

Department : Plant Pathology

Field of study : Plant Pathology

Scientific Degree : Ph.D.

Date of Conferment : Aug. 7, 2019

Title of Thesis : **ADVANCED TECHNIQUES FOR DETECTION OF IMPORTANT SEED-BORNE FUNGAL DISEASES IN SOME CEREAL CROPS**

Name of Applicant : Dalia Mohamed Kamal Abdullah Shaheen

Supervision Committee:

- Dr. M. A. Awad : Prof. of Plant pathology, Fac. of Agric., Menoufia Univ.

- Dr. G. A. Amer : Prof. of Plant pathology, Fac. of Agric., Menoufia Univ.

- Dr. I. H. El-Abbasi : Professor of Plant Pathology, Agric. Res. Center (ARC)

ABSTRACT:

The Aims of this study were to:

*The first aim of the present study was to develop seed health methods that would allow reliable and reasonably fast detection of seed-borne fungal diseases such as *Pyricularia oryzae* in rice, *Ustilago tritici* in wheat and *Cephalosporium maydis* in maize. Many detection methods occur for different seed-borne pathogens, but, few of the minimum requirements for adequate seed tests were satisfied. Preferably, seed health methods should be sensitive, specific, rapid, robust, inexpensive and simple to implement and interpret, in order to fit plant quarantine*

Some standard seed health procedures were applied for seed-borne fungi detection from the three seed crops. Washing test, Blotter method, Washing after Incubation (modified), Deep Freezing method and Potato Dextrose Agar method (PDA) were used in case of rice seed samples. Embryo Count method and Field experiment were carried out for loose smut detection. Blotter method, Deep Freezing method and Potato Dextrose Yeast Agar method were implemented in inspecting whole seeds and broken one of maize seed samples. Side by side, PCR detection and identification of the previously seed-borne pathogen was comparably applied to face the disadvantages of the common tests. Nano-metallic particles were involved in to enhance of DNA and focused to compare between some traditional detection methods and advanced PCR-based techniques for detection of seed-borne pathogens in the three major food crops; wheat, rice and maize.

Key words: *Rice, wheat, maize, *Pyricularia oryzae*, *Ustilago tritici*, *Cephalosporium maydis*, seed health testing, DNA extraction, nanoparticles, PCR assay.*

عنوان الرسالة: الطرق الحديثه فى فحص أهم الأمراض الفطريه التى تنتقل عن طريق البذور فى بعض

المحاصيل النجيليه

اسم الباحث : داليا محمد كمال عبدالله شاهين

الدرجة العلمية: الدكتوراه فى العلوم الزراعيه (أمراض نبات)

القسم العلمى : النبات الزراعى

تاريخ موافقة مجلس الكلية : 2019/8/7

لجنة الإشراف: أ.د. محمد أحمد عوض أستاذ أمراض النبات المتفرغ ، كلية الزراعة، جامعة المنوفية

أ.د. جمعه عبدالعليم عامر أستاذ أمراض النبات ، كلية الزراعة، جامعة المنوفية

أ.د. ابراهيم حافظ العباسى رئيس بحوث متفرغ قسم أمراض البذور- معهد بحوث أمراض النباتات – مركز

البحوث الزراعيه – الجيزه

المخلص العربى

الهدف الأول من هذه الدراسة هو تطوير طرق فحص لسلامة وصحة البذور ، تتيح الكشف الموثوق والسريع بشكل معقول عن الفطريات التى تنتقل عن طريق البذور مثل بيروكيولاريا أوريذا فى الارز، يوستيلاجو تريبتيساى فى القمح و سيفالو سبوريم للذرة. يوجد العديد من طرق الكشف عن المسببات المرضية المختلفة التى تنتقل عن طريق البذور ، ولكن القليل منها الذى يفى بأدنى حد من متطلبات اختبارات صحة البذور. على نحو مفضل ، يجب أن تكون طرق اخبار صحة وسلامة البذور حساسة ، محددة وسريعة ، قوية، غير مكلفة، سهلة التنفيذ و واضحة، لى تناسب احتياجات الحجر الزراعى.

تم تطبيق بعض الاختبارات التقليدية لسلامة وصحة البذور للكشف عن الفطريات التى تنتقل عن طريق بذور المحاصيل محل الدراسة. تم استخدام اختبار معلق غسيل البذور ، وطريقة اوراق الترشيح المبللة وطريقة فحص معلق غسيل البذور بعد التحضين (المعدلة) ، طريقة الفحص بعد التجميد وطريقة أطباق الأجر (PDA) فى اختبار بذور الارز لإصابتها بفطر اللفحة. وللكشف عن الفطر المسبب للنفخ السائب فى القمح تم اجراء طريقة عد الأجنة والتجربة الحقلية. تم تطبيق طريقة أوراق الترشيح المبلل ، طريقة الفحص بعد التجميد وطريقة اطباق الاجار المضاف اليها مستخلص خميرة (PDYA) لفحص البذور السليمة والمكسورة لفحص عينات الذرة الشامية لإصابتها بفطر الذبول المتأخر.

جنباً الى جنب، تم الكشف وتحديد المسببات المرضية محل الدراسه التى تنتقل عن طريق البذور بطريقة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) والى تم المقارنة لمواجهة عيوب الطرق التقليدية.

اضيفت بعض المواد المعدنية فى صورة مواد نانو لتحسين تركيز ونقاوة الحمض النووى الوراثى DNA المستخلص من البذور المصابة لاستخدامة فى تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن المسببات المرضية التى تنقلها بذورهم ثلاث محاصيل غذائية رئيسية: القمح، الارز والذرة .