J. Plant Prot. and Path., Mansoura Univ., Vol. 4 (6): 553 - 560, 2013

VIABILITY AND PATHOGENICITY TESTS OF SOIL PRESERVED FUNGAL ISOLATES

EL-gammudi, Amina A. ; I. S. Faraj and I. A. EL-wahadi
Plant Protection Dept., Fuc. Agric. Tripoly Univ. Lybia

اختبار حيوية وإمراضية عزلات من الفطريات المحفوظة في التربة

أمينة عبد السلام القمودي، عيسى صالح فرج وعصام الدين عثمان الوحيدي
قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة طرابلس، طرابلس، ليبيا.

المستخلص

هدفت هذه الدراسة لاختبار حيوية ٢٨ عزلة من الفطريات المحفوظة باستخدام التربة المعقمة بالبخار الجاف، وكذلك اختبار القدرة الإمراضية لهذه العزلات، ومقارنة تأثير طرق الحفظ المختلفة على حيوية هذه العزلات. وقد أظهرت نتائج اختبار الحيوية أن من أصل ٢٨ عينة فطرية محفوظة في تربة معقمة، تم استعادة نمو عدد (٨) عزلات فطرية فقط وتتضمن: ٧ فطريات تابعة للفطريات الناقصة (Deuteromycota)، وفطر واحد (١) يتبع الفطريات الأسكية (Ascomycota). أوضحت نتائج اختبارات الإمراضية على العينات الفطرية الثمانية عند اختبارها على عوائل مناسبة لها، أن نسبة الإصابة بهذه العزلات تراوحت ما بين (٢٤ % – ١٠٠ %). وقد تم إعادة حفظ الفطريات الثمانية وذلك باستخدام طرق (النقل الدوري المستمر والتخزين تحت الزيت المعدني). هذه الدراسة تساهم في تأسيس نواة لتوفير وحفظ المجموعات الفطرية بقسم وقاية النبات بكلية الزراعة جامعة الفاتح – طرابلس – ليبيا.

الكلمات الدالة: فطريات، حفظ في التربة، اختبارات حيوية، إختبارات القدرة الإمراضية

المقدمة

تعتبر الفطريات من أهم المسببات الممرضة للنبات والتي تسبب خسائر فادحة للمحاصيل [8،1]، ولقد شغلت الأمراض الفطرية على النباتات حيزا كبيرا و مهما على مستوى البحث العلمي و خاصة في السنوات الأخيرة نظراً للأضرار الصحية والاقتصادية والبيئية الناجمة عنها، بسبب انتشارها المتزايد، ومداها العوائلي الواسع، وإعدادها الكبيرة، وسلالاتها المختلفة وسهولة انتقالها [6،5]. وتجري في مختبرات أمراض النبات عزل الكثير من هذه المسببات المرضية؛ إلا انه قد يحدث أن تضيع بعض هذه العزلات أو تفقد مقدرتها الإمراضية أثناء عمليات النقل الدوري أو تحتفظ بها لفترات طويلة. أوضحت الدراسة التي قام بها Atkinson سنة (١٩٥٣) أن مزارع فطر *Alternaria raphani* احتفظت بحيويتها وقدرتها الإمراضية بعد حفظها في تربة معقمة لمدة خمس سنوات، ولم يظهر أي نقص في حيوية الأبواغ عند تلقيح الفجل أو الشتلات أو عند استخدامها لتلقيح الأزهار بها، وفي دراسة أخرى أجراها Atkinson (١٩٥٤) على عدد من الفطريات: *Rhizopus nigricans* ، *Chaetomium indicum*، *Chaetomium*، *Aspergillus ustus*، *Fusarium oxysporum*، *Penicillum purpurogenum spiral*، *Aspergillus sydowi*، *Aspergillus fumigates*، *Circinella spinose*، حيث وجد أن الفطريات احتفظت بحيويتها وقدرتها الإمراضية بعد حفظها في تربة معقمة لمدة خمس سنوات دون حدوث أي تغيرات فسيولوجية . أما Shearea *et,al.* (١٩٩٤) فقد أوضحوا أن حفظ فطر *Septoria* spp. أدى إلى نسبة نمو ٩٥% بعد حفظها في تربة معقمة لمدة ٣٠ – ٣٥ شهر عند درجة حرارة $°$م باستثناء النوع *S. graminearum* فقد كانت نسبة نموه ١٠٠% . كما ذكر Smith (١٩٩٠) أن طرق حفظ الفطريات في تربة معقمة لا يتطلب معدات باهظة الثمن أو جهد من قبل الباحثين. وفي الوقت الحاضر لا تزال الحاجة المتزايدة في ليبيا إلى حصر وتعريف الفطريات التي تصيب المحاصيل الزراعية ودراسة مدىحيويتها و قدرتها الإمراضية. وهذه الدراسة تعتبر مكملة لاختبار حيوية و إمراضية ٥٢ عزلة فطرية تم الحصول عليها من الهيئة العالمية للفطريات (هيئة الكومنولث للفطريات سابقا) IMI وهي مؤكدة التعريف من حيث الجنس والنوع، والتي كانت محفوظة بطريقة التجفيد حيث تراوحت مدة التخزين من (٢٨ – ٣٠

