

مكافحة الفطريات المحمولة على بذور الفاصوليا باستخدام الاشعة السينية (X-RAY)

ابتسام مفتاح الاشقر¹ ، حنان عبد الكريم خليفه²

1- قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة عمر المختار

2- قسم علم النبات - كلية الآداب والعلوم - جامعة عمر المختار - القبة

الملخص

اجريت هذه الدراسة بقسم وقاية النبات بكلية الزراعة جامعة عمر المختار خلال العام الدراسي 2014-2015 وقد استهدفت مكافحة الفطريات المحمولة على بذور الفاصوليا الجافة بالإشعاع الكهرومغناطيسي كنوع من انواع المكافحة الفيزيائية. حيث استخدمت الاشعة السينية (X-RAY) لمكافحة هذه الممرضات، عينات البذور جمعت من السوق المحلي بالبيضاء وتمت عملية العزل بعد تعقيمها سطحيا للتعرف على اهم الممرضات النباتية المحمولة عليها. وعملت البذور بالأشعة السينية X-RAY لدراسة تأثيرها على تواجد الفطريات الممرضة للبذور وتحديد كفاءة نوع وزمن التعرض الأمثل للإشعاع المستخدم. وتم في هذه الدراسة اختبار نسبة انبات البذور قبل وبعد المعاملة بالإشعاع ، كما عرضت الفطريات الناتجة من العزل والمحمولة على بذرة الفاصوليا لنفس جرعات الاشعاع وبنفس الازمنة لتقدير تأثير الاشعة على قطر نمو الفطريات الممرضة للبذور. تبين من النتائج عزل فطريات *Alternaria sp* , *Aspergillus sp*, *Rhizoctonia sp*, *Penicillium sp*, *Fusarium solani*, وبينت نتائج معاملة البذور بالموجات الطويلة والقصيرة للأشعة السينية ادت إلى ارتفاع نسبة الانبات حيث كان للموجة الطويلة أعلى معنوي في زيادة نسبة الانبات مقارنة لموجة القصيرة التي كانت نسبة الانبات عندها مرتفعة بالنسبة للشاهد. وقد كانت للموجة الطويلة تأثير على تكرار تواجد الفطريات حيث أنه لم يسجل وجود للفطريات عند

استخدام الموجة الطويلة ماعدا فطر *Alternaria* الذى كان موجود عند الموجة الطويلة والقصيرة بنفس نسبة التواجد مع انخفاض هذه النسبة ، وعند المعاملة بالموجات الطويلة للأشعة السينية كانت اكثر تأثيرا من الموجات القصيرة على نمو الفطريات المعزولة مباشرة ونسبة تكرارها.

المقدمة

تعددت طرق مكافحة الفطريات المحمولة في البذور من التنظيمية (التشريعية) الى الحيوية والفيزيائية والكيميائية (3و4) ، وتم التوجه لاستخدام مكافحة الممرضات النباتية باستخدام الطرق الفيزيائية والتي من بينها استعمال الاشعاع الكهرومغناطيسى (5و17) والهدف من معاملة البذور بهذا الاشعاع تثبيط الممرضات النباتية ومنع انتقالها الى البادرات ولذلك فان هذه المعاملات قد تكون اجراء علاجيا ولكنها قد تحمى البذور من الكائنات الموجودة بالتربة أيضا. وتعتبر الاشعة السينية (X-RAY) اداة فعالة في التعامل مع الامراض والمسببات المرضية (16). وثبت ان الفطريات اكثر حساسية لهذه لأشعة من البكتيريا (8). كما اشار(6) الى ان معاملة البذور بأشعة اكس ذات طول موجى صغير نسبيا 0.25GY. اثر على الصفات الكيميائية والحيوية للبذرة. بينما ذكر (20) أن اشعة اكس لا تؤثر على نمو النبات عند استخدام جرعات منخفضة. كما درس (14) تأثير تعريض بذور بعض انواع العائلة البقولية لأشعة اكس لتقدير النمو ومكافحة فطريات الجذور وسجل ان بذور اللوبيا والفول التي عوملت بالأشعة السينية بطول موجة 45 كالفن و75كالفن ولمدة 5 و 10 ثواني اعطت زيادة معنوية واضحة في معدلات النمو وفي مكافحة الفطريات المتعلقة بالجذور وخاصة انواع الفطر *Fusarium* spp. والفطرين *Macrophomina phaseolina* ، و *R.solani*. وذكر (2) ان الموجات الطويلة لأشعة اكس (السينية) كانت اكثر تأثيرا على الفطريات المعزولة وعلى نسبة انبات البذور. ولذلك اجريت هذه الدراسة والتي تهدف الى : تقييم تأثير الاشعة السينية في مكافحة الفطريات المحمولة على بذور الفاصوليا. و تقييم تأثير الاشعة السينية على الفطريات مباشرة.

