بسم الله الرحمن الرحيم

جامعة وادي النيل

كلية التربية

قسم علوم الحياة

بحث تكميلي لنيل درجة البكالوريوس

بحث :

مسح للفطريات المحمولة داخل بعض انواع بذور البقوليات ببعض مناطق محافظة الدامر

Survey of Seed-Borne Fungi of Some leguminous seeds at Some Parts of Nile Province

إعداد الطلاب:

أسماء أحمد هاشم أ ح/٢٠٠٩/ ٦

أم سترين أحمد طه أ ح/ ٢٠٠٩/ ١٢

مجدي محمد عبد الله أ ح/ ٢٠٠٩/ ٦٣

إشراف الدكتورة:

إلهام شريف داؤود

مايو ٢٠١٣م

بسم الله الرحمن الرحيم

الاستهلال

قال تعالى:

﴿ وَتَرَى الأَرْضَ هَامِدَةً فَإِذَا أَنزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاء اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ وَأَنبَتَتْ مِن كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ ﴾

صدق الله العظيم

سورة الحج الآية (٥)

إهداء

إلي من غمرتني بالحنان وأبعدت عني قسوة الزمان إلى من منحتني قلبها إلى واحتي التي استظل بها من هجر الزمان

أمي الحبيبة

إلى من سعى وشقى لأنعم بالراحة والهناء الذي لم يبخل من أجل دفعي لطريق النجاح الذي علمني أن ارتقي سلم الحياة بحكمة وصبر

أبي العزيز

إلى من حبهم يجري في عروقي ويلهج بذكراهم فؤادي

إلى من الجأ إليهم كلما أثقلتني الهموم

أخواني وأخواتي

إلى من زاملوني طوال مراحل الدراسة فكانوا نعم الأصدقاء

زميلاتي وزملائي

إلى من علموني حروفاً من ذهب وكلمات من درر وعبارات من أسمى وأجل عبارات العلم إلى من صاغوا لنا علمهم حروفاً ومن فكرهم منارة تنير لنا مسيرة العلم والنجاح

أساتذتي العظماء

شكر وعرفان

الشكر أولا لله تعالى من قبل ومن بعد أن هيأ لنا من أمرنا رشدا إنه نعم المولى ونعم النصير ،،،

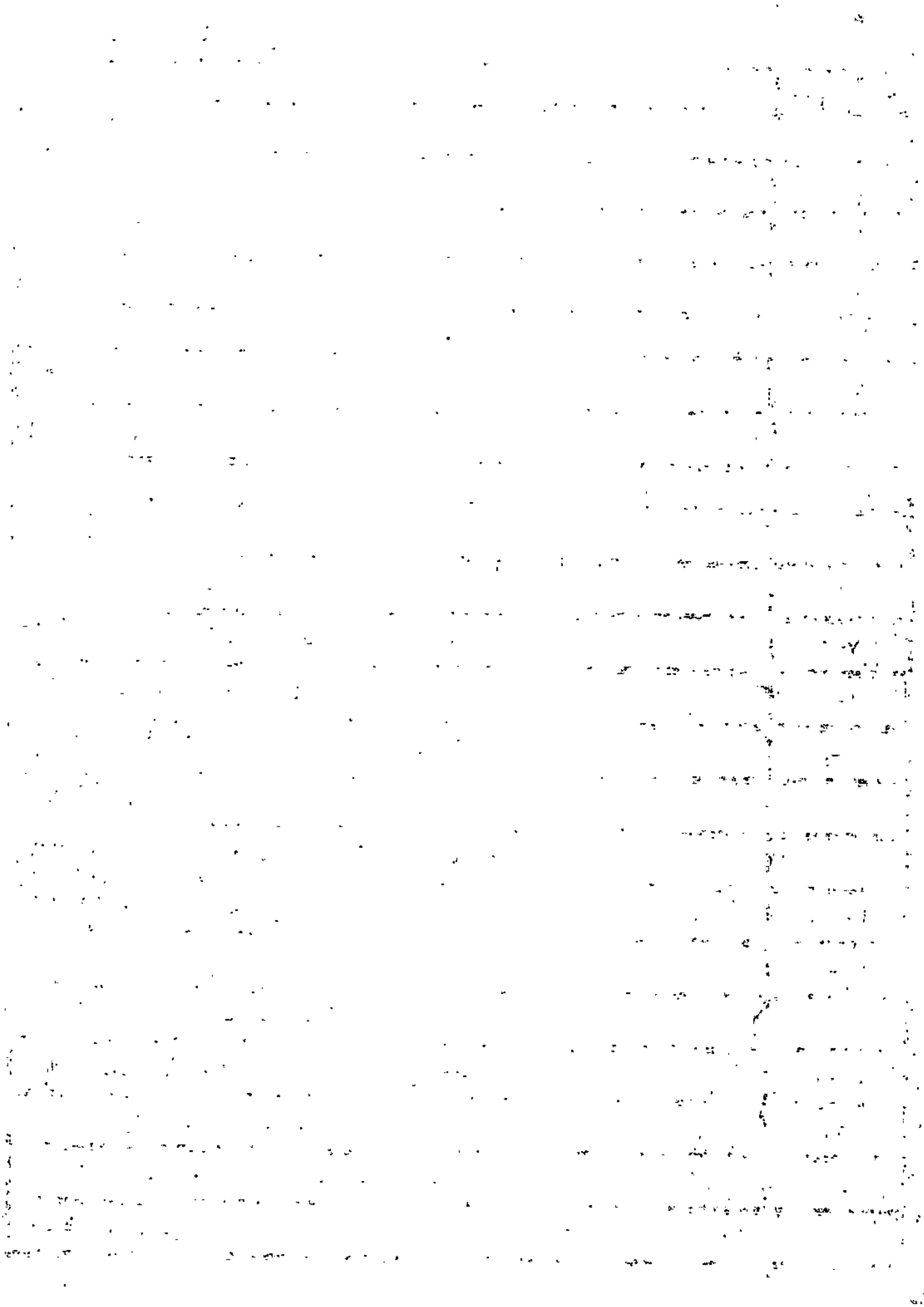
الشكر كل الشكر لجامعة وادي النيل كلية التربية قسم علوم الحياة تلك الصرح الشامخ العريق الذي فتح لنا أبوابه من أجل العلم والمعرفة،،،

والشكر أجزله للدكتورة الفاضلة/ إلهام شريف داؤود التي ساعدتنا بكل صبر وحكمة في هذا العمل ،،

والشكر موصول إلى كل الأساتذة الأجلاء : بقسم علوم الحياة الذين لم يبخلوا من تقديم كافة المعلومات وكان لهم القدح المعلي في نجاحنا ،،

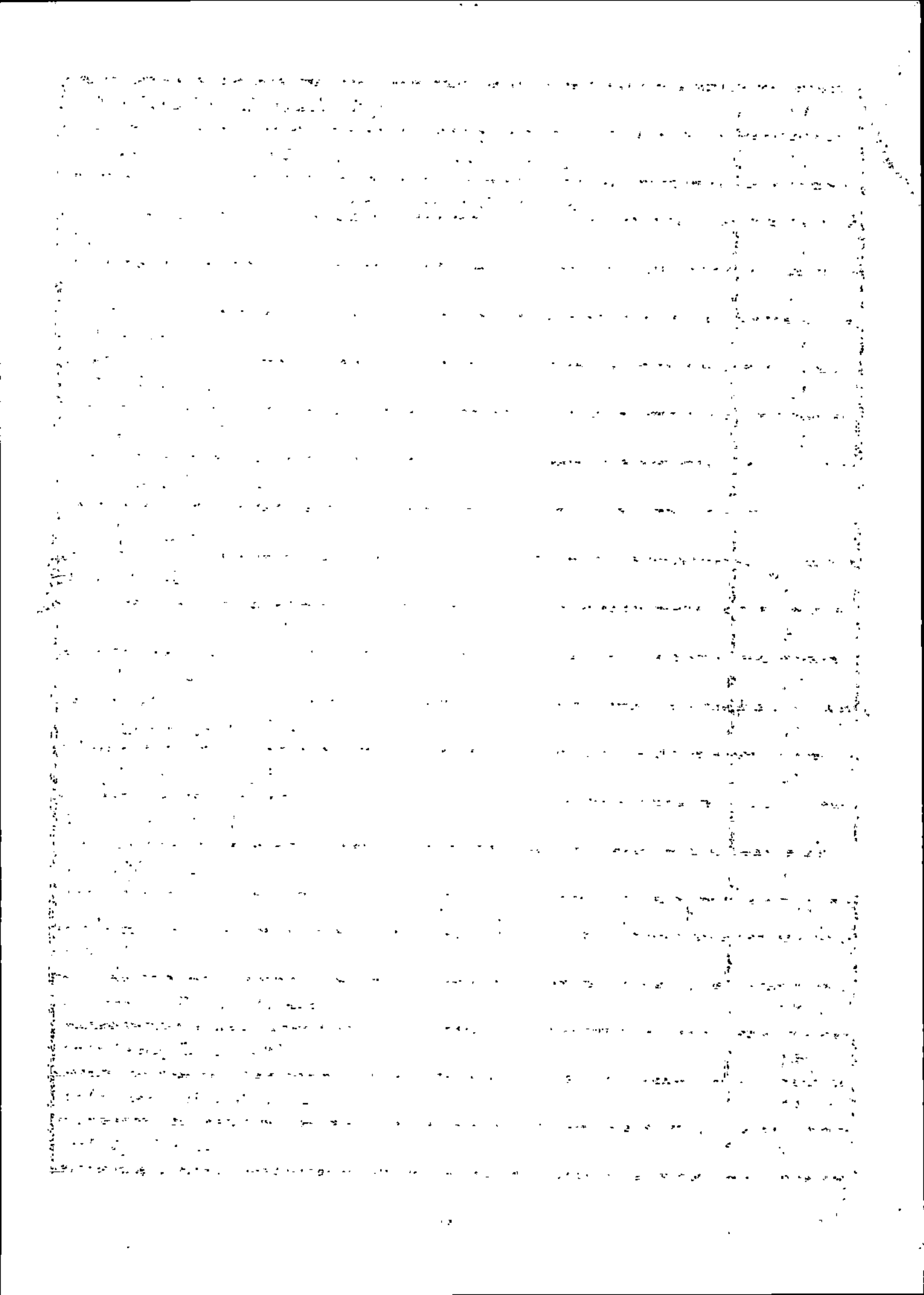
وإلى كل من كان لنا سند وعون في إخراج هذا البحث،،

فجزاهم الله الذي جزا الجزاء

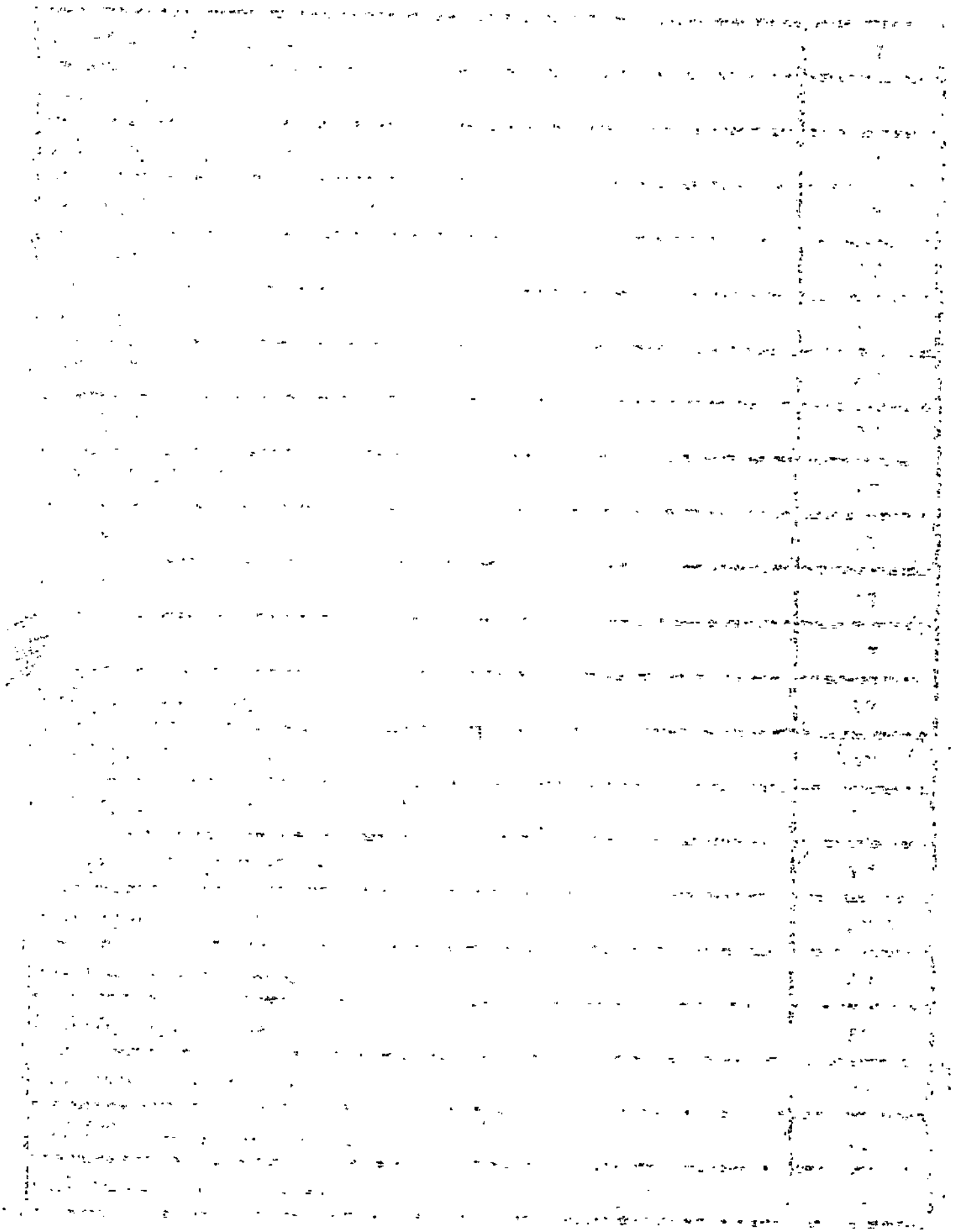


فهرس الموضوعات :

الموضوع	رقم الصفحة
الاستهلال	I
الإهداء	II
الشكر والعرفان	III
فهرس الموضوعات	IV
الباب الأول :	
المقدمة	١-٤
الهدف من الدراسة	٥
الباب الثاني : الأبحاث السابقة	
٢ الأبحاث السابقة	٦
٢-١ الأمراض الفطرية التي تصيب الفول المصري	٦
٢-١-١ الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري	٦-٧
٢-١-٢ الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري	٧-٨
٢-١-٣ الأمراض الفطرية التي تصيب بذور الفول المصري	٨-٩
٢-٢ الأمراض الفطرية التي تصيب الفاصوليا	٩
٢-٢-١ الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري	٩-١٠
٢-٢-٢ الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري	١٠-١١
٢-٢-٣ الأمراض الفطرية التي تصيب بذور الفاصوليا	١١-١٢
٢-٣ الأمراض الفطرية التي تصيب الحمص	١٢
٢-٣-١ الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري	١٢-١٣
٢-٣-٢ الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري	١٣
٢-٣-٣ الأمراض الفطرية التي تصيب حبوب الحمص	١٣-١٤
٢-٤ المكافحة الحيوية	١٤