سنة) في وقت دراستها، القمودي(1997). ومن نتائج تلك الدراسة الحصول على ٢٨ عزلة فطرية محتفظة بحيويتها و قدرتها الإمراضية، بينما فقدت ٢٣ عزلة فطرية حيويتها بالكامل، وقد تم إعادة حفظ العزلات الفطرية الثمانية والعشرين بطرق مختلفة من بينها الحفظ في التربة المعقمة. وفي هذه الدراسة تم اختبار مدى تأثير طريقة الحفظ في التربة المعقمة على حيوية وإمراضية العزلات الفطرية الثمانية والعشرين بعد مرور (٥ - ٦ سنوات) من حفظها.

ولتأكيد ذلك فقد هدفت هذه الدراسة لإعادة اختبار حيوية وإثبات القدرة الإمراضية لهذه الفطريات، وكذلك التأكيد على وجود مثل هذه العينات الفطرية للاستعانة بها في تعريف العزلات الفطرية المستجدة بالقسم.

مواد وطرائق البحث

اختبار حيوية العزلات الفطرية:

ولاختبار حيوية ٢٨ عزلة فطرية متواجدة لدى قسم وقاية النبات (والمحفوظة في التربة المعقمة لفترة من ٥ – ٦ سنوات) والتي تتضمن فطريات تابعة للفطريات الزيجية Zygomycota، والناقصة Deuteromycota، والفطريات الأسكية Ascomycota (جدول ١). تمت إعادة تنمية هذه العزلات على بيئة أجار ديكستروز البطاطس (PDA)، ثم أجرى اختبار الحيوية للعزلات الفطرية المحفوظة في التربة المعقمة وذلك بتنميتها على أطباق بيئة (PDA) ، وتم استعمال 8 مكررات لكل عزلة فطرية، وضعت 4 أطباق منها في درجة حرارة المعمل (٢٤ ± ٢م°) و 4 أطباق أخرى وضعت في الحاضنة عند درجة حرارة(٢٤ ± ٢م°) وتم تكرار هذه الاختبارات (٣ مرات) لكل عزلة فطرية، تم فحصت و درست كل عينة فطرية نامية وذلك بتحضير شريحة لفحصها تحت المجهر، للتأكد من الصفات المورفولوجية للعينة، ومقارنتها بالصفات التقسيمية المذكورة في المراجع المتخصصة في تصنيف الفطريات، والتأكد من عدم تلوث العينة بكائنات دقيقة أخرى.