مواد وطرائق البحث

1- عزل وتعريف الفطريات المحمولة على البذور:

عُقدت عينة من بذور الفاصوليا المنتجة محليا والمجموعة من السوق البيضاء سطحياً باستخدام 0.5% هيبوكلوريت الصوديوم 10% ووزعت على أطباق بتري تحتوي ثلاث طبقات من ورق الترشيح معقمة تعقيم رطب بحيث احتوى كل طبق 5 بذور وحضنت في درجة حرارة (24 ± 2 م°) لمدة 10 أيام وخضعت للملاحظة لتسجيل النموات الفطرية الظاهرة عليها.

اما المجموعة الثانية وزعت على أطباق بتري تحتوي الوسط المغذي أجار البطاطس والسكرورز (PSA) بمعدل 5 بذور لكل طبق وحُضنت لمدة 5 أيام. وذلك لتأكيد تعريف الفطريات المتحصل عليها والمعرفة في دراسة سابقة (1) .

2- المعاملة بالأشعة السينية:

-تأثير الاشعة على نسبة انبات البذور.

تم تعقيم البذور وتجفيفها ومن ثم تعريض البذور لنوعين من موجات الاشعة السينية وهي القصيرة 40 (كلفن) و الطويلة 52 (كلفن) حيث عرضت 80 بذرة للإشعاع المستخدم ثم وزعت على أطباق بتري التي تحتوى البيئة الغذائية PSA بمعدل 5 بذور لكل طبق لتقدير الفطريات النامية على كل بذرة (14).

- تقدير شدة الاصابة بالفطريات على البذور (تكرار الفطر) : تم حساب تكرار ظهور كل فطر من الفطريات المعزولة من البذور وذلك بعد تعقيم 60 او 80 بذرة بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم. لمدة دقيقتين ثم غسلها بالماء المعقم وتجفيفها. وزعت البذور المعقمة على بيئة أجار البطاطس والسكرورز (PSA) بمعدل 5 بذور لكل طبق وحضنت لمدة 5 أيام في درجة حرارة 24 ± 2 مئوية. وتم فحص نمو الفطريات على البذور وحساب عدد مستعمرات كل فطر من الفطريات المعزولة من البذور المختبرة

تم حساب نسبة تكرار الفطريات المعزولة على البذور باتباع المعادلة التي ذكرها (18):

$$\text{نسبة تكرار الفطر} = \frac{\text{عدد مستعمرات الفطر المعزول}}{100} \times 100$$

العدد الكلي للمستعمرات المعزولة

- تأثير الاشعة على الفطريات المعزولة مباشرة: بعد عزل الفطريات جرى تنميتها على الوسط المغذي PDA لمدة 5 ايام. باستخدام ثاقب الفلين اخذ قرص بقطر 5 مليمتر ووضع في منتصف طبق بتري المحتوى على بيئة (PSA) وتم تعريض كل فطر للأشعة بأنواعها وبنفس ازمنا التعرض ويحضان لمدة أسبوع لملاحظة تطور نمو الفطر مقارنة بالشاهد وتسجيل معدل الزيادة في نمو الفطر باستخدام المسطرة عن طريق قياس قطر النمو على البيئة (7) عن طريق المعادلة :

$$\text{نسبة نمو الفطر} = \frac{\text{قطر نمو الفطر في الشاهد} - \text{قطر الفطر نمو بعد كل معاملة}}{\text{قطر نمو الفطر الشاهد}} \times 100X$$

النتائج

1- عزل الفطريات المحمولة على بذور الفاصوليا: تم العزل والتعريف وفق (الاشقر واخرون 1917).

