جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد
كلية علوم الهندسة الزراعية
قسم وقاية النبات

دراسة تشخيصية وفسلجية للفطر *Thielaviopsis paradoxa* المسبب لمرض اللفحة السوداء في نخيل التمر *Phoenix dactylifera* ومقاومته احيائياً في ديالى

اطروحة دكتوراه تقدم بواسطة: محمد نديم قاسم حنتوش

باشراف: أ.د. حليمة زغير حسين

الفصل الاول
المقدمة

نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. نبات معمر ثنائي المسكن من مغطاة البذور أحادية الفلقة، من عائلة Arecaceae التي تضم حوالي ٢٠٠ جنس واكثر من ٢٥٠٠ نوع.

نخيل التمر منجما غذائيًا ودوائيًا فريدًا لما يحتويه من مركبات حيوية عديدة.

مورداً متجدداً متحملاً للبيئة القاسية ومحافظا على التوازن البيئي ومكافحا لتصحر التربة وتآكلها.

يقدر عدد اشجار نخيل التمر في العالم ما يقارب ١٥٠ مليون نخلة وتوجد 17,348,741 نخلة في العراق خلال عام 2020.

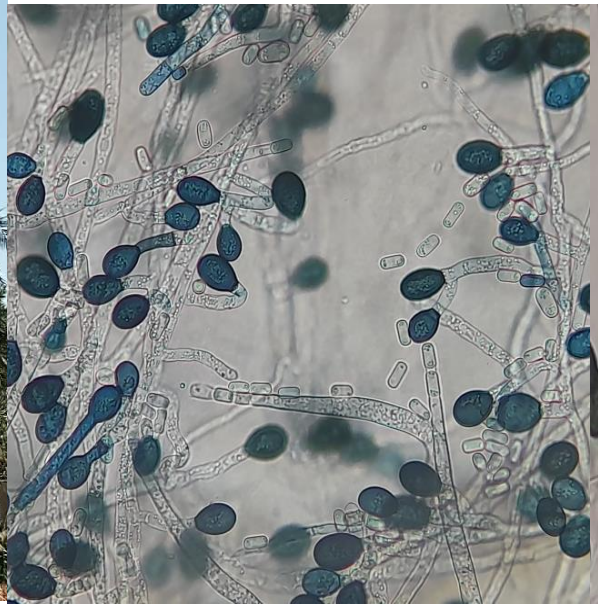
تشكل المساحة المزروعة باشجار النخيل في البلدان العربية ٧٠% من اجمالي المساحة المزروعة باشجار النخيل في العالم.

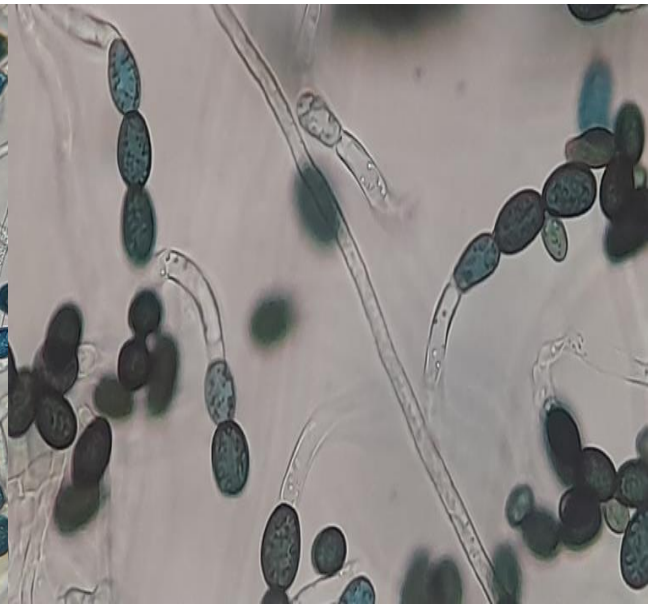
ويشكل انتاج المنطقة ٧٠% من الانتاج العالمي الذي بلغ ما يقارب 9.6 مليون طن في عام ٢٠٢.

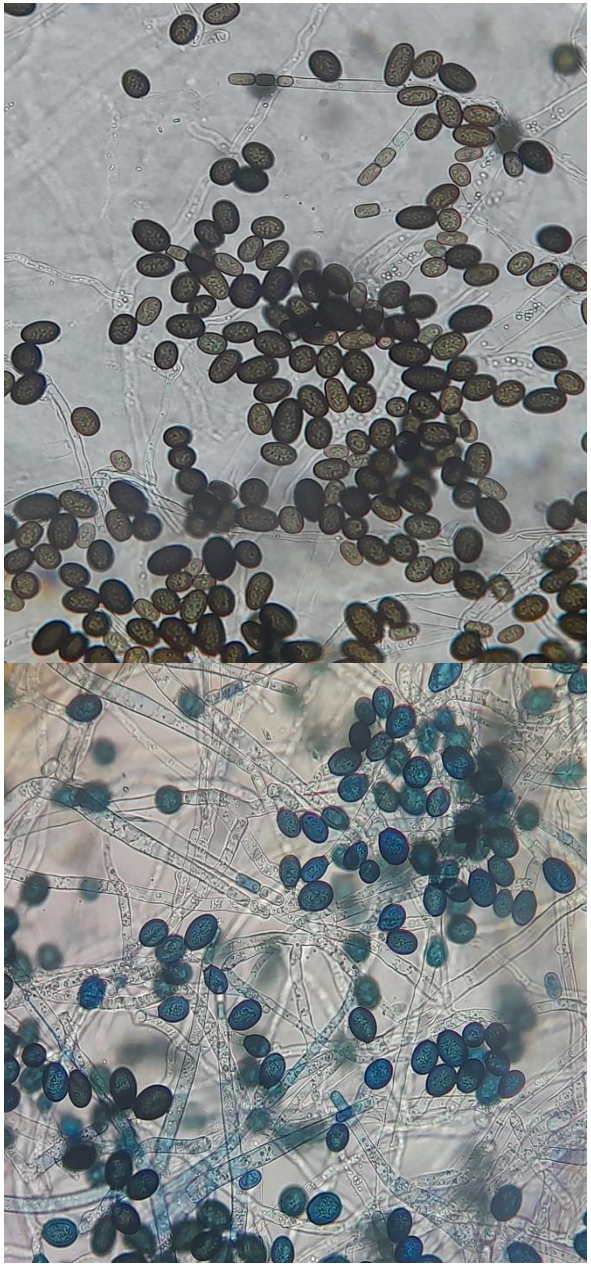
يواجه انتاج نخيل التمر العديد من التحديات المتمثلة بالاجهادات الاحيائية وغير الاحيائية التي تضر بنموه وانتاجيته.

تتمثل الاجهادات الحيوية بالمسببات المرضية التي يتعرض لها نخيل التمر والتي تؤثر سلبا في انتاجيته كما ونوعا .

ويعد النوعان الممرضان *T. paradoxa* (De Seyeres) Hohn و *T. punctulata* اللذان يسببان مرض اللفحة السوداء في نخيل التمر *P. dactylifera* احد اهم تلك المسببات المرضية.







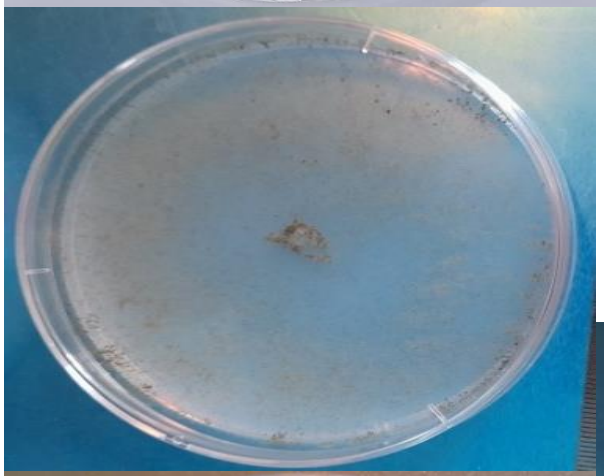
يهاجم النوعان *T. paradoxa* و *T. punctulata* الاوراق اوالازهار او القلب او الجذع او فسائل النخيل مما تسبب في تعفنها.

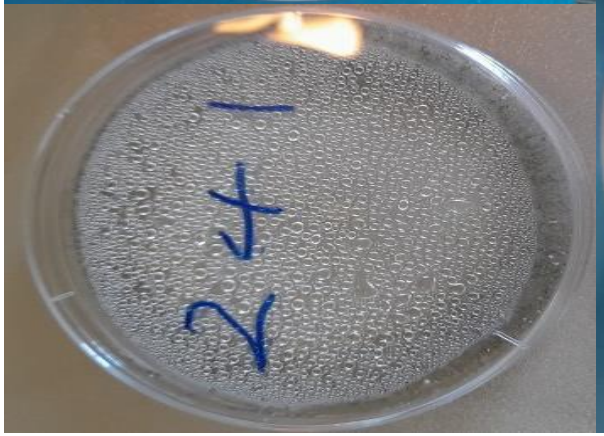
وتتطور الاعراض المرضية تبعاً لمرحلة العدوى والظروف البيئية والصنف وسلالة الفطر والنسيج المصاب.

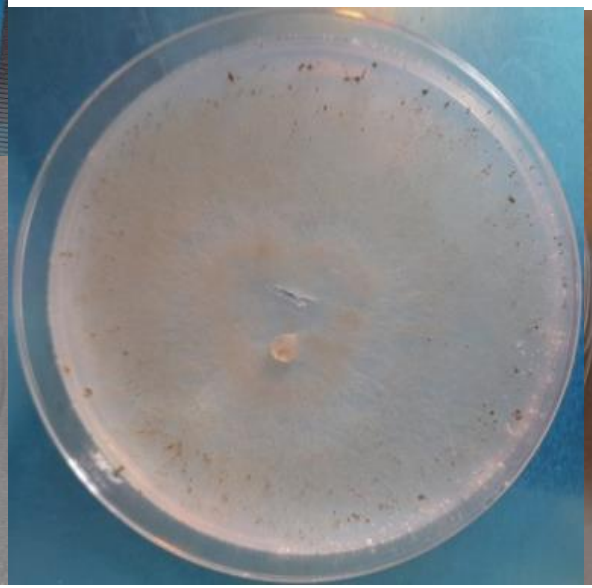
يمثل الفطر *Ceratocystis paradoxa* الطور الجنسي للفطر *Thielaviopsis paradoxa*، في حين يمثل الفطر *Ceratocystis radicicola* الطور الجنسي للفطر *Thielaviopsis punctulata*.

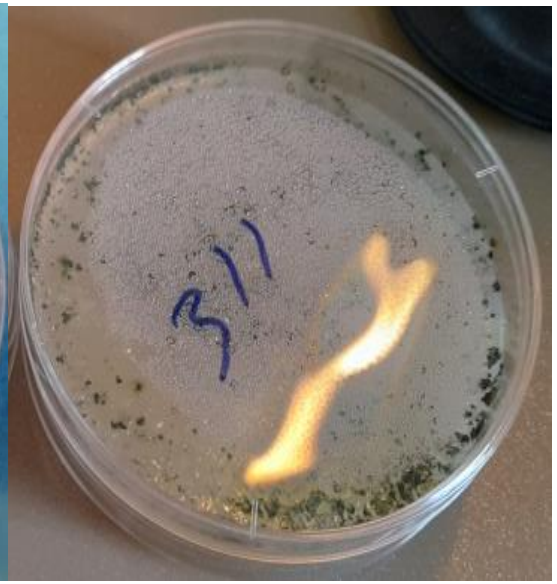
يعود الجنس **Thielaviopsis** الذي يمثل الطور الناقص الى شعبة الفطريات الناقصة.

يعرف الجنس Ceratocystis بأنه مجموعة من الفطريات الكيسية الفريدة بيئياً وذات صلة وثيقة جداً مع بعضها البعض.







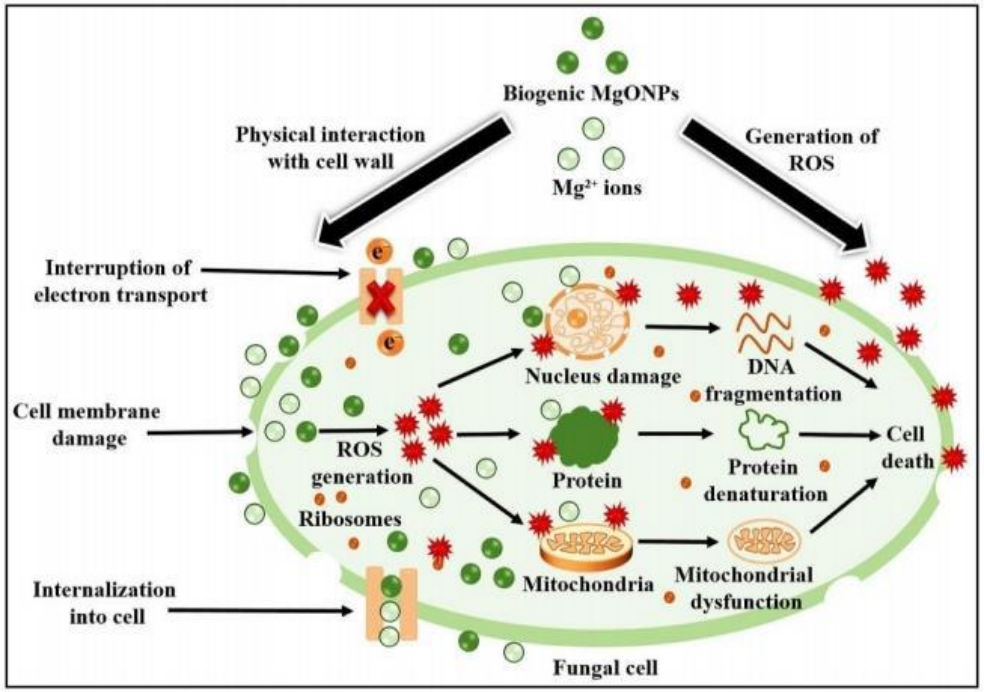


ان الكائنات الحية الدقيقة التي تتعايش مع نخيل التمر يمكن أن تعزز مقاومته للاجهادات المختلفة اذ تحافظ على النبات خلويا وجزيئيا وايضيا.

اذ تحافظ على وظائف الخلايا فضلا عن آليات مختلفة لتلك الكائنات الدقيقة في كبح نشاط المسببات المرضية.

تعد شجرة الجوز *Juglans regia* من اهم النباتات الطبية التي اثبتت مستخلصات اجزائها المختلفة الفاعلية ضد العديد من المايكروبات.

انتجت العديد من اكاسيد المعادن النانوية كعوامل مضادة للفطريات والبكتريا وللكثير من التطبيقات الحيوية ويعد اوكسيد المغنيسيوم النانوي احد اهم تلك الاكاسيد.



رسم توضيحي تخطيطي لآليات MgOالمضادة للفطريات(Thakur وآخرون، ٢٠٢٢).

إن جسيمات أوكسيد المغنيسيوم النانوية MgONPs آمنة بيئيا وذات ثباتية عند المعاملة.

نال تصنيع الجسيمات النانوية باستخدام المستخلصات النباتية اهتماماً متزايدً لتفوقها على طرائق التصنيع الفيزيائية والكيميائية وعدت حديثاً من اهم صور تصنيع تلك الجسيمات لكفاءتها وقلة تكلفتها وتوافقها الحيوي مع البيئة.

هنالك تشابه كبير بين الفطرين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata* المسببين لمرض اللفحة السوداء في نخيل التمر في كثير من الصفات المزرعية والمجهرية وفي اعراض اصابتهما لنخيل التمر وتمييزا لهذه الصفات والاعراض ولأجل مكافحتهما بما يضمن سلامة صحة الانسان بشكل خاص والبيئة بشكل عام فقد هدفت الدراسة الى:

١- عزل الفطرين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata* وتشخيصهما مظهريا وجزيئيا وتحديد اعراضهما المرضية.

٢- دراسة الصفات المزرعية والمجهرية والفسلجية لكل من الفطرين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata*.

٣- الكشف عن سلالات الفطر Trichoderma والبكتريا Bacillus المتعايشة مع نخيل التمر والفعالة في كبح نمو الفطرين الممرضين *T. paradoxa* و*T. punctulata* .

٤- تصميم برنامج مقاومة مستدام وصديق للبيئة للسيطرة على المسببين المرضيين *T. paradoxa* و *T. punctulata* اعتماداً على آليات التقانات الأحيائية بعيداً عن استخدام المبيدات الكيميائية.

منهجية البحث والنتائج والمناقشة

المسح الميداني لمرض اللفحة السوداء

- شملت الدراسة المسحية زيارة ١٠ بساتين من مناطق مختلفة من محافظة ديالى مندلي(ثلاثة بساتين)، بلدروز(ثلاثة بساتين)، بعقوبة(ثلاثة بساتين)، المقدادية(بستان واحد).
- واخذت العينات من قواعد سعف النخيل المصاب الذي ظهرت عليه اعراض المرض.
- اخذ عينات من تربة جذور اشجار النخيل السليمة ومن جذورها واوراقها.

وجد أن مرض اللفحة السوداء منتشر في جميع البساتين التي شملتها الدراسة والواقعة ضمن محافظة ديالى وبنسبة اصابة تراوحت بين ٢.٠٧ – ٦.٣١%.

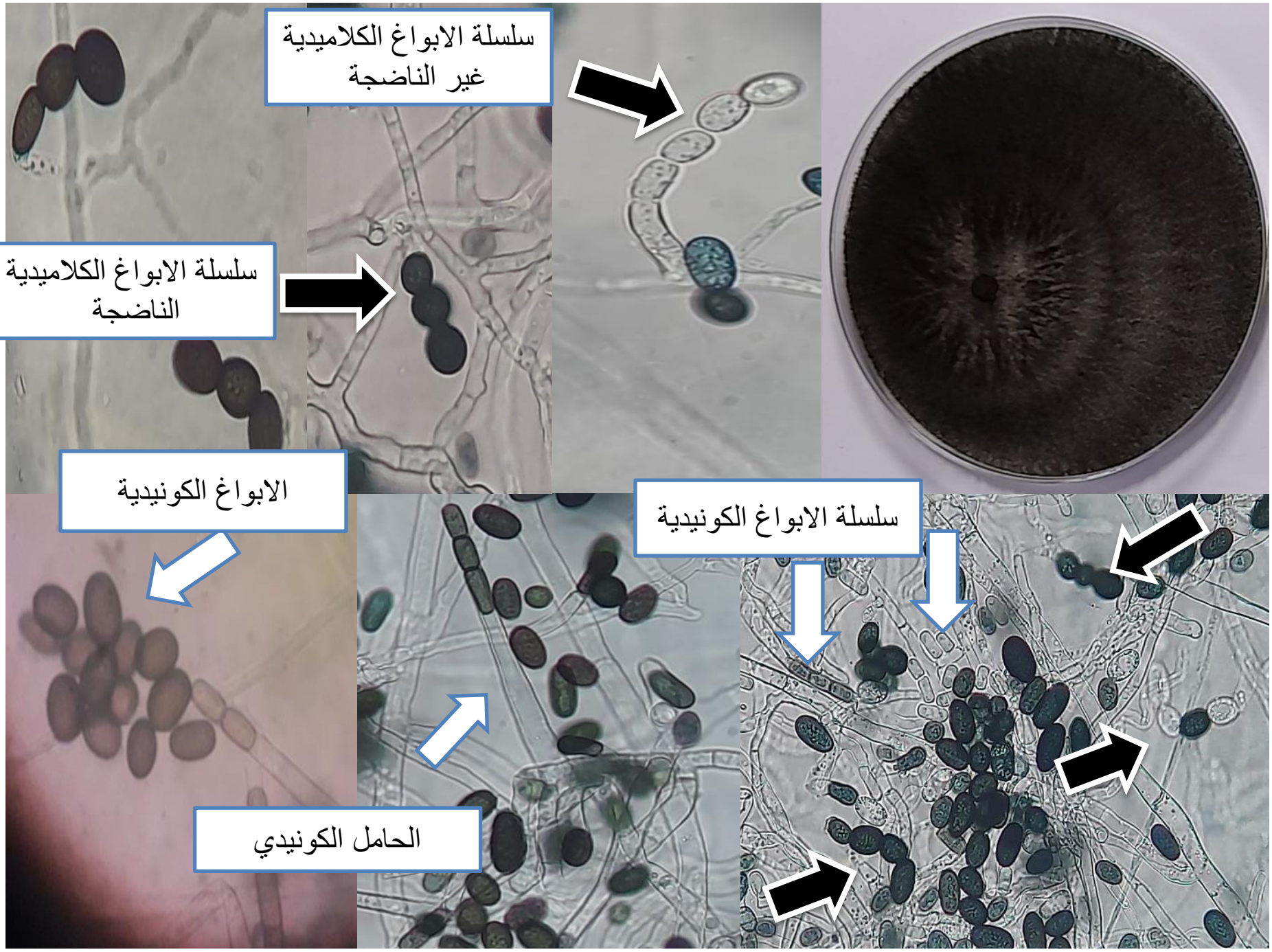
لوحظت الاعراض على النخيل المصاب بالفطر *T. paradoxa* بشكل التواء السعف وتقصف الوريقات وقصرها ومناطق سوداء على قواعد السعف ولفحة الازهار وتعفن البرعم.

تعفن وتقصف الشماريخ
بقع متشققة ذات وسط ابيض
تعفن وتقصف الشماريخ (لفحة الازهار)

وتميزت اعراض النخيل المصاب بالفطر *T. punctulata* بتدلي سعف النخيل الاخضر المصاب بشكل شديد الى الاسفل دون التواء السعف.