جدول (١): الفطريات المستخدمة في الدراسة والمحفوظة في التربة المعقمة

مدة التخزين بالسنوات	الفطريات	رقم العينة	IMI	ر.م
٥ - ٦	*Zyarhynchus moeller*	15	082707	1
=	*Cunninghamella echinulata*	24	045772	2
=	*Caoanephora cucurbitrum*	48	121212	3
=	*Mucor plumbeus*	50	132640	4
=	*Rhizopus stolonifer*	22	057762	5
=	*Chaetomium globosm*	9	016203	6
=	*Pyrenophora avenae*	12	134278	7
=	*Melanspora zamiae*	14	068202	8
=	*Peziza atrovinsa*	11	132026	9
=	*Neurospora sitophila*	20	021944	10
=	*Cochliobolus geniculus*	36	049781	11
=	*Cephalosporium coccorum*	32	129499	12
=	*Hypomyces solani*	23	07671	13
=	*Chrysospoium xerophilum*	17	126287	14
=	*Curvulria symbopogoins*	6	134162	15
=	*Aspergillus nigra*	2	017454	16
=	*Cylindrocarpon radiciola*	5	061536	17
=	*Helminthosporium sativum*	7	073101	18
=	*Penicillium griseofulvum*	27	075832	19
=	*Aspergillus fumigatus*	18	313021	20
=	*Penicillium chrysogenum*	49	026211	21
=	*Tticholerma viride*	8	113135	22
=	*Phomopsis ancostoma*	39	068344	23
=	*Fusarium solani*	33	129056	24
=	*Trichothecium roseum*	38	129425	25
=	*Aspergillus flavus*	19	089717	26
=	*Fusarium moniliforme*	29	072324	27
=	*Phoma violacae*	34	049948	28

ثانياً/ مرحلة اختبار القدرة الإمراضية :-

قسمت الفطريات التي أجريت عليها اختبارات القدرة الإمراضية إلى ثلاث مجاميع على حسب العائل المناسب لكل فطر.

واستخدم في هذه الاختبارات نبات كامل أو أجزاء نباتية (بذور أو ثمار)، فمنها مجموعة تصيب الثمار ومجموعة تصيب البذور، و مجموعة تصيب الجذور، كعوائل لهذه الفطريات المستخدمة في هذا الاختبار (الجدول ٢)، يوضح اسم الفطر و العائل المناسب له.

جدول (٢): عزلات الفطريات المستخدمة في الدراسة وأجزاء عوائلها المختلفة

الفطريات	العوائل
Fusarium solani	بذور عباد الشمس
Fusarium moniliforme	نبات الطماطم
Penicillium chrysogenum	ثمار البرتقال
Penicillium girseofulvum	بذور الذرة
Aspergillus nigra	نبات البصل
Aspergillus flavus	بذور الكاكاوية
Aspergillus fumigates	بذور البازلاء
Cephalosporium coccorum	حبوب الشعير

اختبارات الإمراضية :

اختيرت الثمار والبذور السليمة لاستخدامها كأوساط أو عوائل مناسبة للفطريات التي تسبب أمراضاً للثمار والبذور، وبعد عملية التعقيم السطحي للثمار والبذور باستخدام كحول ٧٠% لمدة (٣٠ – ٦٠ ثانية) غمرت في ماء مقطر و معقم [١٤].

١- **حقن البذور المعقمة سطحياً:** تم غمرها في (١٠مل) من معلق الفطر لمدة (٥ دقائق) [7، 13، ١٤] ثم وزعت في أطباق زجاجية معقمة تحتوي على ورقة ترشيح معقمة ومشبعة بماء مقطر ومعقم لتوفير الرطوبة اللازمة للفطر. تم توزيع البذور على الأطباق المعقمة بحيث، يحتوي كل طبق على ١٥ بذرة وبمعدل ثلاث مكررات لكل معاملة بالإضافة إلى استخدام مكرر واحد بدون معاملة كشاهد لكل تجربة، بعد ذلك وضعت الأطباق في درجة حرارة المعمل مع توفير الرطوبة عند الحاجة، وتركت تحت الملاحظة لتسجيل النتائج.