2- المعاملة بالأشعة السينية :

-تأثير التعرض للموجات الطويلة والقصيرة على نسبة انبات البذور..

أوضحت النتائج ان البذور المعاملة بالموجات القصيرة كانت تمثل اكبر نسبة انبات واسرع في النمو ، ويشير الجدول (1) إلى ارتفاع في نسبة انبات البذور عند تعريضها للموجات الطويلة والقصيرة للأشعة السينية بينما عند الموجة الطويلة كانت الزيادة في نسبة الانبات معنوية مقارنة بالشاهد.

جدول (1) تأثير الاشعة السينية على نسبة انبات بذور الفاصوليا

| الاشعة السينية | نسبة انبات البذور |
|-------------------------|-------------------|
| الشاهد | 40.8% |
| الموجة القصيرة 40 كالفن | 65% |
| الموجة الطويلة 52 كالفن | 77% |
| LSD طول الموجة = 1.99 | |

-تأثير الأشعة السينية على شدة الإصابة بالفطريات.

توضح النتائج المبينة بالجدول (2) أن للموجات الطويلة تأثير أكبر من الموجة القصيرة على نسبة تكرار تواجد الفطريات. كما تشير إلى انخفاض عدد الفطريات المعزولة من البذرة بشكل معنوي مقارنة بالشاهد عند التعرض للموجات الطويلة من الأشعة السينية. حيث نجد أن أعلى نسبة كانت لفطر *Penicillium sp* 70% عند الشاهد مقارنة بباقي الفطريات وقد انخفضت هذه النسبة عند استعمال الموجات القصيرة 40 كالفن إلى 18.5% بينما لم يلاحظ ظهوره عند استخدام الموجات الطويلة 52 كالفن كما انخفضت نسبة تردد *Aspergillus* إلى 25% عند الموجة القصيرة ولم يسجل ظهوره عند استعمال الموجة الطويلة وانخفض تردد فطر *Fusarium solani* إلى 5.0% وكذلك لم يلاحظ ظهوره عند الموجة الطويلة كما لم يلاحظ تواجد *Rhizoctonia sp* عند المعاملة بالموجة الطويلة بينما كانت نسبة تردد عند الموجة القصيرة للأشعة 11.2% في حين أن فطر *Alternaria sp* كان *sp* متواجد عند الموجتين الطويلة والقصيرة بالرغم من انخفاض نسبة تواجده إلى 8.3%.

تأثير التعرض للأشعة السينية مباشرة على معدل قطر نمو الفطريات المعزولة:

بينت النتائج المدونة بالجدول (2) ان أعلى قيمة لقطر نمو الفطريات كانت عند الشاهد لفطر *Aspergillus sp* 3.5 سم وأقل قيمة للنمو كانت للفطر *Fusarium solani* بقطر 2 سم عند الشاهد وانخفض قطر نمو جميع الفطريات المعرضة للموجات الطويلة والقصيرة وكان اعلى قيمة لقطر النمو عند التعرض للموجة القصيرة لفطر *Penicillium sp.* 1.8 سم بينما اقل قيمة لفطر *Aspergillus sp* بقطر 1.0 سم. اما الموجة الطويلة كان تأثيرها اكبر على انخفاض قطر الفطر حيث سجل اعلى قطر نمو لفطر *Aspergillus sp* 0.8 سم واقل قيمة للفطريات *Aspergillus sp*، *Penicillium sp*، *Fusarium solani* بقطر 0.4 سم في حين انعدم نمو *Aspergillus sp*. وتشير نتائج التحليل الإحصائي الى وجود فروق معنوية بين طول الموجة المستخدمة. كما يلاحظ ان اكثر تأثير على قطر نمو الفطريات المعزولة من بذور الفاصوليا كان للموجات الطويلة يليها الموجة القصيرة مقارنة بالشاهد حيث بلغ متوسط زيادة قطر النمو عند الموجة الطويلة 0.28 سم بينما عند الموجة القصيرة 1.36 سم مقارنة بالشاهد التجربة الذي كان متوسط قطر النمو 2.6 سم.

