المملكة العربية السعودية
وزارة التعليـم العـــالـــــي
جامعة الملك عبد العزيز بجــدة
وكالة الجامعة للفروع
كلية التربية للبنات(الأقسام العلمية)
قسم النبات

رسالة مقدمة لقسم النبات ضمن متطلبات الحصول على درجة الماجستير بعنوان

مسح للفطريات المحمولة داخل بعض أنواع الحبوب بمنطقة حائل

Survey of Seed- borne Fungi of Some Grains at Hail Area

إعداد المعيدة بكلية التربية للبنات بحائل

موضي خليف مطني فايز الشمري

إشراف

د. إلهام شريف داؤد
أستاذ مساعد في الكائنات الحية الدقيقة

2008 – 1429

Kingdom of Saudi Arabia
Ministry of Higher Education
King Abdulaziz University – Jeddah
Girls college of Education
Scientific Departments
Botany Department

A thesis submitted to the Botany Department in partial fulfillment of the requirements for the Master degree in Science- Microbiology

Survey of Seed- borne Fungi of Some Grains at Hail Area

BY

Modhi Khalif Motni Faiz Al- shamary

SUPERVISED BY

Dr. Elham Sharief Dawood

Assistant Prof. of Microbiology

1429 - 2008

الفهرس

الباب الأول

1. المقدمــة 1

الهدف من الدراسة.....5

الباب الثاني

2. الأبحاث السابقة 6

2. 1. الأمراض الفطرية التي تصيب القمح.....6

2. 1. 1. الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري.....6

2. 1. 2. الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري.....9

2. 1. 3. الأمراض الفطرية التي تصيب حبوب القمح.....9

2. 2. الأمراض الفطرية التي تصيب الشعير.....12

2. 2. 1. الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري.....13

2. 2. 2. الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري.....14

2. 2. 3. الأمراض الفطرية التي تصيب حبوب الشعير.....15

2. 3. الأمراض الفطرية التي تصيب الذرة الشامية.....16

2. 3. 1. الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري.....16

2. 3. 2. الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الجذري.....17

2. 3. 3. الأمراض الفطرية التي تصيب حبوب الذرة الشامية.....17

2. 4. المكافحة الحيوية.....23

الباب الثالث

3. المواد والطرائق 26

1.3. المواد 26

3. 2. جمع العينات.....26

3. 3. المواد الكيميائية.....27
3. 4. فحص الجراثيم المحمولة على الحبوب.....27
3. 4. 1. فحص الحبوب الجافة.....27
3. 4. 2. فحص مياه غسيل الحبوب.....27
3. 5. عزل الفطريات.....28
3. 5. 1. عزل الفطريات الخارجية.....28
3. 5. 2. عزل الفطريات الداخلية.....28
3. 5. 2. 1. زراعة الحبوب بأوراق الترشيح.....28
3. 5. 2. 2. زراعة الحبوب في بيئة اجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة.29
3. 6. تعريف الفطريات المعزولة.....30
3. 7. عزل الجرثومة المفردة.....31
3. 8. المكافحة الحيوية.....31
3. 8. 1. التأثير التضادي لفطر التريكوديرما فيردي على نمو الفطريات المرضة.32
3. 9. التحليل الإحصائي.....32

الباب الرابع

4. **النتائج**.....33
4. 1. فحص جراثيم الفطريات المحمولة على الحبوب.....33
4. 1. 1. فحص الحبوب الجافة.....33
4. 1. 2. فحص مياه غسيل الحبوب.....33
4. 2. عزل الفطريات.....33
4. 2. 1. عزل الفطريات الخارجية.....33
4. 2. 1. 1. عينات حبوب القمح.....33
4. 2. 1. 2. عينات حبوب الشعير.....39

4. 2. 1. 3. عينات الذرة الشامية.....42
4. 2. 2. عزل الفطريات الداخلية.....44
4. 2. 2. 1. عينات القمح.....44
4. 2. 2. 2. عينات الشعير.....50
4. 2. 2. 3. عينات الذرة الشامية.....56
4. 3. مقارنة بين الميكوفلورا الداخلية والخارجية لأكثر الأجناس سيادة....61
4. 3. 1. عينات القمح.....61
4. 3. 2. عينات الشعير.....75
4. 3. 3. عينات الذرة الشامية.....89
4. 4. المكافحة الحيوية.....100
4. 4. 1. أثر فطر ترايكوديرما فيردي على نمو أنواع جنس فطر فيوزاريوم.100

الباب الخامس

5.المناقشة.....128
التوصيات.....137
المراجع
العربية.....138
المراجع
الأجنبية.....139
المستخلص بالغة العربية.....أ
المستخلص باللغة الإنجليزية.....A

المستخلص باللغة العربية

Arabic Summary

تعتبر حبوب القمح و الشعير و الذرة الشامية من الحبوب الرئيسية التي تزرع بمنطقة حائل. تصاب الحبوب عموماً بأمراض مختلفة أسبابها عديدة, لكن أشهرها الناتجة عن فعل الفطريات . تعتبر الفطريات من أخطر الكائنات التي تصيب المحاصيل وترجع خطورتها إلى السموم التي تفرزها على الحبوب.

