

التشخيص الجزيئي لأنواع الفطر *Fusarium* المصاحبة لذبول فسائل النخيل النسيجية وتقييم تأثير دقائق الفضة النانوية والفطر *Trichoderma longibrachiatum* في نموها

محمد عامر فياض^{*}، علاء عوده مانع ويحيى عاشور صالح

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق.

^{*}البريد الإلكتروني للباحث المرسل: muamer2010@yahoo.com

الملخص

فياض، محمد عامر، علاء عوده مانع ويحيى عاشور صالح. 2024. التشخيص الجزيئي لأنواع الفطر *Fusarium* المصاحبة لذبول فسائل النخيل النسيجية وتقييم تأثير دقائق الفضة النانوية والفطر *Trichoderma longibrachiatum* في نموها. مجلة وقاية النبات العربية، 42(2): 189-195. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001225>

أجريت هذه الدراسة خلال الفترة 2019-2021 بهدف عزل وتشخيص الفطور المرافقة لظاهرة ذبول فسائل النخيل النسيجية والمزروعة في الأرض الدائمة. أظهر التشخيص الجزيئي لعزلات الفطر *Fusarium* بالاعتماد على تضخيم منطقة الجين ITS1-ITS4 ودراسة تتابعه النيوكليوتيدي أن العزلات F1 و F7 كانتا متطابقتين مع النوع *F. proliferatum* وبنسبة تتطابق بلغت 100 و 98%، على التوالي، وتطابقت العزلات F3 و F4 مع النوع *F. fujikuroi* وبنسبة تتطابق 99.8 و 100%، على التوالي. أما العزلة F6، فكانت متطابقة مع النوع *F. solani* وبنسبة 94.8%. حفظ تتابع العزلات في المركز الوطني الأمريكي لمعلومات التقانات الأحيائية (NCBI) تحت أرقام التسلسلات التالية: OM535259.1، OM535261.1، OM535264.1، OM535265.1 و OM535266.1، على التوالي. كما أظهرت النتائج أن دقائق الفضة النانوية تثبط نمو جميع الفطور المختبرة، وتراوحت نسبة التثبيط في حدود 50-70%. من جانب آخر سبب الفطر الأحيائي *Trichoderma longibrachiatum* تثبيطاً في نمو جميع الفطور المختبرة بنسبة تثبيط بلغت أكثر من 80%.

كلمات مفتاحية: نخيل التمر، ذبول، تشخيص جزيئي، فضة نانوية.

المقدمة

على الفسائل النسيجية. أشارت عدة دراسات سابقة إلى عزل أنواع الفطر *Fusarium* مثل *F. oxysporum*، *F. solan* و *F. proliferatum* مرافقة لظاهرة اصفرار وذبول النخيل (المليجي، 2015؛ Alananbeh et al., 2021؛ Al-Saad et al., 2018). تعدّ مكافحة أنواع الفطر *Fusarium* من الأمور الصعبة وذلك لقدرة الفطر على البقاء لفترات طويلة في التربة بهيئة أبواغ كلاميدية مقاومة للظروف غير الملائمة للنمو (Agrios, 2005). تعدّ مكافحة الحيوية لأمراض النبات خياراً استراتيجياً لعدة أسباب من بينها كونها صديقة للبيئة وإمكانية ديمومتها دون الحاجة إلى إعادة استخدامها (Agrios, 2005). تعدّ أنواع الفطر *Trichoderma* من بين أكثر العوامل المستعملة في مجال مكافحة الحيوية لمسببات أمراض النبات المهمة مثل *Rhizoctonia solani* spp. و *Pythium* spp.، لأمتلاكها عدة آليات تؤثر من خلالها في مسببات أمراض النبات كالتطفل والتنافس والتضاد وتحفيز المقاومة الجهازية (Harman & Kubick, 1998). كما يعد استخدام الجسيمات النانوية من الاتجاهات الحديثة في مجال مكافحة

تعدّ بلاد الرافدين الموطن الأصلي لأشجار نخيل التمر (البكر، 1975). وكان العراق ولغاية بداية عقد الثمانينيات من القرن الماضي يحتل الصدارة كأكبر منتج للتمور في العالم. إلا أن موقع العراق تراجع إلى المرتبة الثالثة في تسلسل أكبر الدول المنتجة للتمور نتيجة عدة عوامل بيئية واجتماعية وإدارية أثرت بشكل كبير على أعداد النخيل. وتعدّ العوامل البيئية المتمثلة بارتفاع نسبة الملوحة في التربة ومياه الري وانتشار الآفات الزراعية من بين العوامل المهمة التي أدت إلى تراجع أعداد النخيل في العراق. تصاب أشجار النخيل بعدة أمراض، وتعدّ الأمراض الفطرية مثل مرض خياس طلع النخيل (تعفن النورة الزهرية) ومرض البيوض واللفحة السوداء وتبع الأوراق من بين أهم الأمراض المنتشرة في عموم مناطق زراعة النخيل (Zaid et al., 2002). وردت خلال السنوات الأخيرة عدة ملاحظات من مزارعي النخيل في العراق تشير إلى انتشار مرض ذبول وموت فسائل النخيل وبخاصة في البساتين التي تم إنشاؤها اعتماداً

