

المجلة الليبية لعلوم وتكنولوجيا البيئة

Libyan Journal of Ecological & Environmental Sciences and Technology(LJEEST)

http://aif-doi.org/LJEEST/060117

عزل وتعريف الفطريات القاطنة في بعض الترب الزراعية بمدينة مصراتة ليبيا

عادل عمر عاشور

ARTICLE INFO

Vol. 6 No. 1 June, 2024

Pages A (28-35)

Article history:

Revised form 01 January2024 Accepted 31 January 2024

Authors affiliation faculty of science, Misurata University email@mail.com

Keywords:

Agricultural soils, Fungal culture media, Serial dilution method, Fungal genera,
Observed percentage of fungi

الملخص

اجريت هذه الدراسة في معمل الاحياء الدقيقة بكلية العلوم، جامعة مصراتة لعزل وتعريف الفطريات القاطنة في الترب الزراعية لثلاثة مناطق بمدينة مصراتة وهي السكت، الدافنية وطمينة. اوضحت النتائج المتحصل عليها وبالاعتماد على المواصفات المورفولوجية مصراتة وهي السكت، الدافنية وطمينة. اوضحت النتائج المتحصل عليها وبالاعتماد على المواصفات المورفولوجية للمستعمرات الفطرية باستخدام المجهر الضوئي المركب وبالاستعانة بالمراجع العلمية الحديثة وجود العديد من الاجناس الفطرية والتي Penicillium و Rhizopus ، Aspergillus ، Alternaria ، وذلك باستخدام نوعين من الاوساط الفطرية الزراعية المختلفة وهي وسط البطاطس دكستروز اجار (Potatoes Dextrose Agar, PDA) و الشابكس دوكس اجار (Capek Dox Agar, CDA) وباستخدام طريقة التخفيف النسلسلي (Serial Dilution Method) عند التركيزين 20-1 و 10-3. الفطريات المعزولة ظهرت بنسب منوية متفاوتة وصل اعلاها الى 68.08% كما في حال جنس Alternaria في نفس الوسط (PDA) ولكن عند التركيز 20-1. بعض الاجناس الفطرية طهرت في بعض المناطق الزراعية بنسبة عالية الى حد ما في حين لم تظهر اطلاقا في نفس هذه المناطق. الاوساط الزراعية بنسبة علية الى حد ما في حين لم تظهر اطلاقا في نفس هذه المناطق. الاوساط الزراعية مناطق قيد الدراسة السكت، طمينة والدافنية.

CDA هي الاخرى كان لها دور في عزل الفطريات القاطنة في التربة حيت اعطت نسب متفاوتة للعزلات عند التخفيفين المدروسين 20-2 و 10-3 إلى النطرية مناطق قيد الدراسة السكت، طمينة والدافنية.

Isolation and Identification of Soil-borne Fungi in Some Agricultural Soils in Misurata City-Libya

Adel Omar Ashour

This study was carried out in the Microbiology laboratory at faculty of science, Misurata University, to isolate and identify the soil-borne fungi in the agricultural soils of three areas in Misurata city these including: Alsaket, Aldafnaya, Tomina. The obtained results depending on the morphological characteristics of the fungal cultures and using the compound light microscope with assist of the modern scientific references showed that the soils contained many fungal genera, these are: Fusarium, Alternaria, Aspergillus, Rhizopus and Penicillium using two different fungal culture media: Potatoes Dextrose Agar (PDA) and Czapek Dox Agar (CDA) and the serial dilution method at the concentrations of 10^{-2} and 10^{-3} , the isolated fungi were observed with various percentages which reached as high as 68.08% such as in genus of Penicillium sp. in Alsaket area on PDA at 10^{-3} , whereas the Alternaria alternata was the lowest observed genus with percentage of %5 in the same area (Alsaket) and culture media (PDA), but at the concentration of 10^{-2} . instead of 10^{-3} . Some fungal genera, to some extent were highly observed in some

© 2024 LJEEST. All rights reserved. Peer review under responsibility of LJESTE

agricultural areas, while they were never observed in the same areas. The culture media PDA and CDA also had a key role to isolate the soil-borne fungi giving different percentages of the fungal isolates at the two tested dilutions 10^{-2} and 10⁻³ in the three studied areas Alsaket, Aldafnaya and Tomina.