- تأثير الأشعة على متوسط عدد مستعمرات الفطر: تشير نتائج الموضحة في الجدول (2) ان هناك انخفاض في عدد مستعمرات الفطريات في البذور المصابة مقارنة ببذور الشاهد وإن عدد مستعمرات الفطر تناقص بشكل معنوي في البذور المختبرة والمعاملة بالموجات الطويلة 52 كلفن مقارنة بالموجات القصيرة 40 كلفن. حيث لم يلاحظ ظهور نمو لأي فطر عند استعمال الموجات الطويلة ماعدا فطر *Aspergillus sp* بينما لم يسجل وجود اي نمو للفطريات ت الاخرى. بينما لوحظ انخفاض لمعدلات النمو متأثرا بالموجات القصيرة. وتشير نتائج التحليل الإحصائي الى عدم وجود فروق معنوية بين نوعي الموجة ولا توجد فروق معنوية بين أجناس الفطريات او التداخل بين نوع الموجة والفطريات .

| تأثير الاشعة السينية على الفطريات المختبرة | | | جدول 2 |
|---|--------------------|------------------------|------------------------|
| الموجات الطويلة 52 | الموجات القصيرة 40 | الشاهد % | الفطر |
| KV% | KV% | | |
| التأثير على نسبة شدة الإصابة | | | |
| 8.3 | 8.3 | 52.0 | <i>Alternaria sp</i> |
| 0.00 | 25.0 | 48.0 | <i>Aspergillus sp</i> |
| 0.00 | 5.00 | 13.3 | <i>Fusarium solani</i> |
| 0.00 | 18.5 | 70.0 | <i>Penicillium sp</i> |
| 0.00 | 11.2 | 13.3 | <i>Rhizoctonia sp</i> |
| نوع الموجة* الفطر = | | LSD 0.824 = | نوع الموجة = 0.639 |
| 1.42 | | | |
| التأثير على قطر النمو للفطريات المعزولة مباشرة (سم) | | | |
| 0.8 | 1.00 | 1.5 | <i>Alternaria sp</i> |
| 0.00 | 1.0 | 2.00 | <i>Aspergillus sp</i> |
| 0.40 | 1.50 | 2.00 | <i>Fusarium solani</i> |
| 0.00 | 1.88 | 2.00 | <i>Penicillium sp</i> |
| 0.20 | 1.50 | 3.00 | <i>Rhizoctonia sp</i> |
| N.S = الموجة* نوع الفطر | | N.S = الفطريات | N.S = نوع الموجة = LSD |
| التأثير على متوسط عدد مستعمرات الفطريات | | | |
| 1.0 | 1.00 | *1.5 | <i>Alternaria sp</i> |
| 0.00 | 1.50 | 2.0 | <i>Aspergillus sp</i> |
| 0.00 | 1.0 | 1.0 | <i>Fusarium solani</i> |
| 0.00 | 1.0 | 1.5 | <i>Penicillium sp</i> |
| 0.00 | 1.00 | 1.00 | <i>Rhizoctonia sp</i> |
| N.S = الفطر LSD | | N.S = نوع الموجة = LSD | |
| الفطر * الاشعة = N.S | | | |