حرارة 94 °س لدورة واحدة للتشيط و 35 دورة يشمل كل منها دقيقة واحدة عند حرارة 94°س لخطوة المسخ (الذنترة) ودقيقة واحدة لخطوة الالتصاق عند حرارة 58°س ودقيقتين للتمدد عند حرارة 72°س، أما خطوة التمدد النهائي فتضمنت دورة واحدة لمدة خمسة دقائق عند حرارة 72°س. أرسلت كمية 20 ميكروليتر من ناتج التضخيم لكل عزلة إلى شركة Macrogen الكورية بغرض تحديد تتابعات القواعد النيتروجينية في الجينات المستخدمة ثم مطابقتها لدى المركز الوطني لمعلومات التقنية الحيوية NCBI وتسجيلها.

إختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *Fusarium*

استعمل في هذه التجربة مزيج تربة وبتومس بنسبة 1:2. عقرت التربة بواسطة محلول الفورمالين التجاري بنسبة 1:50 (ماء:فورمالين). استعمل المحلول بنسبة 3 ل/م³ تربة، وبعد سبعة أيام من التعقيم وضعت التربة في أصص بلاستيكية سعة 1 كغ. لوثت التربة بعزلات الفطر *Fusarium spp.* المنمى على الدخن بنسبة 1% (وزن/وزن) (Jones et al., 1984)، وأضيف إلى معاملة الشاهد بذور دخن معقمة بالنسبة نفسها. زرعت تربة الأصص ببذور صنف الحلاوي المنتبة مسبقاً. تضمنت معاملة الشاهد زراعة بذور الصنف حلاوي في تربة معقمة خالية من الفطور السابقة، نفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل عزلة من الفطر *Fusarium*، واستمرت التجربة لشهرين سجلت خلالها نسبة الإنبات وموت البادرات لجميع الأصص وحسب المعادلات التالية:

$$\text{نسبة الإنبات } \% = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلية}} \times 100$$

$$\text{نسبة موت البادرات } (\%) = \frac{\text{عدد البادرات الميتة}}{\text{عدد البادرات الكلية}} \times 100$$

تقييم كفاءة جسيمات الفضة النانوية في نمو أنواع الفطر *Fusarium*
تم الحصول على مادة الفضة النانوية AgNPs قطرها 20 نانومتر من شركة Hongwu International Group Ltd. الصينية، وعمل منها محلول قياسي بتركيز 1000 جزء في المليون وأخذت منه كميات محسوبة وأضيفت إلى دوارق زجاجية تحوي على 500 مل من الوسط الغذائي PDA للحصول على تراكيز 25، 50، 75 و 100 جزء في المليون. رجّت الدوارق جيداً بغرض تجانس الفضة النانوية مع الوسط الزرعي، بعدها صُبَّ الوسط في أطباق بتري قطرها 9 سم، وبعد تصلب الوسط لفتح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم أخذ من حافة مزرعة حديثة بعمر 7 أيام لكل فطر من الفطور المرصدة. بعدها حضنت الأطباق عند حرارة 25±1°س لحين وصول نمو الفطريات المرصدة في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق، وحسبت النسبة المئوية للتثبيط في النمو حسب المعادلة التالية:

أمراض النبات، وتعد جسيمات الفضة النانوية والسليكون النانوي من أكثر المركبات النانوية المستخدمة في مكافحة أمراض النبات (Kim et al., 2008؛ Park et al., 2006). ولكون العراق استورد أعداداً كبيرة من الفسائل النسيجية، انشأت منها بساتين كاملة وزرعت أخرى متداخلة مع البساتين القديمة وبعضها في الحدائق المنزلية، وبسبب انتشار العديد من الأعراض المرضية المرافقة لهذه الفسائل مثل موت وذبول الفسائل النسيجية وتبقعات الأوراق واللحاحات، فقد هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص الفطور المرافقة للفسائل النسيجية وتقييم دور بعض العوامل الأحيائية والفضة النانوية في مكافحتها.

مواد البحث وطرائقه

عزل الفطور من جذور فسائل النخيل

غسلت جذور الفسائل المصابة بماء جارٍ لعدة دقائق ثم قطعت إلى قطع صغيرة بطول 0.5-1 سم وعقرت سطحياً بمحلول هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 10% من المحلول التجاري لمدة 3 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت بورق ترشيع معقم. بعدها نقلت كل أربع قطع من الجذور المصابة إلى أطباق بتري بقطر 9 سم تحوي على وسط PDA (Potato dextrose agar) المعقم بجهاز المؤصدة والمضاف لهما الصاد الحيوي Chloramphenicol بمعدل 250 مغ/ل. وضعت الأطباق في الحاضنة لمدة 4-7 أيام عند حرارة 25±1°س لملاحظة نمو المستعمرة الفطرية على الوسط الزرعي. شخّصت الفطور المعزولة مظهرياً اعتماداً على المفاتيح التصنيفية التالية: (Domsch et al., 1980؛ Leslie & Summerville, 2006؛ Pitt & Hocking, 2009).