المقدمة

تعد التربة وسطاً رئيساً للمواد الأولية المعدنية والعضوية، وهي أيضاً مكان أساسي لاستقرار النباتات ومدها بالغذاء والمياه اللازمة لنموها، إضافة إلى كونها موطناً للعديد من الكائنات الحية والأحياء الدقيقة وخاصة الفطريات التي تنتشر بغزارة في التربة، و تعرف التربة بالطبقة السطحية العلوية المتراكمة من الأرض التي تحتوي على العناصر الغذائية اللازمة لنمو النباتات وتشكل Behera and Mukerji, 1985; Azaz 2002;) الغلاف الزراعي للأرض and Pekel, Moubasher, 1995). تعتبر الفطريات كائنات حية حقيقية النواة غير ذاتية التغذية (عضوية التغذية) تختلف في شكلها وسلوكها وتركيب خلاياها عن كافة الكائنات الحية الأخرى، تمتلك مقومات خاصة تمكنها من القيام بمجموعة واسعة جدا من النشاطات التي تتداخل في كافة مفاصل حياة الإنسان، وتتميز بأنما تحضم طعامها خارجياً وتمتص الجزيئات المغذية إلى خلاياها بعد إتمام عملية الهضم وتتم عملية الهضم بإفراز إنزيمات خارجية(عبد الحميد، 2000).

الفطريات منها وحيدة الخلية ومنها متعددة الخلايا وهي من الكائنات التي لها دور اقتصادي هام(عبد الحميد، 2000؛ عمار، 2003)، ولكل منها الدور البيئي الخاص به وفوائده الكثيرة وخاصة الدور الذي يقوم به للمحافظة على خصوبة التربة وذلك عن طريق تحليل البقايا العضوية النباتية والحيوانية وتحويلها إلى مواد بسيطة يسهل امتصاصها من قبل النباتات، كما تقوم الفطريات بإفراز مواد كيميائية تختلف من نوع فطري لآخر مثل الأنزيمات، الأحماض العضوية والمضادات الحيوية وجميع هذه المواد تساعدها في تحليل البقايا ومنافسة الكائنات (Khalid et al., 2006). كما تلعب الفطريات دوراً سلبياً الدقيقة الأخرى وخطيراً، حيث تسبب الكثير من الأمراض النباتية التي تفتك بالمحاصيل الزراعية وتسبب خسائر جسيمة بالمنتوجات الزراعية التي يعتمد عليها الإنسان في غذائه اليومي (نخيلان، 2011)، كما تستطيع الفطريات تلويث مجموعة كبيرة من المنتجات الزراعية من خلال نواتجها الأيضية مثل إفرازها السموم الفطرية (Mycotoxins)، وهي مركبات كيميائية مسرطنه قد تسبب مشاكل

لقد كان هدف الإنسان منذ أن عرف الزراعة هو زيادة الإنتاج الزراعي لتلبية الطلب الملح على الغذاء، وفي السنوات الأخيرة التي تقدمت فيها العلوم المختلفة لم يغفل العلماء المختصون بعلم النبات عن هذا الجانب بل اهتموا به باستخدام الطرق الفنية والتقنية في الزراعة من حراثة وتسميد وإنتاج أصناف جديدة من المحاصيل الزراعية باستخدام الهندسة الوراثية لتكون اكثر مقاومة للعديد من الأمراض، وبالرغم من هذه الجهود المبذولة إلا أن الإنتاج الزراعي لا يزال منخفضاً ويعزى هذا الانخفاض إلى مهاجمة المحاصيل الزراعية بمسببات أمراض النبات والتي تعتبر الفطريات من أهمها وذلك لقدرتما السريعة على التكاثر والانتشار إلى مسافات بعيدة وبطرق مختلفة لتلحق ضرراً كبيراً أو تدميراً كاملاً للمحاصيل الزراعية في وقت قصير.