بينت نتائج هذه الدراسة أن معاملة البذور بالموجات الطويلة والقصيرة للأشعة السينية أن للموجة الطويلة اثر في ارتفاع نسبة الانبات عن الموجة القصيرة التي كانت نسبة الانبات عندها مرتفعة بالنسبة للشاهد. وقد كانت للموجة الطويلة تأثير على تكرار تواجد الفطريات حيث أنه لم يسجل وجود للفطريات عند استخدام الموجة الطويلة ماعدا فطر *Alternaria* الذي كان موجود عند الموجة الطويلة والقصيرة بنفس نسبة التواجد مع انخفاض هذه النسبة وقد اتفقت هذه النتيجة مع (2) حيث اشار ان الموجات الطويلة للأشعة السينية اكثر تأثيرا من الموجات القصيرة على الفطريات المعزولة ونسبة تكرارها وسجل ايضا انخفاض معنوي مقارنة ببذور الشاهد . كما استخدم (14) الاشعة السينية لمكافحة امراض الجذور الفطرية في بذور اللوبيا والبقول السوداني وقد بينت المعالجة تحسن واضح في النمو والسيطرة على العدوى بمرض تعفن الجذور . وذكر بان الجرعة 45كالفن ادت الى زيادة في الطول والوزن للورقة . كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج (8) الذي افاد بأنه تم القضاء الكامل على فطريات تعفن الجذور عندما عوملت البذور بالأشعة السينية مدة 20,10,5، ثانية و بالإضافة الى مسحوق *Aerva javanica* كما أكد (20) ان الاشعة السينية لا تؤثر على نمو النبات ولا على تجمعات ميكروبات التربة عند استخدام الجرعات المنخفضة. ويمكن أن تفسر نتائج هذه الدراسة من حيث التأثيرات الفسيولوجية للأشعة السينية طبقاً لما توصل اليه (10) حيث نكروا أن اشعة اكس ذات كفاءة في استعمالها شان باقي الاشعة الايونية والتفاعل الذي يحدث للالكترونات الحرة والايونات الغير مستقرة والذي يتبعه تصادم تلك الالكترونات والتي تستطيع كسر العمود الفقري لحمض DNA مسبب كسور فيزيائية وطفرات وفي النهاية الى موت الخلايا.

Control of seed borne fungi on bean(*Phaseolus vulgaris*.L.) using X-ray waves

Ebtisam Mofteh AL-Ashger¹, Hanan Abdelkareem khalifa²,

¹Plant protection Dept., Fac., Agric., Omar Al-Mukhtar Univ.,EL-Beida,Libya.

²Plant Dept., Fac., Art and Sci., Omar Al-Mukhtar Univ.,EL-Gubba.,Libya

Abstract

This study was conducted at the Faculty of Agriculture University of Omar Mukhtar during the growing seasons Year 2014_ 2015, aiming to investigate the role of X-rays in controlling the pathogenic fungi on bean seeds either in vivo or in vitro. the proportion of seed germination test before and after treatment with radiation was also estimated The Seed samples were collected from the local market and underwent isolation process after surface sterilization of seeds to get known the most important plant pathogens carried on seed beans. Our results indicated that the most important pathogenic fungi was isolated and identified as (*Alternaria* sp,*Aspergillus* sp, ,*Penicillium* sp,*Fusarium solani* ,*Rhizoctonia* sp,). The results of treatment of beans seeds with X-rays have shown that the long waves were more beneficial on the proportion of the presence of fungi, where there was a decrease in the presence of fungus significantly compared to the control. while the long-wave of X-ray gave significant differences for germination compared to the control. Results of exposing the isolated fungi directly to long and short X-ray waves with the same time as used with tested seed indicated that growth

diameter of isolated fungi significantly decreased with exposure to long waves than short waves which also significantly different than control.

Key words:- X-ray- *Phaseolus vulgaris.L- Alternaria sp* ,
Aspergillus sp, Rhizoctonia sp, Penicillium sp, Fusarium solani

المراجع

1. الاشقر، ابتسام مفتاح، زهرة الجالي وحنان عبدالكريم. (2017). عزل وتعريف وتحديد تواجد الفطريات المحمولة على بذور الفاصوليا من السوق المحلية. تحت النشر.
2. عبدالعالي، عازة علي. (2016). عزل وتعريف فطريات افغان قرون البازلاء ومكافحتها ببعض الطرق الفيزيائية. رسالة ماجستير. قسم وقاية النبات، كلية الزراعة - جامعة عمر المختار 95 صفحة.
3. ميخائيل، سمير. (1992). امراض البذور. منشأة المعارف بالإسكندرية، جلال حزي وشركاه 283 صفحة.
4. نيرجارد . (b1977). أمراض البذور المجلد الثاني ترجمة فتحي سعد المسماري و سيد أبوشوشة (1995) منشورات جامعة عمر المختار. 766 صفحة .
5. محمد، نورة على، عازة على عبد العالي وزهرة ابراهيم الجالي (2016). تأثير الأشعة السينية على انبات بذور البازلاء والفطريات المعزولة منها. المجلة الليبية لوقاية النبات. 6: 36-44