التشخيص الجزيئي لعزلات الفطر *Fusarium* المعزولة من جذور فسائل النخيل

شخّصت عزلات الفطر *Fusarium* التي تم عزلها من جذور الفسائل النسيجية المصابة بالذبول باستخدام التفاعل التسلسلي للبوليميريز (PCR). استخلص الحامض النووي الريبسي منقوص الأوكسجين (DNA) من عزلات الفطر باستعمال عدة الاستخلاص DNA gSYNC™ Extraction Kit من شركة Geneaid التايوانية. تم قياس كمية ونقاوة الحامض النووي DNA (نانوغرام/مايكروغرام) بواسطة جهاز Nanodrop من صنع شركة Thermo Scientific الأمريكية، واستعمل زوج البادئات الأمامية (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) والخلفية (TCCTCCGCTTATTGATATGC). في تفاعل البلمرة المتسلسل لتضخيم الجين ITS1-ITS4. تضمن برنامج التضخيم 5 دقائق عند

$$\text{نسبة التثبيط (\%)} = \frac{\text{معدل قطر مستعمرة الفطر في المقارنة}}{\text{معدل قطر مستعمرة الفطر في المعاملة}} \times 100$$

تقييم كفاءة الفطر *Trichoderma longibrachiatum* في تثبيط أنواع

الفطر *Fusarium* المعزولة من المجموع الجذري

تم الحصول على عزلة مشخصة جزيئياً للفطر *T. longibrachiatum* من دراسة سابقة قام بها (Mahde et al., 2019). استعملت طريقة الزرع المزدوج (Dual-culture Technique) في اختبار الكفاءة التضادية للفطر *T. longibrachiatum* ضد بعض أنواع الفطر *Fusarium*. قُسم الطبق المضاد إليه الوسط الزرعي PDA إلى نصفين متساويين، ولقح مركز النصف الأول من الطبق بقرص قطره 0.5 سم من مزرعة الفطر الاحيائي *T. longibrachiatum* بعمر 7 أيام، ولقح النصف الآخر بقرص قطره 0.5 سم من مزرعة الفطر الممرض. تضمنت معاملة المقارنة تلقح الأطباق بالفطر الممرض فقط. حُصّنت الأطباق عند حرارة $25 \pm 1^\circ\text{C}$ وحُسبت درجة التضاد بعد أن وصل نمو الفطر الممرض إلى حافة الطبق في معاملة المقارنة وفق مقياس (Bell et al., 1982).

التحليل الاحصائي

نفذت التجارب المختبرية وتجارب الأصص وفق التصميم العشوائي الكامل (C.R.D.) وقورنت المتوسطات الحسابية حسب أقل فرق معنوي وعند مستوى احتمال 1% للتجارب المختبرية و 5% لتجارب الإصص وحللت البيانات احصائياً باتباع البرنامج الاحصائي SPSS.

النتائج والمناقشة

عزل الفطور من المجموع الجذري للفسائل المصابة بالذبول

عزلت من جذور الفسائل، التي ظهرت عليها أعراض الاصفرار والذبول وتيبس السعف، عدة أنواع من الفطور جمعت من ثلاثة مواقع (جدول 1)، ويعود معظمها إلى الجنس *Fusarium*، وهي: *F. solani*، *F. proliferatum* و *F. fujikuroi*، وتتفق هذه النتيجة مع دراسات سابقة أشارت إلى عزل نوع واحد أو عدة أنواع من الفطر *Fusarium* مع حالات مرضية مشابهة أو قريبة الشبه مع حالات الذبول التي تمت دراستها مثل *F. solani*، *F. proliferatum*، *F. moniforme*، *F. oxysporum* (Abdalla et al., 2000؛ Rashed & Abdul-Hafeez, 2001؛ Masood et al., 2011). كما عزل (Al-Saad et al., 2018) الفطر *F. solani* من جذور فسائل نخيل التمر النسيجي المصاب بمرض الذبول في محافظة البصرة، وعزلت (Khazaal et al., 2019) الفطور *F. proliferatum* و *F. fujikuroi* إضافة إلى أنواع أخرى تابعة لنفس

الجنس من جذور نخيل التمر المصابة بمتلازمة التدهور المفاجيء في محافظة البصرة. وفي الأردن، أشار (Alananbeh et al., 2021) إلى ارتباط الفطر *F. proliferatum* بمرض موت واصفرار أوراق النخيل. وفي إيران والإمارات العربية المتحدة، تم عزل الفطر *F. solani* من الفسائل المصابة بمرض ذبول وموت وجفاف سعف النخيل (Alwahshi et al., 2019؛ Mansoori & Kord, 2006). وتم عزل الفطر *F. oxysporum* في كل من السعودية والسودان (المليحي، 2015؛ Elhassan et al., 2017).