يستطيع عدد لا بأس به من فطريات التربة احداث الفساد للمبيدات التي تصل إلى التربة نتيجة لاستخدام الإنسان لهذه المبيدات لحماية النباتات من الأمراض هذا من ناحية، ومن ناحية أخرى يستخدم العديد من الأنواع الفطرية في التخلص من النفايات الصناعية والمنزلية والبلاستيكية، وفي المكافحة الحيوية بدلاً من المواد الكيميائية المستخدمة عادة كمبيدات، والتي

تسبب خللاً في التوازن البيئي وتتراكم في السلاسل الغذائية (Moubasher, 1995). بالمقابل فإن للفطريات آثاراً سلبية على الكائنات الحية فهي تسبب أمراضاً كثيرة للإنسان والحيوان مثل الأمراض الجلدية والجهازية التي تسببها بعض الأجناس مثل Aspergillus ، Evans, 1989) Fusarium , Candida)، كما أن لها دوراً مهماً في فساد المواد الغذائية والثمار والخضروات بعد قطافها، وتخريب الحبوب المخزنة، وتعد السبب الأساسي للعديد من الأمراض النباتية كما في أمراض الذبول والصدأ وتعفن البذور وتبقع الأوراق مسببة بذلك خسائر اقتصادية كبيرة (Botton et al., 1990)، ونظرا لقلة الدراسات التي تعني بعزل الفطريات القاطنة في الترب الزراعية في ليبيا بشكل عام وفي مدينة مصراتة بشكل خاص لتحديد هوية هذه الميكروبات ودورها في تحليل المادة العضوية وزيادة خصوبة التربة ومن تم زيادة انتاجية المحاصيل المزروعة بما والذي ينعكس بشكل ايجابي على الجانب الغذائي والاقتصادي في حياة الانسان فان هذا البحث يهدف الى:

- عزل الفطريات القاطنة في الترب الزراعية لثلاثة مناطق بمدينة (السكت، الدافنية و طمينة) على نوعين من الاوساط الزراعية الفطرية .(PDA, CDA)
- تعريف الفطريات المعزولة طبقا للمواصفات المورفولوجية للمستعمرات الفطرية تحت المجهر وباستخدام المراجع العلمية الحديثة.

اجريت العديد من الدراسات والتي هدفها عزل وتعريف الفطريات القاطنة في التربة فعلى سبيل المثال قام Berhanu واخرون (2022) بعزل فطريات Nematophagous من عينات التربة المأخوذة من ثلاث مناطق مختلفة البيئات في اثيوبيا وهبي ديبري-برهان (المرتفعات) ، بيشوفتو (على ارتفاع متوسط) ، وأواش (الأراضي المنخفضة)، حيث تم أخذ سبعة وعشرين عينة من التربة بشكل عشوائي من كل من المناخات الزراعية الإيكولوجية الثلاثة المختلفة (9 من كل منطقة مناخية زراعية-إيكولوجية). لكل موقع دراسة ،حيث تم جمع العينات من تربة براز/ روث الحيوانات المتحلل ، والأراضي الزراعية / الزراعية ، وأراضي الغابات في ثلاث نسخ، حيث كشفت الدراسة إلى أن الفطريات النيماتوفونية (Nematophagous) كانت منتشرة في منطقة الدراسة والتي تنتمي إلى أربعة أجناس وهي Arthrobotryes ، Monacrosporium ، Paecilomyces ، تم تحديد ستة انواع منها وهي Paecilomyces lilacinus , Arthrobotrys oligospora , Monacosporum eudemmatum , Arthrobotryes dactyloides . cionopogum Monacosporum , Harposporium helicoides

اجرى Ramesh واخرون (2021) تجربة لعزل وتحديد الانواع الفطرية في الحقول الزراعية في هوبلي تالوك ، كارناتاكا ،حيث جمعت عينات التربة من الحقول الزراعية لنبات Arachis ي ثلاثة مواقع Zea mays L , hirsutum L hypogaea L. Gossypium مختلفة من Hubli Taluk. كارناتاكا ، الهند. تم عزل الفطريات من عينات التربة في الفترة من مارس 2019 إلى مارس 2020. تم عزل ما مجموعه 27 نوعًا تنتمي إلى 19 جنسًا تشمل نوعين من الفطريات الاسكية (Ascomycetes)، وخمسة أنواع من الفطريات الزيجية (Zygomycetes) والأنواع المتبقية هي فطريات Mitosporic. لم يتم عزل أي من