٢-٤-١ المكافحة الحيوية واستخدام البكتريا	١٥
٢-٥ وصف أجناس الفطريات الأكثر سيادة على العينات تحت الدراسة	١٦
الباب الثالث : المواد والطرائق	
٣ المواد والطرائق	١٧
٣-١ المواد	١٧
٣-٢ جمع العينات	١٧
٣-٣ المواد الكيميائية	١٨
٣-٤ فحص جراثيم الفطريات المحمولة على البذور	١٨
٣-٤-١ فحص الحبوب الجافة	١٨
٣-٤-٢ فحص مياه غسيل البذور	١٨
٣-٥ عزل الفطريات	١٩
٣-٥-١ عزل الفطريات الداخلية	١٩
٣-٥-٢-١ زراعة البذور على أوراق الترشيح	١٩
٣-٦ تعريف الفطريات المعزولة	٢٠
٣-٧ عزل الجرثومة المفردة	٢٠
٣-٧-١ تحضير الشرائح	٢٠
٣-٨ المكافحة الحيوية	٢١
الباب الرابع : النتائج	
٤ النتائج	٢٢
٤-١ فحص جراثيم الفطريات المحمولة على البذور	٢٢
٤-١-١ فحص الحبوب الجافة	٢٢
٤-٢-١ فحص مياه غسيل الحبوب	٢٢
٤-٢ عزل الفطريات	٢٢



٤-٢-١ عينات بذور الفول المصري	٢٢
جدول (١)	٢٣
٤-٢-٢ عزل الفطريات الداخلية	٢٤
جدول (٢)	٢٥
٤-٢-٢-٢ عينات الفاصوليا	٢٦
جدول (٣)	٢٧
٤-٢-٢-٣ عينات الحمص	٢٨
جدول (٤)	٢٩
٤-٣ المكافحة الحيوية	٣٠
جدول (٥)	٣١
شكل (١)	٣٢
شكل (٢)	٣٣
لوحة (١) دركسلا سبيسفر	٣٤
لوحة (٢) فيوزاريوم مونيليفورم	٣٥
لوحة (٣) فيوزاريوم سولاني	٣٦
لوحة (٤) Fusarim Oxysporium	٣٧
لوحة (٥أ) مزرعة اسبرجيلس نيقر	٣٨
لوحة (٥ب) شريحة اسبرجيلس نيقر	٣٨
لوحة (٦أ) مزرعة اسبرجيلس فليفس	٣٩
لوحة (٦ب) شكل اسبرجيلس فليفس	٣٩
لوحة (٧أ) مزرعة اسبرجيلس نيديولس	٤٠
لوحة (٧ب) شكل اسبرجيلس نيديولس	٤٠

الباب الخامس: المناقشة	
٥ المناقشة	٤١-٤٣
الخلاصة	٤٤
التوصيات	٤٥
المراجع الإنجليزية	٤٦-٥٠
المراجع العربية	٥١

الباب الأول

المقدمة

Introduction

تعتبر البقوليات من أهم المصادر الغذائية التي يعتمد عليها معظم شعوب العالم، ونظراً للزيادة المستمرة والمطردة في عدد سكان العالم مما نجم عنه نقصٌ في الغذاء، لذا يجب توافرها بكميات كافية لسد الحاجة لها وعليه فقد كثفت الدراسات والبحوث في الدول لمحاولة رفع الإنتاجية من أجل توفير الغذاء للشعوب.

من اكبر العائلات النباتية، فهي تضم نحو ٦٩٠ جنسا ، وحوالي ١٨٠٠ نوع . العائلة البقولية تم عائلات ، تقسيمها الي ثلاث تحت عائلات ، وهي العائلة الفراشية ، العائلة الطلحية والعائلة البقمية

(Schrire et.al ,2005) Caesalpinioideae , Mimosoideae , Fabaceae

تضم العائلة البقولية عددا كبيرا من محاصيل الخضر ، والمحاصيل الحقلية التي تنتشر زراعتها ، خاصة في المناطق الاستوائية ، وفيما يلي أهم محاصيل الخضر ، والتي يعتبر بعضها من محاصيل الحقل المهمة ايضا فتشمل بسلة بيجون *Cajanus cajan* ، فول الصويا Soya bean ، الحمص *Cicer arietinum* ، الفاصوليا *Phaseolus vulagris* والفول المصري وغيرها من البقوليات الأخرى.

بعض هذه البقوليات تستخدم غذاءً للإنسان والبعض الآخر يستخدم أعلافاً للحيوانات، تعتبر البقوليات غذاء هام في الدول النامية وذلك لانها غنية بالبروتينات فهي لحم الفقراء لذلك يعتمد معظم سكان العالم عليها، مما أدى إلى ارتفاع إنتاجها عالمياً حيث بلغ ٧٦٠مليون طن في عام ٢٠٠٨م أي بزيادة تفوق خمس في المائة مقارنة بعام ٢٠٠٠م . وفي افريقيا بلغ إنتاجها ٣١٠ مليون طن / هكتار وفي السودان حوالي ٤٥ مليون طن (FAO, 2008) . قدرالإنتاج العالمي للفاصوليا بحوالي ٧٠ مليون في العام ٢٠٠٨/هكتار كما بلغ إنتاج الفول المصري والحمص عالميا حوالي ١٥٩مليون طن و٨٠ مليون طن متري ٦ على التوالي (FAO,2008).

وفي السودان بلغ إنتاج البقوليات في عام ٢٠٠٨م ٩١١,٠٠٠ مليون طناً بمساحة قدرها ٦١٨٧٢٠ هكتار

والفاصوليا والفول المصري (١٥٢,٠٠٠) اما الحمص فبلغ إنتاجة 131,400اما في ولاية نهر النيل بلغ الإنتاج الكلي للبقوليات في العام ٢٠١٢ وبلغ انتاج الفاصوليا والفول المصري أما الحمص فكان إنتاجة (FAO,2008)

يعتبر الفول المصري من المحاصيل البقولية الرئيسية الهامة ، موطنه الأصلي هو آسيا الغربية وفي شمال أفريقيا. عرفته الصين منذ عام ٢٨٠٠ ق.م بينما كانت زراعته في ذلك الوقت وحشية، وكذلك في أوروبا (في إيطاليا وفرنسا وإسبانيا) ومن ثم تأهلت زراعته وانتقلت من أوروبا إلى أمريكا الشمالية يزرع الفول من أجل الحصول على قرونه الخضراء التي تستعمل في الطهي ومن أجل حبوبه الجافة التي تستعمل في التدميس وبالحساء كما يمكن أن تستعمل بالقلي بعد هرسها وخلطها بالتوابل (الفلافل تحتوي الحبوب الجافة على بروتين ٤٨% ٢٨% نشاء و٣% دهون ،٢% جلوكوز وأملاح معدنية والماء والألياف حوالي ١٦% بمعنى أن الفول غذاء متكامل لولا أن ينقصه بعض الأحماض الأمينية الحيوانية، فهو يشبه في تركيبه اللحم ولذا سمي بلحم الفقراء ، كما تعود أهميته الغذائية إلى استعماله في تغذية الخيول والبغال والماشية بعد جرشه وخلطه مع مواد العلفية الجافة كمصدر للبروتين من أجل تسمينها ولمعان شعورها وإدرارها للحليب أما التبن فيعطى كعليقة مالئة للغنم . كذلك يستعمل في تسميد الأرض وفي تحسين خواصها الطبيعية، عن طريق تثبيت الازوت الجوي من خلال العلاقة التكافلية بين جذوره وبكتيريا الرايزبيوم (F AO ,2008) .

يستخدم الفول في السودان في أغراض مختلفة، فالأنواع القياسية العالية الجودة تستخدم كغذاء للإنسان، أما الأنواع الأقل جودة فتستخدم لتغذية الحيوانات في صورة وتبن و عليقة (TAS , 2010). بالإضافة إلى ذلك للفول فوائد واستخدامات أخرى، ففي مجال الطب والصحة وجد أن في زهور الفول فوائد لإدرار البول ، وتنشيط الهضم،والتخلص من الرمال، وتهدئة آلام الكليتين ، ووقف القيء .
كما أن لب الفول الأخضر اذا غلى وشرب يفيد المصابين بالرمل والحصى ، والتهاب الصفراء والكليتين ، والمثانة (TAS, 2010).
يعتبر محصول اللفاصوليا من اهم محاصيل البقوليات سواء كانت بيضاء أم حمراء ام سوداء ام خضراء، تنتمي الفاصولياء الى عائلة واحدة، في حين ان وطنها الاصلي البيرو، حيث نقلها الهنود الحمر الى بلدان القارة الجنوبية والوسطى، لتنتقل في القرن الخامس عشر الى اوروبا، بعد عودة المستكشفين الاسبان الى بلادهم، من رحلة اكتشاف القارة الجديدة، ثم تنتشر في آسيا وافريقيا، على يد الاسبان والبرتغاليين.

تصنف الفاصوليا البيضاء بكونها من الحبوب الغنية بالبروتينات، ما جعل انتشارها في العالم سريعاً، وتعتبر الهند والصين واندونيسيا والبرازيل من اكثر البلدان التي تزرع وتصنع الفاصوليا. وهي عبارة عن نبات عشبي حولي في السودان تزرع في ولاية نهر النيل والوّلاية الشمالية وتستخدم كغذاءاما بالنسبة للمساحه المزروعة بلغت ١,٢٨٢ فدان في العام ٢٠١٣ بولاية نهر النيل والإنتاجية حوالي ٧,٧٠٠ جوال (إدارة التخطيط ،2013) .

ومن فوائد الفاصوليا البيضاء أنها غنية بالالياف المفيدة، خصوصا القابلة للذوبان، والتي تساعد على طرد "الكوليسترول" من الجسم، كما تحتوي على كميات مهمة من البوتاسيوم، وقليلة من الصوديوم، ما يمنحها القدرة على التخفيف من ضغط الدم، فضلا عن الماغنسيوم، الحديد والمنغنيز. وتعد من المأكولات الخفيفة الدسم، ومناسبة للحمية، لانها تؤمن مصدرا كبيرا من البروتينات النباتية، كما يأكلها النباتيون عوضا عن اللحوم، في حين تكبح النشاط الكيميائي للامراض السرطانية. اما "الفولايت" فيساعد الخلايا على النمو والتكاثر، ويخفف خطر الاصابة بالتشوهات الخلقية، لذلك عادة ما تنصح المرأة الحامل بتناول هذا النوع من الحبوب، كما يغذي الكريات الحمراء في الدم و"الاسيد الاميني". أجريت دراسة على ١٦٠٠ شخص من مناطق مختلفة من اميركا الشمالية واوروبا، حيث اظهرت النتائج ان ٨٢ في المئة من مستهلكي الحبوب والخضار، مثل الفاصولياء لم يصابوا بأمراض القلب، ما يشير الى انها تقي من الاصابة بالذبحة القلبية. وتمنح الفاصولياء الانسان الطاقة، لهضم المأكولات، وحرقها، وتعديل مستوى السكر في الدم، في حين ان الفيتامين (B1) يساعد على تنشيط الذاكرة، وتحديدا مادة "الثيامين (FAOSTAT, 2009)

الحمص *Cicer arietinum* عبارة عن نبات عشبي حولي يزرع في المناطق المدارية وشبه المدارية كما يزرع في المناطق المعتدلة والهند هي اكبر دولة إنتاجا واستخداما وقد أثبتت الحفريات أن موطنه الأصلي هى تركيا وسوريا (Zohary et al, 2012) . للحمص انواع كثيرة فمنه الأبيض والأحمر والأسود والكرسني ومنه البستاني والبري ، الحمص مغذ جدا لإحتوائة على نسبة عالية من البروتينات فيستخدم كغذاء للانسان وكذلك كعلف للحيوان . ويحتوي الحمص على حوالي ٣٨-٥٩% كربوهيدرات ، بروتين مهضوم ٧٦% ،دهون ٣% والياف حوالي ٤% واملاح معدنية ٣% وتشمل الكبريت ،الفسفور ، والبوتاسيوم ، والكالسيوم والحديد (FAOSTAT, 2009) . قال عنه ابن سينا انه ينفع في سائر الاورام ودقيقه للقروح الخبيثة والحكة ومن وجع الرأس والأورام تحت الأذنين وطبخه نافع لليرقان والاستسقاء ويفتح سدد الكبد

والطحال طبخ النوع الأسود منه يفتت حصوة المثانة والكلى . والحمص في الطب الحديث يستخدم مدرا للبول ومفتتاً للحصى ومسمنا ومنشطا للاعصاب والمخ وينصح بعمل شوربة بالحمص للأطفال من سن ٤- ٥. رغم الأهمية الكبرى للحمص في العالم فإن السودان يعتبره محصولاً ثانوياً تتم زراعته في الولاية الشمالية ونهر النيل غذاءًفي مساحة تبلغ ٩٢٠ فدان وانتاج حولي١٨٢٠ جوال (إدارة التخطيط ،**2013**) . يستهلك أغلب إنتاج العالم من الحمص محلياً وتصدر منه كميات قليلة . إستناداً على توافر مقومات إنتاج هذا المحصول في السودان من أرض وماء ومناخ مناسب فإن الحمص تعتبر من المحاصيل الواعدة لزيادة حصيلة البلاد من النقد الأجنبي بجانب المساهمة في تحقيق الأمن الغذائي (Us AID, 2011).

تعتبر أمراض الفول المصري ، الفاصوليا والحمص ذات أهمية كبيرة لما لها من تأثير في حدوث في الإنتاج وخسائر أخرى سجلت في كثير من المناطق عالميا، حيث تصاب الحبوب بالعديد من أصناف البكتريا والفطريات. تساهم البكتريا في التلف الخارجي للبذرة إذ لا تستطع أن تخترق الأنسجة الداخلية لها وهكذا فإن فساد البذور يرجع إلى الفطريات التي تصيبها داخلياً وخارجياً.

في[دراسة اجراها الباحث Sarhan (2009),اثبت أن في بعض المناطق الزراعية في العالم والسودان تصاب البقوليات بالعديد من الأمراض الفطرية ومن أشهرها مرض الذبول الفيوزاريومي و وتعفن الجذور والسيقان بعض الأمراض التي تصيب الفاصوليا والحمص والفول المصري مثل و عفن الساق الأسود والكوز(Stalkتبقع الأوراق(Leaf spot) و صـــــدأ الأوراق(Leaf rust) و العفـــن الـــوردي والبيـــاض الزغبـــــي(Downy Mildew) وتعفن الجذور والذبول الفيوزاريومي. ونسبة للأضرار الاقتصادية التي تسببها الفطريات للمحاصيل وخاصة الفطريات المتطفلة فأجري هذا البحث لمسح للفطريات المحمولة داخل بعض انواع الحبوب بمحافظة الدامرثم أختيرت أكثر الفطريات تطفلا وأجريت عليها تجارب مكافحة حيوية أولية .

مصطلح المكافحة الحيوية يعني استخدام كائن حي أو جين أم منتج جيني لتقليل اثر الكائنات المتطفلة ومكافحة الأمراض حسب ما عرفها الباحث المليجي وزكية (١٤١٨هـ) . تستخدم كائنات دقيقة فطرية أو بكتيرية وأجزاء من النباتات لمكافحة الفطريات مثل فطر الترايكوديرما فيردي *Trichoderma viride* .(Ishral et al.,2008)

الهدف من الدراسة:

بما أن البقوليات تمثل مصدر رئيسي لغذاء الإنسان بعد الحبوب حيث يعتمد عليها شعوب العالم الثالث، فقد سجلت انحدار في إنتاجها في مناطق زراعتها بالسودان وخاصة بولاية نهر النيل نتيجة لتعرضها للإصابات الفطرية، لذا تهدف هذه الدراسة إلى تحقيق التالي

١- إجراء مسح للفطريات المحمولة خارج و داخل بذور الفول المصري والفاصوليا والحمص بمحافظة الدامر، وذلك للمساعدة على بناء برامج تقود للتعرف على وصف الفطريات الموجودة بالمنطقة.