أجريت هذه الدراسة على ست عينات قمح(ق1 و ق2 و ق3 و ق4 و ق5 و ق6) جلبت من مواقع مختلفة بمنطقة حائل شملت شركتي نادك وهادكو و مزارع قرى الكهفة و الخطة و الشعلانية و دليهان, أما عينات الشعير فكانت أربعة(ش1 و ش2 و ش3 وش4) جلبت من مزارع القرى السابق ذكرها, والذرة الشامية عينتان(ذ1و ذ2) جلبت من شركتي نادك وهادكو في الفترة مابين عامي 1425 ــ 1427هـ.

أجريت تجارب مسح أولي للمجاميع الفطرية الخارجية والداخلية للعينات السابقة فشملت تجارب المجاميع الفطرية فحص الحبوب الجافة, فحص ماء غسيل الحبوب بطريقتين, في الأولى يفحص الماء مباشرة باستخدام المجهر وفي الثانية تزرع عينة من ماء الغسيل في بيئة أجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة.

أما تجربة عزل المجاميع الفطرية الداخلية فأجريت بزراعة الحبوب بعد تعقيمها على أوراق الترشيح وبيئة أجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة. بعد نمو المزارع الفطرية تم تنميتها في بيئة أجار المولت وحسبت الكثافة النسبية والنسبة المئوية لتكرار المعزولات الفطرية, كما حسبت النسبة المئوية لإنبات وإصابة الحبوب.

اختيرت أكثر المجاميع الفطرية الخارجية والداخلية سيادة(وذلك اعتمادا على نتائج التكرار والكثافة النسبية) وقورنت مع بعضها لمعرفة أثرها على الحبوب كذلك أجريت مقارنة بين أنواع المعزولات الفطرية الخارجية والداخلية التابعة لكل جنس من الأجناس السائدة, ثم اختيرت أكثر الفطريات تطفلاً وأجريت عليها تجارب مكافحة حيوية أولية.

أما نتائج هذا البحث تتلخص في الأتي:

1. نتائج تجربة فحص الحبوب الجافة أثبتت تلوثها ببقايا النباتات فقط, لم يسجل أي وجود لأجسام حجرية أو أورام نسيجية.
2. فحص ماء الغسيل أثبت وجود كونيدات خضراء مصفرة أو خضراء مزرقة قليلة العدد.

3. نتائج المعزولات الفطرية الخارجية نتج عنه عزل 14 نوعاً تابعة لستة أجناس من عينات القمح, و10 أنواع تابعة لـ 6 أجناس ل من عينات الشعير و 8 أنواع تنتمي لـ 4 أجناس من عينات الذرة الشامية.

4. أما نتائج المعزولات الفطرية الداخلية (المحمولة على الحبوب) فأخذت من تجربة أوراق الترشيح وبيئة أجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة كمايلي:

أ - سجلت عينات القمح 13 نوعاً تابعة لـ 7 أجناس(تجربة أوراق الترشيح) و 16 نوعاً تابعة لـــ 8 أجناس(تجربة بيئة أجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة).

ب - عينات الشعير عزل منها 7 أنواع تابعة لـ 6 أجناس (تجربة أوراق الترشيح) و 41 نوعاً تابعة لـ 7 أجناس (تجربة البيئة).

ت - عينات الذرة الشامية عزل منها 4 أنواع تابعة لـ 4 أجناس (تجربة أوراق الترشيح) و 11 نوعاً تابعة لخمسة أجناس(تجربة البيئة).

5- كانت أكثر المجاميع الفطرية الخارجية سيادة هي فطريات العفن (*Aspergillus* spp.) لكل العينات وأكثر المجاميع الفطرية الداخلية *Ulocladium* spp. و *Fusarium* spp. أما جنس *Alternaria*. فكانت في بعض العينات سيادته كمعزولات داخلية وتعادلت سيادته كمجاميع فطرية داخلية وخارجية في عينات أخرى.

6- اكثر أنواع *Aspergillus* سيادة هي *A.flavus* يليه *A.niger* و بالنسبة لأجناس *Alternaria*. ,*Ulocladium*. و *Fusarium*. كانت *Alternaria alternate* ,*Ulocladium atrum* و *Fusarium moniliforme* على التوالي.