الفطريات المحبة او المتحملة للظروف القاعدية من هذه التربة بينما تم عزل الميكوفلورا باستخدام طريقة تخفيف التربة على وسط أجار البطاطس دكستروز المضاف إليه المضاد الحيوي الستربتومايسين. كانت الأجناس السائدة في جميع الحقول الزراعية هي الرشاشيات والفيوزاريوم. من جهة اخرى تمكن Sharma واخرون (2023) من عزل وتحديد الكائنات الحية الفطرية الكيراتينية من عينات التربة المختلفة للأراضي الزراعية في مدينة كوتا بولاية راجاستان ، حيث تم تحليل العينات في المختبر باستخدام تقنية طعم الشعر المنتشر. تم الحصول على 7 أجناس و 10 ، Aspergillus niger إلى عشرين عينة تربة تنتمي إلى Microsporum , Trichophyton rubrum , Aspergillus flavus , Rhizopus arrhizus , Microsporum canis , gypseum Fusarium , Chrysosporium tropicum , Pencillium citrinium Aspergillus flavus وجد أن Aspergillus flavus هو الفطر الأكثر انتشارًا في درجة القلوية الزائدة وبيئة الملوحة ، وجاء فطر Trichophyton rubrum في المرتبة الثانية من حيث السيادة. خلصت هذه الدراسة إلى أن التربة الزراعية التي تتكون من مادة الكيراتين كانت غنية جدًا بمجموعة الفطريات الكيراتينية والفطريات الجلدية.

في دراسة اخرى قام Begum واخرون (2023) بعزل وتحديد الانواع الفطرية في الحقول الزراعية في منطقة أورانجاباد ، ماهاراشترا ، بالهند حيث تلعب فطريات التربة دورًا مهمًا في بيئة التربة. تم جمع عينات التربة من الحقول الزراعية في منطقة أورانجاباد خلال موسم خريف (يوليو 2022 إلى أكتوبر 2022) حتى موسم ربيع (نوفمبر 2022 إلى فبراير 2023) على فترتين. عينة التربة كانت من قصب السكر (Saccharum officinarum) ، والذرة (، والقطن ، (Cicer arietinum) ، والقطن (HerbaceumGossypium) ، وجوز الأرض (Arachis hypogaea). تم عزل الميكوفلورا باستخدام طريقة تخفيف التربة وتقنية صفيحة التربة على وسط آجار دكستروز البطاطس مدعم بمضادات حيوية مناسبة مثل الستربتومايسين. تم عزل 11 نوعاً تنتمي إلى 5 أجناس من الفطريات شملت الفطريات الناقصة (Deuteromycotina) والزيجية (Zygomycotina) والاسكية (Ascomycotina). لم يتم العثور على أي نوع من الفطريات البازيدية (Basidiomycotina) في التربة، وكانت الأجناس السائدة في جميع المواقع الزراعية هي الرشاشيات والبنسيليوم والفيوزاريوم. ومن الأجناس الأكثر شيوعًا هي pleomorphism ., Aspergillus flavus , Aspergillus niger .Fusarium oxysporum , .. Pencillium

المواد والطرق:

تم تحضير واستخدام نوعين من الأوساط الغذائية الفطرية لعزل ميكروبات التربة وهما: الوسط الغذائي البطاطس دكستروز اجار Potato Dextrose Agar (PDA): تم تحضير الوسط الغذائي حسب التعليمات الواردة من الشركة المصنعة (Oxoid, UK) وتعقيمه عند درجة حرارة 121م ولمدة 15 دقيقة، ومن تم استخدامه لاحقا في عزل الفطريات من التربة. (Begum et 2023 ;Kumar et al., 2015). al..

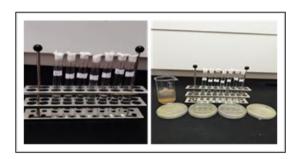
وسط تشابكس دوكس اجار CDA) Czape Dox Agar): تم تحضير وسط تشابك دوكس أجار (CDA) المصنع من قبل شركة(FMCG)، حسب التعليمات الواردة من الشركة المصنعة وتعقيمه عند درجة حرارة 121م ولمدة 15 دقيقة، ومن تم استخدامه

لاحقا في عزل الفطريات من التربة (البوبي، 1993).