٢- **حقن الثمار:** تم إحداث جروح على الثمار باستخدام مشرط معقم وذلك لتسهيل دخول الفطر، ثم غمرت الثمار في (١٠مل) من معلق الفطر [١٢]، ووضعت الثمار في كؤوس زجاجية معقمة تحتوي على ورقة ترشيح معقمة ومشبعة بماء مقطر ومعقم لتوفير الرطوبة اللازمة لنمو الفطر بحيث وضعت كل ثمرة معاملة في كأس وعمل ثلاث مكررات لكل تجربة، مع وضع ثمرة معقمة غير معاملة في كأس لاستخدامها كشاهد وبعد تغطية الكؤوس وضعت في درجة حرارة المعمل و تركت لحين تسجيل النتائج .

٣- **حقن الجذور:** اختيرت نباتات الطماطم السليمة والتي نمت في الأصص لفترة ٢١ يوما لإجراء اختبار إمراضية هذه الفطريات عليها حيث تم إخراج النباتات برفق من الأصص التي زرعت بها وهزت لإزالة بقايا التراب العالق بها وعقمت جذورها تعقيماً سطحياً بالكحول ٧٠%، ثم غمرت في ماء مقطر ومعقم لإزالة تأثير الكحول، وتم عمل جروح بسيطة في جذور النباتات وذلك باستخدام إبرة معقمة لتسهيل عملية الحقن، وتم تقسيم النباتات إلى مجموعتين كل مجموعة تحتوي على اربع نباتات، بالنسبة للمجموعة الأولى من النباتات تم فيها معاملة جذور وتربة ثلاث مكررات منها بمعلق الفطر حيث تم غمر الجذور في معلق الفطر لمدة خمسة دقائق [13]، ثم زرعت في تربة معقمة ومعاملة هذه التربة بمعلق الفطر، أما المكرر الرابع غمرت جذوره بماء معقم وتم زراعته في تربة معقمة وخالية من معلق الفطر لاستخدامه كشاهد. إما المجموعة الثانية من النباتات تم فيها معاملة التربة فقط في ثلاث مكررات بمعلق الفطر بدون معاملة جذورها، أما المكرر الرابع تمت زراعته في تربة معقمة وخالية من معلق الفطر لإستخدامة كشاهد، ثم تركت النباتات في ظروف المعمل العادية من حرارة و إضاءة، والري عند الحاجة و تركت النباتات لتدوين النتائج.

ثالثا :- مرحلة حفظ العينات

تم حفظ العينات الفطرية التي لازالت، تحتفظ بحيويتها بأربع طرق مختلفة:

١. التخزين على PDA (النقل الدوري المستمر) sub- culturing
٢. التخزين تحت الزيت المعدني storage under mineral oil
٣. التخزين في ماء مقطر storage in distilled water
٤. التخزين في تربة معقمة storage in Sterile soil

١) **النقل الدوري:** إن هذه الطريقة للحفظ تعتبر من الطرق البسيطة للحفاظ على حيوية الفطريات وتتلخص في نقل جزء من المزارع الفطرية باستمرار من البيئة المستهلكة إلى البيئة الجديدة سواء كانت صلبة أو سائلة مع إعادة النقل مرتين سنوياً على الأقل، وبعد نموها تنقل لتحفظ في درجة حرارة الثلاجة (٤-٥ م°)، وذلك لتقليل النشاط الحيوي وبقائها حية لمدة طويلة. إن الكثير من الفطريات تحفظ بهذه الطريقة لعدة سنوات باستخدام بيئة مناسبة، والحفظ الناجح باستخدام هذه الطريقة يتوقف على التأكد من الجزء المنقول أو (اللقاح) من المزرعة الفطرية مع تجنب أي ملوثات موجودة بها[12].