٢- وصف تفصيلي عن نوعية وتصنيف الفطريات وخاصة التي تكون على أنسجة البقوليات المختارة للدراسة أو داخلها والتي ترفع من كفاءة الحجر الزراعي لتطبيق القوانين الكفيلة بضمان سلامة الحبوب وخاصة المستوردة منها.

٣- مساعدة المختصين في مجال مكافحة الأمراض الفطرية لإجراء بحوثهم بكفاءة للقضاء على مسببات الأمراض، و المساعدة في تصميم مراجع قد تكون مفقودة لدى المختصين بعلم دراسة الفطريات وعلم دراسة أمراض النبات، وكذلك المختصين بالحجر الزراعي بالسودان.

٤- إختيار أكثر الفطريلت المعزولة ضررا وإجراء تجارب مكافحة حيوية عليها باستخدام بكتيريا ال *Bacillus* sp.

الباب الثانى

الأبحاث السابقة Historical Reviews

تصاب البقوليات بأمراض فطرية عديدة، معظمها محمول داخل البذور أو علي سطحها Seed-borne diseases. تنقل الأمراض المحمولة داخل الحبوب بواسطة الفيروسات أو البكتريا أو الفطريات التي يتم استقرارها في الأنسجة الداخلية أو الخارجية للبذرة .

كما تحدث العدوى بالفطريات للحبوب إما بالاختراق المباشر لأنسجة النبات أو من خلال الفتحات الطبيعية مثل الثغور و العديسات (المليجي وزكية ١٤١٨هـ) و (Agarwal and Sinclair, 1987).

1.2 الأمراض الفطرية التي تصيب الفول المصري

Mycological diseases of *Vicia faba.*

يصاب نبات الفول المصري في جميع أطوار نموه و كذلك البذور في المخازن بالعديد من الفطريات التي تسبب خسائر اقتصادية للمحصول في جميع أنحاء العالم، بعض هذه الأمراض تصيب المجموع الخضري وبعضها يصيب المجموع الجذري وهنالك أمراض البذور والبادرات.

1.1.2 الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري

Mycological diseases of shoot system

تصاب أوراق الفول المصري بمرض التبقع البني للاوراق Brown leaf spot الذي يسببه فطر *Botrytis fabae* تظهر الإصابة على الأسطح العليا والسفلى للأوراق . يسبب هذا الفطر أضراراً اقتصادية إذ يؤثر على المحصول بدرجة تتناسب مع درجة الإصابة حيث يقل إنتاج المحصول.). سجل هذا المرض في كثير من دول العالم كما سجل في مصر اذ يقلل الإنتاج وقد يقضي على المحصول (Yehia et.al, 2011). كذلك من أمراض المجموع الخضري مرض - التبقع السركسبورى فى الفول Cercospora Spots المسبب المرضى فطر *Cercospora zonata* ومرض تبقع الاسكوكيتا على

الأوراق والقرون Ascochyta leaf and Spot والذي يسببه فطر *Ascochyta faba* ومرض الصدأ Rust of faba beans والمسبب له فطر *Uromyces vicia-faba var.vicia-faba*

ومرض ذبول الساق ويسببه فطر *Fusarium fabae* (Anthony et.al., 2007) ومن الأمراض ايضا ذبول الفيوزاريم: *Fusarium wilt* المسبب المرضى *Fusarium oxysprum* وتتميز الأعراض بإصفرار الأوراق ثم لا تلبث هذه الأوراق أن تذبل ثم تصبح سوداء اللون

وتعتبر إصابة هذا الفطريات جهازية وعائية حيث تمنع سريان الماء والغذاء خلال السلاميات وبين عروق الورقة، وتحدث الخسارة والتي تتمثل في نقص إنتاج المحصول وصغر حجم الحبوب المتكونة .

انتشر هذا المرض في العديد من البلاد التي يزرع بها الفول , وفي السودان عزل الباحثة Abd alwahab, (1986) مجموعة من أنواع الفطريات المتطفلة على نبات الفول المزروعة في الحقول التي شملت *Alternaria, Pythium* sp. و *F. solani, F. equiseti,* spp. *trititicina,Fusarium oxysporium,*

2.1.2 الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري

Mycological diseases of root system

يصاب المجموع الجذري بالعديد من الأمراض الفطرية ومن أكثرها انتشاراً اعفان الجذور والذبول يسبب هذه الأمراض مجموعه من الفطريات الكامنه فى التربه اويصعب تحديد الفطر المسبب لهذه الامراض ومن هذه الفطريات *Rhizoctonia Fusarium oxysporum, Fusarium Pythium sp solani* وقد تحدث الاصابه باعفان الجذور وموت البادرات مبكرا قبل ظهورها فوق سطح التربه بفتره قصيره وفي بعض الاحيان تظهر اختناقات متميزه بالقرب من سطح التربه اما علي النباتات الكبيره فان المرض يتطور ببطء وتزيد شدة هذه الأمراض مع تطور النبات. الفطريات المسببة لأعفان الجذور متوطنة في التربة ويمكن بقائها حية لمدة طويلة في وجود الرطوبة الأرضية ، وقد تنتقل عن طريق حبيبات التربة ومياه الري والرياح أو مع بقايا النباتات المصابة وأيضا مع البذور المصابة

(Montaser and Abdel-Monaim, 2013)

كذلك من الأمراض الشائعة التي تصيب المجموع الجذري مرض عفن الجذور والقدم الذي يسببه العديد من أجناس الفطريات منها *Fusarium* spp. and *Helminthosporium* sp. ويعتبر من أخطر الأمراض التي تسبب خسائر فادحة في المناطق الجافة والصحراوية

(Amira, 2010)

3.1.2. الأمراض الفطرية التي تصيب بذور الفول المصري

Mycolgical diseases of *Vicia faba*

تحمل بذورالفول العديد من مسببات الأمراض التي تسبب عفن الحبوب أو موت البادرات و العديد من الأمراض الأخرى. تصل هذه الكائنات الممرضة إلى بذور الفول عن طريق تلوث الحبوب بجراثيم الكائن الممرض خارجياً أثناء عملية الحصاد أو تلوث البذور بالوحدات التكاثرية للكائنات الممرضة أو المحمولة بالهواء أو بالحشرات والطيور، و قد تحدث العدوى مباشرة حيث يخترق الكائن الممرض البذور ويغزو أنسجتها أثناء تكوينها أو عن طريق العدوى الجهازية للنبات بالكائن الممرض ووصوله إلى البذور. ومن أكثر الإصابات خطورة على النبات هي الفطريات المحمولة على البذور. هنالك أمراض فطرية عديدة تنتج عن الفطريات المحمولة على البذورمنها مرض الانثراكنوز Anthracnose ويسببة فطر *Colletotichum sp* يبدأ ظهور أعراض الإصابة قبل التزهير وتعتبر البذور المصابة بالفطر هى المصدر الرئيسى لحدوث الإصابة . في مصر سجل الباحث Elwakil ومساعدوه (٢٠٠٩) إصابة الفول المصري بالعديد من الفطريات مثل *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc., *Penicillium italicum* (Wehmer), *Alternaria alternata*Keissler, *Botrytis faba* ,*Cephalosporium* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum* (Link), *Fusarium oxysporum* (Schlechlendahl), *Fusarium semitectum* (Berkeley and Ravenel), *Fusarium solani* *Fusarium verticillioides* (*moniliforme*), *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer* ,*Stemphylium globuliferum*, *Trichothecium roseum*, *Verticillium dahliae* , *Helminthosporium* sp.,*Fusarium*.,*Chaetomium* ,*Alternaria* sp, *Rhizopus* spp. sp.,*Aspergillus* spp. أيضاً من الأمراض الفطرية التي تصيب بذور الفول المصري لامرض تعفن

البذور ومرض تبقع البذور أوجـرب البذور والذي يؤدي إلى موتها. و يسبب هـذا المـرض أنـواع عـديدة تتبـع لـجنس *Fusarium* sp مـثـل *F. culumorum*, ،*F. avenaceum, F. nivale* , Drechlera sp. (Fakhrunnisa and Ghaffar. 2006).

2.2 الأمراض الفطرية التي تصيب الفاصوليا

Mycological diseases of Phaseolus *vulgaris*

تعتبر أمراض الفاصوليا ذات أهمية كبيرة؛ لما لها من تأثير في الإنتاج و خسائر في بعض مناطق زراعته المختلفة. يصاب هذا النبات في جميع مراحل نموه بالعديد من الفطريات، بعضها عبارة عن فطريات مخازن والبعض الأخر عبارة عن فطريات حقلية، والتي تسبب العديد من الأمراض للمجموع الخضري أو الجذري أو تصيب البذور.

1.2.2. الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري

Mycological diseases of shoot system

تصاب الفاصوليا بأمراض فطرية عديدة تظهر إصابتها على جميع الأجزاء النباتية فوق سطح التربة مثل صدأ الفاصوليا Bean rust الذي يسببه فطر *Uromyces phaseoli* ، يظهر هذا المرض عادة على الأوراق والقرون، وبداية ظهور الأعراض عبارة عن بثرات على السطح السفلى للأوراق على شكل بقع صغيرة ١-٢ مم بيضاء اللون ومرتفعة قليلاً، ومع تقدم الإصابة تظهر بقع بنية إلى حمراء اللون على السطح السفلى والعلوى وبتقدم الإصابة تتكون البثرات على كلا سطحى الورقة ذات لون بنى مسود. سجل هذا المرض بالمملكة العربية السعودية بالمنطقة الشرقية نتيجة للدراسة التي أجرتها الباحثة Amira, 2010 . وكذلك من الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري مرض تبقع أوراق وقرون الفاصوليا Leaf and pods spot و المسبب له فطر *Ascochyta phaselorum* ومرض تبقع الأوراق الألترناري Alternaria leaf spot والمسبب له فطر *Alternaria alternata* ، أعراض هذا المرض عبارة عن بقع صغيرة فى البداية ذات لون بنى وغير منتظمة الشكل تتحول إلى بقع بيضاوية كبيرة لونها بنى أو

رمادى ذات حلقات مركزية هذه البقع لا تتعارض مع العروق الرئيسية للورقة و يشاهد على القرون البقع البنية وتتحول إلى خطوط أو شرائط طولية.

وكذلك مرض العفن الرمادى Grey mould ويسببه فطر *Botrytis cinerae* . تظهر أعراض هذا المرض فى شكل نمو كثيف أبيض رمادى فاتح مغطى بالجراثيم الكونيدية السوداء على جميع أجزاء النبات المصابة وخاصة الأوراق والقرون التى تتحول إلى كتلة هلامية من نسيج مائى مغطاه بالنمو الرمادى (Sarhan, 2009). وتؤدي هذة الأمرض إلى حدوث خسائر بالمحصول تصل إلى ٤٠% .

2.2.2 الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري Mycological diseases of root system

تصاب الجذور بالعديد من الأمراض الفطرية ومن أهمها مرض عفن الجذور الريزوكتونى (تقرح الساق) Stem canker والذي يسببه الفطر *Rhizoctonia solani* أعراض هذا المرض عبارة عن ظهور بقع بيضاوية غائرة بنية إلى حمراء اللون على السويقه الجنينية السفلى فى البادرات والإصابة الشديدة تؤدى إلى تحليق الساق وغالباً ما تسقط البادرات المصابة وقد يمتد العفن حتى نخاع البادرة مسبباً لون بنى محمر فى الأنسجة المصابة – تظهر بقع بنية ضاربة إلى الحمرة على الساق والقرون الملامسة لسطح التربة. وكذلك من أمراض المجموع الجذري عفن الجذور الجاف Dry rot والمسبب له *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* تظهر أعراض هذا المرض بعد فترة من الإنبات على شكل عفن جاف فى الجزء العلوى من جذور النبات والجزء السفلى من السويقة الجنينية السفلى بلون أحمر يتحول إلى البنى القاتم ، وتؤدى الإصابة إلى اصفرار أوراق النباتات تدريجياً ثم موتها فى النهاية. ويعتبر مرض الذبول الفيوزاريومى إصابة جهازية التي تصيب النسيج الداخلي للجذور ويسببه فطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* هذا المرض يصيب البادرات بمجرد إنباتها فيحدث ذبول تدريجى على النباتات يبدأ من أسفل إلى أعلى ويظهر عند عمل قطاع طولى أو عرضى فى جذر نبات مصاب تلون الأوعية الناقلة بلون بنى نتيجة إفرازات الفطر. يتنقل المرض عن طريق البذور ويعيش الفطر من موسم لأخر فى التربة أو فى المخلفات النباتية المصابة. في كينيا وفي سيريلانكا سجل الباحثون

Mwang,Ombe, et al (2007) و Saman (2007) مرض عفن الجذور والذي تسببه العديد من الفطريات مثل *Fusarium solani, Rhizoctonia solani and Macrophomina phaseolina* كل هذة الأمراض تسبب اضرار فادحة وخسارة بنسبة تتعدى ال ٥٠% للمحصول .

وفي السودان سجلت العديد من الأمراض الفطرية التي تصيب جذور الفاصوليا و تتسبب في حدوث أمراض أخرى مثل، عفن الجذور الريزتكتزني والبيثومي وكذلك عفن الجذور الفيوزاريومي .

3.2.2. الأمراض الفطرية التي بذور الفاصوليا

Mycological diseases of *phaseolus vulgaris*

درس الباحثون Agarwal and Sinclair (1987) كيفية انتقال الفطريات الممرضة إلى البذور ومن بينها الفاصوليا . من أهم الأمراض التي تصيب البذور الانثراكنوز Anthrancnose والذي يسببة فطر *Colletotrichum lindemuthianum* ، تظهر أعراض هذا المرض كبقع غائرة صغراء إلى بنية اللون على البذور المصابة بزراعتها يتكون على الأوراق الفلقية بقع مماثلة يتكون بها جراثيم الفطر الكونيدية وردية اللون فى الجو الرطب ثم تصاب السويقة الجنينية السفلى ويتكون عليها بقع صغيرة ذات لون أحمر قاتم ثم تستطيل وتمتد لأعلى نحو الساق وتأخذ شكل التقرحات وتؤدى إلى تحليق الساق .

تنقل الجراثيم من التقرحات مع رذاذ الماء إلى الأعناق وأسطح الأوراق السفلية وتظهر بقع مماثلة، كما تظهر على القرون أيضاً وتكون صغيرة وذات لون أحمر قاتم بيضاوية إلى مستطيلة ويصير لونها أسود على الحواف وتصبح غائرة فى المركز وقد تغطى البقع كل سطح القرن وتمتد الإصابة من خلال القرن لتصل إلى البذور كما سبق ينتشر الفطر بواسطة الجراثيم الكونيدية مع رزاز الماء والهواء وينتشر أيضاً باللمس ويعيش الفطر فى بقايا النباتات المصابة فى التربة على صورة مسيليوم ساكن Agarwal and Sinclair (1987).

