Name: **Hassan AbdeL-Monem Abdel-Fatah Abdel- Wahwab** **Degree: Ph.D. (Plant Pathology)**
Title of thesis**: STUDIES ON PATHOGENIC FUNGI ASSOCIATED WITH BROAD BEAN IN EGYPT**
Supervisors: Prof. **Dr. Metwally Aly Mohamed Baraka**
Prof. Dr. **Abdel-Aziz Aly Ahmed Sallam**
Prof**. Dr. Magdy Ibrahim Ghonim**
Dr. **Walid I. A. Shaaban (Assistant Prof.)**
Department of Agriculture Botany **Approval date : 4/7/2011**

ABSRACT

Survey of fungi associated with broad bean seeds in 5 governorates in Egypt found 15 fungal species. ***Rhizoctonia solani, Fusarium solani, F. oxysporum, Macrophomia phaseolina*** and ***Sclerotium rolfsii*** were the most frequently and pathogenic ones causing high percentage of seedling damping-off . All tested fungi had the ability to activity pectin methylestrase (**PME**),polygalactronase (**PG**) and cellulose (**CX**) in culture filterates. Ten ***Trichoderma*** isolates and ***Bacillus subtilis*** reduced significantly growth of the pathogenic fungi and percentage of seedling damping-off .The reduction was even more when combined with ***Rhizobium***. Some plant extracts used affected growth of the pathogenic fungi. ***Chenopodium murale*** was the most effective one . Clove and thyme oil reduced percentage of seedling damping-off and increased nodual status as well as some growth parameters of the broad bean. Application of fertilizer (**NPK**) at double recommended dose increased percentage of healthy survival plants, however, was even greates when NPK combined with the bioagent (***Trichoderma, B. subtilis*** or ***Pseudomonas floursence***) or fungicides seed treatment (**Rizolex-T, Topsin –M** and **Vitaex -200**) .

Key words: Survey, broad bean, damping-off , fertilizers, culture filtrates and fungicides.

الاسم	حسن عبد المنعم عبد الفتاح عبد الوهاب
عنوان الرسالة	دراسات على الفطريات الممرضة المصاحبة لبذور الفول البلدى فى مصر
الكلية	الزراعة
موقع الكلية	الإسماعيلية – جمهورية مصر العربية (جامعه قناه السويس)
الدرجة العلمية	دكتوراة فى الفلسفة فى العلوم الزراعيه (أمراض نبات)
التاريخ	2011م
اللغة	الإنجليزية
المشرفون	ا.د / متولى على محمد بركة
	ا.د / عبدالعزيز احمد سلام
	ا. د / مجدي ابراهيم غنيم
	د/ وليد ابراهيم شعبان

الملخص

أثبت حصر الفطريات المصاحبة لبذور الفول البلدي في خمسة محافظات في مصر وجد اكثر من 15 نوع من الفطريات وكان رايزوكتونيا سولاني، فيوزاريوم سولاني، ماكروفومينا فاصيولينا ، فيوزاريوم اوكسيسبورم واسكليروشيم رولفزياي أكثر الفطريات المعزولة تكراراً وذات قدرة مرضية عالية علي بادرات الفول البلدي. وجد أن جميع الفطريات المعزولة اظهرت نشاط الأنزيمات بولي جلاكتيورينيز والسليوليز وبكتين مثيل استيريز في راشح المزرعة ووجد انه يوجد علاقة طردية لنشاط هذه الإنزيمات مع فترة التحضين. ووجد تأثير معنوي عند استخدام المقاومة الحيوية بالفطر تريكودرما وبكتريا الباسلس وكان اكثر فاعلية عند استخدام الريزوبيم بالأشتراك مع هذة الكائنات. كما وجد ان بعض المستخاصات النباتيه لها تأثير معنوي علي نمو الفطريات الممرضة وأظهر مستخلص نبات الزربيح فاعلية عالية . أدي استخدام زيت القرنفل والزعتر الي انخفاض نسبة الاصابة بموت البادرات وزيادة عدد العقد البكتيرية ونشاط انزيم النيتروجينيز علاوة علي ذلك زيادة في النباتات السليمة المتبقية والنمو الخضري لكل من الساق والجذر. أدى استخدام التسميد إلي زيادة النباتات السليمة مع انخفاض موت البادرات في حالة استخدامها مع الكائنات الحية فطر التريكوديرما وبكتريا الباسليس وسيدوموناس او معاملة البذور ببعض المبيدات مثل الفيتافاكس ،الريزولكس- تي والتوبسين.