- عزل وتشخيص النوعين الممرضين *Thielaviopsis paradoxa* و *Thielaviopsis punctulata* والفطريات المرافقة لهما من النخيل المصاب

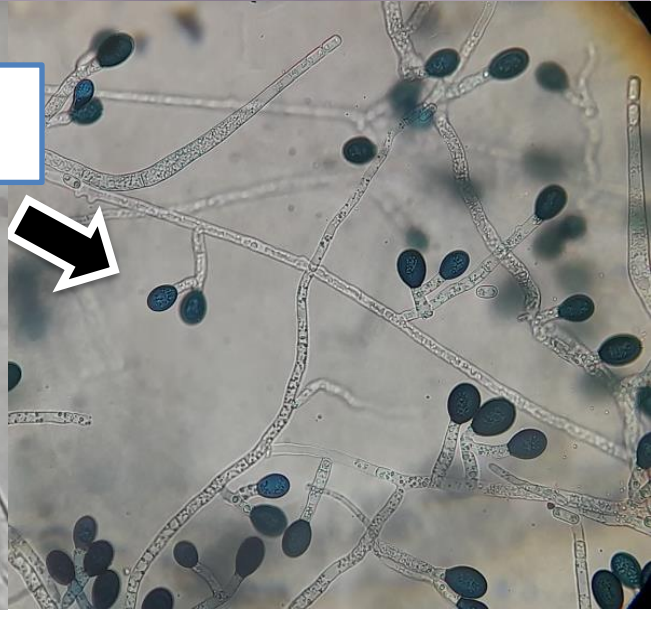
- غسل قواعد السعف
- عقمت قطع صغيرة (٠.٥ الى ٢ سم طولاً) وزرعت بواقع ٤ قطع لكل طبق في اطباق بتري حاوية على الوسط PDA
- حضنت الاطباق على درجة حرارة ٢٥ + ٢ ْم لمدة ثلاثة ايام
- تحديد صفاتها المزرعية والمظهرية
- شخصت ٢٠ عزلة من الفطر *T. paradoxa* و ١٢ عزلة من الفطر *T. punctulata*


سلسلة الابواغ الكلاميدية غير الناضجة
سلسلة الابواغ الكلاميدية الناضجة
الابواغ الكونيدية
سلسلة الابواغ الكونيدية
الحامل الكونيدي

الحامل الكونيدي

الابواغ الكونيدية

الابواغ الكلاميدية
المفردة



اختبار القابلية المرضية لعزلات النوعين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata* على جريد النخيل

قطع بطول ١٥ سم من جريد النخيل صنف الزهدي ومن الدوار الرابع للنخلة ثم ثقبت

عقمت القطع بمحلول هابوكلورات الصوديوم تركيز ١٠% لمدة ثلاث دقائق بعدها غسلت ثلاث مرات بماء مقطر معقم وجففت

لقحت ثقوب قطع الجريد بالفطرين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata*

وضعت قطع الجريد الملقحة في دوارق معقمة محكمة الغلق تحتوي على ماء فسيولوجي حضنت على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ م°

اخذت النتائج بعد اسبوعين من التلقيح بالفطرين الممرضين بحساب شدة الاصابة

الدليل المرضي لحساب شدة الاصابة على الجريد

درجة الاصابة	قطر البقعة سم
٠	لا توجد اصابة
١	٠,١ – ١
٢	١,١ – ٢
٣	٢,١ – ٣
٤	غير محددة

اختبار القابلية المرضية لعزلات النوعين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata* على الشتلات

تحضير الشتلات

تنقيع البذور لمدة ٢٤ ساعة بالماء

نشرت على ورق ترشيح رطب وغطيت به ايضا في دوارق محكمة الغلق

وبعد ٧ ايام بدأت البذور بالانبات تباعاً

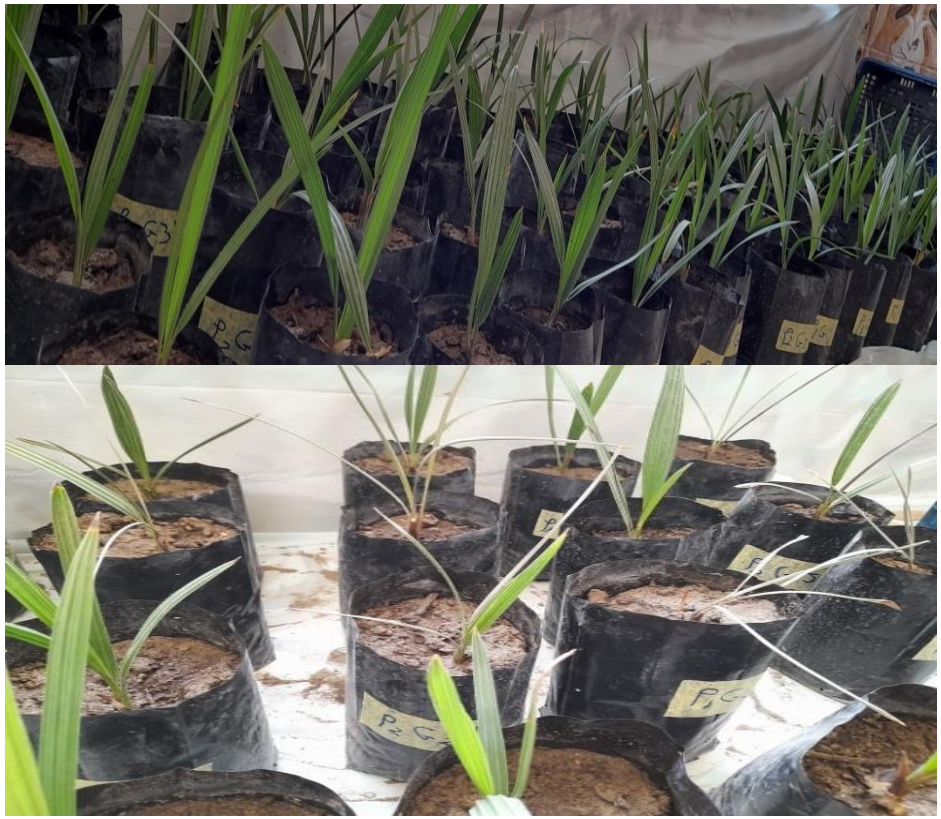
زراعة البذور النابتة باصص صغيرة الحجم تحوي تربة مزيجية ثم باكياس اكبر حجما.

وبعد ذلك تمت زراعتها في اكياس ذات حجم ١٠ كغم

اختبار الامراضية

تنمية عزلات كل من الفطرين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata*

تحضير اللقاح



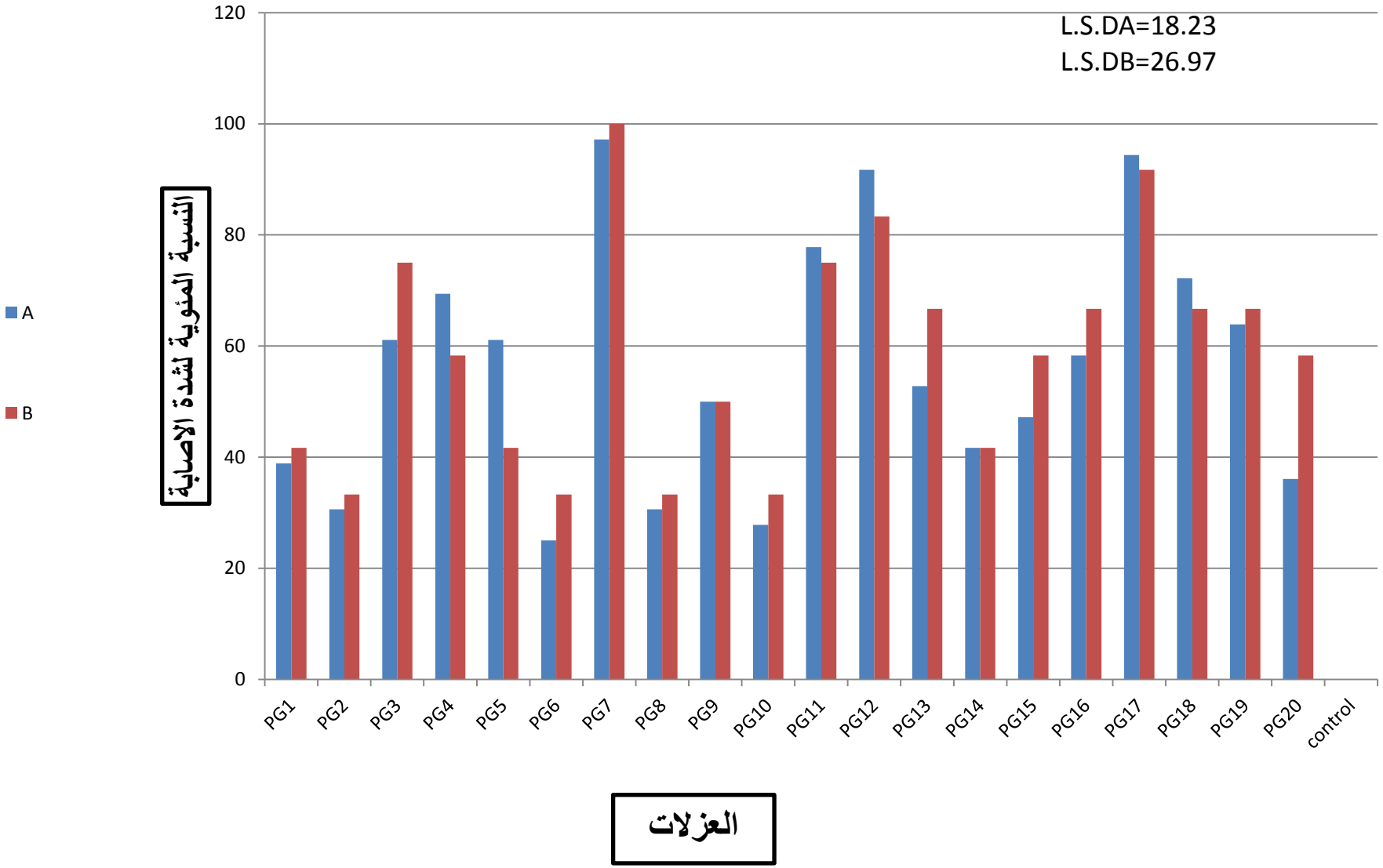
تلقيح الشتلات بالفطر *T. Punctulata* بتركيز ٥ × ١٠^٤ بوغ/مل والفطر *T. paradoxa* بتركيز ٤ × ١٠^٦ بوغ/مل

تغطية الشتلات

حساب شدة الاصابة

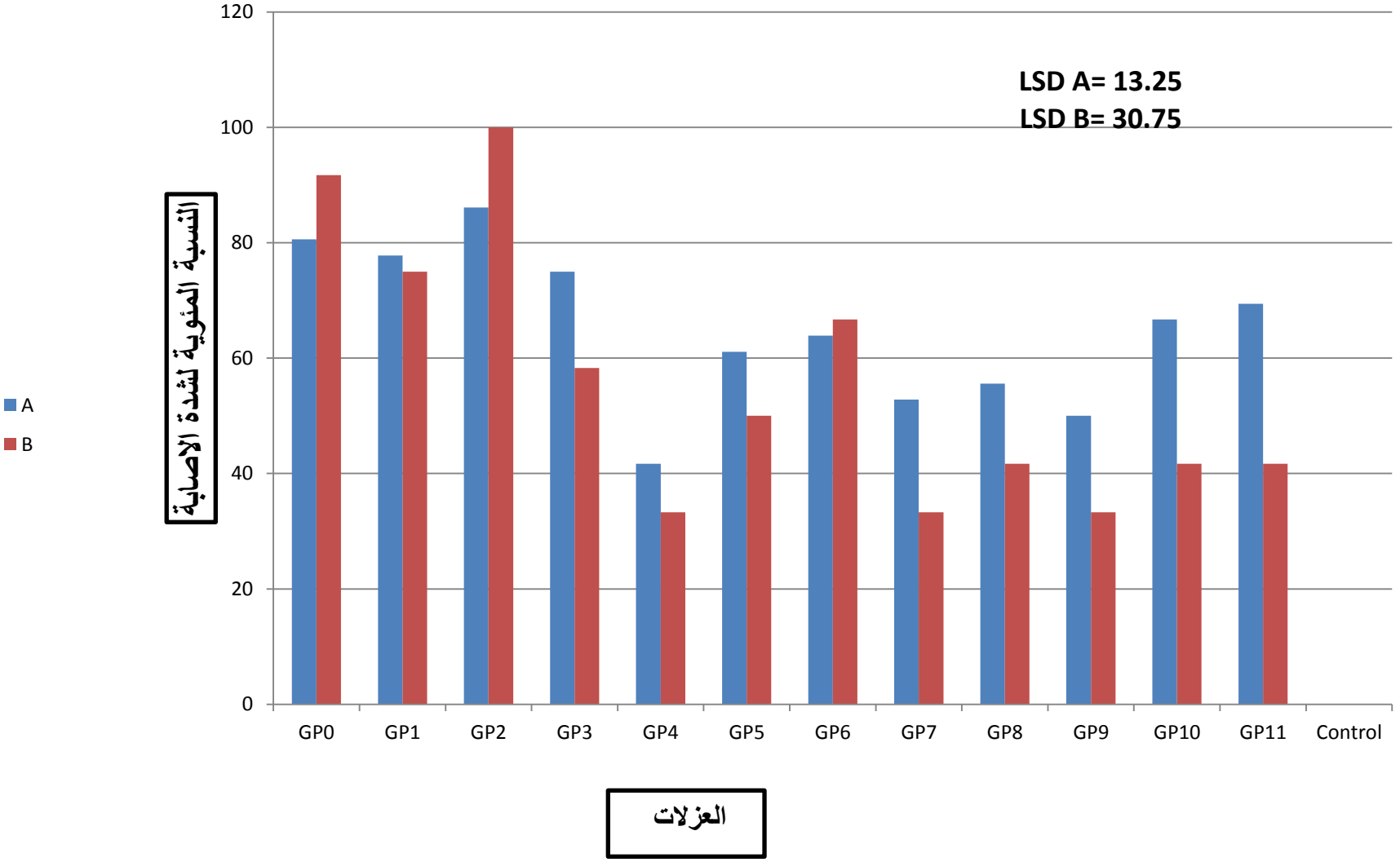
الدليل المرضي لحساب شدة الاصابة على شتلات نخيل التمر

درجة الاصابة	الاعراض
٠	لا يوجد ذبول
١	ذبول ١/٤ الأوراق
٢	ذبول ٢/١ الأوراق
٣	ذبول ٤/٣ الأوراق
٤	ذبول جميع اوراق الشتلة



القابلية الامراضية لعزلات الفطر *T. paradoxa* في جريد وشتلات نخيل التمر

A- شدة الاصابة في الجريد B- شدة الاصابة في شتلات النخيل



القابلية الامراضية لعزلات الفطر *T. punctulata* في جريد وشتلات نخيل التمر

A- شدة الاصابة على الجريد B- شدة الاصابة على شتلات النخيل

E A C

اعراض اصابة الجريد بالفطر *T. paradoxa* و الفطر *T. punctulata*

A- العزلة PG7 C- العزلة GP2 E- Control

اعراض اصابة شتلات نخيل التمر بعزلات الفطر
T. punctulata

اعراض اصابة شتلات نخيل التمر بعزلات الفطر
T.paradoxa

اعراض اصابة شتلات نخيل التمر بعد اسبوعين من غمرها في الراشح المغلي لعزلتي الفطرين الممرضين

A- راشح الفطر *T. paradoxa* PG7

B-راشح الفطر *T. punctulata* GP2

C- Control.

اعراض سعف نخيل التمر بعد اسبوع من غمرها في الراشح المغلي لعزلتي الفطرين الممرضين

A- راشح الفطر *T. paradoxa* PG7

B-راشح الفطر *T. punctulata* GP2

C- Control.

اعراض اصفرار جريد نخيل التمر بعد اسبوع من غمرها في الراشح المغلي لعزلتي الفطرين الممرضين

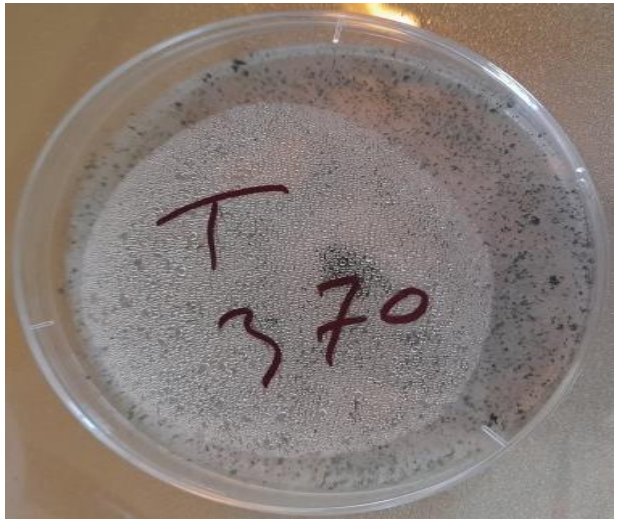
A- راشح الفطر *T. paradoxa* PG7

B-راشح الفطر *T. punctulata* GP2

C- Control.

عزل الفطر Trichoderma و البكتريا Bacillus من تربة وجذور واوراق اشجار نخيل التمر السليمة

عزل الفطر Trichoderma والبكتريا Bacillus من تربة جذور



اخذت عينات تربة من المنطقة الجذرية على عمق ٢٠سم من اشجار سليمة

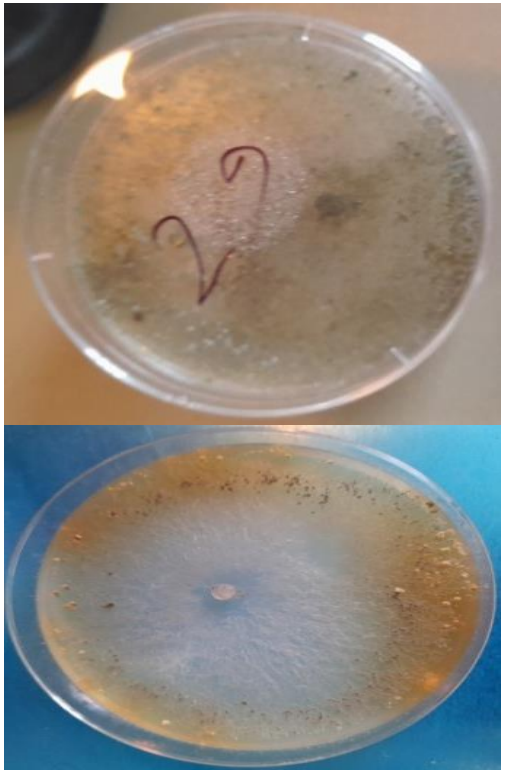
حضرت سلسلة من التخافيف لكل عينة من عينات التربة باضافة ١غم من كل عينة الى ٩ مل من الماء الفسيولوجي المعقم(٠.٨٥% كلوريد الصوديوم)

اخذ ١مل من هذا المعلق الى ٩ من الماء الفسيولوجي المعقم ومنه ١مل الى انبوبة اخرى وهكذا وصولا للتخفيف 10^{-5}

اخذ ٠.١ مل من كل تخفيف ونشر باستخدام ناشر على الوسط PDA وبثلاثة مكررات لكل تخفيف لعزل الفطر وحضنت الاطباق على درجة حرارة ٢٥ $\pm$ ٢ ْم.

ولعزل البكتريا سخنت انابيب الاختبار الحاوية على عالق التربة في حمام مائي على درجة حرارة ٨٠ درجة مئوية لمدة ٢٠ دقيقة لأجل العزل الانتقائي لبكتريا *Bacillus spp.*

جهزت اطباق بتري حاوية على الوسط NA واخذ ٠.١ مل من كل تخفيف ونشر باستخدام ناشر على الوسط NA وبثلاثة مكررات لكل تخفيف.



حضنت الاطباق على درجة حرارة ٣٠ ± ٢ ْم.

عزل الفطر Trichoderma و البكتريا Bacillus من الجذور والاوراق

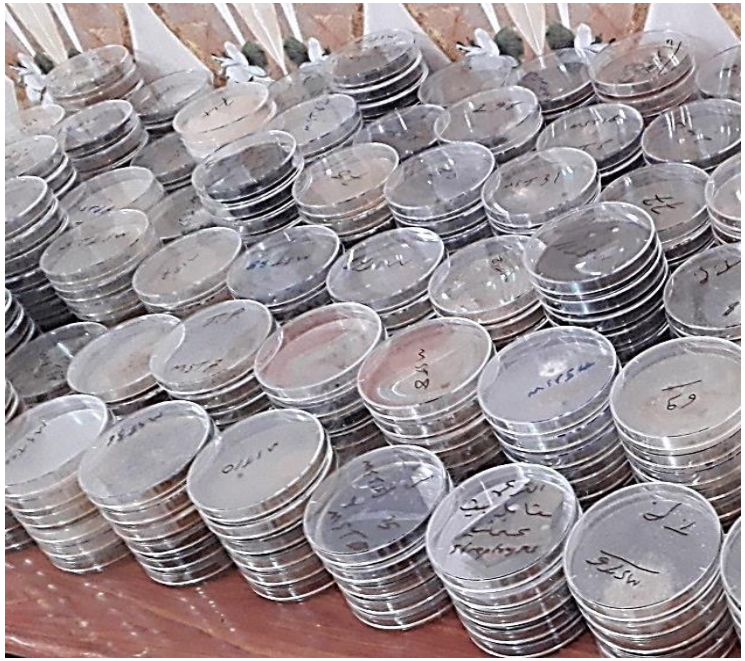
اخذت عينات جذور سطحية بعمق ٢٠ سم وعينات اوراق نشطة سليمة

غسلت العينات وعقمت القطع الصغيرة (٠.٥ – ١ سم) من سطحيا بالايثانول ٧٠% لمدة دقيقة

غمرت لمدة ثلاث دقائق بمادة هايبوكلورات الصوديوم ٢% ثم عقمت مرة اخرى بالايثانول ٧٠% لمدة ٣٠ ثانية وغسلت

زرعت القطع في أطباق بتري ثم حضنت

ولعزل البكتريا سحقت ١٠ غم من كل من الجذور والاوراق كل على انفراد في هاون خزفي بعد ان اضيف الى كل منها ٩٠ مل ماء مقطر معقم وسخن العالق على ٨٠ درجة مئوية لمدة ٢٠ دقيقة واخذ ١٠٠ مايكروليتر من كل منها لكل مكرر ونشرت على الوسط NAوحضنت على درجة حرارة ٣٠ ± ٢ ْم



استخدمت طريقة الزرع المزدوج لإختبار الفعالية التضادية لسلالات الفطر Trichoderma والبكتريا Bacillus تجاه النوعين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata*

وحسبت نسبة تثبيط النمو الشعاعي percentage of inhibition of radial growth (PIRG) للفطر الممرض بفعل الفطر Trichoderma وفق المعادلة التالية:

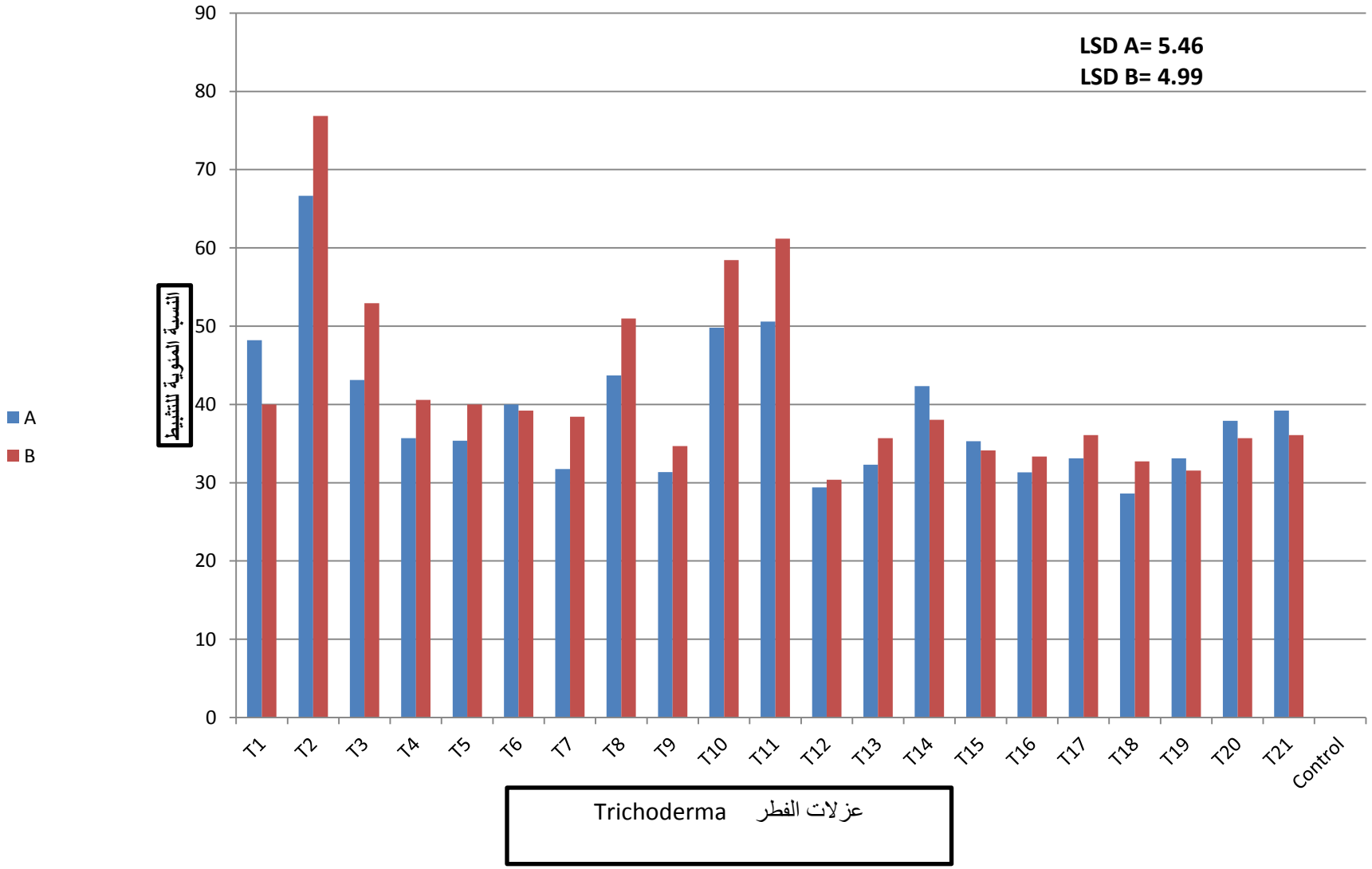
$$PIRG\% = (R1- R2)/ R1\times100$$

حيث PIRG النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي للفطر الممرض، R1 النمو الشعاعي للفطر الممرض في معاملة المقارنة، R2 النمو الشعاعي للفطر الممرض في معاملة الزرع المزدوج

وحسبت النسبة المئوية لتثبيط نمو الغزل الفطري للمرض بفعل البكتريا Bacillus وفق المعادلة التالية:

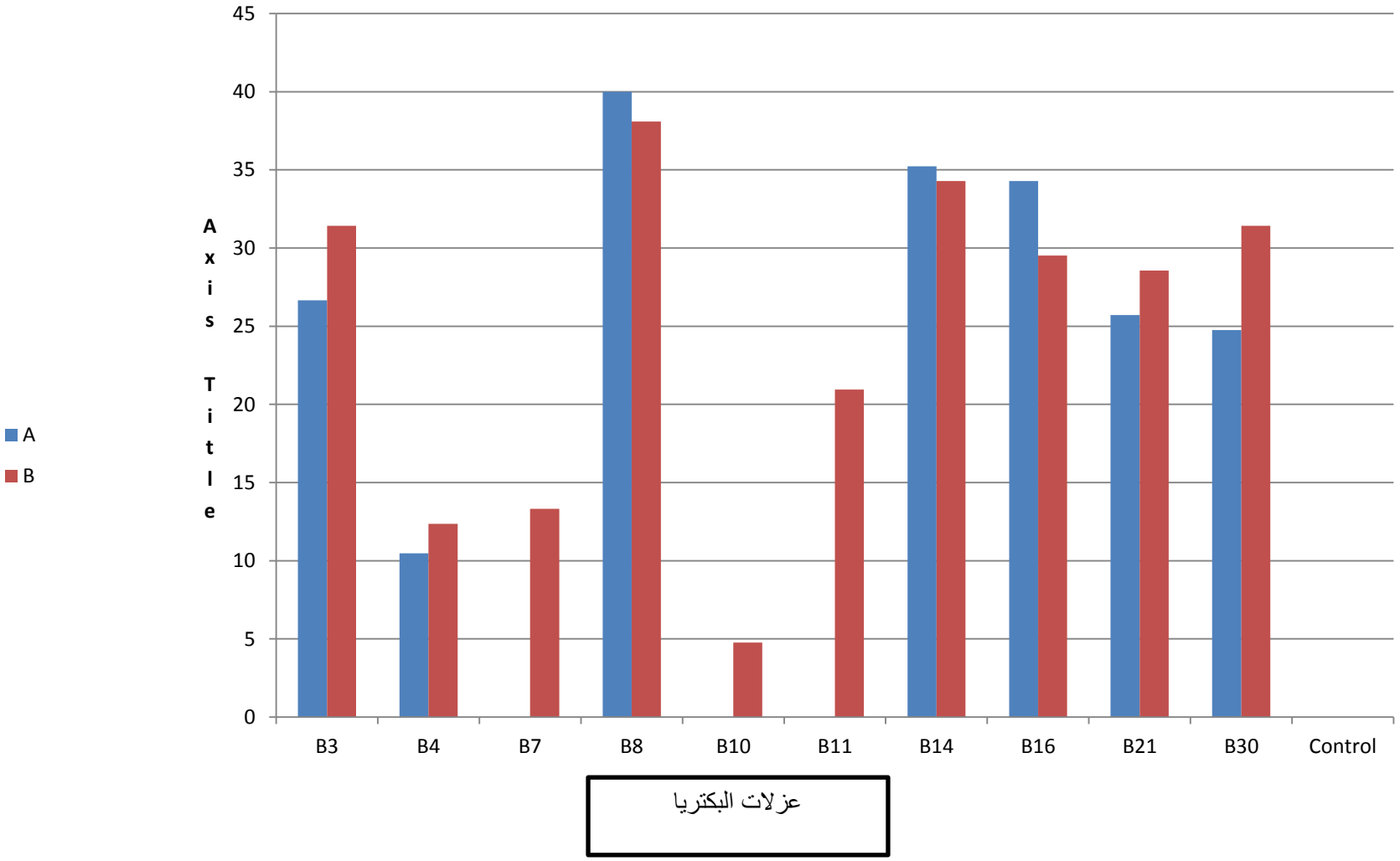
نسبة التثبيط% = ١ – (ب/أ) × ١٠٠

اذ تمثل أ مسافة نمو الفطر في طبق بتري الملقح بسلالة البكتريا و تمثل ب مسافة نمو الفطر في طبق المقارنة من دون بكتريا



قابلية عزلات الفطر Trichoderma في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *T. paradoxa* PG7 و *T. punctulata* GP2 باستخدام تقنية الزرع المزدوج على الوسط PDA

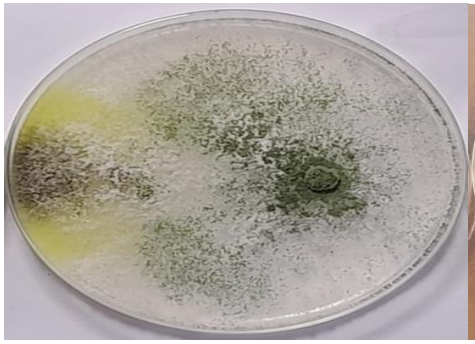
A- تثبيط الفطر *T. paradoxa* PG7 B- تثبيط الفطر *T. punctulata* GP2



فاعلية عزلات البكتريا Bacillus في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *T. paradoxa* PG7 و *T. punctulata* GP2 باستخدام تقنية الزرع المزدوج

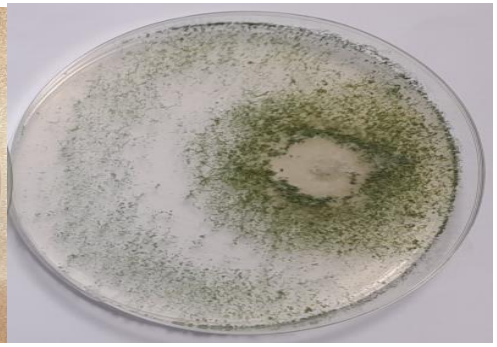
B

A

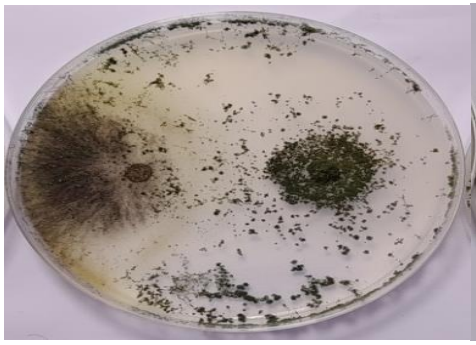


E

D

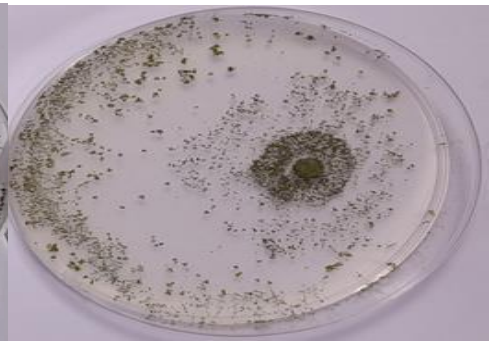


C



H

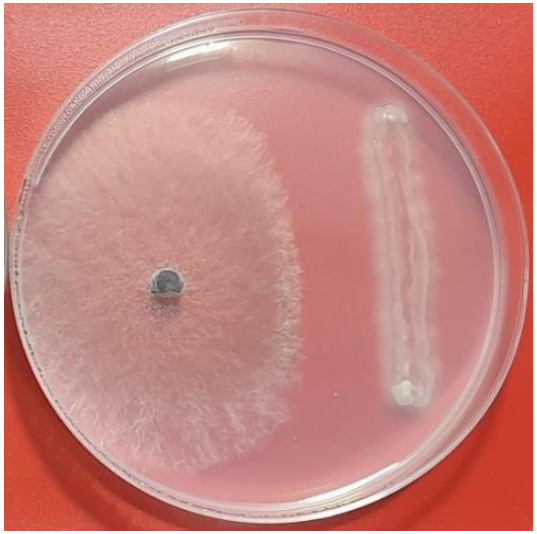
G



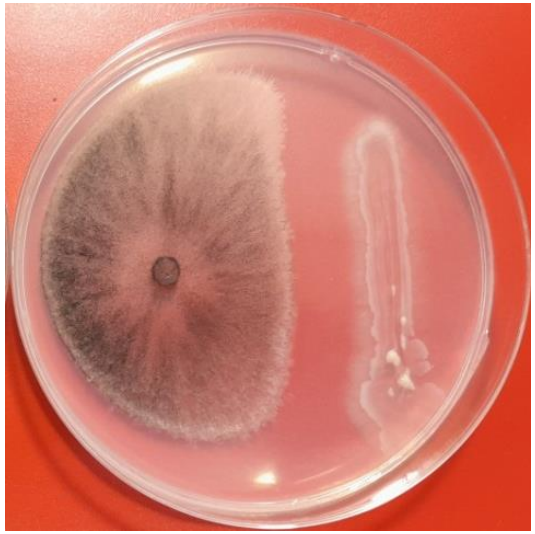
F

B

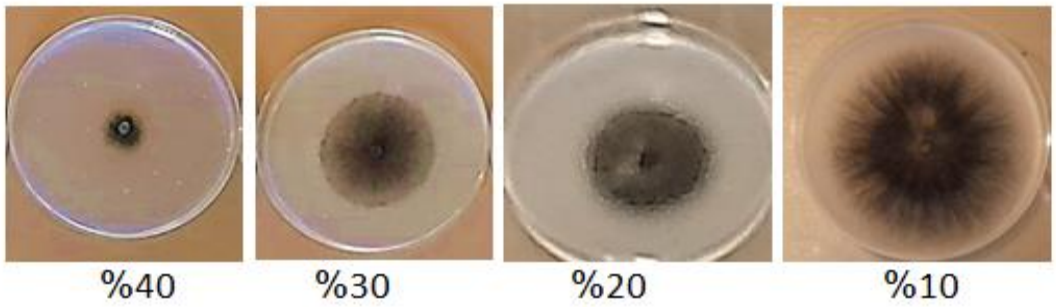
A



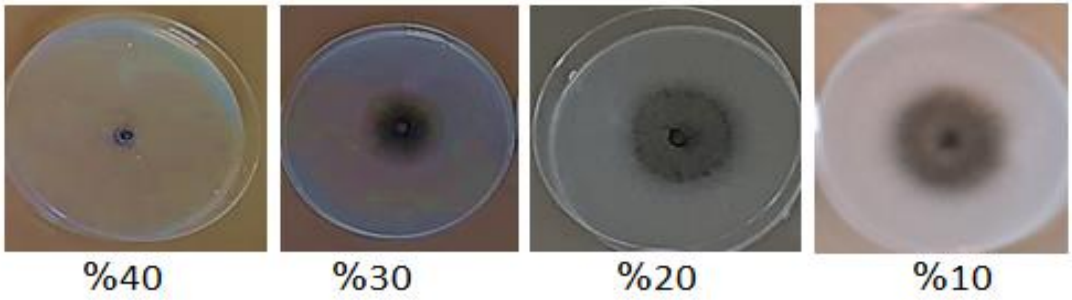
D



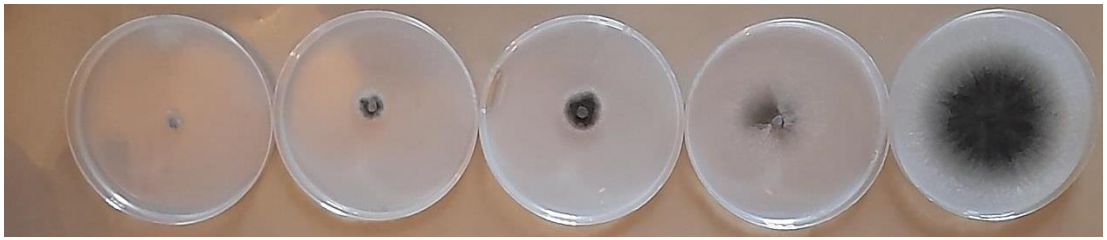
C



الاثر السمي لتراكيز مختلفة من راشح الفطر ***T.longibrachiatum*** في نمو الفطر ***T. paradoxa***

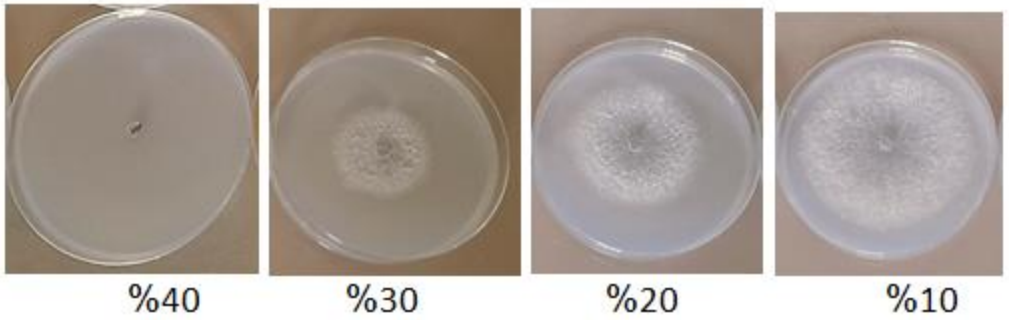


الاثر السمي لتراكيز مختلفة من راشح الفطر ***T.harzianum*** في نمو الفطر ***T. paradoxa***

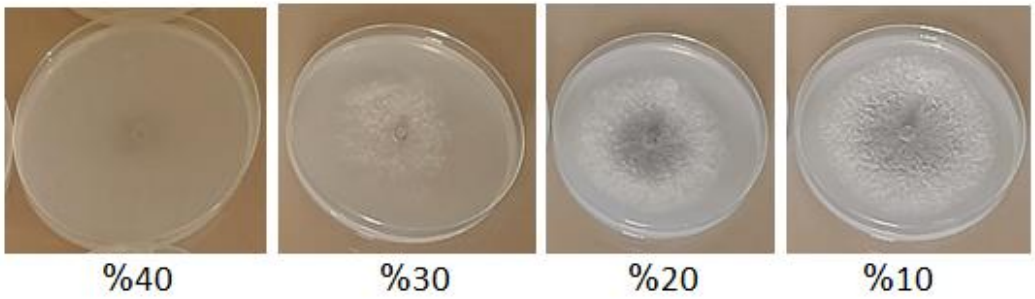


%٤٠ %٣٠ %٢٠ %١٠ Control

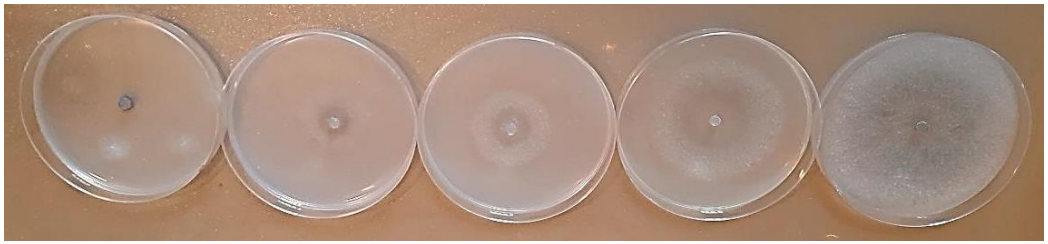
الاثر السمي لتراكيز مختلفة من راشح البكتريا ***B. subtilis*** في نمو الفطر ***T. paradoxa***.



الاثر السمي لتراكيز مختلفة من راشح الفطر *T.longibrachiatum* في نمو الفطر *T. punctulata* .



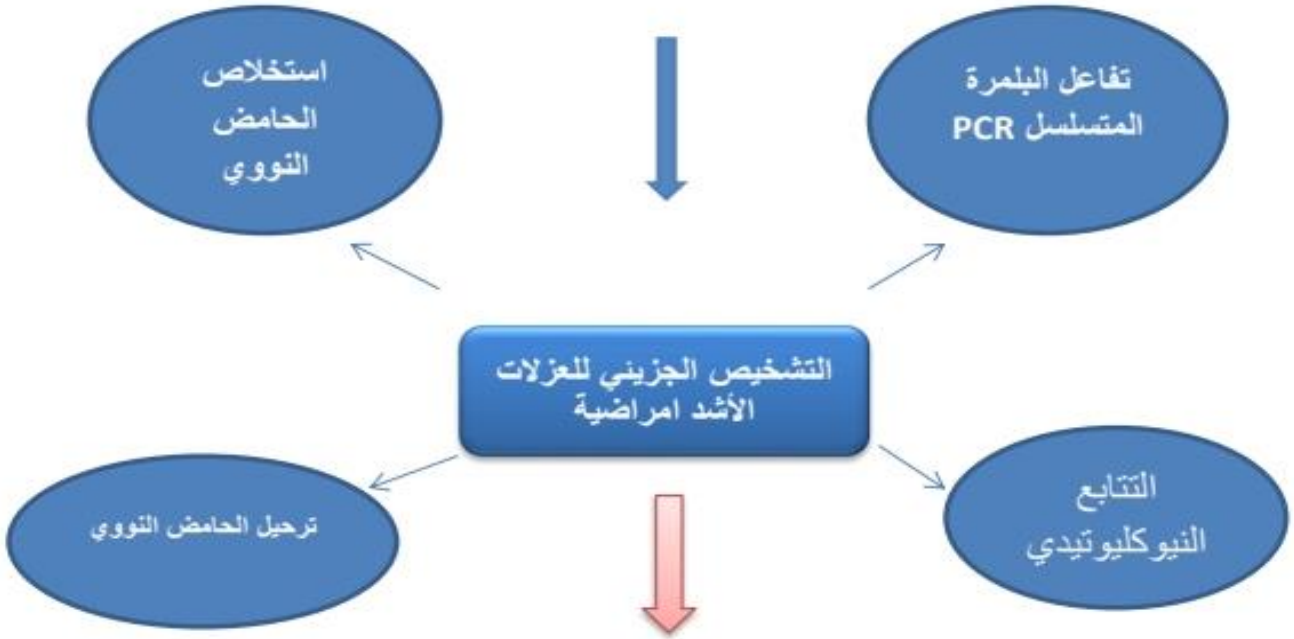
الاثر السمي لتراكيز مختلفة من راشح الفطر *T.harzianum* في نمو الفطر *T. punctulata*

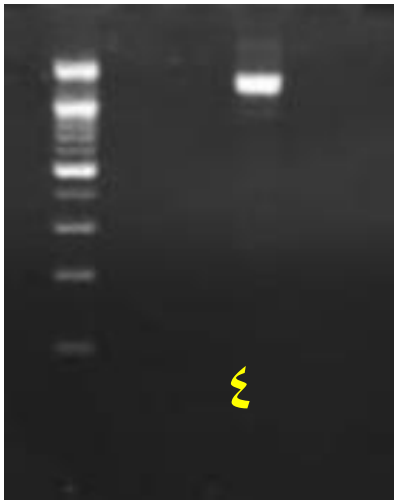


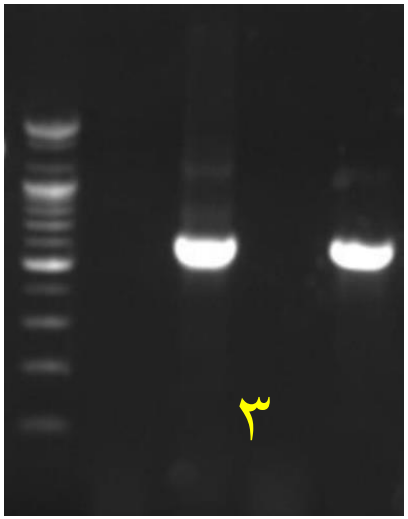
Control ١٠% ٢٠% ٣٠% ٤٠%

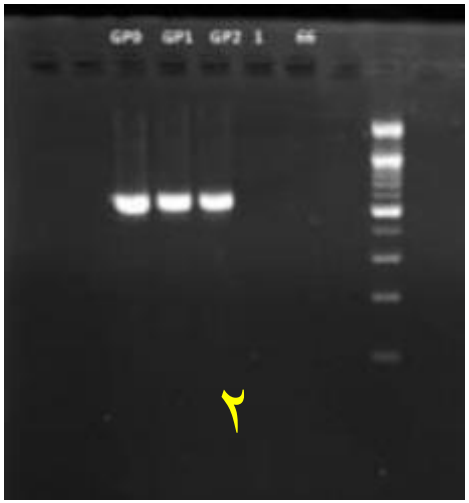
الاثر السمي لتراكيز مختلفة من راشح البكتريا *B. subtilis* في نمو الفطر *T. paradoxa*

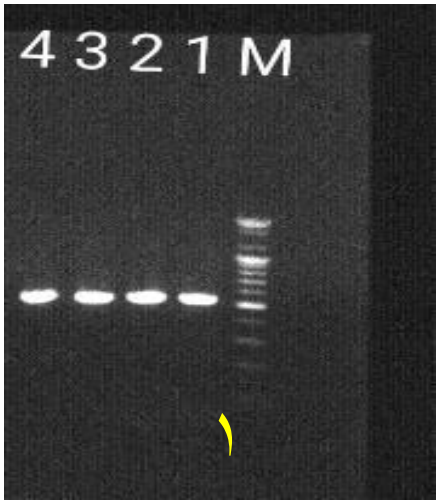
التشخيص الجزيئي لعزلات الفطرين *T. paradoxa* و *T. Punctulata*
الشرسة والعوامل الحيوية











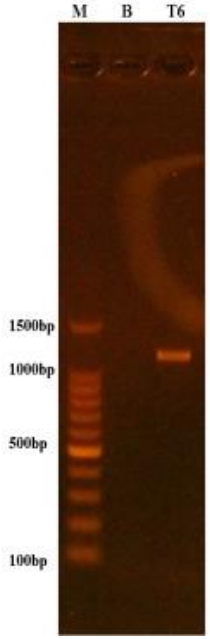
ت	العزلة	نسبة التطابق	bp	رقم الانضمام
١	*T.paradoxa* PG7	%٩٨	505	OQ448884
٢	*T.paradoxa* PG11	%٩٩,٤٩	506	OQ791414
٣	*T.paradoxa* PG12	%٩٨	491	OQ791411
٤	*T.paradoxa* PG17	%٩٨	506	PP502916
٥	*T. punctulata* GP0	%١٠٠	536	OQ302789
٦	*T. punctulata* GP1	%١٠٠	518	OQ421193
٧	*T. punctulata* GP2	%٩٩,٤٤	517	OQ427358

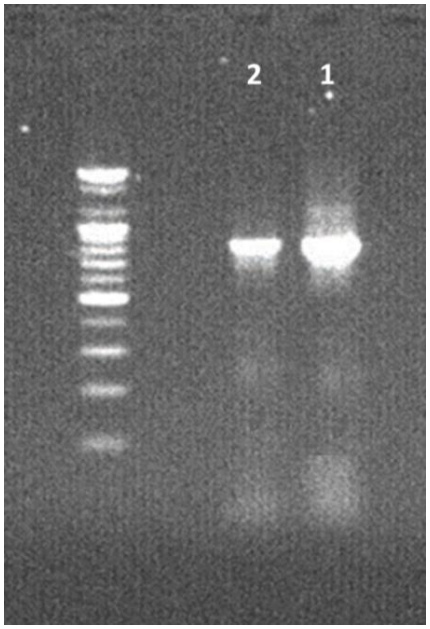
ت	العزلة	نسبة التطابق	bp	رقم الانضمام
١	*T. harzianum*	%٩٤,٧٠	816	LC773559
٢	*T. longibrachiatum*	%٩٩	413	LC770387
٣	*B.subtilis*	%٩٢	1.046	LC770388

التشخيص الجزيئي لبعض جينات الامراضية Cut و Top و TR16 و HOG1 و Erf2 و EF1 للفطر *T.paradoxa* و الفطر *T.punctulata* بتقانة PCR:

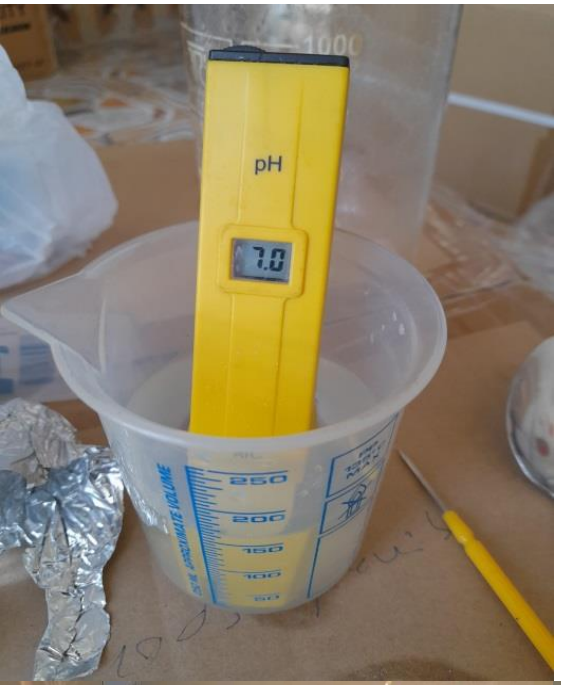
كشفت نتائج الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لجينات الامراضية ظهور حزمتين للجين EF1 عندما استخدمت نوعين مختلفين من البوادئ لتضخيم هذا الجين في الفطر *T.paradoxa*. وظهرت حزمة لهذا الجين على هلام الاكاروز للفطر *T. punctulata*