القابلية الامراضية لعزلات الفطر *Fusarium*

أشارت نتائج هذه الدراسة (الأشكال 1، 2 و 3) إلى التأثير السلبي لخمس عزلات مختلفة من الفطر *Fusarium* spp. في إنبات بذور نخيل التمر. بلغت النسبة المئوية للانبات 53.33% للعزلة *F. fujikuroi* F3 و *F. solani* و بلغت 56.67% للعزلة *F. proliferatum* F1، و *F. fujikuroi* F4 و *F. proliferatum* F7 في حين بلغت في الشاهد بدون فطر ممرض 93.33%. كشفت النتائج وجود فروق معنوية في النسبة المئوية لموت بادرات نخيل التمر والتي بلغت 76.67، 76.67، 80.00، 76.67 و 83.33% للفطور *F. proliferatum* F1، *F. fujikuroi* F4، *F. solani* و *F. proliferatum* F7، على التوالي، في حين بلغت في معاملة المقارنة بدون فطر ممرض 16.67%. وجاءت هذه النتائج مماثلة لنتائج دراسات سابقة أكدت دور الفطر *Fusarium* sp. في خفض انبات بذور العديد من النباتات المختلفة بما فيها بذور نخيل التمر (Juber, 2012؛ Saleh et al., 2021؛ Sedra, 2010).

جدول 1. الفطور المعزولة من جذور فسائل النخيل النسيجية مصابة بمرض الذبول جمعت من ثلاثة مواقع مختلفة في العراق.

Table 1. Fungi isolated from tissue culture date palm off shoot infected with wilt disease collected from three sites in Iraq.

مواقع الجمع			اسم الفطر
سفوان	سيبة	هارثة	
Safwan	Siba	Hartha	Fungus name
+	+	+	<i>Fusarium solani</i>
+	+	+	<i>Fusarium proliferatum</i> F1
+	+	+	<i>Fusarium fujikuroi</i> F3
+	+	+	<i>Fusarium fujikuroi</i> F4
+	+	+	<i>Fusarium proliferatum</i> F7
+	-	+	<i>Aspergillus</i> sp.
+	-	+	<i>Penicillium</i> sp.
+	-	+	<i>Rhizopus</i> sp.
-	-	+	<i>Trichoderma</i> sp.

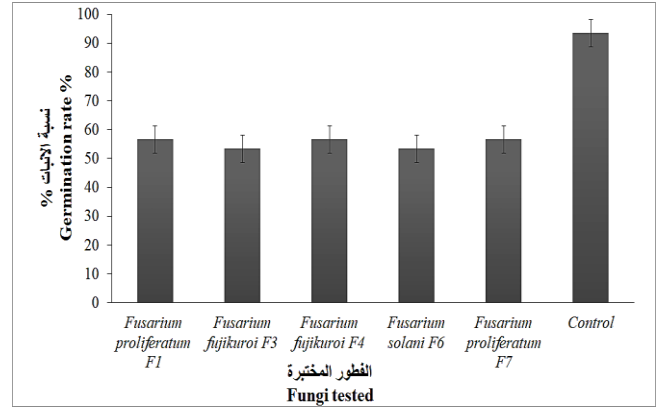
التشخيص الجزيئي لأنواع الفطر *Fusarium* المعزولة من جذور فسائل النخيل

أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي للفطور الممرضة تطابق العزلات الفطرية للأنواع المشخصة مظهرياً حسب المفاتيح التصنيفية المعتمدة مع نتائج التشخيص الجزيئي المعتمدة على الجين ITS-ITS4. وبينت النتائج وجود عزلتين للفطر *F. proliferatum* F1 و F7، وقد تم تسجيل عزلة الفطر *F. proliferatum* F1 في البنك الدولي للجينات تحت رقم انضمام OM535259.1؛ أما العزلة الثانية، وهي *F. proliferatum* F7 فقد سجلت تحت الرقم OM535261.1 وكانت متطابقة مع العزلة MT509801.1 وبنسبة تطابق بلغت 98.41%، كما أوضحت النتائج وجود عزلتين للفطر *F. fujikuroi* F3 و F4، سجلت العزلة F3 في بنك الجينات برقم تسلسلي OM535264.1 وتطابقت هذه العزلة مع العزلة المسجلة تحت الرقم MG543727.1 وبنسبة تطابق بلغت 99.80%، أما العزلة F4 فقد سجلت برقم تسلسلي OM535265.1 وكانت متطابقة 100% مع العزلة المسجلة في بنك الجينات تحت الرقم MT603294.1. أما الفطر *F. solani* فقد سجل برقم تسجيل OM535266.1 وجاءت نتائج التشخيص الجزيئي متطابقة مع العزلة المسجلة تحت رقم انضمام MG932644.1 وبنسبة 94.85%. أشارت دراسات سابقة إلى أن أنواع الفطر *Fusarium* المسجلة مثل *F. proliferatum* تسبب ذبول نخيل التمر في إيران (Ghaedi et al., 2020)، كما أشار Al-Saad et al. (2018) إلى أن الفطر *F. solani* هو أحد المسببات الأساسية لذبول الفسائل النسيجية التي تم استيرادها من خارج القطر في السنوات الماضية.