عزل الباحثون في بلدان مختلفة عدد من الفطريات المحمولة على بذور الفاصوليا ففي اثيوبيا عزل الباحثان Mohammed and Somsiri ,2005 فطريات *Phaeoisariopsis griseola,* and *Ascochyta*

اما في العراق عزلت الباحثة Sarhan, 2009 العديد من الأجناس الفطرية أهمها *phaseolorum* *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Ascochyta* spp., *Chaetomium* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp., *Penicillium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia*

والتي عزلت بنسب مختلفة وأثرت على إنتاج المحصول. أما في المملكة العربية السعودية عزلت الباحثة Amira ,2010 ايضا أجناس مختلفة من الفطريات مثل ***Rhizoctonia solani,***

Pythium aphanidermatum, Sclerotinia sclerotiorum,

معظم الأجناس الفطرية المحمولة على بذور الفاصوليا تتسبب في حدوث أمراض إلى الجذور والمجموع الخضري كما أن بعضها يفرز سموم مسرطنة تؤذي الإنسان والحيوان .

وفي السودان عزلت الباحثة Abd Alwahab, (1986) حوالي اربعين فطر من الفاصوليا.

3.2 الأمراض الفطرية التي تصيب الحمص

Mycological diseases of *Cicer arietinum*

معظم الأمراض التي تصيب الفول والفاصوليا أيضاً تصيب الحمص، فهنالك العديد من الأمراض التي تظهر على المجموع الخضري والمجموع الجذري؛ كما هنالك أمراض تنتج عن الفطريات المحمولة داخل

الفطريات التي تصيب البذور مباشرة تؤدي إلى هلاكها أو تظهر بعد الإنبات على المجموع الخضري

1.3.2 الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري

Mycological diseases of shoot system

يصاب الحمص بالعديد من الأمر اض التي تؤثر سلب في الإنتاجية وتسيء إلى نوعية بذوره المنتجة، وتعدُ لفحة الأسكوكيتا (Ascochyta Blight) من أهمها لاسيما عند توافر الظروف الجوية المناسبة لانتشار هذا المرض وتطوره . سجل هذا المرض بسوريا من الدراسة التي الباحثون عمر ومساعدوه ،2012 وأكدوا أن هذا المرض يصيب المجموع الخضري لنبات الحمص في جميع مراحل النمو هذا المرض ناتج عن فطر *Ascochyta rabiei* ويعد تقصف الساق وإصابة البذور من أكثر أعراض المرض ضررا .

ايضا سجلت كثير من الأمراض التي تصيب المجموع الخضري للحمص أهمها مرض الذبول الفيوزايرمي والذي يسببه فطر *Fusarium oxysporium* والذي تظهر أعراضه في النبتة الصغيرة ويؤدي إلى سقوط الأوراق ثم إلى موت النبات. إصابة هذا الفطر جهازية لأنها تظهر بلون بني داخل الأوعية الخشبية للنبات وذلك عند عمل

قطاع عرضي للساق (Gaur, 2010). كما سجل في الهند مرض العفن التاجي والذي يسببة فطر *Sclerotium rolfsii* واعراض هذا المرض اصفرار النبات ثم موتة وكذلك مرض العفن الرمادي الناتج عن فطر *Botrytis cinerea* ويعتبر هذا المرض من أكثر الأمراض الشائعة التي تصيب المجموع الخضري فيظهر باصفرار الأوراق ثم سقوطها كما تظهر بقع غائرة ممتلئة بالماء يليها تعفن البرعم الطرفي ثم موت النبات (Gaur, 2010)

2.3.2 الأمراض الفطرية التي تصيب المجمع الجذري

Mycological diseases of root system

يسبب **فطر** :*Rhizoctonia bataticol* مرض عفن الجذورالجاف للحمص والذي يسبب اسوداد الجذور ثم جفافها وعدم تكوين الجذور الجانبية ، بينما فطريات *Fusarium* solani , *Fusarium oxysporium* , *Pythium* spp. ,*Rhiztonia* solani و *phytothopora* spp. تسبب العفن التاجي وذبول وتلطخ الجذور التي تؤدي إلى موت النبات وتسبب أضراراً وخسائر اقتصادية(Mohd and zaki,2010) .كل هذة الأمراض سجلت في كثير من دول العالم وفي السودان (Gaur, 2010).

3.3.2. الأمراض الفطرية التي تصيب حبوب الحمص

Mycological diseases of *Cicer arietinum* grains:

في الهند عزل الباحث (2007), Naureen ، أجناس فطرية مختلفة من بذور الحمص مثل

Aspergillus, Penicillium, Monilia, Drechslera, Mucor, Alternaria, Cladosporium, Fusarium, Acremonium, Rhizopus, Tubercularia, Phoma, and *Trichoderma* spp.

وفي المملكة العربية السعودية عزلت الباحثة Amira,(2010 أجناس مختلفة من الفطريات المحمولة على بذور الحمص مثل فطر البثيوم والرايزكتونيا . وفي العراق عزلت الباحثة Saharan , (2009) ايضا أجناس فطرية مثل *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Ascochyta* spp., *Chaetomium* spp., *Cladosporium*

spp., *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp., *Penicillium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., . *Rhizopus* spp. and *Verticilliu* spp

أما أثناء التخزين فتكثر أجناس ***Penicillium*** و ***Aspergillus*** نمو هذه الفطريات على الأغذية والأعلاف يؤدي إلى إنتاج السموم الفطرية (Mycotoxins) وهي في منتهى الخطورة على صحة الإنسان. ومن أكثر الأجناس المنتجة لهذه السموم ***Penicillium* sp.**, ***Fusarium* sp.** و ***Aspergillus*** sp. كما تم نشره بواسطة الباحث Naureen ,(2007).

2. 4. المكافحة الحيوية Biological control

للتخلص من الفطريات المرضية استخدمت طرق مختلفة للقضاء عليها فاستخدمت المبيدات الكيميائية لمعالجة الفطريات ، لكن ظهرت سلبيات لهذه المبيدات الكيمائية بالإضافة إلي تكاليفها الباهظة من الناحية الاقتصادية فهي ملوثات البيئة والتي توثر سلبا علي الإنسان والحيوان ، كما إن بعض الفطريات تظهر مقاومة لهذه المواد (Haggag and Mohamed et al.,2007) لذلك فان معظم التوجهات الحالية في مجال مقاومة الفطريات الضارة تقوم علي إيجاد طرق ووسائل بديلة للمكافحة الكيميائية . فاستخدمت كائنات حية دقيقة مجهرية وأنسجة ومستخلصات نباتية .

توجد الكائنات الدقيقة المجهرية في كل بيئات النبات ويقصد بها الكائنات التي يمكن استخدامها لمكافحة الكائنات الممرضة للنبات وسواء كانت فطرية ام بكتريا أو اكتينوميسيتات فأينما وجدت الكائنات الممرضة يوجد معها في الغالب أعداء طبيعيون سواء في التربة ام علي سطوح الجذور والسيقان والأوراق والبذور لكن قد لا تكون بالأعداد الكافية لوقف نشاط الكائن الممرض ، ومهمة الباحث هي التعرف علي هذه الكائنات وإكثارها واستخدامها لمجابهة الكائنات الممرضة (Papavizas,1992).

1.4.2. المكافحة الحيوية باستخدام البكتريا Biological control using Bacteria

استخدمت أجناس مختلفة من البكتريا في مكافحة العديد من الأجناس الفطرية ومن هذه الأجناس البكتيرية *Bacillus cereus*-28-9 و *B.subtitis* (Nourozian et al. ,2006) والتي استخدمت لمكافحة فطريات, *Fuusarium oxysporum*، *Botrytis elliptica* علي التوالي كما استخدمت أجناس كثيرة من بكتريا الاكتينوميسيتات وعلي رأسها بكتريا *Streptomyces* sp. لمكافحة العديد من الأجناس الفطرية مثل *Fusarrrum oxysporum* الذي تم مكافحته ببكتريا *Streptomyces olivaceus, Streptomyces Fusarium oxysproium* (Anitha and Rabeeh,2009)

2-5 وصف لعدد من أجناس الفطريات الأكثر سيادة علي العينات تحت الدراسة منها الآتي:

فيوزاريوم مونيليفورم *Fusarium moniliforme* (Nelson *et al.*, 1983):

تصيب العديد من العوائل النباتية حيث تحدث لمحصول الأرز لفحة البادرات (Seedling blight)، تعفن القدم (Foot rot)، والعفن التاجي للموز. وتعد من الفطريات القاطنات للتربة وهو طفيل محمول على الحبوب. وتكمن خطورته في إنتاج سموم الفيومازين B_1, B_2 التي لها أضرار بالغة على الإنسان والحيوان .,

فيوزاريوم أوكسيسبوريم *Fusarium oxysporum* (Nelson *et al.*, 1983):

يصيب العديد من العوائل النباتية فيسبب مرض الذبول لكثير من النباتات و من بينها القمح. وهو فطر اختياري الترمم، يتطفل على العائل وعند الظروف غير الملائمة يصبح مترمماً ويعيش في التربة كما يتسبب في حدوث خسائر في إنتاج بعض المحاصيل مثل القمح و الأرز). هذا الفطر ينتج سمـوم زيرالينـــون و T_2, HT_2 التي تسبب أضراراً للإنسان والحيوان

دركسلا اسباسيفر *Drechslera spicifer* (Nelson et al, 1983):

وهذا الفطر يصيب عدداً هائلاً من العوائل النباتية وينتشر في مناطق عديدة من العالم، يكثر وجوده في المناطق المدارية وشبة المدارية. عزل هذا الفطر من سبعة وسبعين نباتا مختلفا أو أكثر. يعتبر من الفطريات المحمولة بالهواء وفي التربة والحبوب. توجد متحدة مع الحبوب وتسبب لها كثيراً من الأمراض وتؤثر على الإنبات وتتسبب في إحداث

تبقع في الأوراق وعفن الجذور في الباذنجان، و قصب السكر، و نبات الدخان، والفاصوليا.كما يسبب التبقع الربيعي في القطن (Spring dead spot). عزل من أخشاب بعض النباتات. سجل هذا الفطر في المملكة المتحدة.

اسبرجيلس فلافوس *Aspergillus flavus* (Raper and Fennell, 1965):

من فطريات المخازن الرئيسية (Hill and lacey, 1983b) وتسمى بعفن الحبوب، وتتميز بلونها الأخضر الفاتح وتنمو على كل جزء من النبات وتفرز سموم الافلاتوكسين المسرطنة على الحبوب والتي تسبب سرطان الكبد للحيوان والإنسان.

اسبرجيلس نيقر *Aspergillus* niger (Raper and Fennell, 1965)

من فطريات المخازن الرئيسية (Hill and lacey, 1983b) وتسمى بعفن الحبوب، ويتدرج لونها من الرمادي إلى البني الغامق وتنمو على كل جزء من النبات معظمها مترمم إلا أن هنالك بعض الأنواع المتطفلة.

اسبرجيلس نديولس *Aspergillus nidulus* (Raper and Fennell, 1965)

من فطريات المخازن الرئيسية (Hill and lacey, 1983b) وتسمى بعفن الحبوب، وتتميز بلونها الأخضر الزيتوني ولها أجسام ثمرية لونها بني محمر ويسمي طورها الكامل *Emericella nidulans* وتنمو على كل جزء من النبات معظمها مترمم إلا أن هنالك بعض الأنواع المتطفلة.

الباب الثالث

المواد والطرائق

Materials and Methods

1.3 المواد:

استخدمت في هذه الدراسة بعض المنابت الفطرية منها:

* بيئة اجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة و تتكون من: 10جرام ببتون، 10جرام مستخلص الخميرة، 5 جرام k_2HPO_4، 5 جرام جلوكوز، 15جرام اجار و لتر ماء مقطر.

* بيئة اجار المولت: 30 جرام موت، 15جرام اجار و لتر ماء مقطر.

*محلول كلوريد الزئبق تركيزه 0.01 %:

2.3 جمع العينات **Collection of samples**

جمعت عينات محاصيل البقوليات التي اختيرت للدراسة من ثلاثة مواقع بمحافظة الدامر شملت المكابراب والحديبة وبربر أجريت الدراسة في العام 2013.

جمعت حبوب الفول، الفاصوليا و الحمص وحفظت في أكياس بلاستيكية معقمة ووضعت في الثلاجة عند درجة حرارة 4C° مع إتباع قوانين ولوائح اتحاد فحص البذور العالمي (ISTA ,2013).

3.3 المواد الكيميائية Chemical Materials

كل المواد الكيميائية المستخدمة من نوع (Analar grade) أو ما يعادله، وكل البيئات من شركة اوكسيد الكيميائية (Oxoid Chemical Company) بالمملكة المتحدة. بعض البيئات تم تحضيرها بالاستعانة بمرجع (Harrigan and McCance, 1966).

4.3 فحص جراثيم الفطريات المحمولة على البذور

Examination of seed - borne fungi

1.4.3 فحص الحبوب الجافة Examination of dry Seeds

فحصت الحبوب الجافة تحت الدراسة(فول ، فاصوليا وحمص) باستخدام المجهر المكبر Stereoscopic (binocular, 16x, 40x) و ذلك للتأكد من معدل نقاء الحبوب و مدى تلوثها ببعض الشوائب مثل بقايا المخلفات النباتية، و الأجسام الحجرية والأورام النسيجية التي تسببها الحشرات والفطريات.

2.4.3 فحص مياه غسيل البذور Examination of seed washing water

تجرى هذه التجربة لفحص مياه غسيل البذور للتأكد مما إذا كانت هنالك بعض الجراثيم، مثل الجراثيم البيضية، و الكلاميدية، و الكونيدات و حويصلات التفحم. قسمت البذور إلى قسمين بحيث يحتوي كل قسم على 1 جرام من كل عينة. أضيفت كل عينة من هذه العينات إلى 10 مل ماء مقطر ورجت بواسطة هزاز(Shaker) ثم اجري طرد مركزي لهذا السائل عند سرعة 2005-2300 لفة / الدقيقة. وبعدها غمر الراسب مرة أخرى بمقدار 2 مل ماء مقطر و خلط جيداً. أخذت ٨ قطرات من كل عينة على حدة وفحصت مباشرة باستخدام المجهر الضوئي المركب (Shetty *et al.*, 1978).

3 .5. عزل الفطريات Isolation of Fungi

3 .5.1عزل الفطريات الداخلية Isolation of internal mycoflora

3.5.1.2 زراعة البذور على أوراق الترشيح.

عقمت البذور تحت الدراسة لمدة خمس دقائق في محلول كلوريد الزئبق تركيزه,0.01% وذلك للتخلص من الفطريات والبكتيريا النامية على سطح الحبوب دون أن تؤثر على الفطريات النامية داخل الحبوب Sauer and Burroughs, (1986) ثم غمرت في الماء المقطر المعقم لمدة دقيقتين. زرعت الحبوب المعقمة (١٠٠ حبة لكل عينة) على قرص من ورق الترشيح قطره 9 سم (Whatman N0. 1) مرطب بالماء و معقم بالحرارة الرطبة بواسطة جهاز الاوتوكلاف. يحتوي كل طبق على 15 حبة (بتكرار ثلاثة أطباق لكل عينة) وزرعت على مسافة محددة ومناسبة لحجم الحبوب. حضنت الأطباق في حضانة(Gallenham NO. SCR645) عند درجة حرارة 28±2C° (كما في التجربة.1.4.3) لمدة 4-7أيام و ذلك لتعرف المستعمرات الفطرية النامية ISTA(1985) .

ثم فحصت الحبوب بعد تنميتها باستخدام المجهر المكبر(Stereoscopic binoculai) تحت التكبير ×50 لملاحظة الفطريات النامية على العائل. حسبت النسبة المئوية للإصابة والإنبات كما حسبت النسبة المئوية لتكرار للإصابة.