٢) **التخزين تحت زيت معدني:** تم بتغطية المزارع النقية بحوالي (١٠ مل) من الزيت المعدني المعقم (البارافين السائل أو البارافين الطبي) المعقم مرتين وتخزينها عند درجة حرارة (١٥-١٨ م°)، وعند استرجاع النمو ينقل جزء من المزرعة المحفوظة تحت الزيت المعدني إلى بيئة غذائية مماثلة للبيئة المستخدمة في التخزين [١٣].

٣) **التخزين في الماء:** بوضع مكعبات حجمها (٦مم) من حواف النمو الفطري في زجاجات أو أنابيب خاصة للتخزين(McCartney bottles) تحتوي على ماء مقطر ومعقم، وعند استرجاع نمو العينات المحفوظة تؤخذ المكعبات وتوضع على بيئة غذائية مناسبة بحيث يكون سطح المكعب المحتوي على العينة ملاصقا لسطح البيئة الغذائية وتحفظ الأنابيب في درجة حرارة الثلاجة (٤-٥م°) [١٤].

٤) **التخزين في التربة:** توضع تربة خصبة في أنابيب خاصة للحفظ و تعقم مرتين في درجة حرارة ١٢١ م° لمدة ١٥ دقيقة ثم يضاف (١ مل) من الماء المقطر والمعقم الذي يحتوي على معلق الجراثيم المراد حفظها، بعد ذلك توضع انابيب الحفظ في حاضنة عند درجة حرارة تتراوح ما بين ٢٠ - ٢٤ م° لمدة ٥ - ١٠ أيام، و تتوقف فترة التحضين على معدل نمو الفطريات المراد حفظها خلال الفترة الأولى للنمو و تستخدم الفطريات الرطوبة المتوفرة في التربة لنموها، ثم يقل النمو و يصل الفطر إلى مرحلة السكون، وذلك يحدث عندما تجف التربة، بعد ذلك تقفل أنابيب الحفظ بإحكام و توضع في الثلاجة عند درجة حرارة ٤ -٧ م° أو تحفظ في درجة حرارة الغرفة [10].

النتائج و المناقشة

عند إجراء اختبارات الحيوية لمجموعة الفطريات28 والتي كانت محفوظة في تربة معقمة لمدة ما بين (٥- ٦ سنوات) والمبينة في (الجدول ٢)؛ أظهرت نتائج هذه الاختبارات أن ٨ فطريات (أي ما يعادل ٢٩ % من العينات المختبرة) لازالت حية وكان نموها متفاوت بعد حفظها في التربة المعقمة ما بين جيد إلى متوسط إلى ضعيف، على بيئة (PDA)، (الجدول ٣)، والفطريات التي ما تزال تحتفظ بحيويتها تتضمن فطر واحد يتبع الفطريات الأسكية (Ascomycota)، وسبع فطريات تتبع الفطريات الناقصة (Deuteromycota)، كما هو موضح في (الجدول ٤). وتم فحص العينات الفطرية الثمانية باستخدام المجهر للتأكد من الصفات الظاهرية، و مقارنتها حسب المراجع و الكتب المتخصصة في مجال تقسيم الفطريات [٢،8]، ولقد تمت المقارنة بين النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة وبين النتائج التي تم الحصول عليها في الدراسة السابقة [٣]، ووجد أن هنالك اختلاف في طرق حفظ الفطريات كما هو موضح في (الجدول ٦) .

وعند إجراء اختبار القدرة الإمراضية للفطريات الثمانية والتي تم سابقا تنميتها، أظهرت النتائج المدونة خلال فترة زمنية من أسبوعين الى شهر و نصف (١٤ - ٤٥ يوم) ، بأن هذه الفطريات لا زالت قادرة على إصابة عوائلها بنسبة تتراوح ما بين ٢٤- ١٠٠% كما هو موضح في(جدول ٥)، وأكدت النتائج