تأثير تراكيز مختلفة من جزيئات الفضة النانوية في النمو الشعاعي للفطور المسببة لمرض ذبول فسائل النخيل النسيجي

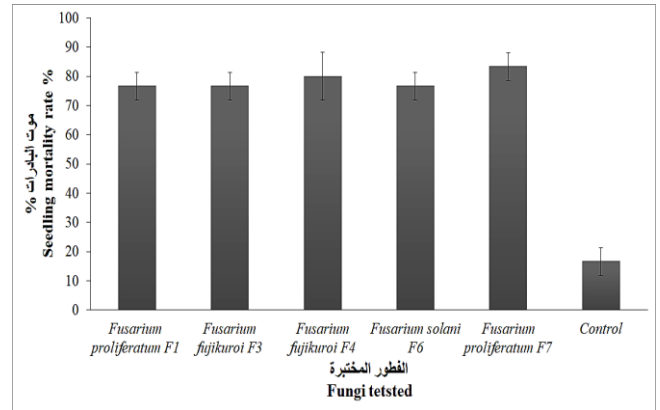
أظهرت النتائج (شكل 4) أن لجسيمات الفضة النانوية القدرة في تثبيط أنواع الفطر *Fusarium*، وكانت نسبة التثبيط أعلاها للفطر *F. proliferatum* F1 عند التراكيز 25، 50، 75 و 100 جزء في المليون، حيث بلغت 62.20، 65.86، 67.73 و 72.56%، على التوالي. أما نسبة تثبيط الفطور الأربعة الأخرى التي تمت دراستها فكانت متشابهة إلى حد ما (شكل 4).

أشارت دراسات سابقة إلى فعالية جسيمات الفضة النانوية في تثبيط نمو الفطور الممرضة للنبات حيث أشار Akpinar et al. (2021) إلى أن لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs) القدرة على تثبيط نمو (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL)) وتقليل أعداد الأبواغ الكلاميدية. كما ذكر Kim et al. (2008) أن جسيمات الفضة النانوية تثبتت نمو 18 نوعاً مختلفاً من الفطور المسببة للأمراض النباتية من بينها أنواع تعود للفطر *Fusarium*.



شكل 1. تأثير الفطور المعزولة من جذور الفسائل في النسب المئوية لإنبات بذور نخيل التمر.

Figure 1. Effect of fungi isolated from off shoot roots on germination rate of date palm seeds.



شكل 2. تأثير الفطور المعزولة من الجذور في النسب المئوية لموت بادرات نخيل التمر.

Figure 2. Effect of fungi isolated from roots on the mortality rate of date palm seedlings.

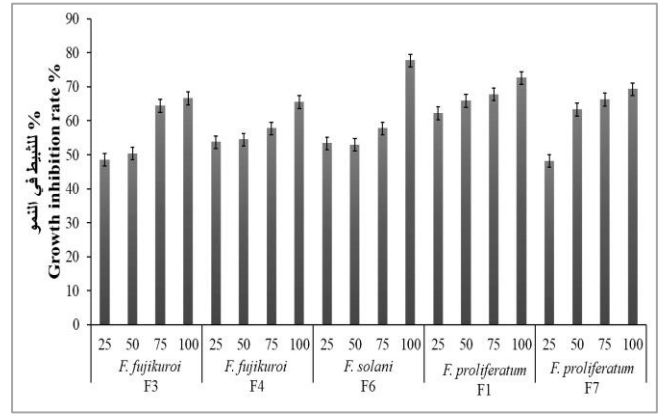


شكل 3. أعراض الإصابة بأنواع الفطر *Fusarium* على بادرات النخيل.

Figure 3. Symptoms of infection with *Fusarium* species on palm seedlings.