بعض الأجناس و الأنواع عزلت بنسبة مئوية للتكرار و وكثافة نسبية منخفضة مثل *Drechsera spicifer* ,*Rhizopus*. ,*Penicillium*. *Curvularia lunata*, *Fusarium poae* و *F.oxysporum* والتي عزلت من بعض العينات دون الأخرى.

7-تجربة المكافحة الحيوية أثبتت فعالية فطر *Trichoderma viridae* و الذي ثبط نمو مزارع *Fusarium* spp. فكان تثبيطة بنسبة 100% , 63% و 78,3 لـ *F.moniliforme*, *F.poae* و *F.oxysporum* عند اليوم الرابع عشر على التوالي.

توصيات:

Recommendation

نتائج هذه الدراسة فتحت آفاقاً بحثية يجب أن تواصل لتكملة الأتي:

1 -إجراء اختبار التطفل(Pathgenicity test) لمعرفة الفطريات المتطفلة وتحديد نوع الطفيل إذا كان أساسياً أو ثانوياً.

2 -استخلاص السموم التي تفرزها *Fusarium* spp. *Aspergillus flavus* و *Alternaria* sp. وتحديد تركيزها لكل جنس على حده بعد عزله من كل عينة من العينات تحت الدراسة (قمح و شعير و ذرة شامية).

3 -تحديد أثر كل جنس من الأجناس السابقة على القمح و الشعير و الذرة الشامية, و كذلك السموم التي يفرزها.

4 -إيجاد طريقة مكافحة حيوية فعالة باستخدام عوامل مكافحة مختلفة للتخلص من الفطريات المتطفلة والسامة.

summary

Wheat (*Triticum aestivum*), barley (*Hordeum* sp.) and corn (*Zea mays*) are the main cereals produced in Hail area. Grains are infected with different microorganisms, which caused many diseases.

Fungi are considered the most danger and famous microorganism which infect cereals. The risk of contamination by mycotoxin is related to mycoflora associated with grains. This study was carried out on six samples of wheat(Q_1, Q_2, Q_3, Q_4, Q_5 and Q_6) brought from different parts at Hail area. These were Nadic and Hadco companies and four farmers at different villages, include, Elkfa, Elhuta, Shalaneia and Delehan. Barley samples were four(SH_1, SH_2, SH_3 and SH_4) brought from the above mentioned farms, and two samples of corn(z_1 and z_2)brought from Nadic and Hadco companies during 1425-1427H.

Survey of external and internal mycoflora was carried out for all samples. Experiments of external mycoflora include, examination of dry seed, seed washing test and streaking sample of washing water on yeast extract glucose agar medium(YEGA)

Isolation of internal mycoflora was carried out on blotter test and YEGA plates. Fungal cultures were purified on malt extract agar and then percentage frequency, relative density, infection and germination rates were calculated. Comparison between the predominant external and internal genera was done(depending on the% frequency and relative density).

Also the predominant external and internal species were compared. The most parasitic fungi among the isolates

was controlled biologically. The Results of this study were summarized as followed.

1- Results of dry inspection of seeds showed, contamination with plant residues only. Sclerotia and tissues galls were not detected.

2- Results of seed- washing test showed Low number of green yellowish or green- bluish conidia.

3- External isolates were 14 species belong to 6 genera isolated from wheat samples, 10 species belong to 6 genera and 8 species belong to 4 genera for barley and corn samples respectively.

4- Results of internal isolates were got from blotter test and YEGA medium as follow:

a- 13 species belong to 7 genera were isolated from wheat samples(Expt of blottler test) and 16 species belong to 8 genera were isolated from samples cultivated on YGCA plates.

b- Results of blotter test for barley samples were 7 species belong to 6 genera and 14 species belong to 7 genera for YGCA plates.

c- 4 species belong to 4 genera were isolated from corn samples (blotter test) and 11species belong to 5 genera (YGCA Plates).

5- Genus *Aspergillus* spp. was the most prevalent component of the external mycoflora for all samples and *Fusarium* sp. was the most prevalent component of the

internal seed borne fungi for all samples. *Ulocladium* spp. was predominant internal mycoflora for wheat and barley samples only. *Alternaria* spp. was most predominant as internal mycoflora for some samples, but other samples recorded more or less the same results of % frequency and relative density for internal and external mycoflora.

6- the predominant *Aspergillus* was *A.flavus* and the next one was *A.niger*. The frequently isolates of *Alternaria, Ulocladium* and *Fusarium* were *A.alternata, U.atrum* and *F. moniliforme.* Other genera and species isolated in low frequency and from some samples as *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Drechslera spicifer,Curvularia lunta, Fusarium poae* and *F.oxysporum*.

7- Results of biological control showed the efficiency of *Trichoderma viridae* which suppressed the growth of *F.moniliforme, F.poae* and *F. oxysporum* colonies with time, increased up to 100%, 63% and 78.3% on day 14 in order.