إن الفطريات المحفوظة بالتربة حافظت على حيويتها و قدرتها الإمراضية للفترة زمنية (٥ – ٦ سنوات). والتي تبين الأعراض الناتجة عن إصابة هذه الفطريات لعوائلها ،وهذه النتائج تبرهن على ان هذه الطريقة تتميز (بالمقدرة على حفظ الاستقرار الوراثي للعينات التي ما زالت تحتفظ بحيويتها وقدرتها الامراضية بصورة جيدة). ومن نتائج المرحلة الأولى لهذه الدراسة الخاصة باختبارات الحيوية و نتائج المرحلة الثانية المتعلقة بالقدرة الإمراضية للعينات الفطرية، أتضح أن الحفظ بطريقة النقل الدوري المستمر تعطي فرصة أكثر لمعظم الفطريات للاحتفاظ بحيويتها وقدرتها الإمراضية(4) وتأتي في المرتبة الثانية عملية الحفظ تحت الزيت المعدني(جدول 6). وفي نهاية التجارب ثم إعادة حفظ العينات الفطرية الثمانية التي تم نموها بنجاح بعد حفظها في تربة معقمة لمدة (٥ – ٦ سنوات)، وذلك للحفاظ على رصيد كافي من العزلات النامية بطرق الحفظ المختلفة حسب الإمكانيات المتاحة.

جدول (٣): اختبارات الحيوية للعينات المحفوظة في تربة معقمة على بيئة (PDA) عند (٢٤ + ٢م°)

ر.م	IMI	ر.ع	الفطريات	معدل النمو داخل الحاضنة	النمو خارج الحاضنة	ملاحظات
1	082707	15	*Zyarhynchus moeller*	-	-	***
2	045772	24	*Cunninghamella echinulata*	-	-	***
3	121212	48	*Caoanephora cucurbitrum*	-	-	***
4	132640	50	*Mucor plumbeus*	-	-	***
5	057762	22	*Rhizopus stolonifer*	-	-	***
6	016203	9	*Chaetomium globosm*	-	-	***
7	134278	12	*Pyrenophora avenae*	-	-	***
8	068202	4	*Melanspora zamiae*	-	-	***
9	132026	11	*Peziza atrovinsa*	-	-	***
10	021944	20	*Neurospora sitophila*	-	-	***
11	049781	36	*Cochliobolus geniculus*	-	-	***
12	129499	32	*Cephalosporium coccorum*	+++	++	**
13	07671	23	*Hypomyces solani*	-	-	***
14	126287	17	*Chrysospoium xerophilum*	-	-	***
15	134162	6	*Curvulria symbopogoins*	-	-	***
16	017454	2	*Aspergillus nigra*	+++	++	**
17	061536	5	*Cylindrocarpon radiciola*	-	-	**
18	073101	7	*Helminthosporium sativum*	-	-	**
19	075832	27	*Penicillium griscofulvum*	++	+	**
20	313021	18	*Aspergillus fumigatus*	+++	+	**
21	026211	49	*Penicillium chrysogenum*	+	-	***
22	113135	8	*Ttichoderma viride*	-	-	***
23	068344	39	*Phomopsis ancostoma*	-	-	***
24	129056	33	*Fusarium solani*	+++	++	**
25	129425	38	*Trichothecium roseum*	-	-	***
26	089717	19	*Aspergillus flavus*	++	+	**
27	072324	29	*Fusarium moniliforme*	+++	+	**
28	049948	34	*Phoma violacae*	-	-	***

(+++) = نمو جيد، (++) = نمو بطئ ، (+) = نمو بطئ جدا، (–) = يدل على عدم النمو، (***) = كررت ثلاث مرات، (**) =كررت مرتين

جدول (٤):الفطريات التي ما زالت تحتفظ بحيويتها بعد تخزينها (مدة ٥ – ٦ سنوات) والعائل المناسب لها

الفطريات	العوائل
Fusarium solani	بذور عباد الشمس
Fusarium monilioforme	نبات الطماطم
Penicillium chrysogenum	ثمار البرتقال
Penicillium griseofulvum	بذور الذرة
Aspergillus nigra	نبات البصل
Aspergillus flavus	بذور الكاكاوية
Aspergillus fumigatus	بذور البازلاء
Cephalosporium coccorum	حبوب الشعير