واجري تحليل تطابق تتابعات القواعد النتروجينية لجين EF1 للفطر *T.paradoxa* وظهرت بانها تعود للفطر *T.paradoxa* وتم ايداع التتابعات النيوكليوتيدية لهذا الجين في المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية برقم انضمام PP646060



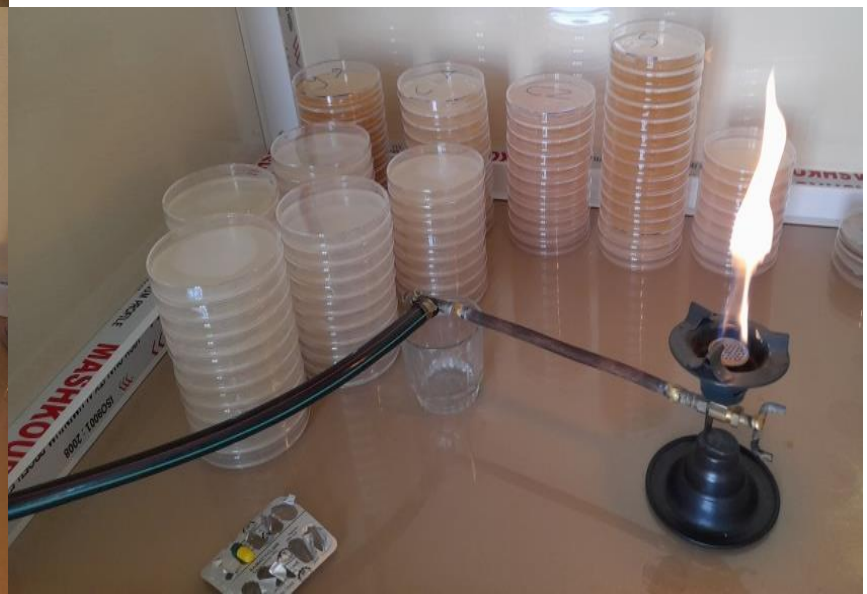


دراسة أثر العوامل البيئية في نمو عزلات النوعين الممرضين *Thielaviopsis paradoxa* و *Thielaviopsis punctulata*

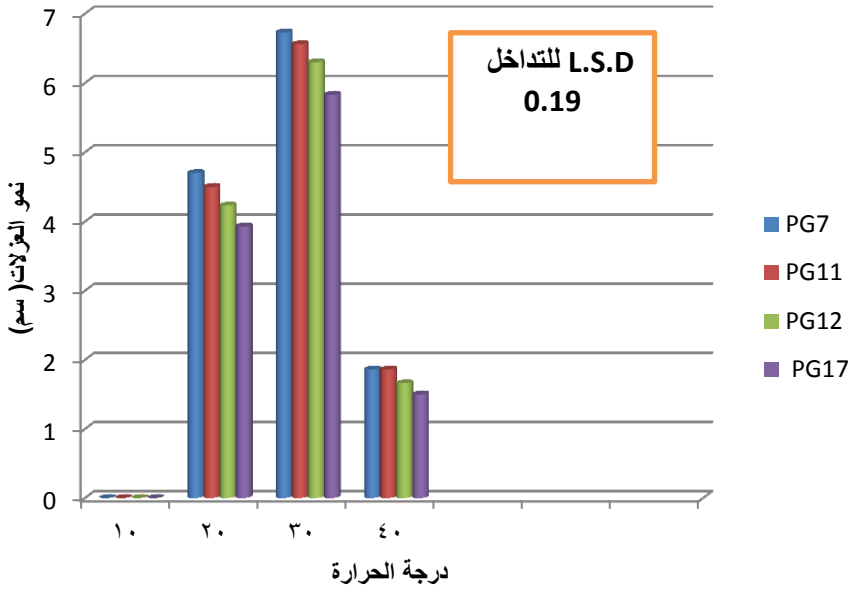


درجة الحرارة (١٠، ٢٠، ٣٠، ٤٠ درجة مئوية)
درجة الحموضة (٤، ٥، ٦، ٧، ٨، ٩)
الاوساط الزرعية

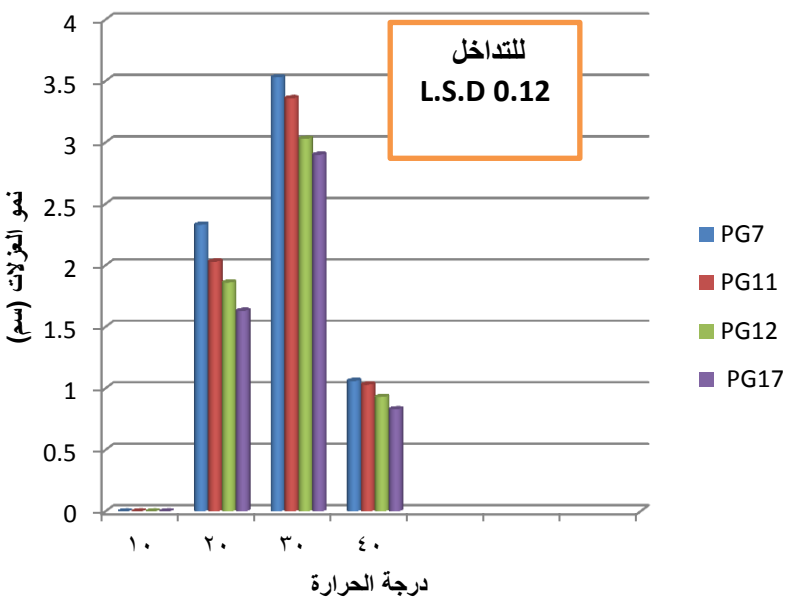
وسط اكار دكستروز البطاطا Potato Dextrose Agar Media(PDA) و وسط الدكستروز كزابك Czapek dox Agar(CDA) و وسط سبرود Sabouraud's Agar(SA) و وسط مستخلص الخميرة والدكستروز Yeast Extract Dextrose Agar(YDA) و وسط الماء والاكر (WA) Water Agar و وسط الجزر.



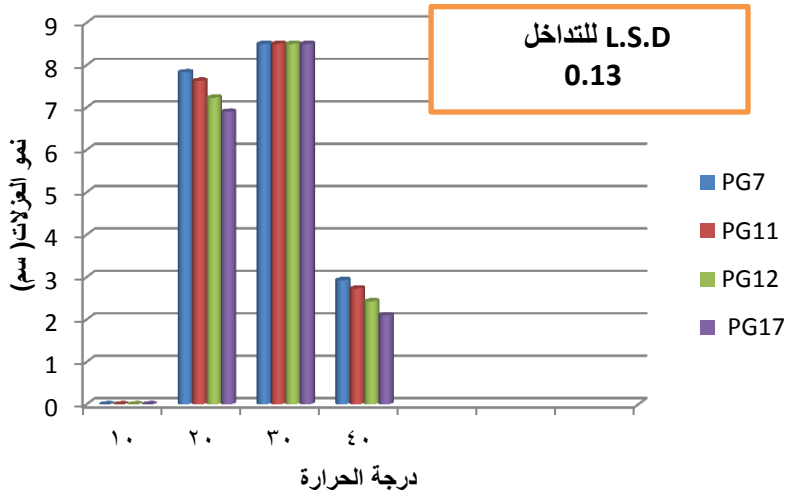
اجريت هذه الاختبارات على اربع عزلات من الفطر *T. paradoxa* وثلاث عزلات من الفطر *T. Punctulata*.



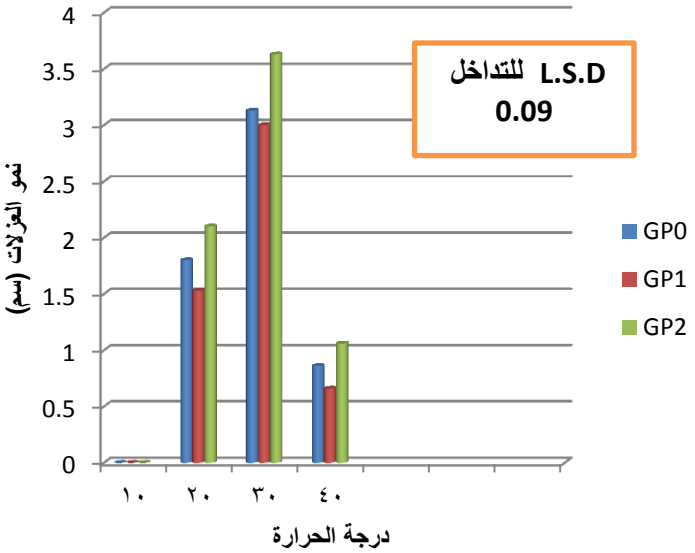
معدل نمو عزلات الفطر *T. paradoxa* في درجات حرارة مختلفة بعد ٤٨ ساعة.



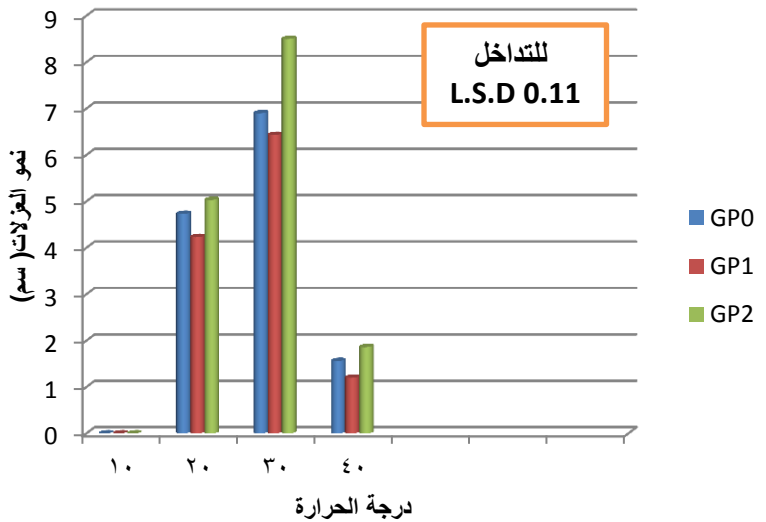
معدل نمو عزلات الفطر *T. paradoxa* في درجات حرارة مختلفة بعد ٢٤ ساعة



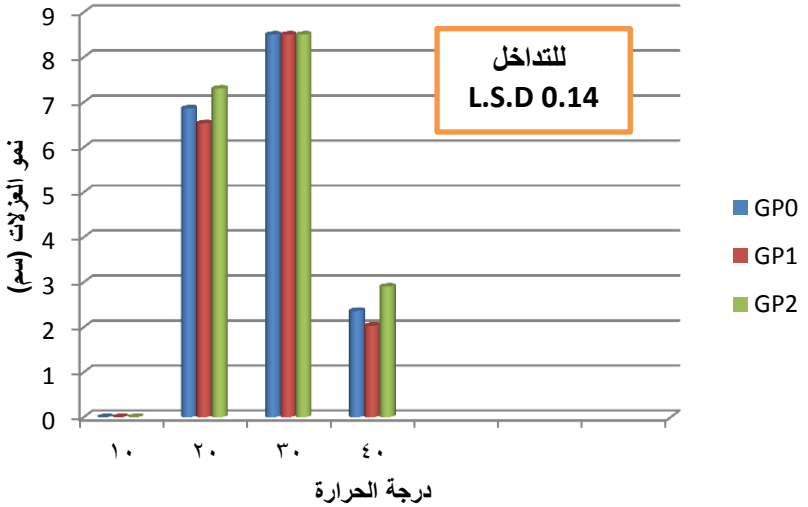
معدل نمو عزلات الفطر *T. paradoxa* في درجات حرارة مختلفة بعد ٧٢ساعة



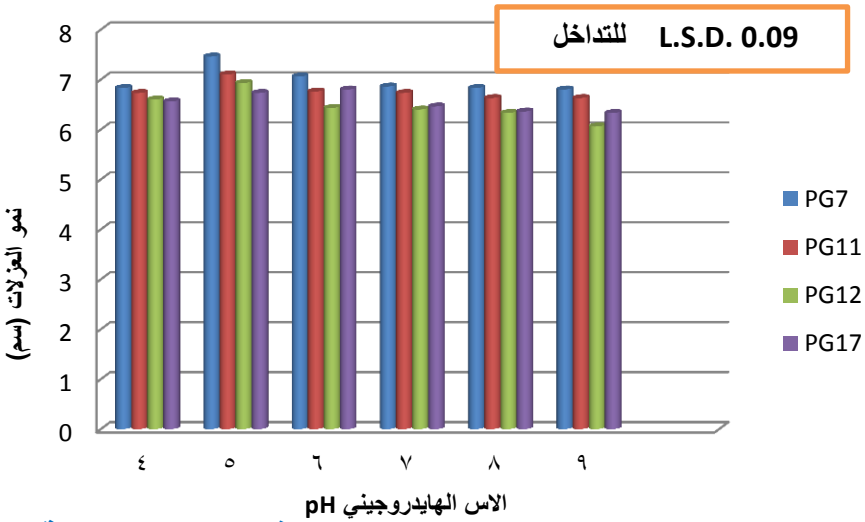
معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في درجات حرارة مختلفة بعد 24 ساعة



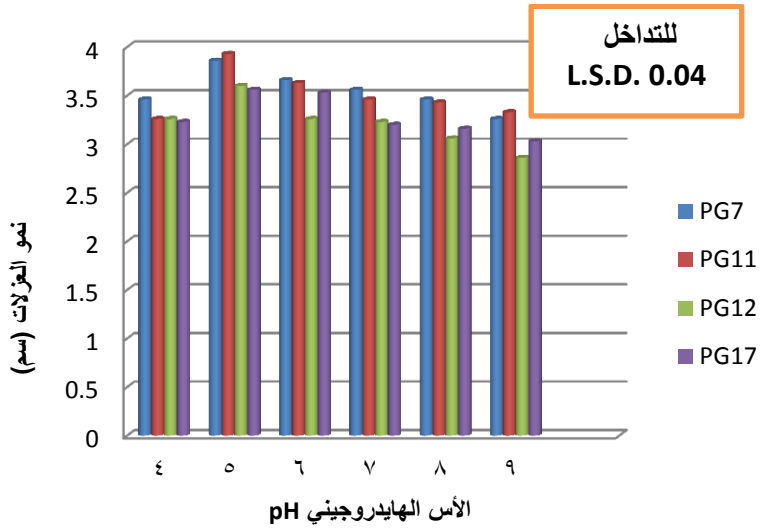
معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في درجات حرارة مختلفة بعد 48 ساعة



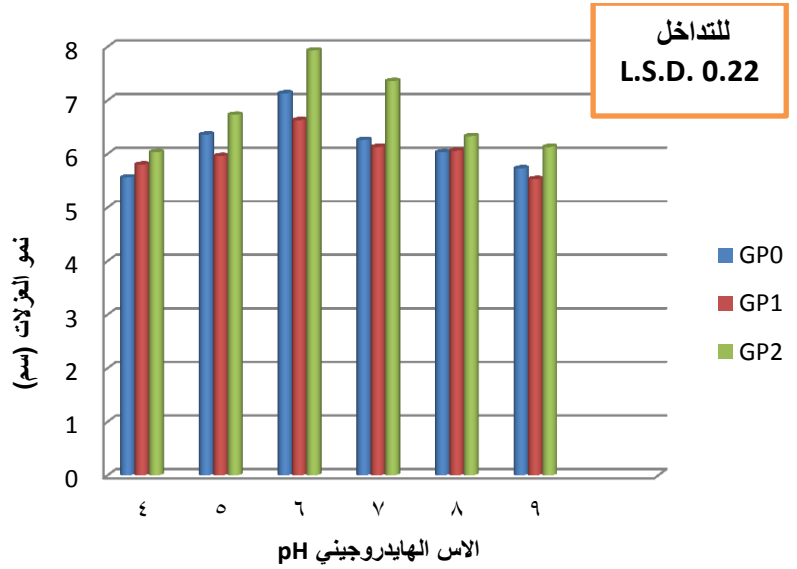
معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في درجات حرارة مختلفة بعد 72ساعة



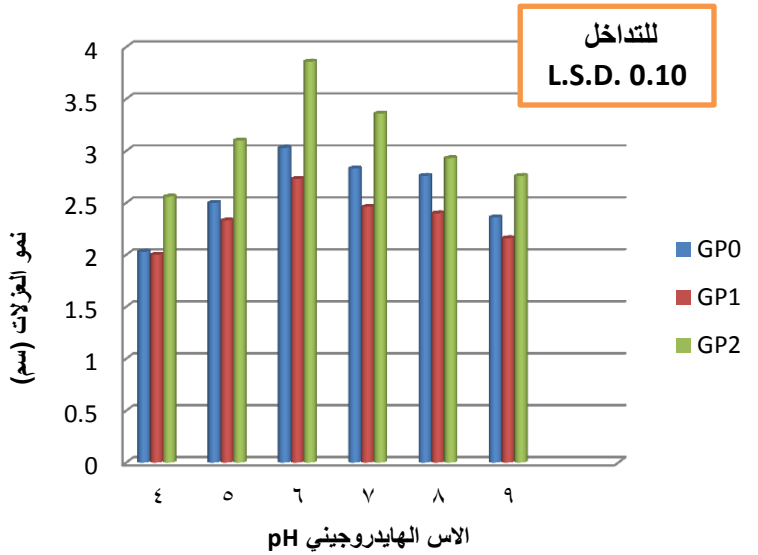
معدل نمو عزلات الفطر *T.paradoxa* في درجات مختلفة من الاس الهايدروجيني بعد ٤٨ ساعة



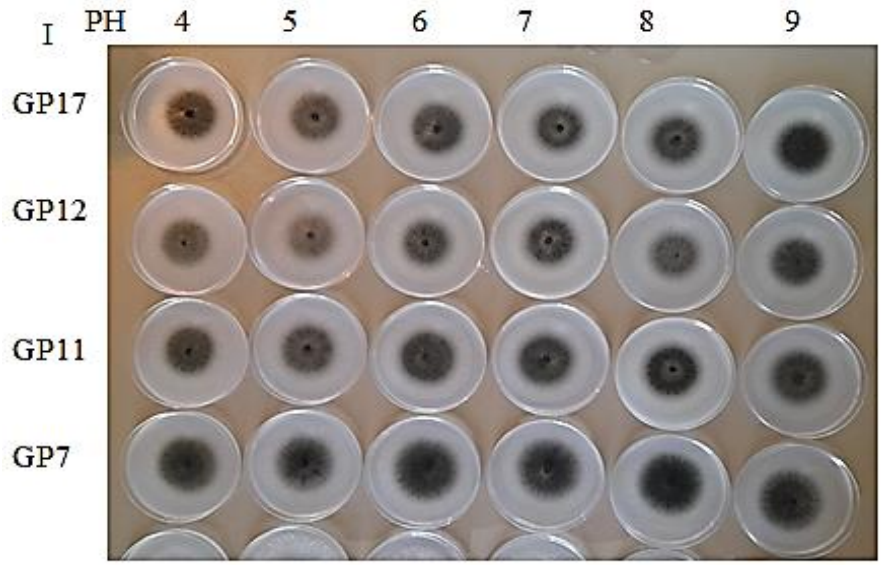
معدل نمو عزلات الفطر *T.paradoxa* في درجات مختلفة من الاس الهايدروجيني بعد ٢٤ ساعة.

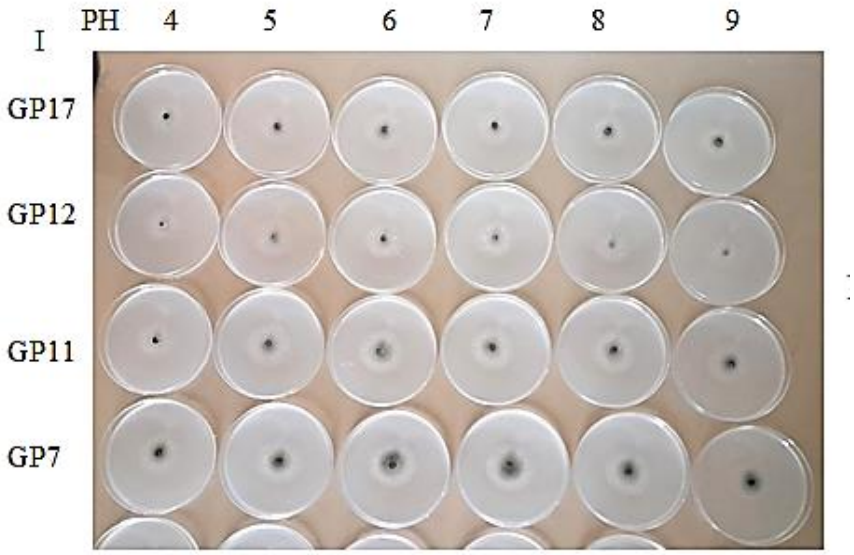


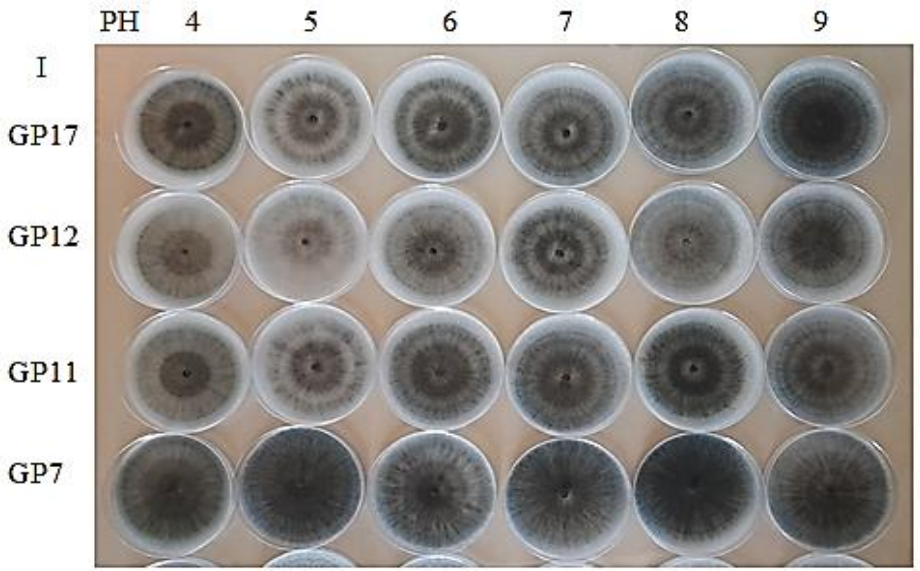
معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في درجات مختلفة من الاس الهايدروجيني بعد 48 ساعة.