النسبة المئوية للإصابة = عدد الحبوب المصابة / العدد الكلي للحبوب المزروع

النسبة المئوية لتكرار الفطر = عدد الحبوب المصابة بالجنس/ النوع / العدد الكلي للحبوب

كذلك حسبت النسبة المئوية للكثافة النسبية للفطر كما في العلاقة التالية:

النسبة المئوية للكثافة النسبية للفطر = عدد جنس أو نوع من الفطريات المعزولة / العدد الكلي لأجناس الفطريات المعزولة

6.3 تعريف الفطريات المعزولة: Identification of isolated fungi

لتعريف المستعمرات الفطرية التي نمت على الحبوب المزروعة في بيئة آجار المولت جهزت البيئة عقمت بالحرارة الرطبة في جهاز الأوتوكلاف عند 121C° لمدة 15 دقيقة، بردت البيئة عند درجة حرارة 45 C° وصبت بأطباق بتري ثم نقل قرص من كل مستعمرة من المستعمرات المختلفة (كل على حدة) إلى البيئة بأطباق بتري وحضنت في حضانة عند 2±28 تحت إضاءة: ظلام (12: 12ساعة) كما في تجربة 1.4.3المدة سبعة أيام. فحصت الفطريات المعزولة وذلك باستخدام المجهر الضوئي المركب (Novex-K-Range). جهزت شرائح وذلك بأخذ عينة من كل فطر واستخدمت صبغة لاكتوفينول في حالة الفطريات ذات الألوان الداكنة وصبغة لاكتوفينول الأزرق (Lactophenol cotton blue) في حالـــة الفطريـــــات الشفافـــة (Mislivec 1983) .

تم تعريف الفطريات مورفولوجيا كمايلي: فطريات الفيوزاريوم ***Fusarium*** **spp** (Nelson *et al.*,1983)، اسبيرجيلس ***Aspergillus*** **sp.** (Raper and Fennll, 1965)، وباقي الفطريات أعتمد في تعريفها على وصف الباحث Ellis (1976).

بعد تعريف الفطريات تم تصويرها بواسطة مجهر مزود بكاميرا(Olympus- B 202) ومجهر آخر مزود بأنبوبة (Camera Lucida tube).

7.3 عزل الجرثومة المفردة Single spore Isolation

وضعت أطباق بتري المحتوية على المزارع الفطرية تحت المجهر المكبر تحت ظروف التعقيم. جهزت بيئة اجار المولت بأطباق بتري وحددت مساحة مربعة كبيرة أسفل الطبق، نقلت جراثيم فطرية لهذا المربع بواسطة شعرة مثبتة على طرف إبرة تشريح معقمة. ثم نقلت جرثومة مفردة من المربع الأول إلى مربع أصغر مرسوم بجانبه. حضنت الأطباق في الحضانة عند ٢٨مْ. بعد نمو الجرثومة قطع مربع البيئة المحتوي النمو الفطري(الجرثومة) ونقل إلى بيئة نمو أخرى (Abd-Elwahab, 1986).

1.7.3. تحضير الشرائح Preparation of Slides

جهزت الشرائح باخذ خيط أو اكثر من المزرعة الفطرية ووضعها في شريحة محتوية علي قطرة لاكتوفينول أو لاكتيوفينول الأزرق ، وفردت المزرعة بعد تغطيتها بغطاء الشريحة ،بعد ذلك فحصت بواسطة الجهر الضوئي.

8.3. المكافحة الحيوية Biological control

تم الحصول على بكتيريا الباسيلس من مختبر علوم الحياة بكلية التربية جامعة وادي النيل ثم درس الأثر التضادي لها (لبكتريا *Bacillus* sp.) علي نمو فطريات الفيوزاريوم *Fusarium* sp. و استخدمت طريقة المزارع الثنائية (أقراص الاجار) زرعت بكتريا الـ*Bacillus* sp في بيئة الاجار المغذي وحضنت عند درجة حرارة 28 مْ لمدة 4أيام بتكرار ٣مرات ثم اختبر قرص من مزرعة بكتريا *Bacillus* sp. قطره ٦ملم باستخدام ثاقب فليني نقل هذه القرص تحت ظروف التعقيم إلي طبق بتري محتوي علي بيئة (PDA.) وبه مزرعة لفطر *Fusarium solani* بحيث تكون البكتريا عند طرفي البيئة وفطر *Fusarium solani* عند الوسط كما جهز طبق بفطر *Fusarium solani* فقط واستخدم كضابط حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28±2C° .قيست درجة التضاد الحيوي بقياس طول قطر المزرعة الفطرية في المزرعة الأحادية والثنائية (بفترة زمنية 48 ساعة بين كل قراءة وأخري) لمدة ١٢يوم . ثم حسبت النسبة المئوية لنقصان القطر في المزرعة الثنائية كما وصفها Acar and Goldstein ,1996 كررت هذه التجربة مع فطر *F.oxysporum* ثم مثلت النتائج بيانيا.

الباب الرابع

النتائج

Results

أجريت هذه الدراسة على ٩ عينات من البقوليات بواقع ثلاث عينات لكل جنس وكانت العينات فول مصري (*Vicia faba*) فاصوليا بيضاء(*phaseolus vulgaris*) وحمص (arietinum) Cicer جمعت من مواقع مختلفة بمحافظة الدامر (جدول١).

1.4 فحص جراثيم الفطريات المحمولة على البذور Examination of seed- borne fungi

1.1.4فحص الحبوب الجافة Examination of dry seed

كل عينات البذور الجافة التي أجريت عليها الدراسة عند فحصها بالمجهر الضوئي كانت ملوثة ببقايا النباتات فقط بنسبة ٣٠% لعينات الحمص، ٢٠% لعينات الالفاصوليا و ٢% لعينات الفول المصري على التوالي. لم يسجل أي وجود لأورام نسيجية أو أجسام حجرية فطرية بكل العينات.

1.2.4 فحص مياه غسيل الحبوب Examination of washing water

بعد غسل الحبوب وفحص مياه الغسيل بواسطة المجهر الضوئي ظهرت كونيدات مختلفة كروية الشكل لونها أخضر مصفر، أصفر باهت و أخضر مزرق قليلة العدد تراوحت نسبتها بين حوالي ٥, -١%للعينات المختلفة.

2.4 عزل الفطريات Isolation of fungi

4- 2- 1 عينات بذور الفول المصري:

أجريت الدراسة على تسع عينات من البقوليات بواقع ثلاث عينات لكل جنس وشملت الفول مصري (ف١، ف٢ وف٣) ، الفاصوليا (ص١، ص٢ وص٣) والحمص (ح١ ،ح٢ وح٣) وجمعت هذة العينات من بربر، الحديبة والمكابراب جدول (١).

أما فحص ماء الغسيل فاثبت وجود جراثيم كروية أو بيضاوية خضراء وصفراء اللون بنسب ضئيلة جداً التي عند فحصها لم تكن واضحة بحيث يسهل تعريفه.

جدول (1) يوضح مصادر البذور التي جمعت للمسح الفطري :

رقم المتسلسل	العينات	المصدر
١.	الفول المصري *Vicia faba*	
	ف١	بربر
	ف٢	الحديبة
	ف٣	المكابراب
٢-	الفاصوليا *Phaseolus vulgaris*	
	ص١	بربر
	ص٢	الحديبة
	ص٣	المكابراب
٣-	الحمص Cicer arietinum	
	ح١	بربر
	ح٢	الحديبة
	ح٣	المكابراب

2.2.4 عزل الفطريات الداخلية Isolation of internal fungi(Seed- borne fungi)

1.2.2.4 : عينات الفول المصري *Vicia faba* samples

زرعت بذور الفول المصري على أوراق الترشيح ورصدت نتائج المجموعات الفطرية الداخلية (الفطريات المحمولة داخل الحبوب) بجدول (2). توضح النتائج أن النسبة المئوية للإصـــابة تراوحـــت بين ٦٨ – ٨٠%. سجلت أعلى نسبة للإصابة بالعينة ف٢(الحديبه) وأقل نسبة بالعينة ف١(بربر). أما النسبة المئوية للإنبات فتراوحت بين ٩٧-١٠٠ % و كانت أعلى نسبة للإنبات بالعينتين ف١ وف٣ وأقلها بالعينة ف٢ويلاحظ من هذه النتائج عدم وجود ارتباط بين نسبة الإصابة والإنبات. و بالنسبة للمجموع الكلي للفطريات تراوح ما بين ٥٩ ـــ ٧٣ أقل عدد بالعينة ف٢ و أعلاها بالعينة ف١، دلت النتائج أيضا أن أكثر الفطريات سيادة فطر *Fusarium moniliforme* الذي عزل من كل العينات المختبرة وتراوحت النسب المئوية لتكراره بين ٣٠ و ٨٠ % و كثافته النسبية بين ١٧- ٦٠ %، يليه فطر *Aspergillus flavus* الذي تراوحت فية النسبة المئوية للتكرار والكثافة النسبيية بين١٥ - ٢٥% و١٠- ١٥% أقل نسبة سجلت بالعينة ف١ وتساوت النسب للعينتين ف٢وف٣. يأتي في المرتبة الثالثة فطر *Aspergillus niger*الذي سجلت له أعلي نسبة مئوية للتكرار والكثافة النسبية فالعينة ف٢ ١٥ و١٠على التوالي والعينتان ف٣ و١٣ كانت تراوحت النسبة المئوية للتكرار والكثافة النسبية بين ٨-١٠ و٥-٧علي التوالي . ثم بعد ذلك فطر *Aspergillus nidulans* و *Aspergillus terrus* فسجل الأول في العينتين ف٢ وف٣ أما الفطر الثاني فسجل بالعينة ف١ فقط وبنسب تراوحت بين ١,٥ -٣ % والكثافة النسبية بين ٢,٥ -١٥ % أعلى نسبة سجلت بالعينة ف٢ (الحديبة) .

جدول(2) الكثافة النسبية والنسبة المئوية لتكرار أنواع وأجناس الفطريات المعزولة داخليا من بذور الفول المصري بالمواقع المختلفة بمحافظة الدامر وباستخدام ورق الترشيح :

المعزولات الفطرية	بربر		الحديبة		المكابراب	
	تك%	كث%	تك%	كث%	تك%	كث%
Aspergillus flavus	15	10	25	15	26	15
Aspergillus niger	10	7	15	10	8	5
Aspergillus nidulans	-	-	2	1.5	3	2
Aspergillus terrus	3	2	-	-	-	-
Rhizopus stolonnifer	9.5	5.2	25	15	20	10
Fusarium moniliforme	80	60	33.4	18.5	30	17
المجموع الكلي للمعزولات الفطرية	73		59		65	
عدد البذور	45		45		45	
النسبة المئوية للإصابة	68		80		70	
النسبة المئوية للانبات	100		97		100	

2.2.2.4 عينات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* samples

زرعت ثلاث عينات فاصوليا (ص١ ،ص٢ وص٣) بأوراق الترشيح لعزل المجاميع الفطرية الداخلية ورصدت النتائج بجدول (٣) و الذي يوضح أن النسبة المئوية للإصابة تراوحت بين 100 -76% فسجلت العينة ص١ (بربر) أكثر نسبة للإصابة والعينة ص٢(الحديبة) أقل نسبة للإصابة. أما النسبة المئوية للإنبات فكانت 100%لكل العينات ويلاحظ عدم وجود علاقة واضحة بين نسبة الإصابة والإنبات. عزلت ثلاث أجناس من الفطريات شملت اسبيرجيلس *Aspergillus*، فيوزاريوم *Fusarium*، ودريكسلا *Drechslera*، أكثر هـــذه الأجناس سيادة اسبرجيلس والـــذي عـــزل منه نـــوعين هما اسبرجيلس فليفزو تراوحت النسبه المئوية للتكرار بين 100-68% و كثافته النسبية تراوحت بين 70 -43%. سجلت أعلى قراءة بالعينة ص١ (بربر) وأدناها بالعينة ف٢ (الحديبة). يحتل فطر *Drechslera* spicifer المرتبة الثانية من النسبة المئوية للتكرار40-10والكثافة النسبية والتي تراوحت بين 24-3 علي التوالي ،أعلي نسبة سجلت بالعينة ص١وادناها بالعينة ص٢ (الحديبة). أما جنس فيوازرايوم فسجل بالعينتين ص١ وص٢ النسبة المئوية للتكرار والكثافة النسبية. تراوحت النسبة المئوية للتكرار بين20-5% و الكثافة النسبية بين 14.4 – 1.6% سجلت العينة ص٢ أعلى نسبة للتكرار والكثافة النسبية.

جدول (3): الكثافة النسبية والنسبة المئوية لتكرار أنواع وأجناس الفطريات المعزولة داخليا من بذور الفاصوليا بالمواقع المختلفة بمحافظة الدامر باستخدام ورق الترشيح :

المعزولات الفطرية	بربر		الحديبة		المكابراب	
	تك%	كث%	تك%	كث%	تك%	كث%
Aspergillus niger	26	16	31	24	-	-
Aspergillus flavus	100	70	68	43	80	65
Dreschlera spicifer	40	24	5.8	3	10	5
Fusarium oxysporium	5	1.6	20	14.4	-	-
المجموع الكلي للمعزولات الفطرية	118		86		94	
عدد البذور	45		45		45	
النسبة المئوية للإصابة	100		76.1		90.5	
النسبة المئوية للإنبات	100		100		100	

3.2.2.4 عينات الحمص: *Cicer arietinum*

عزلت المجاميع الفطرية الداخلية من عينات الحمص المزروعة بأوراق الترشيح ورصدت النتائج بجدول (٤) والذي يوضح أن النسبة المئوية للإصابة كانت 25% بالعينة ح١(بربر) و90 % بالعينة ح٢(الحديبة) و 83% بالعينةح٣ (المكابراب) بينما كانت النسبة المئوية للإنبات 100% لكل العينات.

أما العدد الكلي للمعزولات الفطرية فكانت 25% للعينة ح١ و 116للعينة ح٣و العينة ح٢ سجلت عدد أعلي نسبة للمعزولات الفطرية (126) على التوالي، أما الأجناس التي عزلت كانت أربع أجناس ، بعضهاعبارة عن فطريات عفن وهي اسبيرجيلس *Aspergillus* أما باقي الأجناس شملت فطريات فيوزاريوم *Fusarium* ، *Drechslera* و*Torula* .

تضمن جنس اسبيرجيلس *Aspergillus* نوعان *A. flavus* و *A. niger*. سجل النوع الأول نسبة مئوية للتكرار تراوحت بين 20 ، 79 و88% وكثافة نسبية 12, 52 و53% للعينات الثلاثة ح١ ،ح٢ وح٣ على التوالي .

أما النوع الثاني (*A.niger*.) تراوحت نسبته المئوية للتكرار بين 5 ، 25 و60 %والكثافة النسبية كانت 2

16و 45 %للعينات ح١ ،ح٢ وح٣ على التوالي .

عزل فطر الفيوزاريوم *Fusarium* والذي تضمن نوعان هما *F. solani* و *F. oxysporium* من العينتين ح ٢ وح٣ (الحديبة والمكابراب) وسجلت بنسبة مئوية للتكراره تراوحت بين 12% و 45% وكثافة نسبية تراوحت بين

10 و 35% ل *F. solani* أما *F. oxysporium* فتراوحت نسبه المئوية بين 34 -25 ,و116-14 % للعينتين ح٣ وح٢ على التوالي . عزل فطر *Torula* بنسب منخفضة من العينة ح٢ (الحديبة) فقط .

