تحسين تكوين الأجنة الجسمية وإنباتها خارج الجسم الحي لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* صنف البرحي.رسالة ماجستير، كلية الزراعة–جامعة البصرة–العراق. 2004.
- مطر، عبد الأمير مهدي,دراسة تشريحية لنخلة التمر المكثرة خارج الجسم الحي.إصدارات ندوة النخيل الثانية، جامعة الملك فيصل، المملكة العربية السعودية. صفحة 76–86. 1986.
- مطر، عبد الأمير مهدي، تأثير الاوكسين نفثالين حامض الخليك NAA والسايتوكاينين بنزيل أدنين BA على تكوين الجذور العرضية ونمو الأفرع الابطية في نباتات نخيل البلح المنتجة داخل القوارير – مجلة كلية الزراعة، جامعة الملك سعود–المجلد العاشر، العدد الثاني. 1988.
- المعري، خليل وجيه والغامدي، عبد الله صالح، اثر موعد زراعة الأجزاء النباتية على إكثار نخيل التمر صنف الهلالي بالأنسجة النباتية، إصدارات الندوة العلمية لبحوث المملكة المغربية، مراكش،صفحة 16–18. 1998.

- Agrios, G.N. Plant pathology. Academic Press. . New York. 1997.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

- Bhat,M.K.& Bhat,S. Cellulase degrading enzymes and their potential industrial application.Biotech.Adv.15:58-620. (1997).
- Bhojwani,S.S. & Razdan,M.K.,Plant tissue culture ,theory and practice.Elseveir Pub.The Netherlands pp: 158-166.. 1983.
- Domsch, K.H. ; Gams, W. and Anderson, T.H.Compendium of soil fungi. V(1): Academic Press, London, , 859 pp. 1980.
- Ellis, M.P. Dematiaceous hyphomycete . Common wealth , Mycological Institute . London. 1976.
- Gessner,R.V.Degradative enzyme production by salt-march fungi.Bot.Mar.23:133-139. (1980).
- Leary, J.V., Nelsone,N.;Tisserate,B. & Allingham,E.A., Isolation of pathogenic *B.circulas* from callus culture and healthy offshoots of date palm Phoenix dactylifera. Appl. and Env. Microbiol.Vol. 52, No. 5:1173-1176. 1986.
- Mai,C.;Schorrman,W.;Milsten,O. & Hutterman Enhanced stability of Laccase in the presence of phenolic compounds.Appl.Microb.Biotech.54-510-514. (2000).
- Reese,E.T. & Mandles,M. Enzymic hydrolysis of cellulose and its derivatives.In: methods in carbohydrate chemistry.Vol.3.R.L.Whisler(ed.)Academic Press, New York, P 139-143.(1963).
- Tisserat, B.,1991.Clonal propagation of Palms.Palm tissue culture manual,C2:1-14.
- Yeoh,H.H.;Khew,E. & Lim,G. A simple method of screening cellulolytic fungi.Mycologia,77(1):161-162. (1985).

STUDY OF CYTOLOGICAL CHANGES ASSOCIATED WITH CONTAMINATED DATE PALM *Phoenix dactylifera* L. TISSUE CULTURES WITH FUNGI

Mohammed A. Hameed Mohammed H. Abass

Date Palm Research Center-Basrah University

Basrah-Iraq

Summary

This study was conducted in the Laboratory of Date Palm Research Center- Basrah University to determine the Cytological changes associated with the contamination of callus of Date Palm (*Phoenix dactylifera)* cultivars {Um-aldahen ;Hilllwai; Shuwayythi; Braim; Barhee and Sayer}with fungi which identified as *Alternaria alternata* ; *Aspergillus clavatus; A.niger* ; *Penicillium* spp; *Rhizopus* sp.; *Scytalidium lignicola ; Stemphylium* sp. and *Ulocladium atrum.* The results of extracellular enzymatic activity test proved that fungi were varied in their ability to secrete Phenol oxidase and Cellulase enzyme, the fungi *S. lignicola ;Asp. niger* and *Alt. alternata* surpassed in their secretion of tested enzymes, while the fungi *Stemphylium* sp & *U. atrum* gave a negative indicater for Phenol oxidase and Cellulase enzyme . The results of sections examination of callus cultures of different date palm cultivars contaminated with fungi showed clear degredation of paranchyma tissues, the degredation intensity was varied among tested cultivars. A complete degredation was evident in Hilllwai and Sayer cultivars in contrast with control callus, also the fungal spores were found in Sayer and Hillwai abundantely inter- and intracellularely, the lowest degree of degredation was found in the callus of Barheei ; Shuwayythi and Um-aldahen due to a restricted degredation in some cells of callus.

Keywords: Callus; cytological changes; date palm; enzymatic activity;fungalcontamination.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com