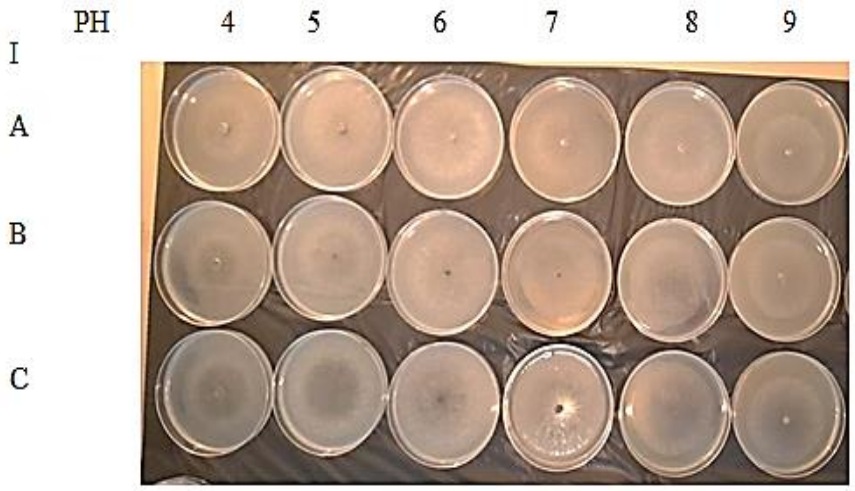
معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في درجات مختلفة من الاس الهايدروجيني بعد 24 ساعة

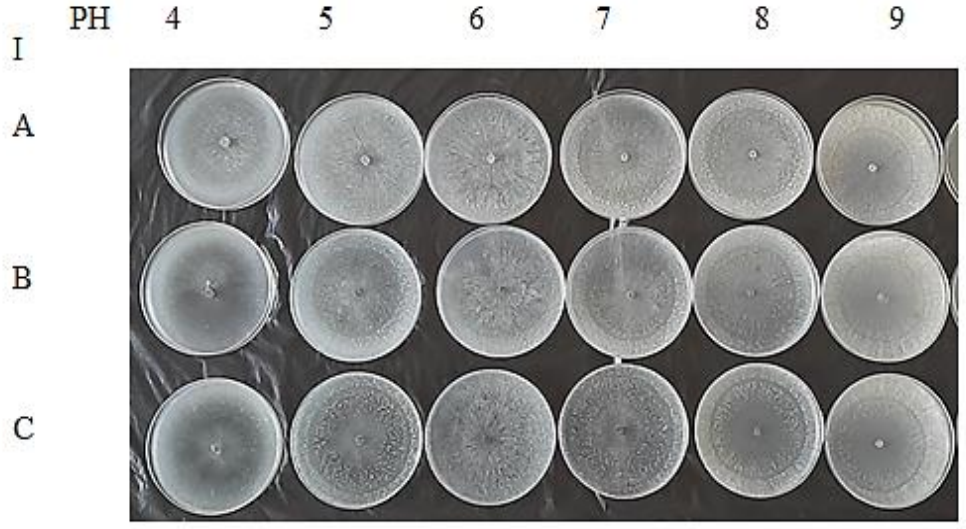




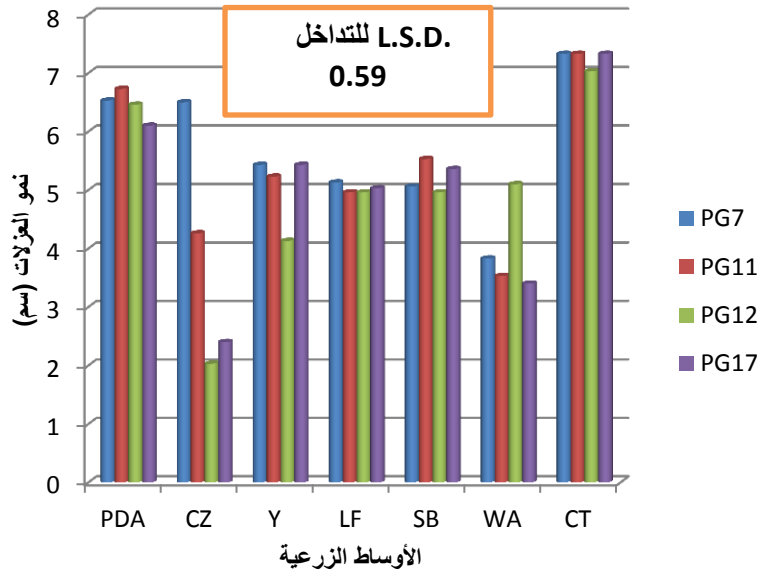


نمو عزلات الفطر *T.paradoxa* في درجات مختلفة من الاس الهايدروجيني بعد ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ساعة.

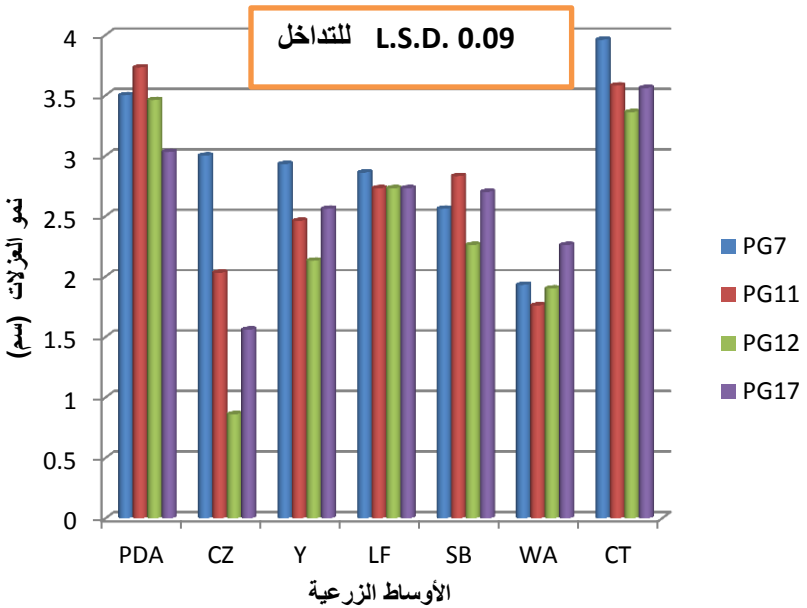




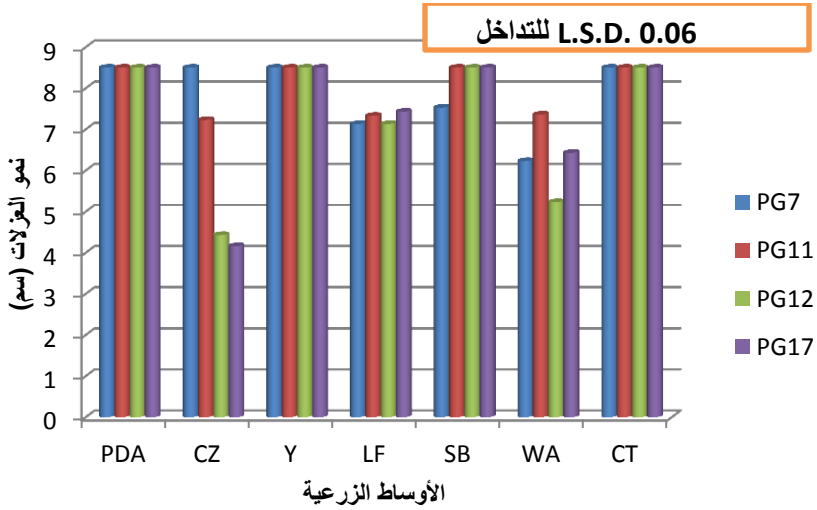
نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في درجات مختلفة من الاس الهايدروجيني بعد ٢٤و ٤٨و ٧٢ساعة



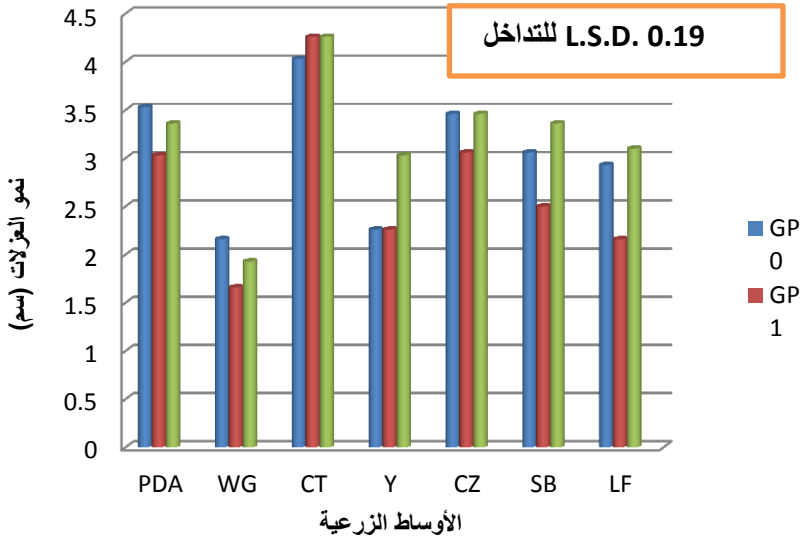
معدل نمو عزلات الفطر *T. paradoxa* في أوساط زرعيه مختلفة بعد ٤٨ ساعة



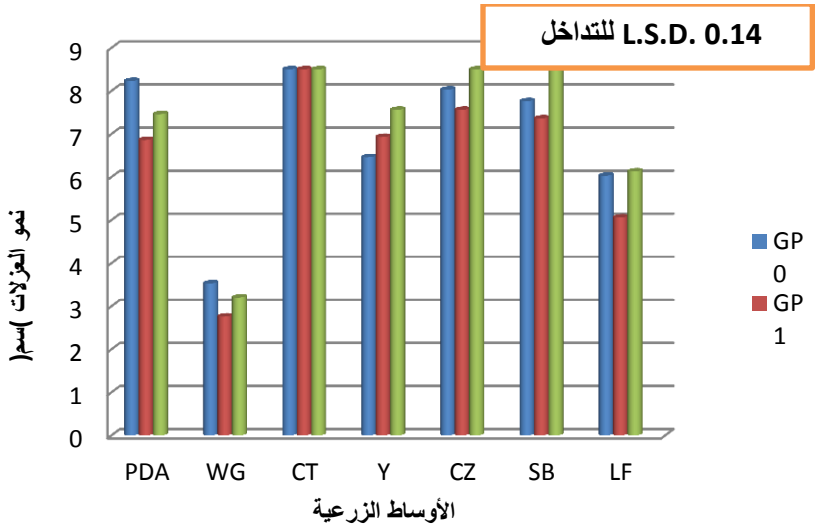
معدل نمو عزلات الفطر *T. paradoxa* في أوساط زرعيه مختلفة بعد ٢٤ ساعة



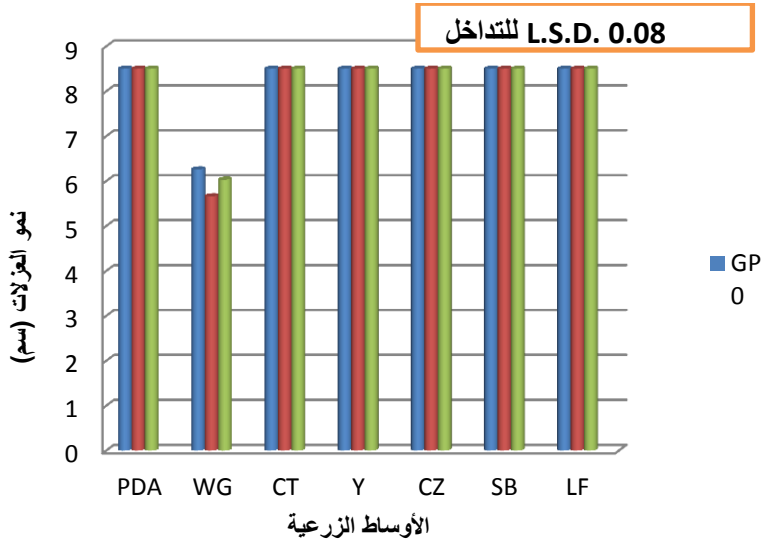
معدل نمو عزلات الفطر *T. paradoxa* في أوساط زرعيه مختلفة بعد 72 ساعة



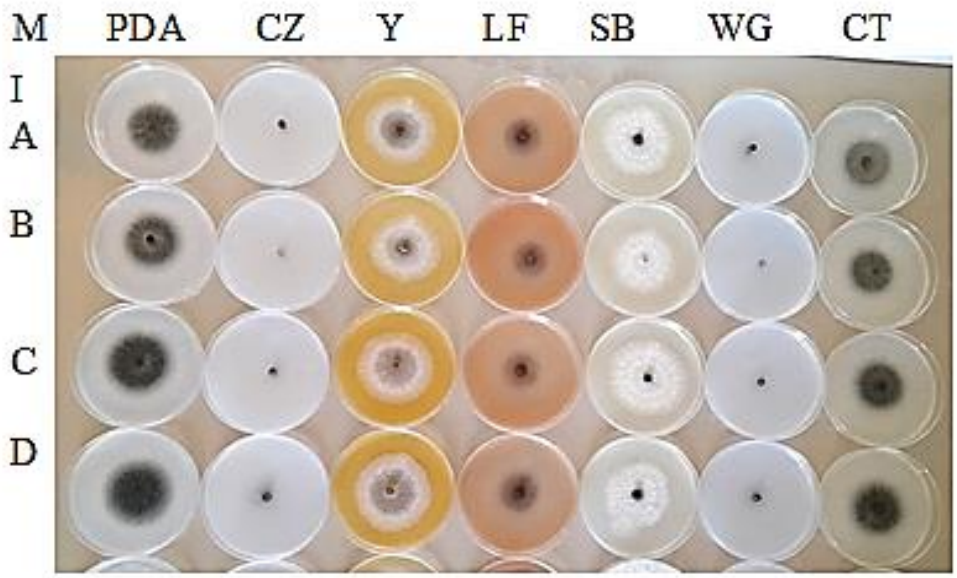
معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في أوساط زرعيه مختلفة بعد 24 ساعة

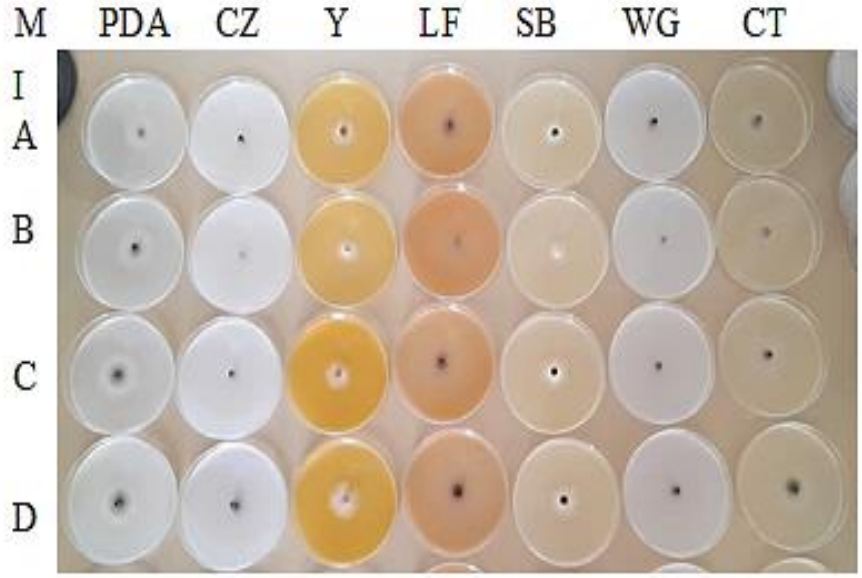


معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في أوساط زرعيه مختلفة بعد 48 ساعة

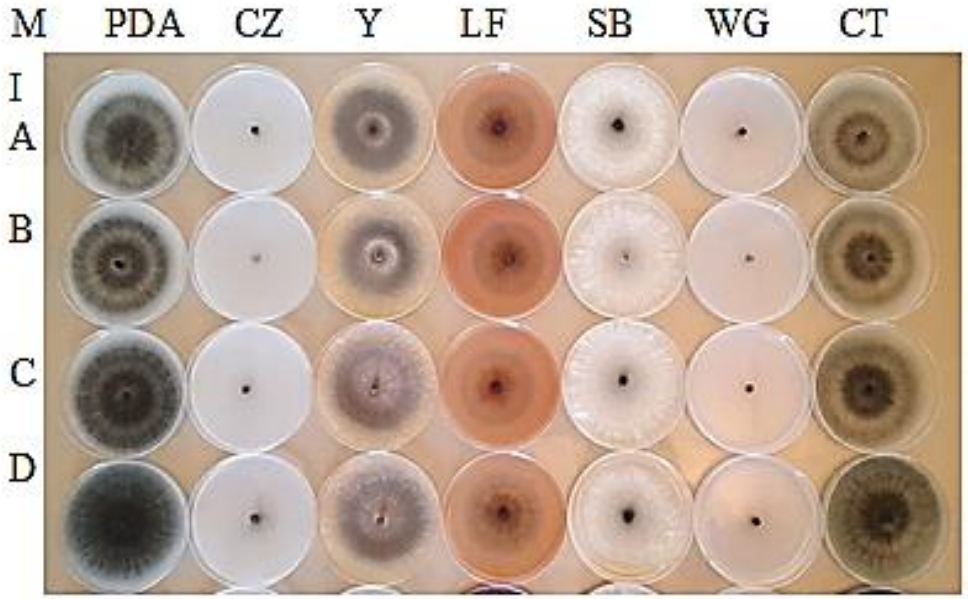


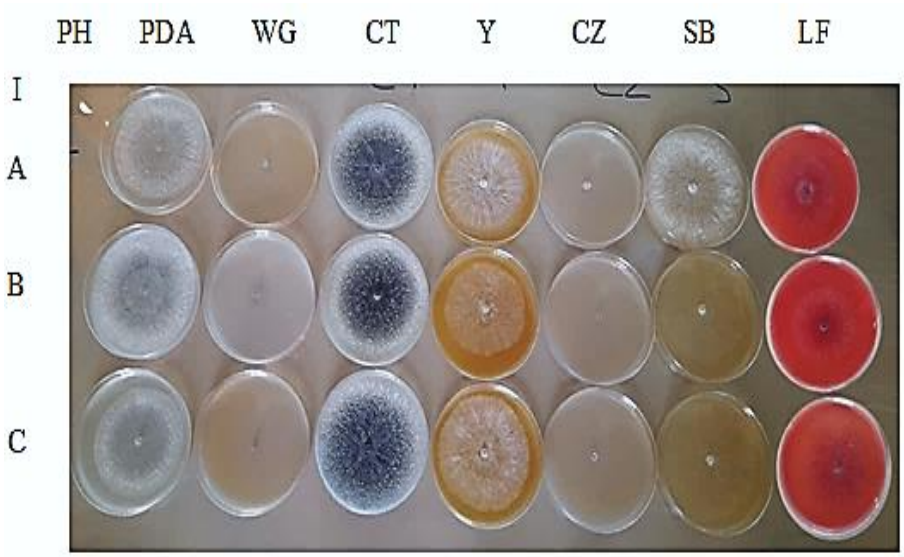
معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في أوساط زرعيه مختلفة بعد 72 ساعة

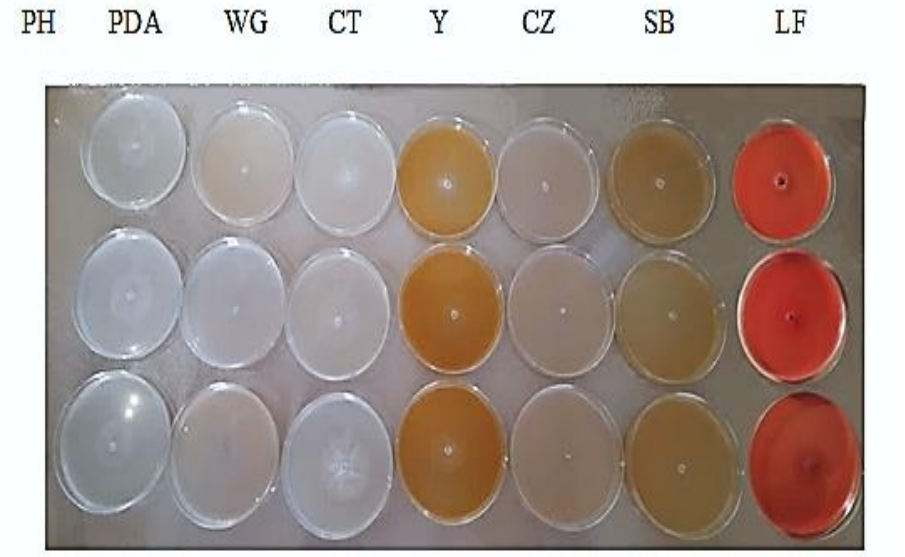


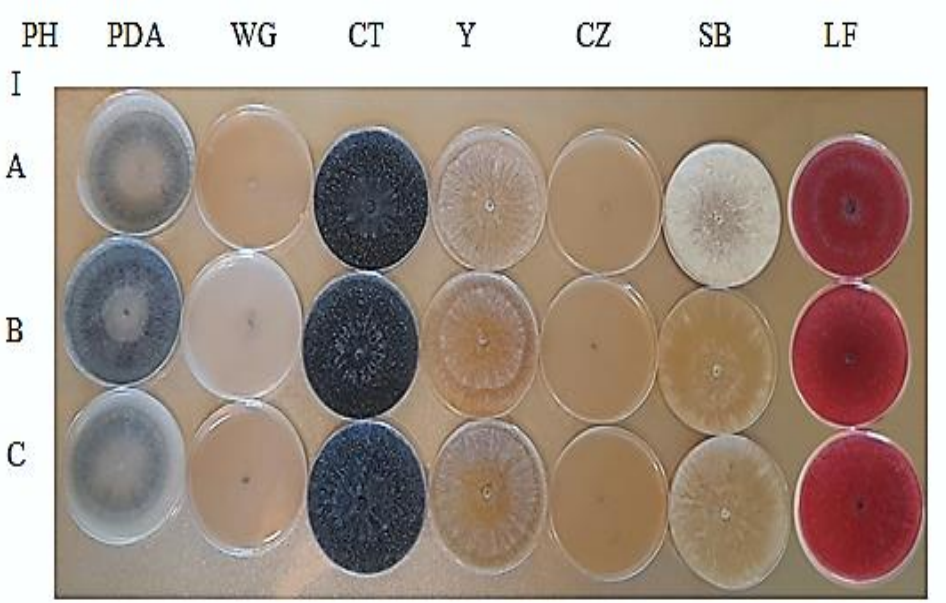


معدل نمو عزلات الفطر *T. paradoxa* في أوساط زرعيه مختلفة بعد ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ساعة









معدل نمو عزلات الفطر *T. punctulata* في أوساط زرعيه مختلفة بعد ٢٤ و ٤٨ و 72 ساعة

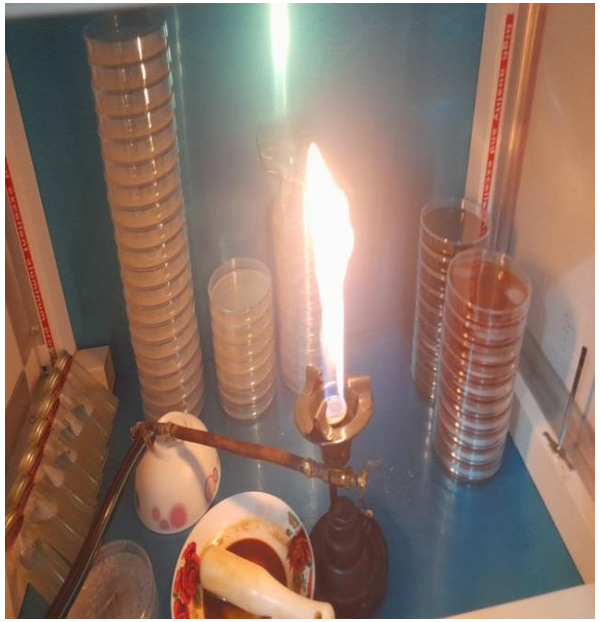
تحضير المستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز *Juglans regia*

اذيب ٦٠غم من مسحوق قلف اشجار الجوز في ٦٠٠ مل كحول اثيلي تركيزه ٩٩.٩% في قنينة زجاجية ذات حجم ١ لتر.

وضعت القنينة الحاوية على المزيج في هزاز كهربائي لمدة ٣ ساعات.

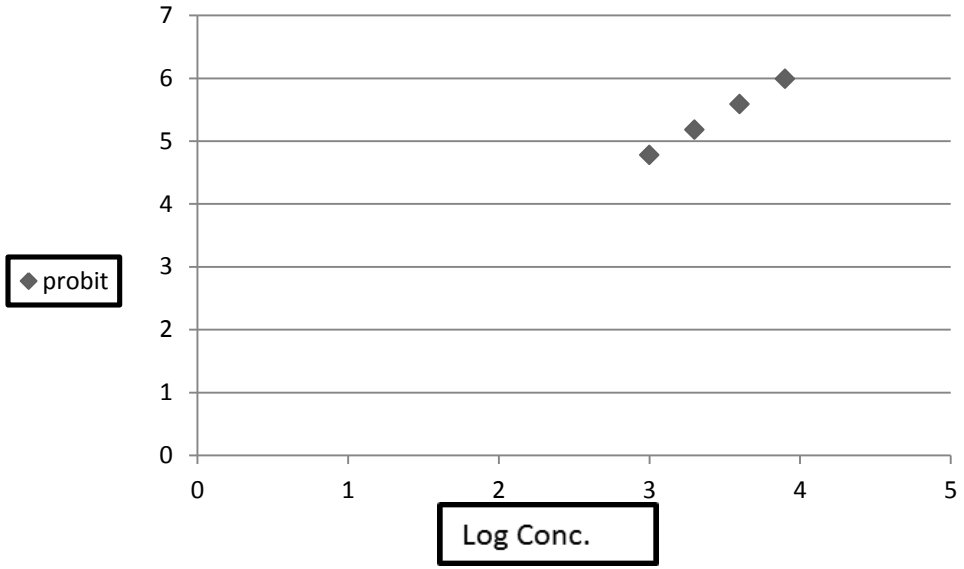
رشح المستخلص عبر قماش الململ للتخلص من الاجزاء الصلبة قبل اخضاعهما لعملية طرد مركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة بالدقيقة لمدة ١٠ دقائق

رشح المستخلص عبر ورق الترشيح Whatman No.1 قبل ازالة المذيب من العينة باستخدام المبخر الدوار Rotary evaporator تحت ضغط منخفض.