جدول(4) الكثافة النسبية والنسبة المئوية لتكرار أنواع وأجناس الفطريات المعزولة داخليا من بذور الحمص للمواقع المختلفة ببعض المناطق بمحافظة الدامر باستخدام على ورق الترشيح :

المعزولات الفطرية	بربر		الحديبة		المكابراب	
	تك%	كث%	تك%	كث%	تك%	كث%
Aspergillus flavus	20	12	79	52	88	53
Aspergillus niger	5	2	25	16	60	45
Fusarium solani	-	-	45	35	12	10
Fusarium oxysporium	-	-	34	16	21	14
Dreschlera spicifer	-	-	34	16	10	7
Torula elesii	-	-	6	3	-	-
المجموع الكلي للمعزولات	25		126		116	
عدد الحبوب	45		45		45	
النسبة المئوية للإصابة	35		90		83	
النسبة المئوية للإنبات	100		100		100	

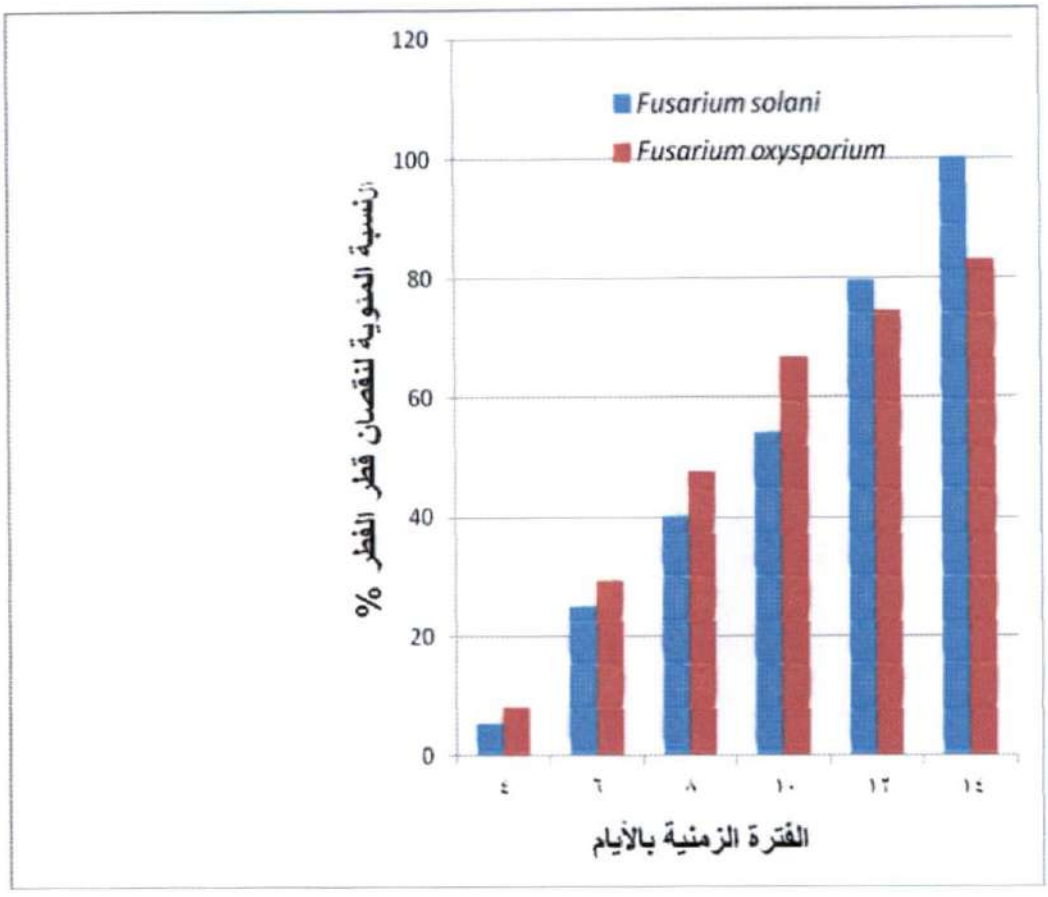
3.4 :المكافحة الحيوية Biological control

أختيرت أكثر الفطريات تطفلا وأجريت عليها تجربة مكافحة حيوية باستخدام بكتيريا الباسيلس *Bacillus* sp. . درس الأثر المضاد لبكتيريا الباسلس على فطريات ***F.oxysporum*** و *F. solani* التي زرعت علي بيئة المولت آجاروبيئة الآجار المغذي للبكتيريا باطباق بتري في صورة مزرعة ثنائية فزرعت معزولات ***Fusarium sp*** بمنتصف الطبق وزرع حولها علي الحواف بكتيريا الباسيلس كما زرع بمنتصف طبق اخر فطر الفيوزاريوم فقط واستخدم هذا الطبق كضابط ، ، ثم لوحظ اثر **البكتيريا** علي نمو معزولات *Fusarium*.sp. ورصدت النتائج بجدول (5) و شكل (1).

كما دعمت هذه التجربة باختبار آخر تم فيه قياس طول قطر مزرعة *Fusarium* الموجودة في المزرعة الثنائية (*Fusarium+ Bacillus*) والمزرعة الأحادية (الضابطة) ابتداء من اليوم الرابع حتي اليوم الثاني عشر (بفترة زمنية 48 ساعة بين كل قراءة واخري) ورصدت النتائج بجدول (5) وشكل (1) .يوضح الجدول(5) والشكل (1) تناقص قطر *F. oxysporium* و *Fusarium solani* في حالة المزرعة الثنائية . ففي اليوم الرابع كان طول قطر فطر فيوزاريوم سولاني 3.5 سم وفي اليوم الرابع عشر كان صفر أي قضي علية تماما بينما تزايد طول قطر المزرعة الفطرية في المزرعة الأحادية ، كذلك مثلت النسبة المئوية لنقصان الفطر والتي كانت % 100 في اليوم الرابع عشر . اما بالنسبة لفطر فيوزاريوم اوكسيسبوريوم أيض تناقص طول قطر الفطر أبتدأ من اليوم الرابع فكان طول قطر الفطر 3.4 سم بينما في اليوم الرابع عشر كان 0.8 سم اي نسبة نقصان قطر الفطر حوالي 83 % .

جدول (5) أثر بكتيريا *Bacillus* sp. علي نمو معزولات من فطر الفيوزاريوم :

الكائنات الممرضة	الأيام	طول قطر الفيوزاريوم في المزرعة الثنائية *Fusarium* (mm.)	طول قطر فطر الفيوازريوم في المزرعة الأحادية (mm.) (control)	النسبة المئوية لنقصان قطر الفطر (%)
F. solani	4	3.5	3.7	5.41
	6	3.0	4.0	25.0
	8	2.7	4.5	40.0
	10	2.2	4.8	54.12
	12	1.0	4.9	79.60
	14	zero	5.0	100
F.oxysporium	4	3.4	3.7	8.11
	6	2.9	4.1	29.27
	8	2.2	4.2	47.62
	10	1.5	4.5	66.67
	12	1.2	4.7	74.47
	14	0.8	4.7	82.98



شكل (١) : التأثير المضاد لبكتيريا *Bacillus sp.* على نمو فطر يات *Fusarium*

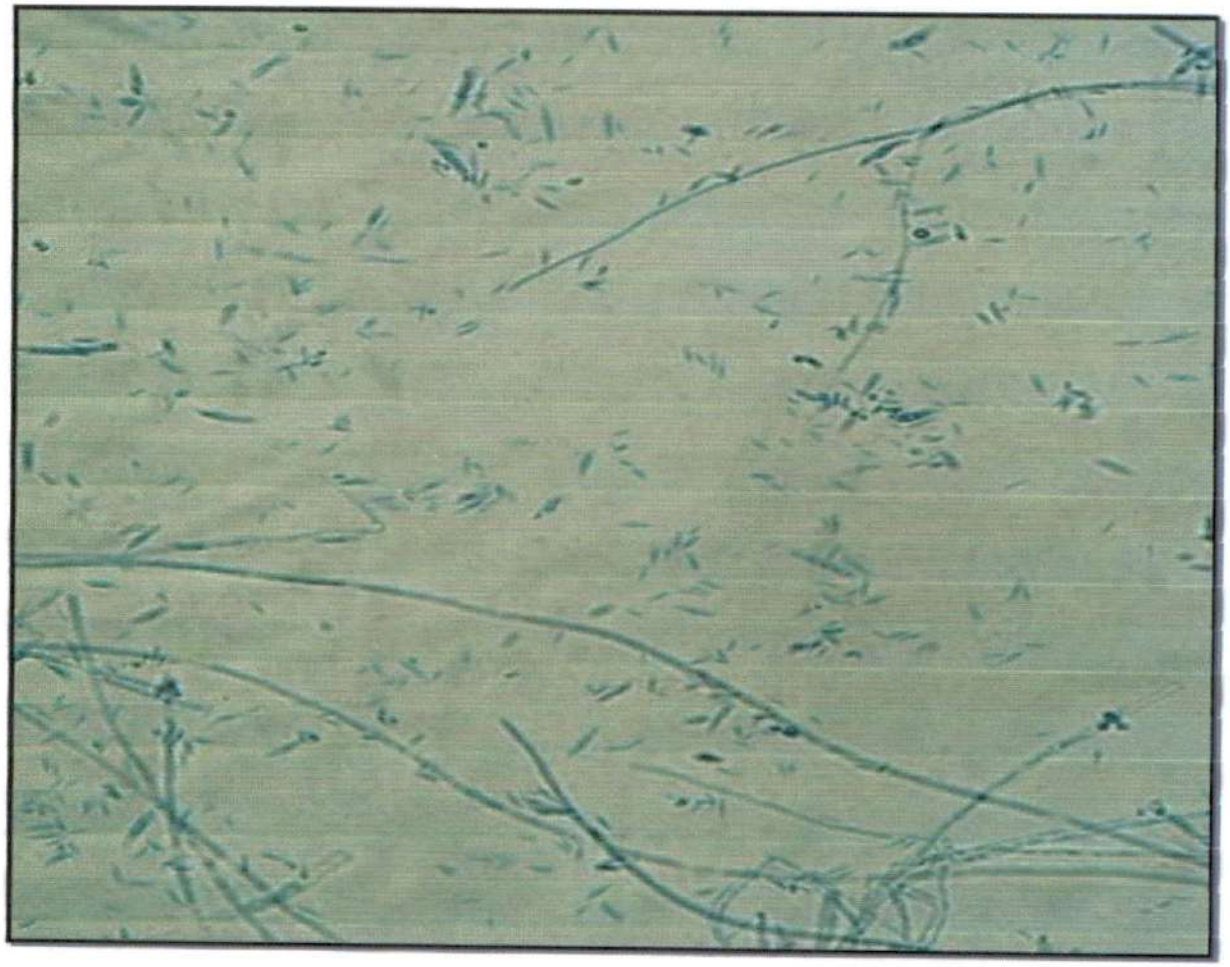
A: لوحة (١) توضح اثر بكتيريا *Bacillus sp.* على نمو فطر *Fusarium oxysporium*

B: لوحة (١) توضح اثر بكتيريا *Bacillus sp.* على نمو فطر *Fusarium solani*

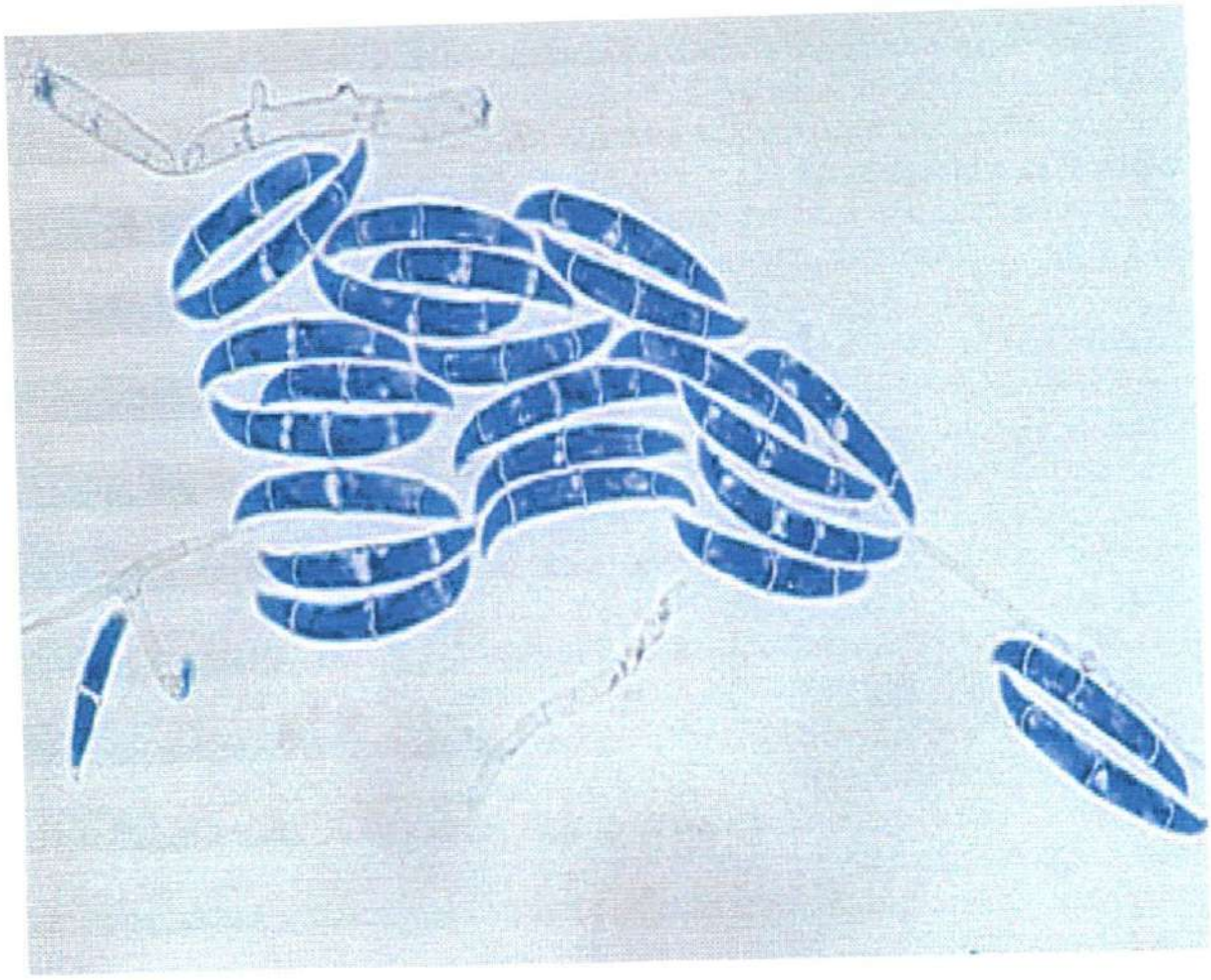
أ - على اليمين مزرعة أحادية ب – على اليسار مزرعة ثنائية

لوحات لبعض الأجناس والأنواع الفطرية السائدة المعزولة من الفول المصري ،الفاصوليا والحمص