-
6. **Khayri, J., Al-Enezi, N., and Al-Bahrany, A. (2012).** Effect of X-irradiation on date palm seed germination and seedling growth. Emirates Journal of Food and Agriculture organization. 24(5):415-424.
7. **Dhingra, O. D. and James, B.S. (1993).** Basic plant pathology methods, 2nd edition, Lewis publishers 434 pp.
8. **Jackson, N.E., Corey, J.C., Frederick, L.R. and Picken, J.C. (1967).** gamma irradiation and the microbial population of soils at two water contents. Soil Sci . Soc Am J. 31: 491-494.
9. **James, D. L., Gillin, C. J., Dumrose, R. K. and Wenny, D. L. (1988).** Microwave treatment to eradicate seed-born fungi on Douglas-Fir. seed. USDA Forest service-Northern region Rep.88:1-8.
- 10-**Jay, k., Bradley, C., and Stevens, T. (2010).** Evaluation of the effects of radiation from X-ray baggage inspection system on microbial Agents. www.absa.org. Applied Bio Safety vol.15.No.1.
- 11-**Kaniewska, J., Goździewska, J., Domoradzki M. and Poćwiardowski, W. (2012).** Obróbka nasion fasoli w środowisku bezwodnym i osmotycznym. Inżynieria Rolnicza, 3(138), 71-79.
- 12-**Lebajuri, M. Bahari, I. Lieberei, R. and Omar, M. (1997).** The effects of X-rays, UV, temperature and sterilants on the survival of fungal conidia, *Microcyclus ulei*, a blight of Hevea rubber. Tropical Science, 37:92-98.

- 13-Mahmoud, B. S. (2010).** Effects of X-ray radiation on *Escherichia coli* O157:H7 *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Shigella flexneri* inoculated on shredded iceberg lettuce. Food Microbiology 27: 109.-114.
- 14-Naheed, I . Shahnaz, D. and Fauzia, I. (2015).** X- rays exposure on leguminous seeds in combination with aerva javanica parts powder for the promotion of growth and management of root rot fungal pathogens. European Journal of Botany Plant Sciences and Pathology vol.2, no.2,.1-10.
- 15-Reddy, P., Mycock, D. J. and Berjak, P.(2000).** The effect of Microwave irradiation on ultrastructure and internal fungi of soybean seed tissues.Seed Sci.Technol.28:277-289.
- 16-Sameh, A. S. A., Kumar, A. P., Rao, B. S. and Singh, R. P. (2006).** Biodegradation of γ -sterilised biomedical polyolefins under composting and fungal culture environments. Poly. Degrad Stab. 91: 1105-1116.
- 17-Spadaro, D. and Gullino, M. L. (2005).** Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. Crop Prot. 24: 601-613.
- 18-Gonzalez, H., Mortinez, E., Pacin, A. and Resnik, L. (1999).** Relationship between *Fusarium graminearum* and *Alternaria alternata* contamination and deoxinivalenol occurrence on Argentinian durum wheat.Mycopathologia,144,97-102.

19–Warchalewski, J., Dolińska R. and Błaszczak, W. (2007).

Analiza mikroskopowa ziarna pszenicy dwu pokoleń wyhodowanych z nasion ogrzanych mikrofalami. Acta Agrophys. 10: 727–737, ISSN 1234–4125.

20–Zappala, S., Helliwell, J., Tracy, S., Mairhofer, S. and

Sturrock, C. (2013). Effects of X-Ray dose On rhizosphere Studies using x-ray computed tomography.PLOS ONE.www.Plosone.org, 8: 6,7250