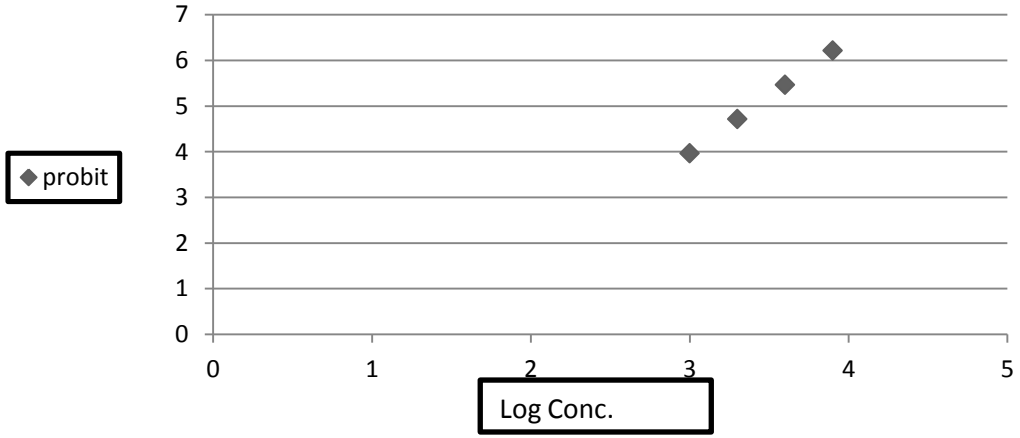


اختبار سمية المستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز *Juglans regia* في كل من النوعين الممرضين *Thielaviopsis paradoxa* و *Thielaviopsis punctulata*والنوعين الاحيائيين *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma longibrachiatum* والبكتريا الاحيائية *Bacillus subtilis*

- أستخدم الوسط الغذائي المسمم بأربعة تراكيز من المستخلص الكحولي لقلف الجوز
- وأستخدمت التراكيز ١٠٠٠، ٢٠٠٠، ٤٠٠٠، ٨٠٠٠، ١٦٠٠٠ ppm.
- صب الوسط الغذائي المسمم بتراكيز المستخلص كل تركيز على انفراد في اطباق بتري
- لقح مركز كل طبق بقرص قطره ٣ملم اخذ من حافة مستعمرة العوامل الفطرية بعمر ثلاثة ايام.
- اما معاملات البكتريا *B. subtilis* فقد اضيف ١.٠ مل ماخوذ من التخفيف السادس الى الوسط الغذائي المسمم
- وضعت اطباق المزارع الفطرية في الحاضنة على درجة حرارة ٢٥ ± ٢ ْم في حين وضعت اطباق المزارع البكتيرية في الحاضنة على درجة حرارة ٣٠ ± ٢ ْم.
- تم اعتماد قيمة EC50 Effective Concentration (التركيز الذي يؤدي إلى تثبيط ٥٠ % من نمو الفطر ، الذي تتماثل عنده درجة استجابة الأحياء) أساساً لمقارنة سمية المستخلص

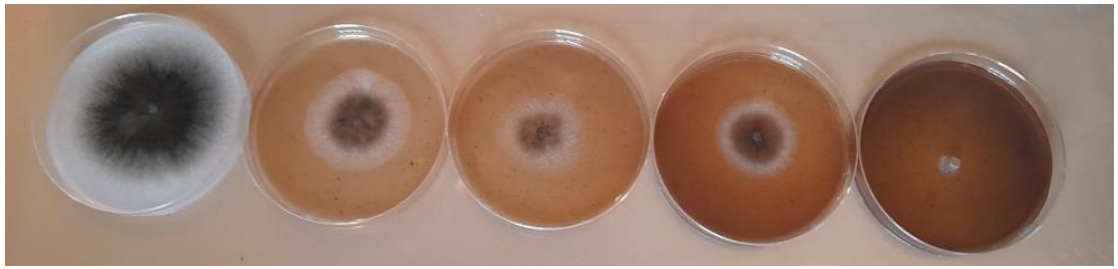


تحديد متوسط التركيز المؤثر EC50 للمستخلص الكحولي لقلف الجوز *J. regia* في نمو الفطر الممرض *T. paradoxa*

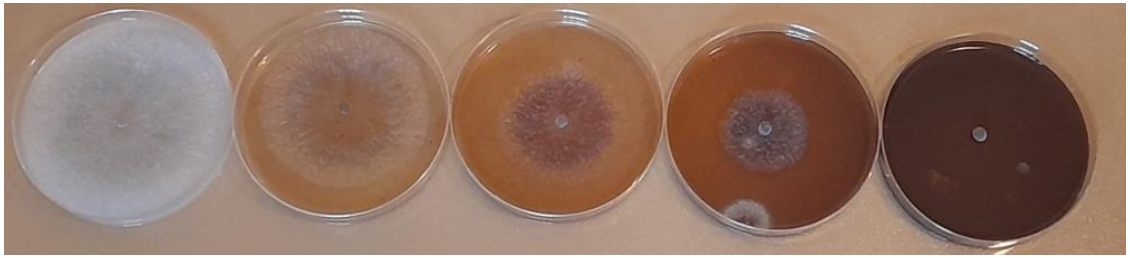


تحديد متوسط التركيز المؤثر EC50 للمستخلص الكحولي لقلف الجوز *J. regia* في نمو الفطر الممرض *T. punctulata*.

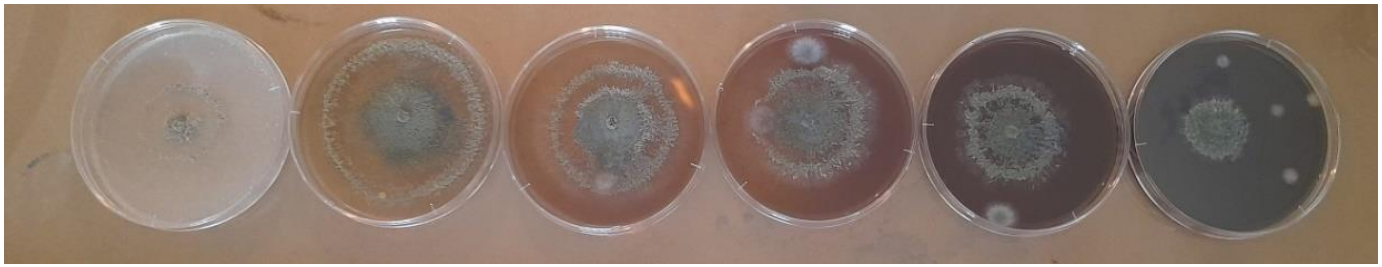
ت	العزلة	متوسط التركيز المؤثر ppm للمستخلص
١	*T.paradoxa*	١٥٨٤
٢	*T. punctulata*	٢٥١١
٣	*T. harzianum*	٩٥٤٩
٤	*T. longibrachiatum*	١٠٠٠٠
٥	*B. subtilis*	٦٣٠٩



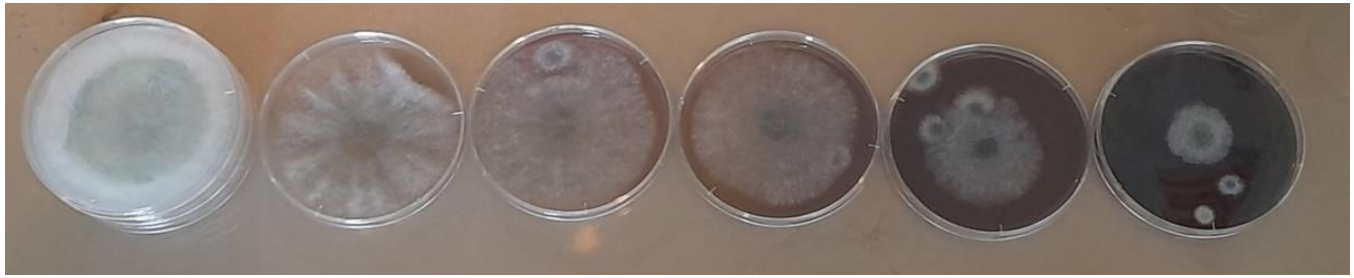
1



2



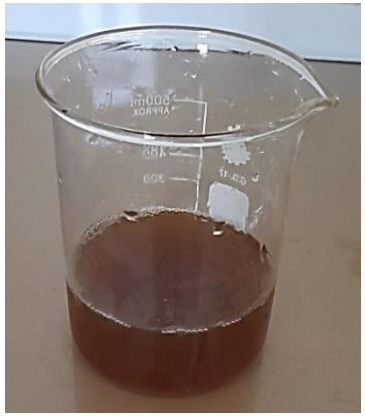
3



4

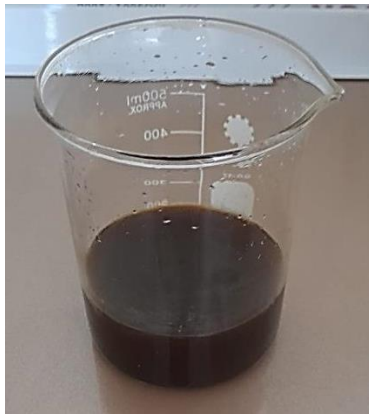
صورة 43. تأثر تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لقلف الجوز *J. regia* في نمو الفطرين الممرضين 1- *T. paradoxa* 2-*T. punctulata* والفطرين الاحيائيين 3- *T. longibrachiatum* 4- *T.harzianum*

التصنيع الحيوي لجسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوية



ثلاثون مليلتر من المستخلص الكحولي لقلف اوراق الجوز بتركيز ppm١٠٠٠٠

اضيفت بالتنقيط بعد الترشيح باستخدام المرشحات Millipore Filter ذات قطرٍ ٠.٢٢ مايكروميتر إلى ١٥٠ مل من محلول نترات المغنيسيوم المحضر حديثًا



اضيف بعد ذلك محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز ١ مولاري بشكل قطرات لتعديل ph

التحريك المستمر باستخدام محرك مغناطيسي لمدة ساعة عند درجة حرارة ٣٠م بعيدة عن الضوء

تغير لون المحلول الى اللون البني الغامق مع اضافة قطرات من هيدروكسيد الصوديوم عند ph7

تركت بعد ذلك لمدة ٢٤ ساعة بعيدة عن الضوء وفحصت الجسيمات المتكونة بمجهر القوة الذرية Atomic Force Microscopy (AFM).

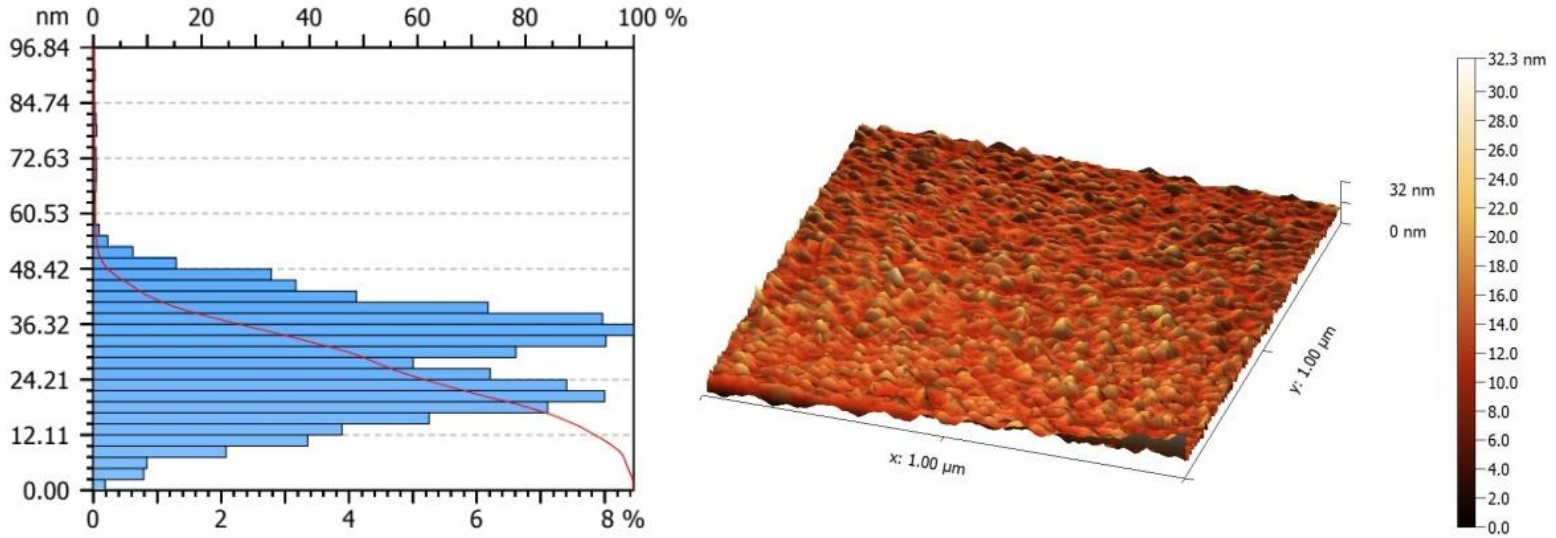
اجري الطرد المركزي للخليط المحضر عند ٤٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة

والراسب المتجمع تم غسله من اجل تنقيته ثم تجفيفه على حرارة ٤٠م لمدة ٨ ساعات

وضع الراسب في فرن على درجة حرارة ٤٠٠م لمدة ثلاث ساعات.

اظهر مجهر القوة الذرية AFMتكوين جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي من تفاعل نترات المغنيسيوم المائية MgNO3 (M١) مع المستخلص الكحولي لقلف الجوز *J. regia*، واظهرت الجسيمات تماثلاً في الحجم وبلغ حجمها النانوي ٢٨.٥٥ نانومتر.

إن المركبات النشطة بايلوجياً تعمل كعوامل اختزال وتغطية لجسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي MgO NPs ، وتعمل على استقرارها ومنع تكتلها في الوسط.



A B

شكل 27. جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي المنتجة من تفاعل نترات المغنيسيوم المائية MgNO3 مع المستخلص الكحولي لقلف اوراق الجوز *J. regia* تم تصويرها بمجهر القوة الذرية AFM، A- مدى حجم جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي B- صورة ثلاثية الابعاد لجسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي.

اختبار فعالية جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوية في تثبيط نمو النوعين الممرضين *Thielaviopsis paradoxa* و*Thielviopsis punctulata* والنوعين الاحيائيين *Trichoderma harzianum* و*Trichoderma longibrachiatum* والبكتريا الاحيائية *Bacillus subtilis*

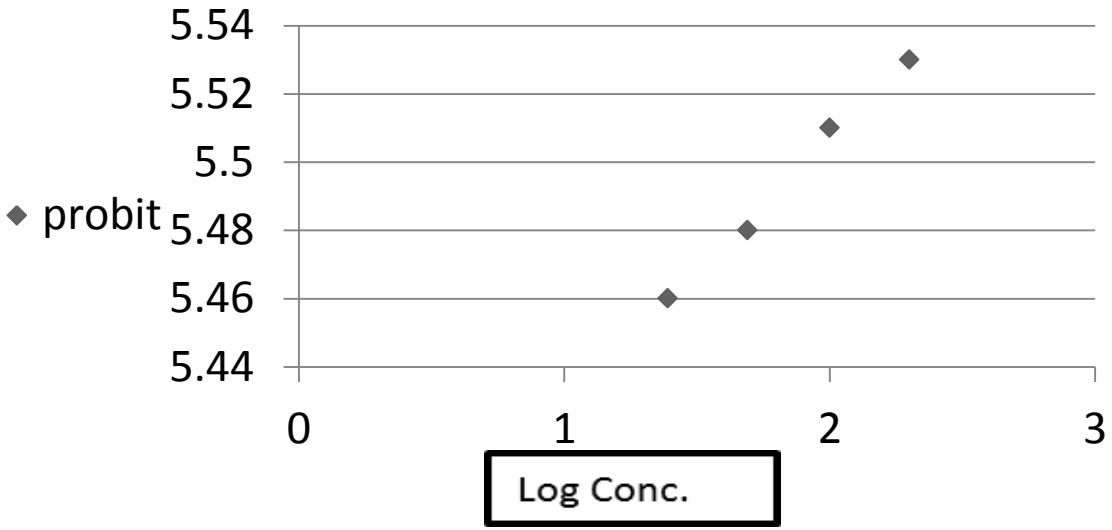
حضرت اطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي المعقم PDA الصلب المضاف اليه التتراسايكلين(٢٥٠ ملغم/ لتر)

خذ ١ مل من كل محلول من محاليل جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي ذات التراكيز ٢٥ و٥٠ و١٠٠ و٢٠٠ و ٤٠٠ ppm كل على انفراد ونشرت على الوسط الغذائي

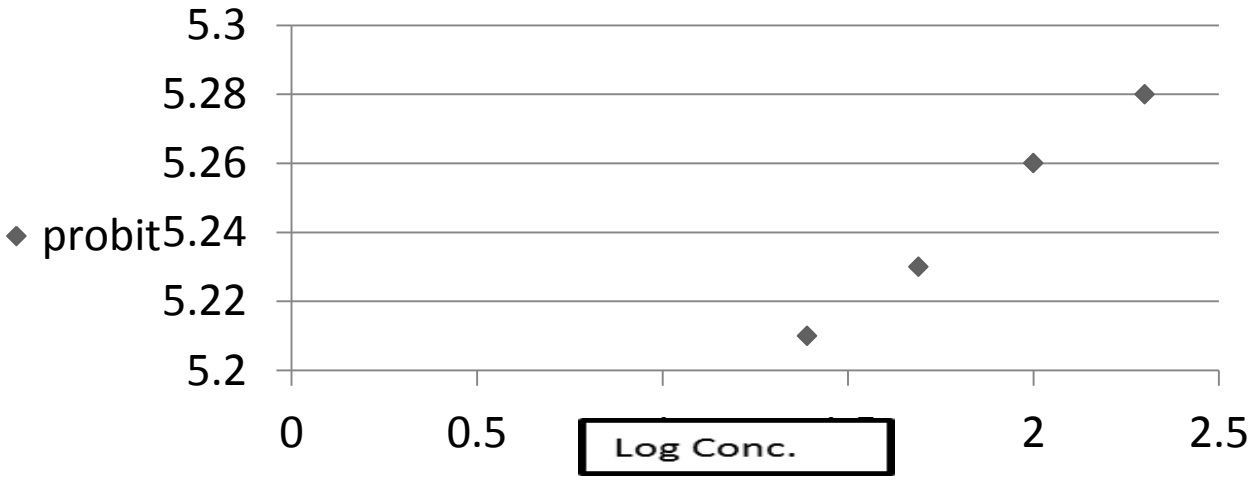
زرع مركز كل طبق بقرص قطره ٣ملم اخذ من مزارع الفطريات بعمر ثلاثة ايام وحضنت على درجة حرارة ٢٥ + ٢ م

تضمنت معاملات البكتريا *B. subtilis* فقد اضيف ٠.١ مل ماخوذ من التخفيف السادس الى الوسط الغذائي المسمم في الطبق بعد التصلب(الخالي من المضاد الحيوي التتراسايكلين) ونشر على الوسط وحضنت على درجة حرارة ٣٠ ± ٢ ْم

اعتمدت قيمة EC50 Effective Concentration

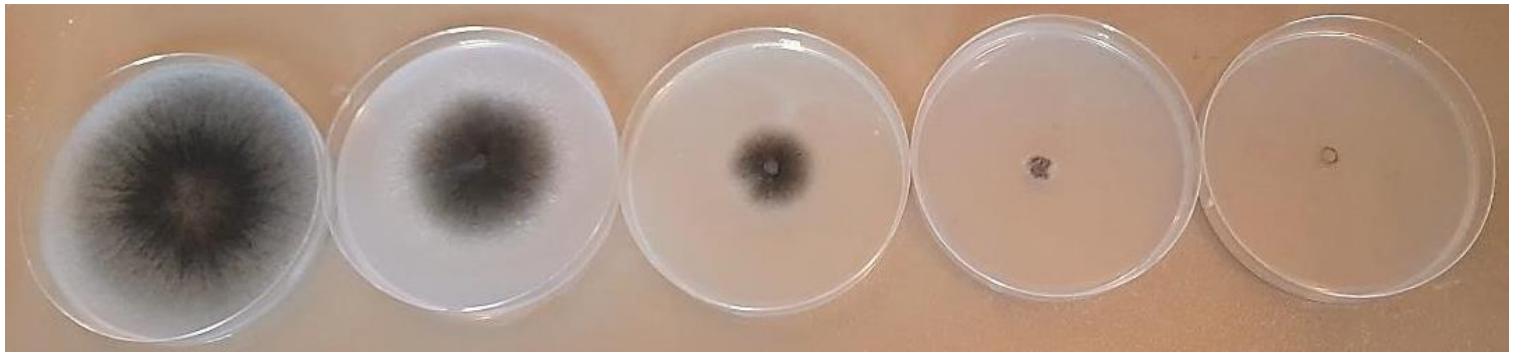


تحديد متوسط التركيز المؤثر EC50 لاوكسيد المغنيسيوم النانوي المصنع حيوياً بواسطة المستخلص الكحولي لقلف الجوز *J. regia* في نمو الفطر *T. paradoxa*

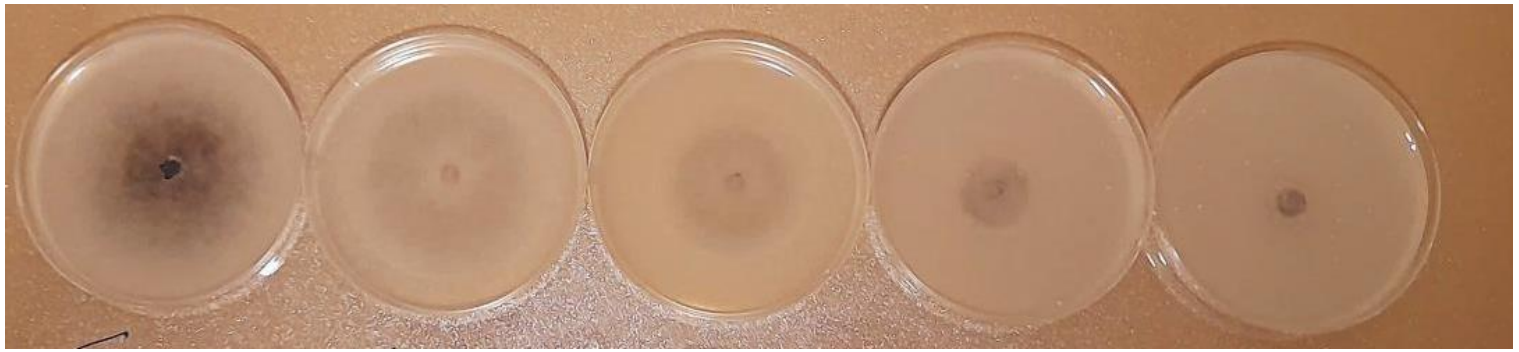


تحديد متوسط التركيز المؤثر EC50 لاوكسيد المغنيسيوم النانوي المصنع حيوياً بواسطة المستخلص الكحولي لقلف الجوز *J. regia* في نمو الفطر *T. punctulata*

ت	العزلة	متوسط التركيز المؤثر ppm MgONP
١	*T.paradoxa*	79.43
٢	*T. punctulata*	79.43
٣	*T. harzianum*	٣٥٤
٤	*T. longibrachiatum*	٣٦٣
٥	*B. subtilis*	٢٥١



1



2

صورة 45. تأثر تراكيز مختلفة من اوكسيد المغنيسيوم النانوي المصنع حيوياً بواسطة المستخلص الكحولي لقلف الجوز *J. regia* في نمو الفطرين 1- *T. paradoxa* 2- *T. punctulata*