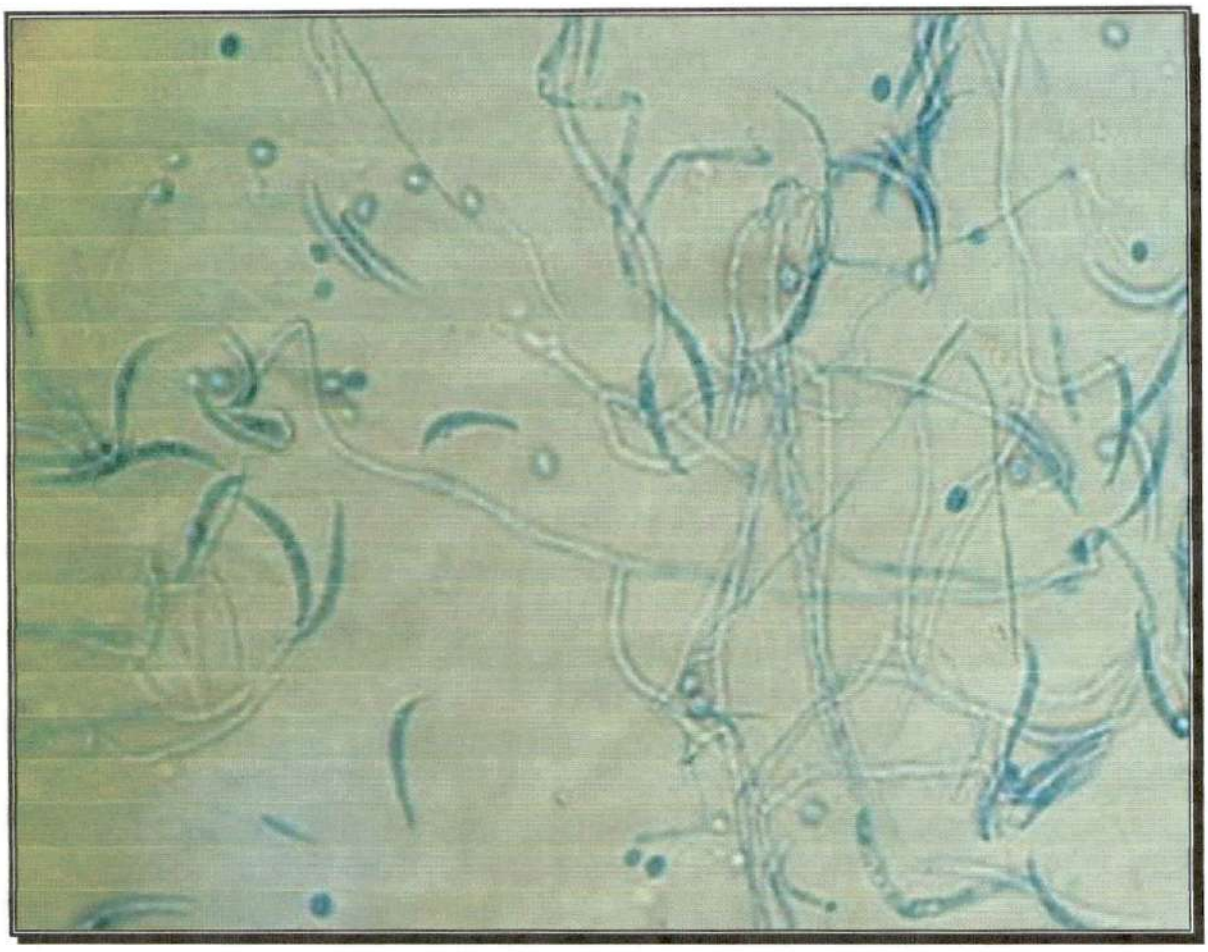
لوحة١: الشكل المورفولوجي لفطر دركسلا سبيسفر *Drechslera spicifer*



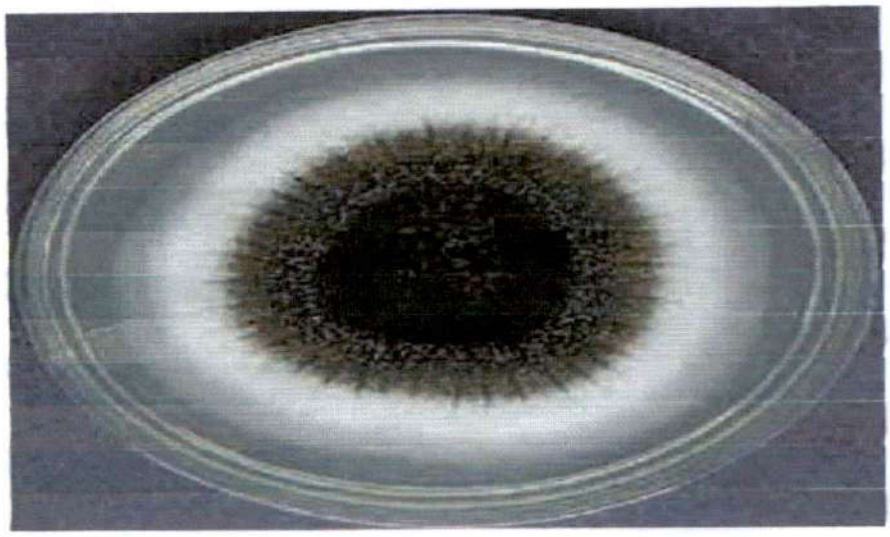
لوحة ٢: الشكل المورفولوجي لفطر فيوزاريوم مونيليفورم *Fusarium moniliforme*



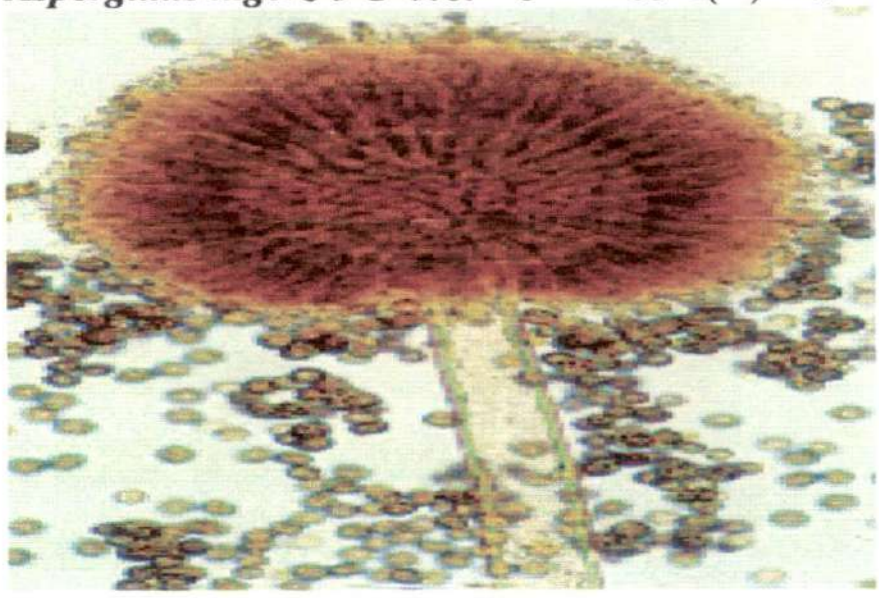
لوحة٣: الشكل المورفولوجي لفطر فيوزاريوم سولاني *Fusarium solani*



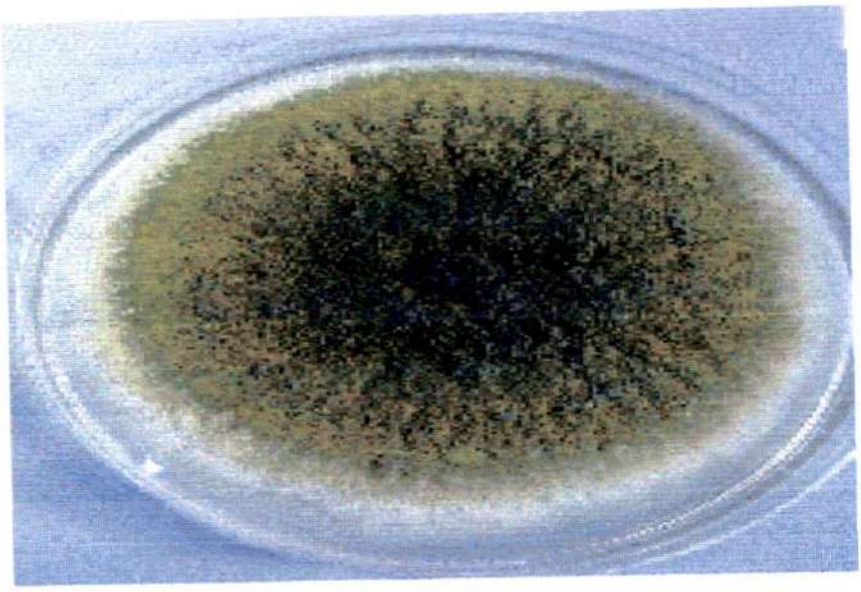
لوحة (٤) : شريحة لفطر ***Fusarium oxysporium***



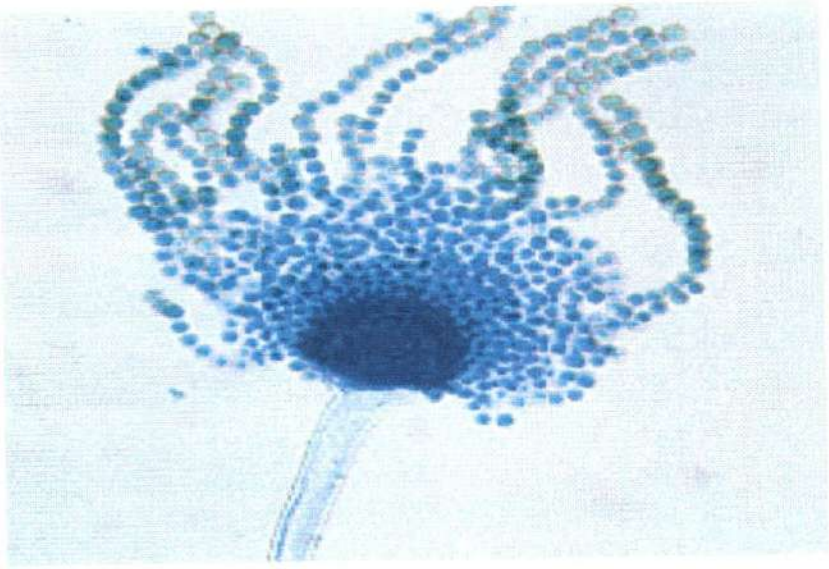
لوحة (٥أ): مزرعة لفطر اسبرجيلس نيقر *Aspergillus niger*



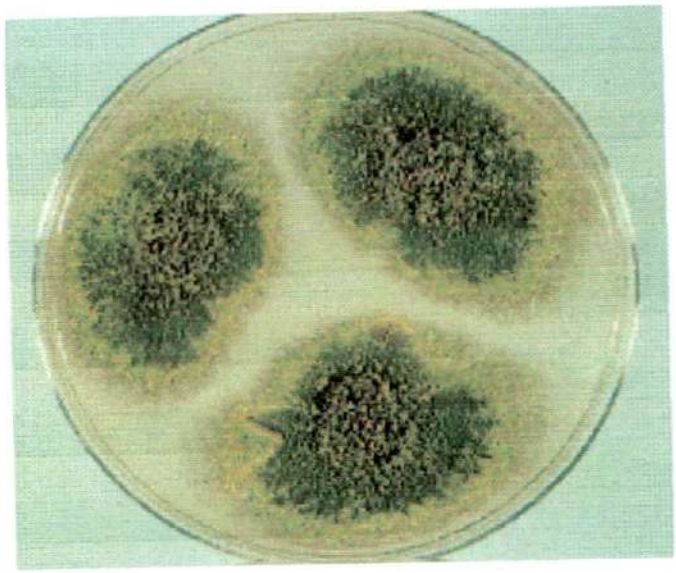
لوحة (٥ب) شريحة توضح الشكل المورفولوجي لفطر اسبرجيلس نيقر *Aspergillus niger*



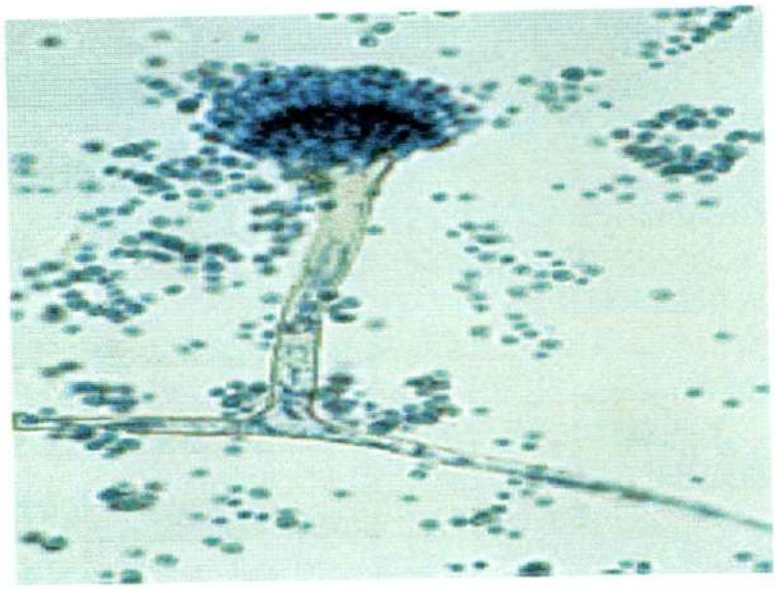
لوحة (٦أ): مزرعة لفطر اسبرجيلس فليفس *Aspergillus flavus*



لوحة (٦ب): الشكل المورفولوجي لفطر اسبرجيلس فليفس *Aspergillus flavus*



لوحة (٧أ): مزرعة **لفطر اسبرجيلس نيديولس** ***Aspergillus nidulans***



لوحة (٧ب): **الشكل الموروفولوجي لفطر اسبرجيلس نيديولس** ***Aspergillus nidulan***

الباب الخامس

المناقشة

Discussion

تضمنت هذه الدراسة إجراء مسح فطري للمجاميع الفطرية الداخلية من عينات فول مصري ، فاصوليا وحمص (بواقع ثلاث عينات لكل عينة) جلبت من ثلاث مواقع مختلفة بمحافظة الدامر. اختبرت المعزولات الفطرية الخارجية من فحص البذور الجافة وفحص ماء الغسيل، أما المعزولات الداخلية فرصدت نتائجها من تجارب زراعة الحبوب بأوراق الترشيح، ثم اختيرت أكثر الأجناس ضررا وتطفلا وأجريت عليها تجارب اولية لمكافحتها حيويا.

يؤدي تلوث الحبوب بالمعزولات الفطرية إلى فساد الأغذية والأعلاف ويقلل القيمة الغذائية والإنتاجية للحبوب واستخداماتها التقنية و يسبب أضراراً صحية للإنسان والحيوان (2010) ,.Marikunte *et al*.

أوضحت نتائج فحص البذور الجافة عدم وجود أي أورام نسيجية أو أجسام حجرية بكل العينات(فول ،فاصوليا وحمص) وهذا يدل على عدم وجود أي فطر من الفطريات التي تكون أجسام حجرية بالسنابل، هذه النتيجة تتفق مع تلك التي تحصلت عليها الباحثة موضي (2008) في الدراسة التي أجرتها على حبوبالقمح والشعير والذرة الشامية بالمملكة العربية السعودية. أما فحص ماء الغسيل فاثبت وجود جراثيم كروية أو بيضاوية خضراء وصفراء اللون بنسب ضئيلة جداً التي عند فحصها لم تكن واضحة بحيث يسهل تعريفها. لذلك اجريت تجارب لعزل الفطريات الداخلية للتاكد من الأجناس الفطرية ومعرفة تأثيرها. رصدت نتائج المجاميع الفطرية الداخلية من تجارب الحبوب المزروعة بأوراق الترشيح والتي اوضحت أن أعداد من أجناس وأنواع المعزولات الداخلية في عينات الفول والفاصوليا والحمص والتي رصدت نتيجة لتجربة أوراق الترشيح كانت (جدول2،3 و4). أكثر الأنواع سيادة هو *Fusarium* spp. *Aspergillus* spp. و *Dreschlera spicifer* والذي عزل فقط بتكرار عالي من الحمص.