الكلمات الدالة: حصر، الفول البلدى، موت البادرات، الأسمدة، راشح المزرعة و المبيدات الفطرية.

CONTENTS

ITEMS	Page
INTRODUCTION ……	**1**
REVIEW OF LITERATURE ……	**2**
MATERIALS AND METHODS ……	**22**
RESULTS ……	**37**
1- Isolation and identification of fungi associated with broad bean seeds ……...	**37**
2- Pathogenicity test……	**39**
3- Inoculum potential ……	**42**
4. Determination of cellulose and polygalacturonase enzyme activity	**43**
4.1. Isolated pathogenic fungi ……	**43**
4.1.1. Pectin methylestrase (PME) ……	**43**
4.1.2. Polygalacturonase (PG) ……	**44**
4.1.3. Cellulose (Cx) ……	**44**
4.2. Activity of cellulose and pectinases enzymes on *Trichoderma* isolates as sugar content mg/g fresh weight ……	**46**
5. Antagonestic effect of some identified *Trichoderma* spp., cultural filtrate and *Rhizobium* spp. on the mycelial growth of tested pathogenic fungi …….	**48**
5.1. Effect of *Trichoderma* spp. on isolated fungi associated broad bean seeds ……..	**49**
5.2. Effect of cultural filterats of isolated *Trichoderma* spp. on isolated fungi associated broad bean seeds ……	**49**
5.3. Effect of Rhizobia groups on linear growth of isolated fungi associated with broad bean seeds ……	**53**
6. Effect of *T. harazianum* and *B. subtilus* ……	**55**
6.1 - Effect of *T. harazianum* and *R. leguminosarum* singly or in combination on controlling damping-off of broad bean plants. ….	**55**
6.2 - Effect of *T. harzianum* and *R. leguminosarum* on some growth parameters of broad bean inoculated with damping-off pathogens .	**56**
6. 3 - Effect of *Bacillus subtilus* and *R. leguminosarum* each alone or in combination on controlling damping-off of broad bean plants ……..	**58**
6. 4 - Effect of *Bacillus subtilus* and *R. leguminosarum* each alone or in combination on some growth parameter of broad bean plants ……..	**58**
6.5 - Effect of ten isolates of *Trichoderma* spp. and *Rhizobium leguminosarum* on damping-off diseases, number of nodules and nitrogenase enzyme active ……...	**61**
7. Effect of plant extract ……	**61**
7.1. Effect of some plant extract on linear growth reduction of some isolated pathogenic fungi ……	**61**

7.2- Effect of *C. murale* extract and its residues on broad bean, damping-off (pre-, post-and survival plants) …… **68**

8- Effect of essential oil …… **69**

8.1- Effect of different concentrations of two tested plant containing oils on the mycelial growth of two pathogenic fungi associated with broad bean seeds …… **69**

8.2- Effect of some essential oils on damping-off and survival plants of broad bean: ……. **69**

8.3- Effect of some essential oils on number, fresh and dry weight of nodules of broad bean plants under artificial infection in greenhouse …… **69**

9. Effect of fertilizers (NPK) …… **75**

9.1- Effect of applying different amounts of fertilizers (NPK) on damping-off ;(pre-, post- and survival plant) and some root and vegetative characters of broad bean under artificial infection …… **75**

9.2-Effect of applying different amounts of fertilizers (NPK) on the mixture of some pathogenic fungi causing root-rot on broad bean plants, using fungicides …… **78**

DISCUSSION …… **84**

SUMMARY …… **98**

REFERENCES …… **104**

ARABIC SUMMARY …… **-----**