اختبار الفعالية التآزرية لتراكيزالمستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز *Juglans regia* وتراكيز جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوية في تثبيط نمو النوعين الممرضين *Thielaviopsis paradoxa* و*Thielviopsis punctulata* والنوعين الاحيائيين *Trichoderma harzianum* و*Trichoderma longibrachiatum* والبكتريا الاحيائية *Bacillus subtilis*

- حضرت اوساط زرعية مسممة بالتراكيز ٥٠٠، ١٠٠٠، ٢٠٠٠، ٤٠٠٠، ٨٠٠٠ ppm للمستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز *J. regia* في اطباق بتري

- اخذ ١ مل من كل محلول من محاليل جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي ذات التراكيز ١٥ و ٢٥ و٥٠ و١٠٠ و٢٠٠ ppm ونشرت على الوسط الغذائي المسمم

- عمل توليفة تراكيز ١٥ و ٢٥ و ٥٠ و ١٠٠ppm من اوكسيد المغنيسيوم النانوي مع تراكيز المستخلص الكحولي ٥٠٠ و ١٠٠٠ و ٢٠٠٠ و ٤٠٠٠ ppmكل مع ما يقابله بالتتابع في معاملات النوعين الممرضين

- تضمنت معاملات العوامل الاحيائية التوليفة التراكيز ٥٠ و ١٠٠ و ٢٠٠ ppmمن اوكسيد المغنيسيوم النانوي مع تراكيز المستخلص الكحولي لقلف الجوز ٢٠٠٠ و ٤٠٠٠ و ٨٠٠٠ ppm وكل مع ما يقابله

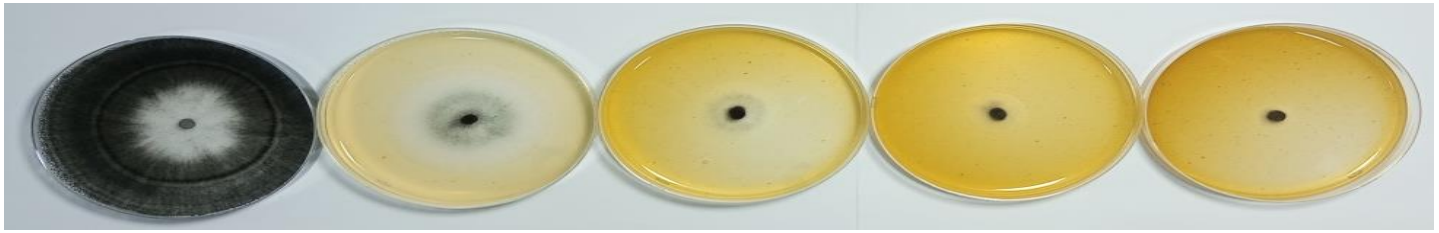
- زرع مركز كل طبق بقرص قطره ٣ملم اخذ من مزارع الفطرين بعمر ثلاثة ايام وحضنت على درجة حرارة ٢٥ + ٢ م

- اطباق معاملة البكتريا *B. subtilis* فقد اضيف ٠.١ مل ماخوذ من التخفيف السادس لمزرعة البكتريا بعمر ٤٨ ساعة الى الوسط الغذائي المسمم في الطبق بعد التصلب

قابلية الفعل التآزري للمستخلص الكحولي لقلف الجوز واوكسيد المغنيسيوم النانوي في تثبيط نمو كل من للفطرين الممرضين *T.paradoxa* و *T. punctulata* والفطرين الاحيائيين *T. harzianum* و *T. longibrachiatum* والبكتريا الاحيائية *B. subtilis*

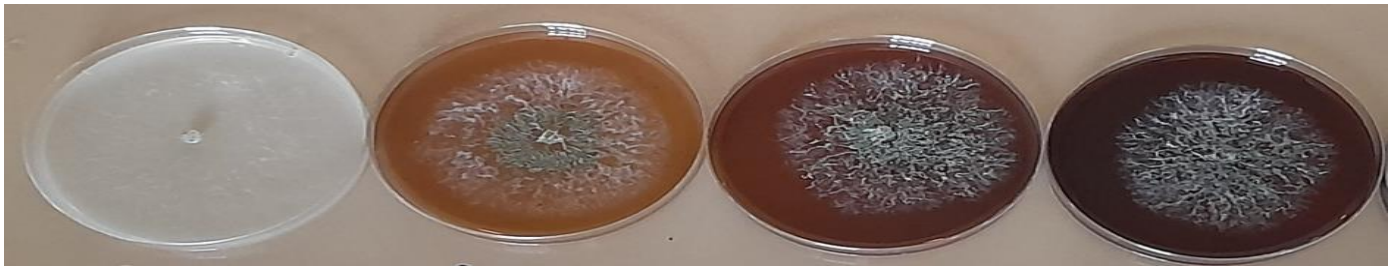
التركيز الاحياء	N1 + D1	N2 + D2	N3 + D3	N4 + D4	N5 + D5	control	متوسطات الاحياء
T. paradoxa	٣٤,١١	٦١,٩٦	٧٦,٤٧	٨٧,٠٥	١٠٠	٠	٥٩,٩٣
T. punctulata	٤٤,٧٠	٥١,٧٦	٦٩,٤١	٧٩,٦١	١٠٠	٠	٥٧,٥٨
T. longibrachiatum	٠	٠	٢٥,٨٨	٣٤,١١	٣٥,٢٩	٠	١٥,٨٨
T. harzianum	٠	٠	٩,٤١	١٢,٩٤	٢٤,٣١	٠	٧,٧٧
B. subtilis	٠	٠	٣٢,٦٠	٤٤,٤٤	٧١,٤٠	٠	٢٤,٧٤
L.S.D الاحياء × التراكيز ٢,٤٠							L.S.D الاحياء ٠,٩٨
متوسطات التراكيز	١٥,٧٦	٢٢,٧٤	٤٢,٧٥	٥١,٦٣	٦٦,٢٠	٠	
L.S.D التراكيز ١,٠٧							

N1 =١٥ ppm ، N2 =٢٥ ppm ، N3 =٥٠ ppm ، N4 =١٠٠ ppm ، N5 =٢٠٠ ppm، D1 =٥٠٠ ppm ، D2 =١٠٠٠ ppm ، D3 =٢٠٠٠ ppm ، D4 =٤٠٠٠ ppm ، D5 =٨٠٠٠ ppm

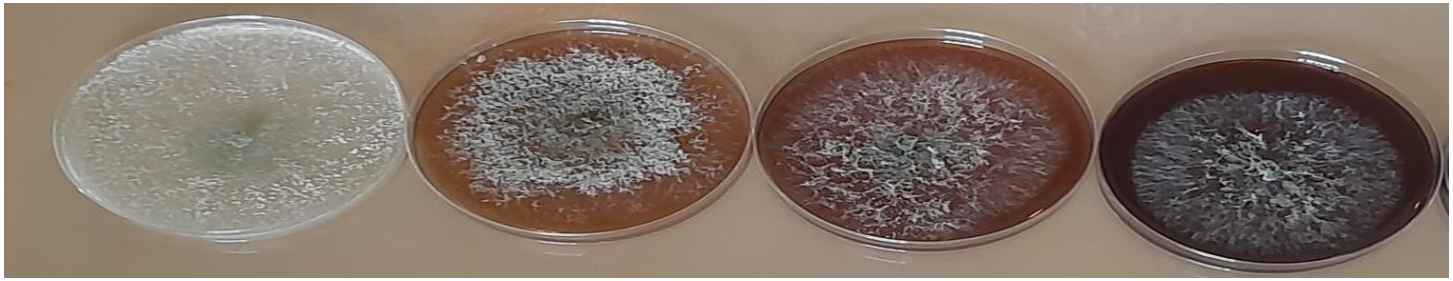


1

2



3



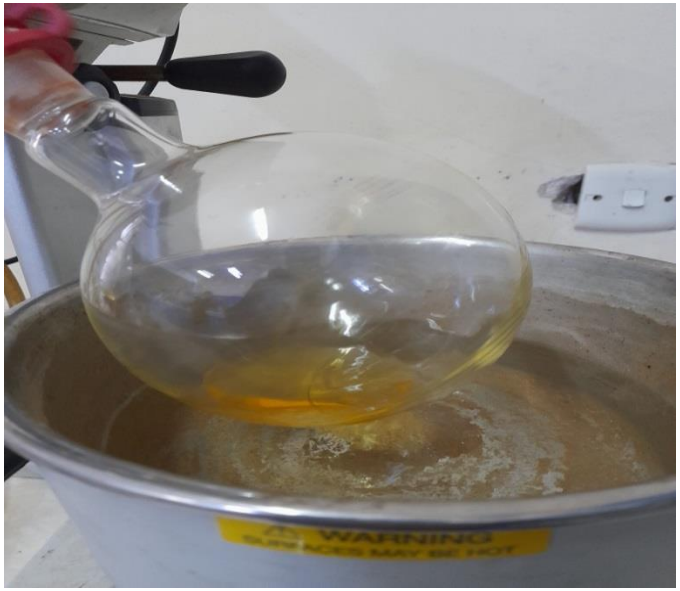
4

صورة 46. اثر سمية الفعل التآزري بين تراكيز من أوكسيد المغنيسيوم النانوي مع تراكيز من المستخلص الكحولي لقلف الجوز في الفطرين الممرضين والاحيائيين

(1، 2)- التراكيز 15 و 25 و 50 و ppm100 من اوكسيد المغنيسيوم النانوي مع تراكيز المستخلص الكحولي 500 و 1000 و 2000 و 4000 ppm بالتتابع

(3، 4)- التراكيز 50 و 100 و 200 ppm من اوكسيد المغنيسيوم النانوي مع تراكيز المستخلص الكحولي لقلف الجوز 2000 و 4000 و 8000 ppm

تشخيص المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز *Juglans regia* وفي رواشح العوامل الاحيائية والممرضة بتقانة كروموتوغرافيا الغاز – السائلة GCMass spectrometer



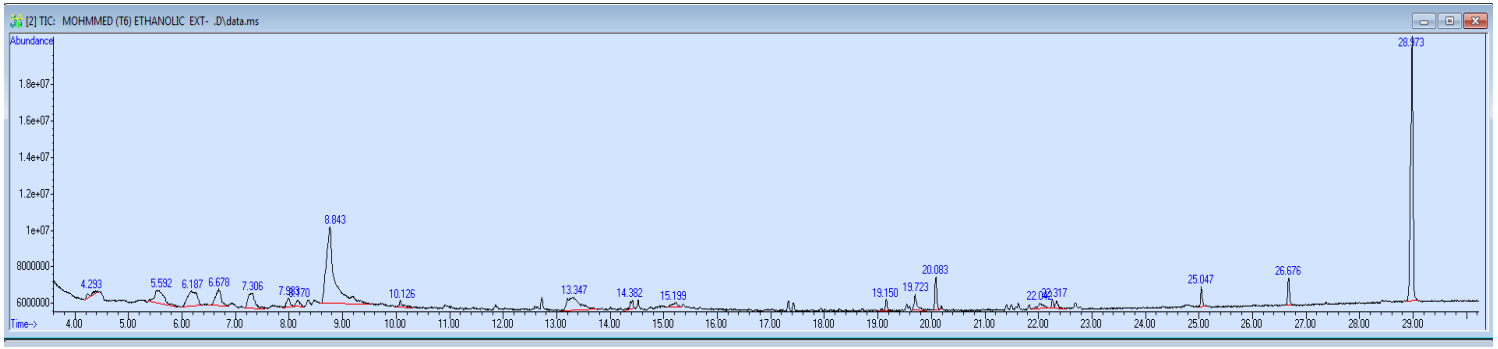
ركزت رواشح مزارع النوعين الممرضين *T. paradoxa* و *T. punctulata* النامية على جريد النخيل بواسطة المبخر الدوار Rotary evaporator تحت ضغط منخفض بعد تحضيره بتقطيع الجريد المعدى اصطناعيا وخلطه مع الكحول بخلاط كهربائي ثم رجه في هزاز كهربائي.

ركزت رواشح العزلات الممرضة والحيوية النامية على الوسط الزرعي PSB والمستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز بواسطة المبخر الدوار Rotary evaporator تحت ضغط منخفض.

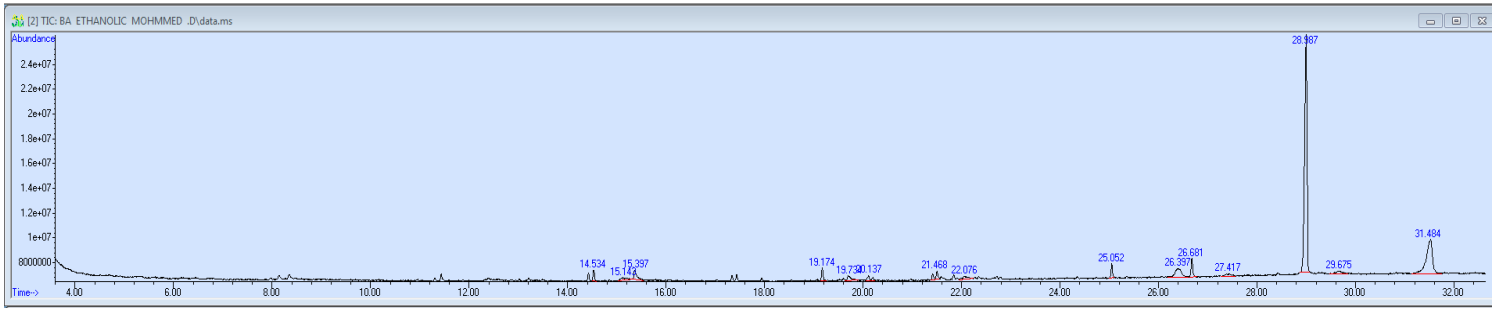
شخصت المركبات الفعالة في جميع العينات بتقانة كروموتوغرافيا الغاز – السائلة GCMass spectrometerعن طريق استخدام جهاز GC-MSفي مركز بحوث ابن البيطار/ وزارة الصناعة والمعادن.

انتج كل من الممرضين المركب الحيوي Hexadecanoic acid, methyl esterواشارت العديد من الدراسات الى ان هذا المركب ينتج من العديد من الفطريات ويتميز بتأثيرات سامة اتجاه الاحياء.

انتجا استرات حامض الفثاليك وانها ذات تأثيرات سامة وقاتلة للخلايا اذ تؤدي الى تعطيل عملية التمثيل الغذائي في الخلايا الحية ومن ثم موتها عند تعرضها لهذه المركبات.



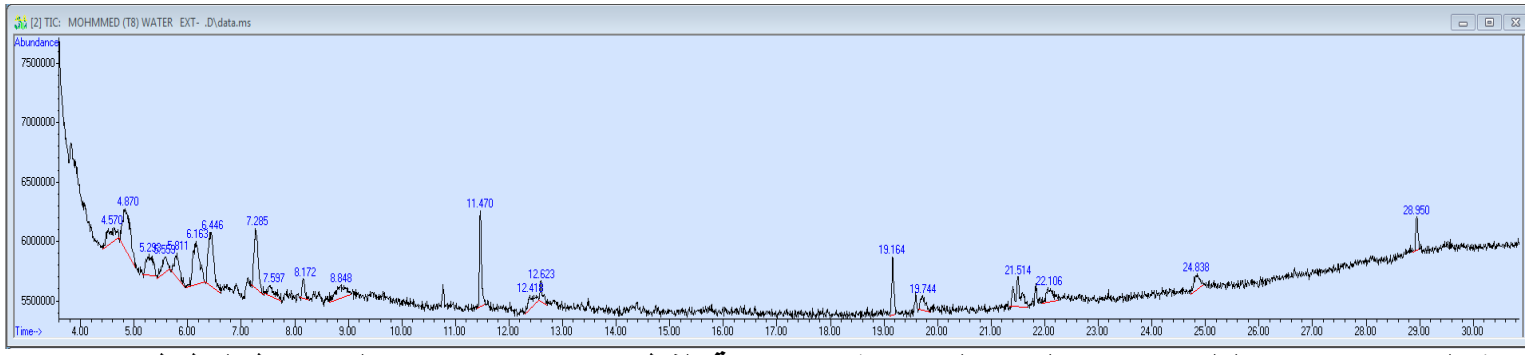
شكل 30. نتائج تحليل GC-MS للمستخلص الكحولي لجريد صنف الزهدي المصاب صناعياً بالفطر *T. paradoxa*.



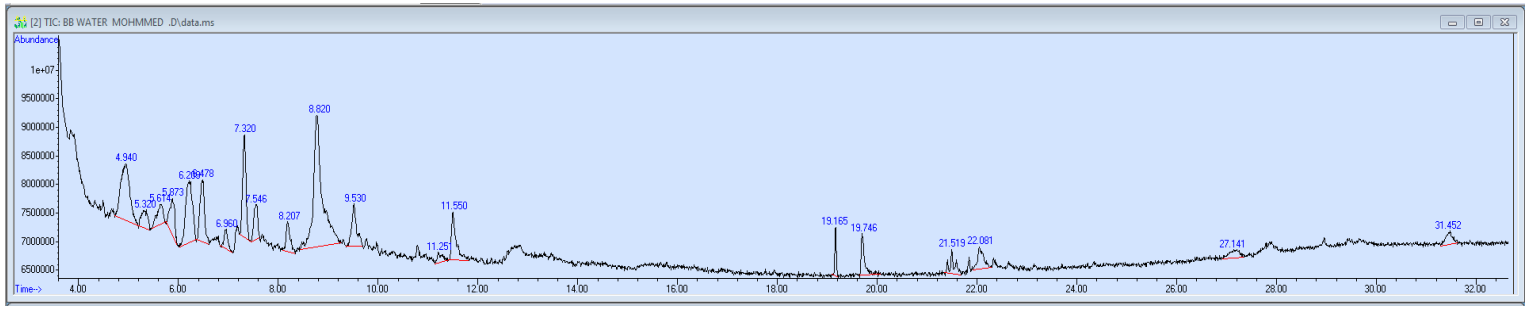
شكل 31. نتائج تحليل GC-MS للمستخلص الكحولي لجريد صنف الزهدي المصاب صناعياً بالفطر *T. punctulata*.

انتج الفطر *T.paradoxa* المركب Oxalic acid الذي ينتج من العديد من الفطريات ويعد احد اهم عوامل الامراضية للمسببات المرضية في اصابة النبات واحداث المرض.

انتج المركب g-butyrolactone أحد المركبات النشطة بايلوجياً ويوجد في منتجات طبيعية متنوعة وذات طيف واسع من النشاطات البيولوجية إذ يعد من المضادات الحيوية ومضادات الاكسدة.



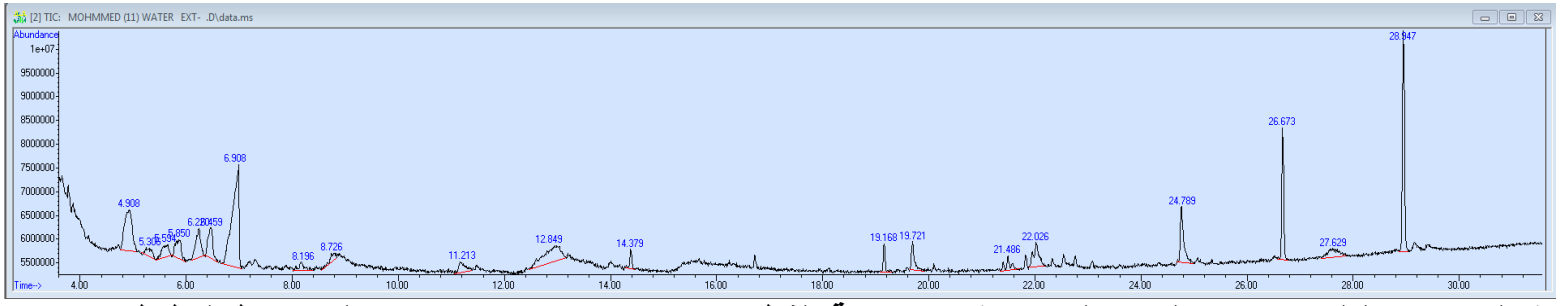
شكل 33. نتائج تحليل GC-MS لمستخلص راشح مزرعة الفطر *T. paradoxa* على وسط البطاطا سكروز السائل PSB.



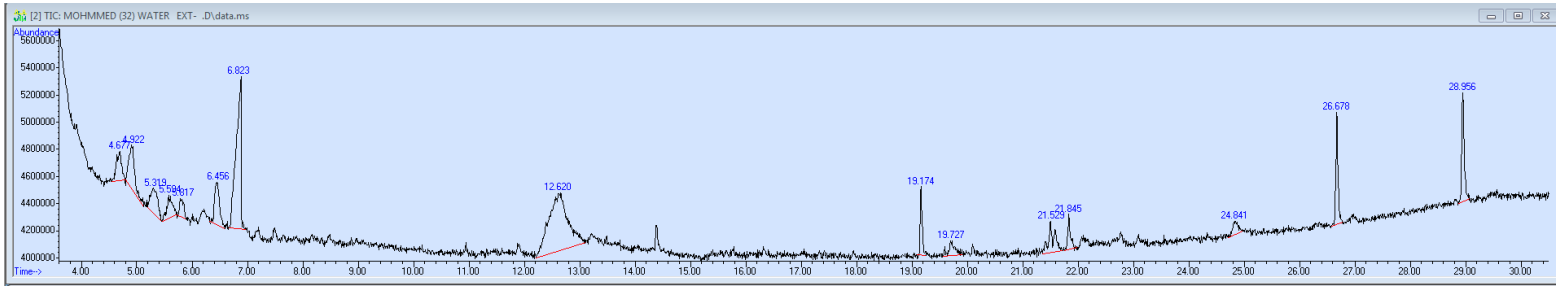
شكل 34. نتائج تحليل GC-MS لمستخلص راشح مزرعة الفطر *T. punctulata* على وسط البطاطا سكروز السائل PSB.

نتج كل من الفطرين الاحيائيين *T.longibrachiatum* و *T.harzianum* والبكتريا الاحيائية *B.subtilis* المركب الحيوي 2-Hydroxy-gamma-butyrolactone الذي يعد احد المركبات الحيوية المهمة الذي يتميز بالتضادية الحيوية فضلا عن انه احد مضادات الاكسدة

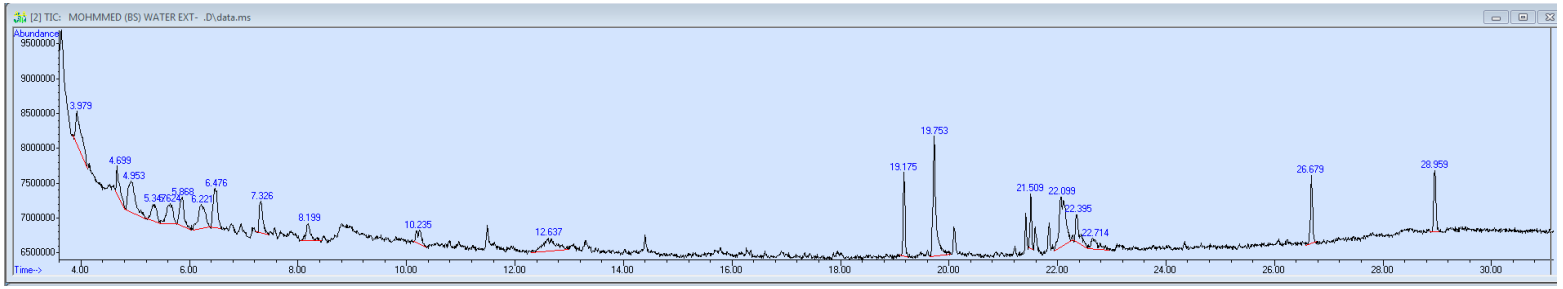
قابلية كل من الفطرين الاحيائيين *T.longibrachiatum* و *T.harzianum* والبكتريا الاحيائية *B.subtilis* على انتاج المركب الحيوي Hexadecanoic acid, methyl ester الذي يعد من الاحماض الدهنية النشطة بايلوجيا الذي تنتجه العديد من الفطريات ويعد من المضادات الحيوية والمثبطة للمايكروبات



شكل 36. تحليل GC-MS لمستخلص راشح مزرعة الفطر *T. longibrachiatum* على وسط البطاطا سكروز السائل PSB.