تقييم الكفاءة التضادية للفطر *Trichoderma longibrachiatum* ضد أنواع الفطر *Fusarium* المسببة لذبول الفسائل

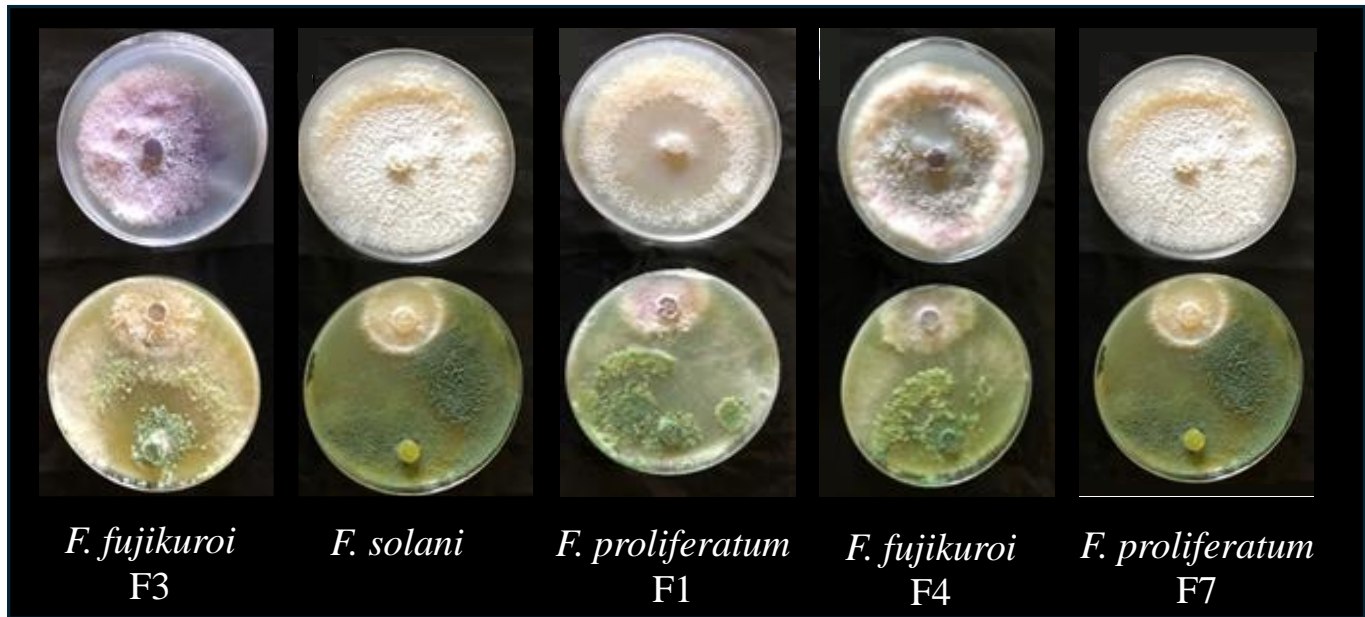
أظهرت نتائج تجربة الزرع المزدوج (شكل 5) أن للفطر *T. longibrachiatum* قدرة تضاد عالية تجاه الفطور الممرضة. إذ بلغت درجة التضاد 1 ضد جميع أنواع الفطر *Fusarium* المختبرة حسب مقياس Bell *et al.* (1982)، أي أن نمو الفطر الأحيائي يغطي ثلثي الطبق. تتفق هذه النتائج مع دراسات عديدة أخرى بينت دور أنواع الفطر *Trichoderma spp.* في تثبيط العديد من المسببات الممرضة. حيث وجد Zhang *et al.* (2018) أن المستخلص الخام لـ *T. longibrachiatum* ذو تأثير واسع في تثبيط نمو أحد عشر مسبباً ممرضاً للنبات من المسببات التي تم تقييمها، كذلك بين Hosseinmardi *et al.* (2020) أن الفطر *T. longibrachiatum* خفض من شدة مرض تنقع أوراق البندورة/الطماطم المتسبب عن الفطر *Alternaria alternata* بنسبة 81%. وأوضح Mahde (2019) أن الفطر *T. longibrachiatum* كان له قدرة تضاد عالية ضد أنواع *Fusarium spp.* وأشار Sanchez *et al.* (2007) إلى قدرة الفطر *T. longibrachiatum* في تثبيط نمو الفطر *Thielaviopsis paradoxa*.



شكل 4. تأثير تراكيز مختلفة (جزء في المليون) من جزيئات الفضة النانوية في النمو الشعاعي للفطور المسببة لمرض ذبول فسائل النخيل النسيجي.

Figure 4. Effect of different concentrations (ppm) of silver nanoparticles on radial growth of different fungal pathogens that cause tissue culture date palm seedlings wilt.

تعود قدرة جسيمات الفضة النانوية في تثبيط نمو الفطور إلى إحداثها تلفاً في أغشية الخلايا وزيادة نفاذيتها والتسبب في تلف غشاء الخلية وتغييرات في جدر الخلايا وتغيير الصفات المظهرية لها وتثبيط بعض الأنزيمات المرتبطة بغشاء الخلية (Dakal *et al.*, 2016)؛ (McDonnell & Russell, 1999).



شكل 5. الكفاءة التضادية للفطر *Trichoderma longibrachiatum* ضد عدد من الفطور المسببة لمرض ذبول فسائل النخيل النسيجي.