جدول (٥): اختبار القدرة الامراضية للفطريات النامية بعد حفظها في تربة معقمة

ر.م	IMI	ر.ع	الفطريات	المرض	العائل	الإصابة %
الفطريات الناقصة Deuteromycetes						
١	٠١٧٤٥٤	٢	*Aspergillus nigra*	العفن الأسود	نبات البصل	١٠٠
٢	٣١٣٠٢١	١٨	*Aspergillus fumigatus*	عفن البذور	بذور البازلاء	٣٣
٣	٠٨٩٧١٧	١٩	*Aspergillus flavus*	عفن البذور	الفول السوداني	٩١
٤	٠٧٢٣٢٤	٢٩	*Fusarium monilioforme*	الذبول	الطماطم	١٠٠
٥	١٢٩٠٥٦	٣٣	*Fusarium solani*	عفن البذور	عباد الشمس	٨٢
٦	٠٧٥٨٣	٢٧	*Penicillium griseoflavum*	عفن البذور	بذرات الذرة	٢٤
٧	٠٢٦٢١١	٤٩	*Penicillium chrysogenum*	عفن الأخضر	ثمار البرتقال	٠
الفطريات الأسكية Ascomycetes						
٨	١٢٩٤٩٩	٣٢	*Cephalosporium coccorum*	موت البادرات	حبوب الشعير	٤٠

جدول (٦) : مقارنة بين اختبارات الحيوية للفطريات التي تم حفظها بطريقة النقل الـــدورى (4) وطريقـــة الحفظ فى تربة معقمة عند درجة حرارة ٢٤ ± ٢ م°

ر.م	IMI	ر.ع	الفطريات	طريقة الحفظ: تربة معقمة	طريقة الحفظ: النقل الدورى
1	082707	15	*Zyarhynchus moeller*	–	+++
2	045772	24	*Cunninghamella echinulata*	–	++
3	121212	48	*Caoanephora cucurbitrum*	–	–
4	132640	50	*Mucor plumbeus*	–	+++
5	057762	22	*Rhizopus stolonifer*	–	–
6	016203	9	*Chaetomium globosm*	–	+++
7	134278	12	*Pyrenophora avenae*	–	++
8	068202	4	*Melanspora zamiae*	–	+
9	132026	11	*Peziza atrovinsa*	–	+++
10	021944	20	*Neurospora sitophila*	–	–
11	049781	36	*Cochliobolus geniculus*	–	–
12	129499	32	*Cephalosporium coccorum*	++	–
13	07671	23	*Hypomyces solani*	–	–
14	126287	17	*Chrysospoium xerophilum*	–	+++
15	134162	6	*Curvulria symbopogoins*	–	–
16	017454	2	*Aspergillus nigra*	+++	+++
17	061536	5	*Cylindrocarpon radiciola*	–	+
18	073101	7	*Helminthosporium sativum*	–	++
19	075832	27	*Penicillium griseoflavum*	++	–
20	313021	18	*Aspergillus fumigatus*	+++	+++
21	026211	49	*Penicillium chrysogenum*	+	++
22	113135	8	*Ttichoderma viride*	–	–
23	068344	39	*Phomopsis ancostoma*	–	–
24	129056	33	*Fusarium solani*	+++	–
25	129425	38	*Trichothecium roseum*	–	–
26	089717	19	*Aspergillus flavus*	++	+++
27	072324	29	*Fusarium moniliforme*	+++	–
28	049948	34	*Phoma violacae*	–	++

(+++) = نمو جيد، (++) = نمو بطئ ، (+) = نمو بطئ جدا، (–) = يدل على عدم النمو،

المراجـــع

١ – أبو غنية، عبد النبي محمد. ١٩٨٦. أمراض المحاصيل البستانية. مطبوعات جامعة الفاتح ،طـرابلس ليبيا ٢٧٢ صفحة

٢ – أحمد ، محمد علي . ١٩٩٨ . عالم الفطريات . مطبوعات جامعة القاهرة. ج. م. ع. ٥٥٠صفحة.