بعض الأجناس والأنواع مثل *Torula elesii* عزلت من عينة الحمص (الحديبة) فقط بتكرار منخفض .

أوضحت نتائج المجاميع الفطرية الداخلية سيادة فطريات العفن *Aspergillus flavus*، *A.niger*، sp. بالإضافة إلى أنواع أخرى مثل *Fusarium solani* و *F. oxysporium* و *Drechslera spicifer* ، فتلوث

البذوربدرجة مرتفعة بهذه المعزولات يحدث نتيجة لإصابة الحبة أثناء فترة الحصاد والتخزين. هذه النتائج تتفق إلى حد ما مع تلك التي تحصل عليها الباحث Sarhan, (2009) في دراستهم على بذور أجناس مختلفة من البقوليات المخزونة ومن ضمنها الفول والفاصوليا والحمص وعزلوا مجاميع فطرية شملت *Penicillium* sp.، *Aspergillus* spp.، *Fusarium* sp. و *Alternaria* spp. وأثبت أن هذه المعزولات تقلل من القيمة الغذائية والاقتصادية للبذور نتيجة لإفرازها للعديد من السموم الفطرية. ايضا هنالك بعض العزلات قد تكون أصابت البذور في الحقل وفي وقت الحصاد مثل *Fusarium solani* و *F.oxysporium* و *Drechlsera spicifer* هذه النتائج تطابق تلك التي سجلها الباحثون Amira. (2010) في دراستهم بالمملكة العربية السعودية على بذور الفاصوليا والفول والحمص وفول الصويا المصابة بمرض لفحة وذبول المجموع الخضري و المتسبب عن .*Fusarium* spp.

أما بالنسبة للعلاقة بين النسبة المئوية للإصابة والإنبات فلا توجد أي علاقة منتظمة أو ارتباطيه بينهما فظهرت العينات المختبرة بنسب إنبات عالية وإصابة عالية واخري نسب إنبات منخفضة ونسب إصابة عالية بينما لم تتأثر باقي العينات، وذلك ربما يعود للحيوية المرتفعة للحبوب المختبرة، إذ أثبت الباحثون Yates *et al.*,(1997) أن معزولات *F.moniliforme* تساعد على نمو بادرات حبوب الفول والحمص . كذلك أضاف الباحثون (Galli *et al.*,2005) في الدراسة التي أجروها على تأثير *F.graminearum* على حيوية حبوب الفول والحمص أن نسبة الإصابة العالية لم تؤثر على إنبات الحبوب.

في تجربة المكافحة الحيوية اختبرت بكتيريا ***Bacillus* sp.** لمكافحة فطريات الفيوزاريوم ، وتعتبر المكافحة الحيوية البديل الأمثل لمكافحة الفطريات الممرضة التي تعيش في التربة مثل فطر ***Fusarium*** ومن مميزات العوامل الحيوية في مكافحة الكائنات الممرضة في أنها صديقة للبيئة غير مكلفة وآمنة في تأثيرهاعلي البيئة والإنسان والحيوان والنبات.

في هذه الدراسة أوضحت النتائج سيطرة بكتيريا الباسيلس علي معزولات فطر***F. Solani*** و ***oxysporium*** ، ***Fusarium*** فبكتيريا***Bacillus* sp.** أوقفت النمو القطري لفطر ***Fusarium solani*** و ***F.oxysporum*** بنسبة 100% و٨٠.٧% في اليوم الرابع عشر علي التوالي هذه النتائج مطابقة لتلك التي تحصل

عليه الباحثون في دراسة المكافحة الحيوية التي أجراها واستخدم فيها بكتريا ***Bacillus*** لمكافحة الفطريات المسببة لمرض ذبول الجذور والمجموع الخضري للبقوليات وبالتالي دمار المحصول باكمله Arifuzzaman *et al.* (2010) وتدل هذة النتائج أن بكتيريا الباسيلس تحتوي على انزيم الكايتينيز الذي يحلل مركب الكيتين المكون الرئيسي لجدار الخلية الفطرية ومن ثم تدميرها .

الخلاصة

Conclusions

اثبتت هذة الدراسة تلوث الحبوب بكثافة عالية بفطريات المخازن مثل فطريات العفن (*Aspergillus*و *Penicillium*) وهذا يدل علي سوء تخزين الغلال . ايضا تصاب الحبوب بفطريات الحقل مثل *Drechlera,* , *F.moniliforme* و *F.oxysporium*. *F.solani* والتي تسبب أمراض الذبول وتعفن الجذور والسيقان وبالتالي تؤدي إلي هلاك المحصول. فطريات العفن *Aspergillus flavus* وفطر *F.moniliforme* من الخطرة بمكان إذ تفرز سموم مسرطنة تضر بصحة الانسان والحيوان.أما نتائج المكافحة الحيوية أثبتت فعالية بكتيريا *Bacillus sp.* في القضاء على فطريات الفيوزاريوم خلال اسبوعين وهذا يدل على أن هذة البكتيريا تحتوي على إنزيمات تدمر الجدار الخلوي الفطري .

التوصيات

Recommendation

نتائج هذة الدراسة فتحت افاقا بحثية يجب أن تواصل لتكملة الأتي:

١- إجراء اختبار التطفل لمعرفة الفطريات المتطفلة وتحديد نوع الطفيل إذا كان اساسيا أو ثانويا.

٢- استخلاص السموم التي تفرزها فطريات العفن *Aspergillus flavus* وفطر *F.moniliforme* وتحديد تركيزها لكل جنس علي حده بعد عزله من كل عينة من العينات تحت الدراسة (فول ، فاصوليا وحمص).

٣- إيجاد طريقة مكافحه فعالة باستخدام عوامل مكافحة حيوية صديقة للبيئة للتخلص من الفطريات المتطفلة والسامة .

٤- استخلاص إنزيم الكيتينيز واستخدامه بطريقة حديثة ومتطورة للتخلص من الفطريات الممرضه وذلك لتقليل إستخدام المبيدات الكيميائية الملوثة للبيئة والضارة بصحة الإنسان

References

1. Abdelwahab, S.A. (1986). Survey of seed borne fungi of some Legumes in the Sudan. M. Sc. Thesis, Faculty of Science, Khartoum University, Sudan.
2. Acar, J.F. and Goldstein F.W. (1996). Disk susceptibility test In: "Antibiotics in Laboratory Medicine (4th. Edn.) William and Wilkins Co. Baltimore, pp: 1-51.
3. Agarwal,V.K.and Sinclair, J.B.(1996). Principles of Seed Pathology.Volumesn 1-11CRC.
4. Amira Hassan Abdullah Al-Abdalall (2010). Pathogenicity of fungi associated with leguminous seeds in the Eastern kingdom of Saudi Arabia. African Journal of Agricultural Research Vol. 5(10), pp. 1117-1126.

   USA, p. 19.
5. Anitha, A .and Rabeeth, M. (2009). Control of Fusarium Wilt of Tomato by Bioformulation *Streptomyces griseus* in Green House Condition. *African* ——————— *Journal of Basic & Applied Sciences* 1 (1-2): 9-14.
6. Anthony J.,E.and Najel, G., D.(2007). Pests, Diseases and Disorders of Pea and Beans. A Colour Hand Book. 4th edition , U.K. press pp72-103.
7. Arifuzzaman, M., Khatun2 M. and Rahman, H. (2010). Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity. African Journal of Biotechnology 9(29): 4615-4619.
8. Ellis, M.B. (1976). More Dematiaceous hyphomycetes. (England: Common wealth Mycological Institute), 507pp.
9. Elwakil,M.A., El-Refai M.I.,Awadallah O.A., El-Metwally M.A. AND Mohamed M.S.(2009). Seed-Borne Pathogen of Faba Bean in Egypt : Detection and Pathogencity. Plant Pathology Journal 8(3) : 90-97.

10. Fakhrunnisa, M.H. Hashmil and Ghaffar, A. (2006). Seed – borne mycoflora of wheat , sorghum and barley *Pakistan Journal of Bot*any 38(1): 185-192.

11. FAO(2008) .Food and Agriculture Organization of the United Nation.

http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor.

12. Galli, J. A., Fessel, S. A. and Panizzi, R. C. (2005). Effect of *Fusarium graminearum* and infection index on germination and vigor of maize. *Fitopatologia Brasileira.* 30(5): 1590- 1599.

13. Gaur PM, Tripathi S, Gowda CLL, Ranga Rao GV, Sharma HC, Pande S and Sharma M. 2010. Chickpea Seed Production Manual. Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi- Arid Tropics. 28 pp.

14. Haggag, W.M. and Mohamed, H.A.A. (2007). Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. *American-Eurasian Journal of Sus* 15. *tainable Agriculture* 1: 7-12.

15. Harrigan, W.F. and Margaret, E. McCance, (1966)" Laboratory Methods in Microbiology". Pp.3-316. Academic Press London

16. Ishrat, N. and Shanaz D. (2009). Detection of seed borne mycoflora in maize (*Zea mays*) *Pakistan Journal of Bot*any 41(1): 443-451.

17. (ISTA). International Rules for Seed Testing Rules (2013). InternationalTesting Association, Zurich In: "Plant genetic Resocerces News Letter. Rajni, G.ed.) 1996 No./ lob- p. 1-26). Delhi university press.

18. "Kidney Beans". The world's healthiest foods. Retrieved 2007-11- 05

19. Marikunte Y. S., Regina S. D., Gottravalli R. J. (2010). Survey of post fungi associated with Sorghum grains produced in Karnataka (India). Journal of Protection Research 50, No. 3: 335-339.

20. Maude, R. B. (1996).Seed borne diseases and their control. Principles and Practice. CAB International, Oxon.280pp.

21. Mislivec, M. L. Lee,L. S., Deluca, A.J. and Ciegler,A.(1983). Preliminary study of mycoflora and mycotoxins in grain dust from New Orleans area green elevators. *Journal of American Indian hygiene Association.* 44: (7) 485- 488.

22. Mohammed Y. and Somsiri S. (2005) . Occurrence and Distribution of Major Seedborne Fungi Associated with *Phaseolus* Bean Seeds in Ethiopia. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 39 : 216 – 225.

23. Mohd S.A. and Akhatar A. S. (2007). Occurance of Root Rot Disease of Common Bean (Phaseolus vulgaris L.) In Association with Bean Stem Maggot (Ophyiomia sp.) In EMBU District, Kenya. Plant Pathology Journal 6 (2) :141-146 .

24. Montaser F. A. (2013). Improvement of Biocontrol of Damping-off and Root Rot/Wilt of Faba Bean by Salicylic Acid and Hydrogen Peroxi *Mycobiology* 41(1): 47-55.

25. Mwang ´ombe A.M., Thiong´o G., Olubayo F.M. and Kiprop E.K.(2010).Effect of AM Fungi on The Growth of Root- Rot Disease of Chickpea. American Euroasian Journal of Agricultare and Environmental Science, 8(5) : 544-549.

26. Naureen A. , Mirza J.H., Rukhsana B. & Amna J.(2007). Fungi associated with Seeds of some economically important plants . *Mycopathology* (2007) 5(1): 35-40

27. Nelson, P. F., Taussoun, T. A. and Marasas (1983). Fusarium species. An illustrated manual for identification. State University Press,

Pennsylvania, U. S. A.

28. Nourozian J., Reza Etebarian H. and Khodakaramian G.(2006). Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. Songklanakarin Journal of Science Technolog , 28: 29-38 .

29 . Papavizas,G.C.(1992).Biological control of selected seed – borne plant pathogen with *Gliocladium* and *Trichodrma* In: "Biological Control of Plant Diseases (Tajamos, E. Papavizas, G. C.Cook, and R. J.eds.). New York Plenum Press 223 – 230.

30. Raper K. and Fennel D. I. (1965) . The Genus Aspergillus . William and Wilkins Baltimor Co.

31. Saman, A.(2007) Biological control of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* the causal agent of root rot of bean using *Bacillus subtilis* CA32 and *Trichoderma harzianum* RU01. *Ruhuna Journal of Science*. 2 82-88

32. Sarhan, A. R. T. (2009) Identification of the seed borne fungi associated with some leguminous seeds and their biological control in Iraq. *Arab Journal of Plant Protection 27 (2) :135-144.*

33. Schrire, B. D.; Lavin, M.; Lewis, G. P. (2005). "Global distribution patterns of the Leguminosae: insights from recent phylogenies". In Friis, I; Balslev, H. Plant diversity and complexity patterns: local, regional and global dimensions. Biologiske Skrifter **55**. Viborg, Denmark: Special-Trykkeriet Viborg A/S. pp. 375–422.

34. Sauer, D. B. and Burroughs, R. (1986).Disinfection of seed surfaces with sodium hypochorite. *Phytopathology.*76:745-749.

35.Shetty, H. S. Khanzada, A. K., Mathur, S. B. and Neergaard, P. (1978). Procedures for detecting seed borne inoculum of *sclerospora* gramincola in pearl millet.Seed Pathology New: 3- 4.

36. TAS, Trends in the Agricultural Sector (2010. Agriculture,forestry & fisheries Department:Agriculture, Forestry and Fisheries .Republic of south Africa.

37. USAID Sudan Referendum Impacts on Market Flows and Livelihoods (2011).From the American people (In March and April 2011, FEWS N conducted field assessments to analyze the impact of the January referendum on trade flows and livelihoods, particularly along the north/south border. This report provides a summary of the key findings from the assessment

38. Yates I. E., Bacon C. W., Hinton D. M. (1997).Effects of endophytic infection by *Fusarium moniliforme Plant Disease* 81: 723- 728.

39.Yehia A.-G.M.Soad M. Abu El Souod, Saeid, Abd- Elwahb I., Magid A. and Mohsen K. Ebrahim1(2011). Recent approaches for controlling brown spot disease of Faba Bean in Egypt. Egypt. Academy of biological Sciense, 3(1): 41- 53.

40. Zohary, D., Hopf, M. & Weiss, E. (2012). *Domestication of Plants in the Old World, 4th Edi*

المراجع العربية

1- ادارة التخطيط والإقتصاد الزراعي – محلية الدامر ٢٠١٣

2- المليجي عبد الستار وزكية محمود (١٤١٨ هـ) أمراض القمح. الناشر دار المريخ النشر، الرياض المملكة العربية السعودية ص ٣٣- ١٢٨.

3- عمر عتيق ، أحمد الأحمد، مايكل بوم ، سعيد أحمد كمال ، محمد موفق يبرق ، عبد اللطيف العساف وسهام كبابي (2012) تأثير استخدام معاملات مختلفة من مركب البيون(BION®) في مرض لفحة الأسكوكيتا على الحمص .Arab J. Pl. Prot. Vol. 30, No

4- موضي فايز الشمري (٢٠٠٨) ، مسح للفطريات المحمولة داخل بعض أنواع الحبوب بمنطقة حائل، اطروحة ماجستير ،جامعة الملك عبدالعزيز -كلية التربية- قسم النبات.