Figure 5. The antagonistic efficiency of the fungus *Trichoderma longibrachiatum* against a number of fungi that cause wilting of tissue culture date palm offshoots.

Abstract

Fayyadh, M.A., A.O. Manea and Y.A. Salih. 2024. Molecular Identification of *Fusarium* Species Associated with the Tissue Culture Date Palm Offshoots Wilt Disease and Evaluation of Using Silver Nanoparticles and *Trichoderma longibrachiatum* for Its Control. *Arab Journal of Plant Protection*, 42(2): 189-195. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001225>

This study was conducted during the period 2019-2021 with the aim of isolating and identifying the fungi associated with the tissue culture date palm offshoots wilt disease planted in permanent orchards. Molecular identification of *Fusarium* isolates based on amplification and nucleotide sequencing of the ITS1-ITS4 gene region showed that isolate F1 and F7 were identical to *F. proliferatum* with a similarity level of 100 and 98%, respectively; isolates F3 and F4 were identical to *F. fujikuroi* with a similarity level of 99.8 and 100%, respectively. As for isolate F6, it was 94.8% similar with *F. solani*. The sequences of the identified isolates were deposited in the US National Center for Biotechnology Information (NCBI) under the numbers OM535259.1, OM535261.1, OM535264.1, OM535265.1 and OM535266.1, respectively. The results also showed that silver nanoparticles inhibited the growth of all tested fungi, and the inhibition rate range was 50-70%. On the other hand, the bio-control fungus *T. longibrachiatum* caused growth inhibition of all tested fungi with an inhibition rate of more than 80%.

Keywords: Date palm, wilt, molecular identification, nanosilver particles.

Affiliation of authors: M.A. Fayyadh*, A.O. Manea and Y.A. Salih, Plant Protection Department, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq. *Email of corresponding author: muamer2010@yahoo.com

References

- Alwahshi, K.J., E.E. Saeed, A. Sham, A.A. Alblooshi, M. Alblooshi, K.A. El-Tarabily and S.F. AbuQamar. 2019. Molecular identification and disease management of date palm sudden decline syndrome in the United Arab Emirates. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4):923. <https://doi.org/10.3390/ijms20040923>
- Bell, D.K., H.D. Wells and C.R. Markham. 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72(4):379-382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>
- Dakal, T.C., A. Kumar, R.S. Majumdar and V. Yadav. 2016. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, 7:1831. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01831>
- Domsch, K.H., W. Gams and T. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi*. Volume 1. Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney. 859 pp.
- Elhassan, A.M., A. Mutwakil, A.A.H. Mahir and M.E.Kh. Ali. 2017. Occurrence of fungal diseases and their importance on date palm in the Sudan. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5):16-22. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.002>
- Ghaedi, H., F. Kocheili, M. Latifian and R. Farrokhi Nejad. 2020. Report of *Fusarium proliferatum* causing leaf wilt disease of date palm in Khuzestan Province. *Plant Protection*, 43(3):21-34. <https://doi.org/10.22055/ppr.2020.16249>
- Harman, G.E. and C. P. Kubick. 1998. *Trichoderma and Gliocladium*, Volume 2, Taylor and Francis, London. 393 pp. <https://doi.org/10.1201/9781482267945>
- Hosseinmardi, M., S. Naeimi and, S. Rezaee. 2020. Biological control of early blight of tomato with epiphytic strains of *Trichoderma*. *Biocontrol in Plant Protection*, 7(2):1-15.
- Jones, R.W., R.E. Pettit and R.A. Taber. 1984. Lignite and stillage: carrier and substrate for application of fungal biocontrol agents to soil. *Phytopathology*, 74(10):1167-1170. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-74-1167>
- البكر، عبد الجبار. 1975. نخلة التمر، ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعاتها وتجارتها. مطبعة العاني، بغداد. 1085 صفحة.
- [El-Bakr, A. 1975. *Date Palm: Past and Present and what is new in its cultivation, date palm processing, and marketing*. El-Aani Publishers, Baghdad. 1085 pp. (In Arabic).]
- المليجي، محمد عبد الستار. 2015. أمراض نخيل التمر في المملكة العربية السعودية وطرق مكافحتها. قسم إنتاج النبات ووقايته، كلية الزراعة والطب البيطري، جامعة القصيم، المملكة العربية السعودية. 20 صفحة.
- [El-Mileegy, M.A. 2015. *Date palm diseases in the Kingdom of Saudi Arabia*. Department of Plant Production and Protection, Faculty of Agriculture and Veterinary Science, Qaseem University, Kingdom of Saudi Arabia. 20 pp. (In Arabic).]
- Abdalla, M.Y., A. Al-Rokibah, A. Moretti and G. Mule. 2000. Pathogenicity of toxigenic *Fusarium proliferatum* from date palm in Saudi Arabia. *Plant disease*, 84(3):321-324. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.3.321>
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*, fifth edition. Elsevier and Academic Press. New York, USA. 903 pp.
- Akpinar, I., M. Unal and T. Sar. 2021. Potential antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) of different sizes against phytopathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) strains. *SN Applied Sciences*, 3:506. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04524-5>
- Alananbeh, K.M., M.M. Tahat and H. Al-Taweel. 2021. First report of *Fusarium proliferatum* on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Jordan. *Plant Disease*, 105(12):4159. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1219-PDN>
- Al-Saad, L.A., A.O. Manea and M.A. Fayyadh. 2018. First record of the wilt and death disease on date palm tissue culture clones offshoots in Basrah province-Iraq. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 49(5):932. <https://doi.org/10.36103/ijas.v49i5.56>