٣ – القمودي، أمينة عبد السلام . ١٩٩٧ . بقائية وإمراضية عزلات فطرية محفوظة بطريقة التجفيذ وإعادة حفظها بطرائق أخرى ، رسالة ماجستير ، قسم وقاية النبات ، كلية الزراعة جامعة الفاتح

4–القمودى ،أمينة عبد السلام ،خديجة فرج العربى وعياد محمد العمانى .2010. اختبار حيوية وإمراضـية بعض الفطريات المحفوظة بطريقة النقل الدورى وإعادة حفظها.(أ) . المجلة الليبية للعلوم الزراعية، 15 (2) : 3–9.

5- ديكسون ، ع . ر . ١٩٩٣ . أمراض محاصيل الخضر . ترجمة عبد النبـي أبـو غنيـة و صـالح مصطفى النويصري . منشورات جامعة الفاتح ١٤٧ صفحة .

6– نيفال ، روبرت . ١٩٩١ . أمراض المحاصيل الحقلية ترجمة: عيسى صالح فرج وعبد النبي محمد أبو غنية .معهد الإنماء العربي ، بيروت ، لبنان، ١١١٩ صفحة .

7– نيرجارد ، أمراض البذور . ١٩٩٥ . ترجمة المسماري، فتحي سعد و أبوشوشة، سـيد سـعد الـدين . منشورات جامعة عمر المختار . ٧٧ صفحة .

8- Agrios, G. (2005). Plantpathology. 5th ed. Elsevier publications. ٩٢٢ pp

9– Atkinson , R . G 1953 . Survival and pathogenicity of *Alternaria raphani* after five years in dried soil cultures . Can . j .Bot 31 : 542 – 547 .

10- Atkinson , R . G 1954 .Quantitative studies on the Survival of fungi in five years old dried soil cultures . Can . j . Bot 32 : 673 – 679 .

11 - Smith, D. 1990. Notes on the preservation of Fungi CABI. International Mycological Institute, 1 – 13 .

12 - Smith, D and Onions, A . S . H . 1994 . The preservation and maintenance of living fungi 2nd edition , CABI , International Mycological Institute , 1 – 122 .

13- Shearer, B .L ., Zeyen. RJ . and Ooka ,J . J . 1994 Storage and behavior in soil of *Septoria* species isolated from cereals. Phytopathology, 84 : 163 – 167 .

14 - Tuite, J.1969. Pathological methods: Fungi and Bacteria, Burgess Publishing Company Minneapolis, Minn.USA.

VIABILITY AND PATHOGENICITY TESTS OF SOIL PRESERVED FUNGAL ISOLATES

EL-gammudi, Amina A. ; I. S. Faraj and I. A. EL-wahadi

ABSTRACT

This study may be accounted as an initial step in establishing collection of (gen bank) for isolates of plant pathogenic fungi at Plant Protection Department, College of Agriculture, Elfateh University, Tripoli, Libya. This study aimed to test the viability and pathogenicity of 28 isolates preserved in sterile soil and different methods of its preservations. Results showed that only 8 out of 28 isolates could be recovered and found viable including; (7 of them belong to Deuteromycota with only one belong to Ascomycota). The pathogenicity tests of these 8 isolates on different suitable hosts; percentage of infection ranged from 24-100%. The same isolates were successfully preserved using different methods.

Keywords: Fungi, preservation in soil, viability tests, Pathogencity tests,

قام بتحكيم البحث

أ.د / محمد الششتاوى عبد ربه — كلية الزراعة – جامعة المنصورة

أ.د / محمود محمد بدر — كلية الزراعة – جامعة كفر الشيخ