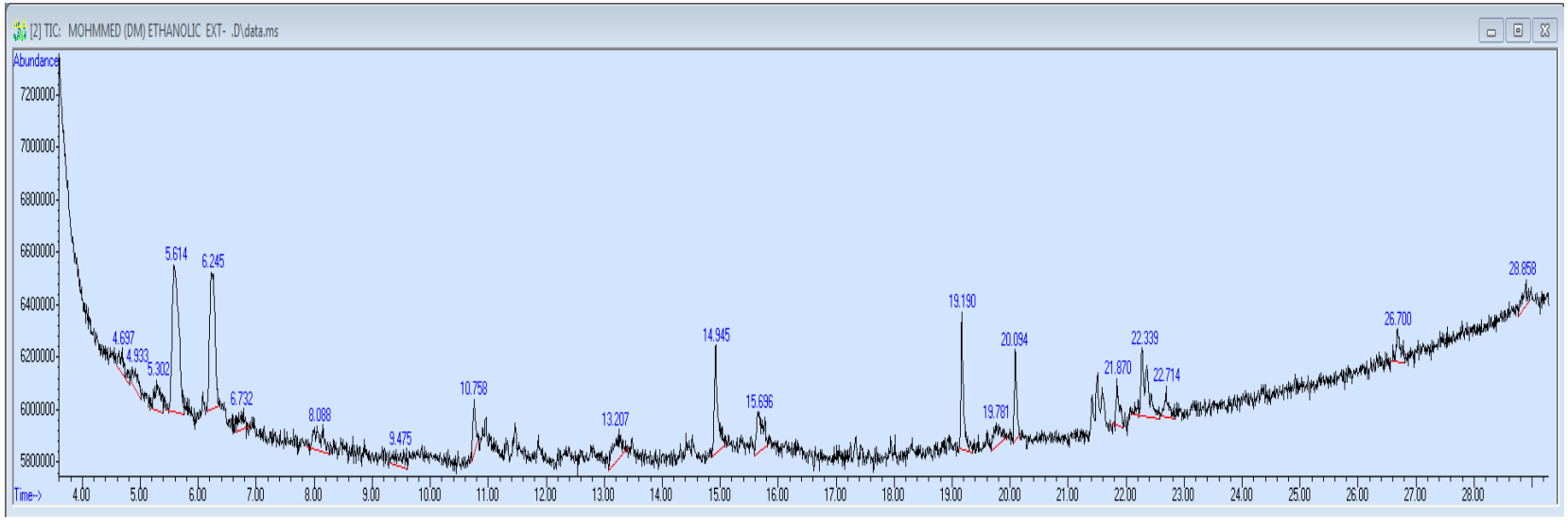


شكل 37. تحليل GC-MS لمستخلص راشح مزرعة الفطر *T. harzianum* على وسط البطاطا سكروز السائل PSB.



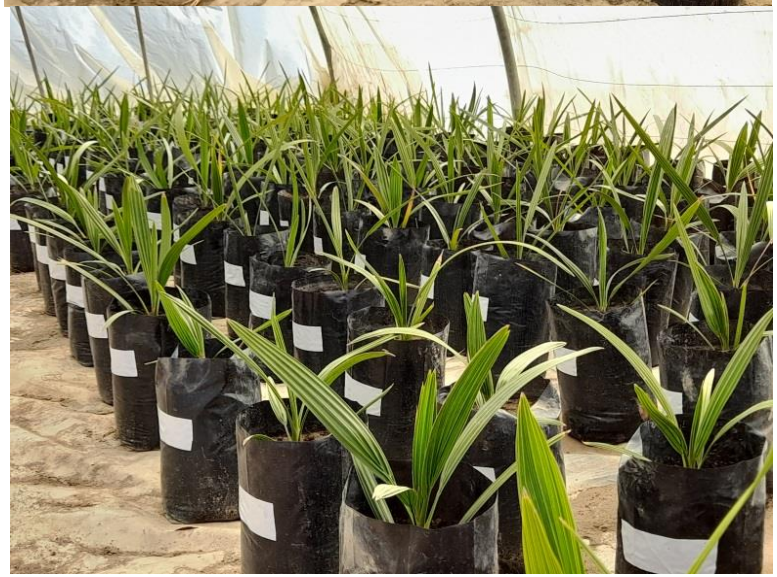
شكل 38. نتائج تحليل GC-MS لمستخلص راشح مزرعة البكتريا *B. subtilis* على وسط البطاطا سكروز السائل PSB.

اظهرت النتائج ان المستخلص الكحولي لقلف الجوز يحتوي المضاد الفطري الحيوي N-Trifluoroacetylimidazole.



شكل 39. تحليل GC-MS للمستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز *J. regia*.

فعالية جسيمات اوكسيد المغنيسيوم النانوي والمستخلص الكحولي لقلف الجوز والنوعين الاحيائيين *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma longibrachiatum* و البكتريا الاحيائية *Bacillus subtilis* وراشح كل منها في مكافحة النوعين الممرضين *Thielaviopsis paradoxa* و *Thielaviopsis punctulata* على شتلات النخيل



- انتجت شتلات نخيل متماثلة صنف الزهدي بعمر سنة ونصف لأجراء التجربة

- اضافة لقاح الفطرين الاحيائيين *T. harzianum* و *T. longibrachiatum*(١غم لقاح/كغم تربة) في الشتلات قبل اسبوع من التلقيح بالفطرين الممرضين

- اضيفت العوامل الاخرى رشاً بعد التلقيح مباشرة

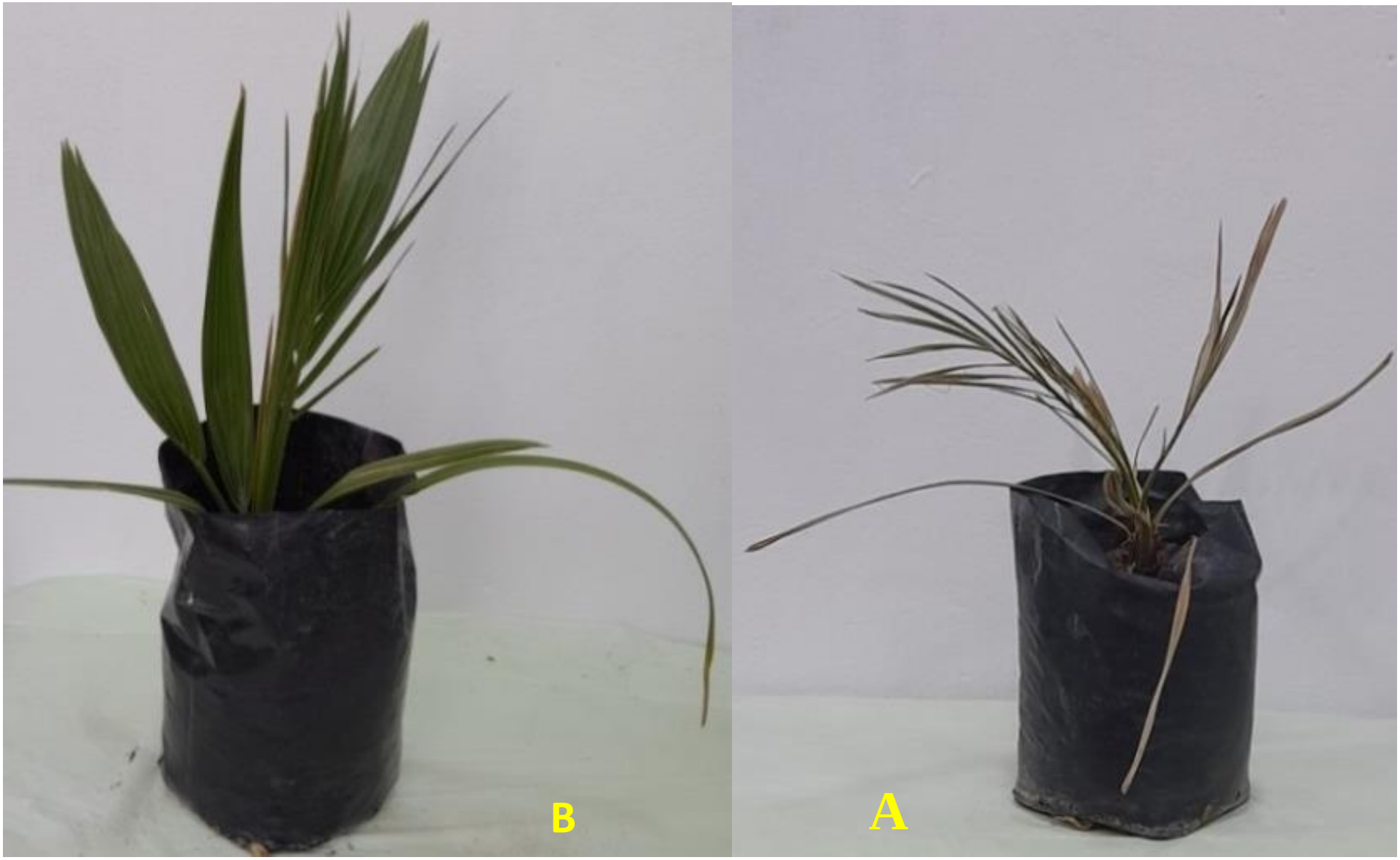
- حسبت النسبة المئوية لنسبة الاصابة وشدتها بعد ثلاثة اشهر من اجراء عملية التلقيح بالفطرين الممرضين كما حسب الوزن الرطب والجاف لكل من المجموعين الجذري والخضري

فاعلية العوامل الحيوية والمستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز واوكسيد المغنيسيوم النانوي في مكافحة الفطر *T. paradoxa*

المعاملة	نسبة الاصابة%	شدة الاصابة%	وزن المجموع الجذري (غم)		وزن المجموع الخضري (غم)	
			الرطب	الجاف	الرطب	الجاف
المقارنة	٠	٠	27.64	٧,٤٩	٣٦,٧٦	١٣,٩٦
T.paradoxa	١٠٠	١٠٠	16.40	٥,٦٠	١٦,٣٢	٩,٦٧
M + T.paradoxa	١٠٠	٧٥	21.98	٦,١٥	١٧,٩٠	١٠,٢٣
N+ T.paradoxa	١٠٠	٤٣,٨	21.73	٥,٨٨	٢٦,٠٥	١١,٦٦
MN+ T.paradoxa	١٠٠	٣٧,٥	24.00	٧,١٩	٢٨,٤٨	١١,٦٧
T.h.+ T.paradoxa	٥٠	٢٥	35.40	١٠,٣٠	٤٤,٨١	١٥,٥٢
T.l.+ T.paradoxa	١٠٠	١٨,٨	42.15	١١,٧٧	٤٨,٠٧	١٦,٢١
B.s.+ T.paradoxa	١٠٠	١٢,٥	٣٨,٣٠	١٠,٧٧	٤٦,١٦	١٥,٥٥
T.h.F.+ T.paradoxa	١٠٠	٥٠	32.31	٨,٠٨	٢٨,٩٤	١٠,٨٦
T.l.F+ T.paradoxa	١٠٠	٤٣,٨	28.50	٨,٠٩	٣٠,٤١	١١,٩٢
B.s.F+ T.paradoxa	١٠٠	٣٧,٥	29.94	٨,٦٩	٣١,٠٠	12.08
T.h.+F + MN + T.paradoxa	٧٥	18.8	42.77	١٢,٠٩	٥٠,٢٧	١٦,٣١
T.l.+F + MN + T.paradoxa	٥٠	١٢,٥	46.10	12.18	55.19	16.96
B.s.+F + MN + T.paradoxa	٢٥	٦,٣	44.45	11.89	53.25	16.62
Topsin	٥٠	٢٥	٢٢,٧٦	٦,٣٥	٢٨,٢٠	١٠,٨٩
L.S.D 0.05	45.04	22.20	١,٩٢	1.28	٢,٣٣	٠,٩٢

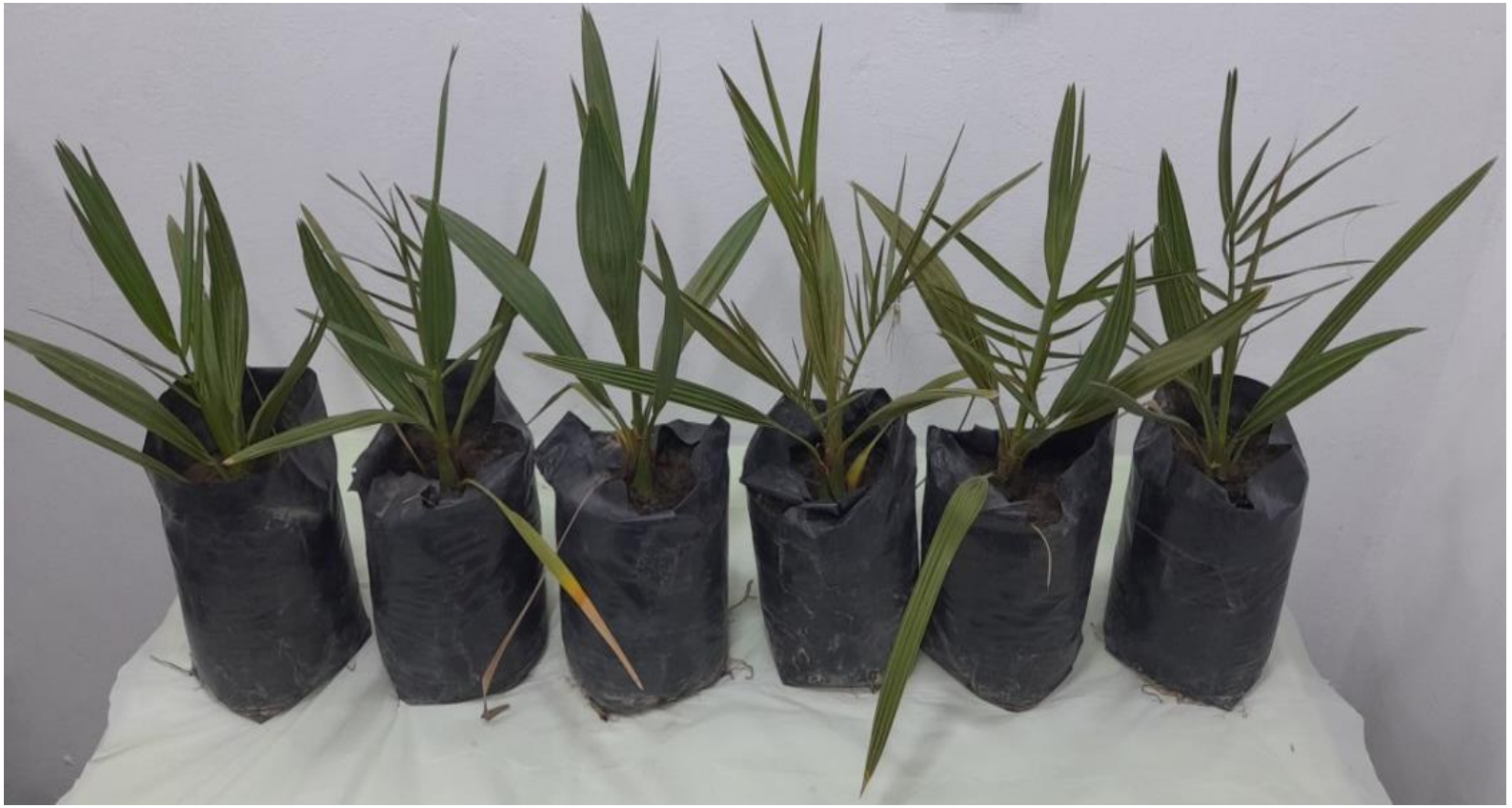
فاعلية العوامل الحيوية والمستخلص الكحولي لقلف اشجار الجوز واوكسيد المغنيسيوم النانوي في مكافحة الفطر *T. punctulata*

المعاملة	نسبة الاصابة%	شدة الاصابة%	وزن المجموع الجذري (غم)		وزن المجموع الخضري (غم)	
			الرطب	الجاف	الرطب	الجاف
المقارنة	٠	٠	٢٥,٣٠	٦,٥٨	٣٢,٦٠	١٠,٩٠
T.punctulata	١٠٠	١٠٠	١٢,٨٣	٤,٥٧	٩,٥٥	٦,٦٩
M + T. punctulata	١٠٠	٦٨,٨	١٦,٠٧	٥,١٦	١٨,٠١	٧,٢٧
N+ T. punctulata	١٠٠	٣٧,٥	٢٢,٠٧	٥,٩٠	٢٥,١٣	٧,٩٣
MN+ T. punctulata	١٠٠	٣١,٢	٢٢,٨٥	٦,٢١	٢٨,٨٥	٨,٧٢
T.h.+ T. punctulata	١٠٠	٢٥	٣٤,٣٣	٩,١٢	٤٢,٤٨	١٦,٧٣
T.l.+ T. punctulata	٧٥	٣١,٢	٣٣,٣٨	٩,٥٨	٣٦,٠٢	١٥,٥٨
B.s.+ T. punctulata	١٠٠	١٨,٨	٣٥,٨٧	١٠,١٥	٤٣,٩٤	١٦,٠٦
T.h.F.+ T.punctulata	١٠٠	٤٣,٧	٢٠,٩٨	٦,٣٦	٢٣,٣٢	٧,٦٢
T.l.F+ T. punctulata	١٠٠	٣٧,٥	٢٢,٤١	٦,٨٩	٢٤,٦٨	٨,٠٣
B.s.F+ T. punctulata	١٠٠	٣١,٢	٢٤,٦٠	٦,٩٥	٢٧,٦٢	٩,٠٥
T.h.+F + MN + T. punctulata	١٠٠	١٢,٥	٣٧,٧٧	١١,٠٩	٥٣,٢٦	١٨,٢٩
T.l.+F + MN + T. punctulata	٥٠	١٨,٨	٣٤,٠٣	١٠,٥٦	٤٤,١٠	١٧,٩٩
B.s.+F + MN + T. punctulata	٢٥	٦,٢	٣٦,٨١	١٠,٩٩	٤٤,٧٠	١٨,٣١
Topsin	٧٥	٣١,٢	٢٠,٥٩	٥,٩٤	٢٦,٧٩	٨,١٩
L.S.D 0.05	٣٣,٥٧	١٧,٦٠	٣,٤١	٠,٧٨	١,٨٧	١,١٨



صورة. اثر الاصابة بالفطر *T. paradoxa* على الشتلات. A- *T. paradoxa* فقط. B- Control.

صورة. اثر الاصابة بالفطر *T. paradoxa* على الشتلات. A- *T. paradoxa* فقط. B- Control.



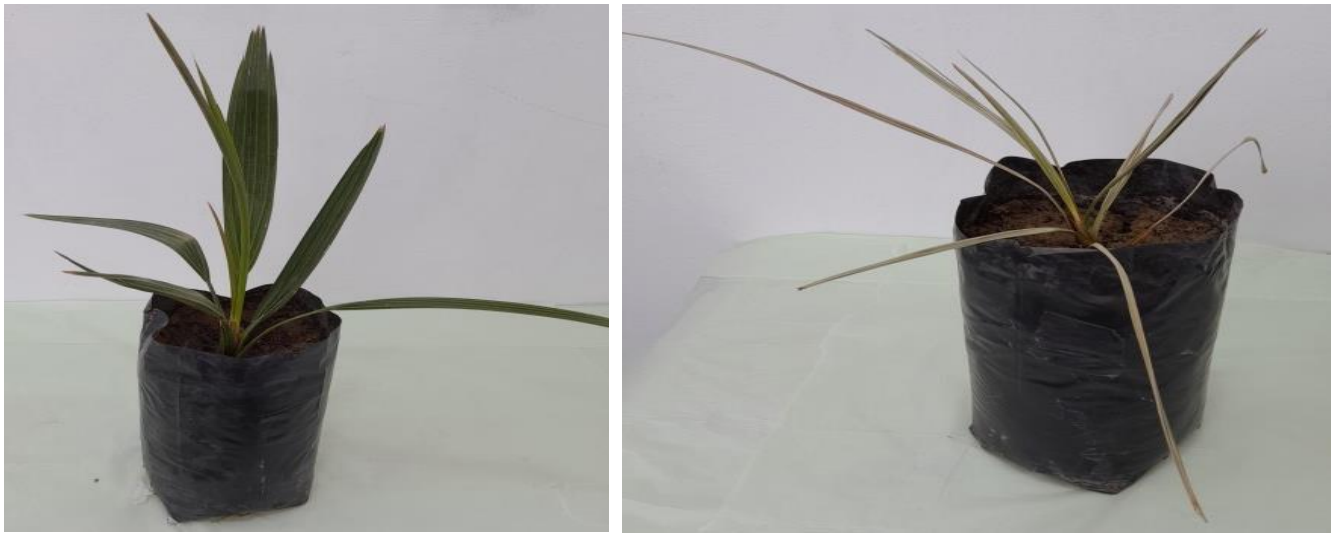
H G F E D C

اثر العوامل الحيوية واوكسيد المغنيسيوم النانوي والمستخلص الكحولي لقلف الجوز في مكافحة الفطر *T. paradoxa*

C- *B.s*.F + MN + *T. paradoxa*

D- *T.l*.F + MN + *T. paradoxa* E- *T.h*.+F + MN + *T. paradoxa*

F- *B.s*.+ *T. paradoxa* G- *T.l*.+ *T. paradoxa* H- *T.h*.+ *T.paradoxa*



B A

H G F E D C

صورة 48. اثر العوامل الحيوية واوكسيد المغنيسيوم النانوي والمستخلص الكحولي لقلف الجوز في مكافحة الفطر *T. punctulata*

A- *T. punctulata* فقط. B- Control. C- *B.s*.F + MN + *T. punctulata*.

D- *T.l*.F + MN + *T. punctulata*. E- *T.h*.F + MN + *T. punctulata*.

F- *B.s*.+ *T. punctulata*. G- *T.l*.+ *T. punctulata*. H- *T.h*.+ *T. punctulata*

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

١- يمكن تنمية وإكثار كل من الفطرين الممرضين من النسيج النباتي المصاب عن طريق وضع النسيج بعد تعقيمه في جو رطب من خلال استخدام دورق مغلق يحتوي القليل من الماء.

٢- تختلف الصفات المزرعية لعزلات كل من الفطرين الممرضين اختلافا طفيفا من حيث طبيعة نموها وشكلها ولونها.

٣- يصيب كل من الفطرين الممرضين المجموعين الجذري والخضري.

٤- قد تظهر أعراض الاصابة على المجموع الخضري على الرغم من ان الفطر متواجد في المجموع الجذري فقط.

٥- يمتلك كل من الفطرين الممرضين آلية كيميائية في قتل خلايا نسيج العائل النباتي.

٦- تزدهر اشجار النخيل بمرافقتها للعديد من سلالات العوامل الحيوية المتعايشة معها التي يمكن ان تكون سبباً لبقائها في ظل الظروف القاسية.

٧- تمتلك العوامل الاحيائية قابلية اعلى من العوامل الممرضة في تحمل سمية المواد.

٨- تنتج العوامل الحيوية العديد من المركبات الكيميائية الحيوية التي يمكن ان يعزى لها فاعلية تلك الاحياء في ادوارها النافعة تجاه النبات والبيئة.

٩- يمتلك تآزر العوامل الحيوية المحلية والنانوية والمستخلص الكحولي لقلف الجوز القدرة على خفض شدة اصابة شتلات نخيل التمر.

التوصيات:

١- الاهتمام ببساتين النخيل وعدم تركها لان ذلك يؤدي الى ضعف النخيل وجعله عرضة للاصابة بمسببات الامراض التي منها النوعان الممرضان *Thielaviopsis paradoxa* و *Thielaviopsis punctulata* المسببان لمرض اللفحة السوداء .

٢- عزل العوامل الحيوية من اشجار النخيل واكثارها والاهتمام باستخدامها في مكافحة آفات النخيل التي منها مرض اللفحة السوداء.

٣- تدعيم رواشح العوامل الحيوية والمستخلصات النباتية بمواد مثبطة لممرضات النبات تكون صديقة للبيئة كالجسيمات النانوية لعمل توليفة صديقة للبيئة في مكافحة الافات.

٤- الاهتمام بنشر الوعي المعرفي بين الفلاحين في ما يخص الاهتمام باستخدام العوامل الحيوية في مكافحة الافات.

٥- عمل مراكز بحثية تعنى بعزل العوامل الحيوية المحلية من النباتات واكثارها وتطبيقها في ميادين النظم الزراعية المختلفة لاجل اعادة التوازن لبيئات النظم الزراعية التي اتعبتها المبيدات والاسمدة الكيميائية.

٦- الاهتمام بالتصنيع الحيوي للجسيمات النانوية واستخدامها في مكافحة امراض النبات.

Thanks for listening

شكرًا لإصغائكم