المراجع

- of various plant diseases. The Plant Pathology Journal, 22(3):295-302.
<http://dx.doi.org/10.5423/PPJ.2006.22.3.295>
- Pitt, J.I. and A.D. Hocking.** 2009. Fungi and food spoilage. Third Edition. Springer Dordrecht. London, New York. 519pp.
<https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- Rashed, M.F. and N.E. Abdel Hafeez.** 2001. Decline of date palm trees in Egypt. 2nd International Conference on Date Palm, 25-27 March, Al Ain, UAE, 401-407 pp.
- Saleh, A.A., A.H. Sharafaddin, M.H., El_Komy, Y.E. Ibrahim and Y.K. Hamad.** 2021. Molecular and physiological characterization of *Fusarium* strains associated with different diseases in date palm. Plos One, 16(7):e0254170.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254170>
- Sanchez, V., O. Rebolledo, R.M. Picaso, E. Cardenas, J. Cordova, O. Gonzalez and G.J. Samuels.** 2007. In vitro antagonism of *Thielaviopsis paradoxa* by *Trichoderma longibrachiatum*. Mycopathologia, 163(1):49-58.
<https://doi.org/10.1007/s11046-006-0085-y>
- Sedra, M.H.** 2010. Evaluation of soil receptivity of date palm groves in Arab countries to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, causal agent of bayoud disease of date palm, Acta Horticulturae, 882:515-525.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.882.58>
- Zaid, A., P.F. de Wet, M. Djerbi and A. Oihabi.** 2002. Diseases and pests of date palm (Chapter XII). Pages 227–281. In Date Palm Cultivation. A. Zaid and E.J. Arias (ed.). FAO Plant Production and Protection Paper no. 156. FAO, Rome, Italy.
- Zhang, S., B. Xu, J. Zhang and Y. Gan.** 2018. Identification of the antifungal activity of *Trichoderma longibrachiatum* T6 and assessment of bioactive substances in controlling phytopathogens. Pesticide Biochemistry and Physiology, 147:59-66.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.02.006>
- Juber, K.S.** 2012. Evaluating the virulence of some pathogenic isolates for three *Fusarium* species in date palm and their control. Iraqi Journal of Agricultural Science, 43(2):7-17.
- Khazaal, F.A., M.K. Ameen and A.H. Ali.** 2019. Pathogenic fungi accompanied with sudden decline syndrome (wilting disease) of date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.). Basrah Journal of Science, 37(3):376-397.
- Kim, H.S., H.S. Kang, G.J. Chu and H.S. Byun.** 2008. Antifungal effectiveness of nanosilver colloid against rose powdery mildew in greenhouses. Solid State Phenomena, 135:15-18.
<http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/SSP.135.15>
- Leslie, J. F. and B.A. Summerell.** 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing. 388 pp.
- Mahde, B.Y., M.A. Fayyadh and S.S. Al-Luaibi.** 2019. Evaluation of biofungicide formulation of *Trichoderma longibrachiatum* in controlling of tomato seedling damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. Basrah Journal of Agricultural Sciences, 32(2), 135-149. <https://doi.org/10.37077/25200860.2019.204>
- Mansoori, B. and M.H. Kord.** 2006. Yellow death: a disease of date palm in Iran caused by *Fusarium solani*. Journal of Phytopathology, 154(2):125-127.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2006.01067.x>
- Masood, A., S. Saeed, S.F. Silveira, C.N. Akem, N. Hussain and M. Farooq.** 2011. Quick decline of mango in Pakistan: survey and pathogenicity of fungi isolated from mango tree and bark beetle. Pakistan Journal of Botany, 43(3):1793-1798.
- McDonnell, G. and A. D. Russell.** 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clinical Microbiology Reviews, 12(1):147-179.
<https://doi.org/10.1128/cmr.12.1.147>
- Park, H.J., S.H. Kim, H.J. Kim and S.H. Choi.** 2006. A new composition of nanosized silica-silver for control

Received: January 12, 2023; Accepted: June 14, 2023

تاريخ الاستلام: 2023/1/12؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2023/6/14