جمع العينات Sample Collection : تم جمع العينات في الفترة ما بين (فبراير/2023 إلى مارس/2023) ، من ثلاثة مناطق زراعية مختلفة بطريقة عشوائية داخل مدينة مصراته شملت مناطق (السكت، الدافنية، و طمينة) حيث كان وزن كل عينة 30جم (بواقع ثلاثة مكررات لكل منطقة)، وضعت العينات في عبوات بالاستيكية نظيفة معقمة ونقلت للمختبر لإجراء الاختبارات الميكروبيولجية .

طريقة سلسلة التخفيفات (التخفيف التسلسلي Serial Dilution Method):

تم خلط ودمج المكررات الثلاثة (30 جم تربة×3) لكل منطقة على حدى بعد غربلتها وتنظيفها من الحصى وبقايا الحشائش والاعشاب للحصول على عينة نظيفة وممثلة. تم اخد 10جم من كل عينة لكل منطقة على حدى ووضعت في دورق زجاجي نظيف ومعقم ثم اضيف لها 90 مل ماء مقطر معقم، مزجت العينة يدويا وبشكل جيد وتقليبها حتى تذويبها بشكل كامل على سخان مغناطيسي (Magnetic Stirrer Heater) ثم تركت لتستقر 10 دقائق للحصول على عينة المخزون الاولىي " Sample Stock " ، تم سحب 10 مل منها ووضعت في دورق زجاجي 250مل نظيف ومعقم يحتوي على 90مل ماء مقطر معقم، مزجت جيدا وتركت لتستقر وكان هذا التخفيف الأول 1:10 (1-10)، رجت العينة تم سحب 10مل من التخفيف الاول وضعت في دورق زجاجي 250مل نظيف ومعقم يحتوي على 90مل ماء مقطر معقم مزجت جيدا وتركت لتستقر وكان هذا التخفيف الثاني 1:100 (2-10)، تم سحب 10مل من التخفيف الثاني بعد رج الدورق ووضعت في دورق زجاجي اخر 250مل نظيف ومعقم يحتوي على 90مل ماء مقطر معقم، مزجت جيدا وتركت لتستقر وكان هذا التخفيف الثالث 1:1000 (3-10)، واستمرت هذه التخفيفات حتى الوصول إلى التخفيف 1:100000 (10-5) لكل عينة (الشكل 1)، اخيرا تم سحب 1 مل من كلا من التخفيفين الاوسطين (10-2 و 10-3) كلا على حدى ووزعت على الأطباق المحتوية على الاوساط الغذائية المعقمة PDA و CDA بواقع ثلاثة مكررات لكل Ramesh *et al.*, 2021; Begum *et al.*, Kumar *et al.*, 2015) تخفيف (2023;

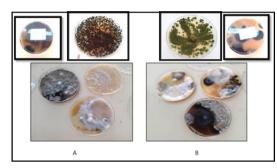


(Serial شكل رقم (1): مخطط عام يوضح طريقة التخفيف التسلسلي .Dilution Method)

تركت الاطباق لمدة 10 دقائق في كابينة العزل حتى تتشرب، وضعت جميع الأطباق مقلوبة في الحضانة عند درجة حرارة 28 درجة مئوية لمدة من 5-7 ايام ومراقبة النمو الفطري خلال هذه المدة حتى تم الحصول على نمو كاف ومختلط للفطريات (Mixed Fungi) ، تم اجراء التنقية والفحص الميكروسكوبي للفطريات المعزولة. اخيرا حفظت جميع التخفيفات في الثلاجة عند درجة الحرارة 4 م للرجوع اليها حين الحاجة. تم اجراء نفس هذه الطريقة Serial)

(Silution Method)على جميع العينات لكل تربة زراعية مدروسة (3 ترب) في هذا

الفطريات المعزولة: Isolated Fungi : بعد اجراء سلسلة التخفيفات وتحضين الأطباق عند درجة حرارة 28° لمدة 5-7 أيام في المرحلة السابقة، تم الحصول على مستعمرات فطرية مختلطة ومتداخلة مع بعضها في النمو (الشكل 2)، جمعت جميع الاطباق بعد اكتمال النمو لغرض الفحص الميكروسكوبي للتعرف على الفطريات القاطنة في كل تربة زراعية مدروسة (طمينة ، السكت ،الدافنية) كلاً على حدى، لذا اصبح من الضروري تنقية الأطباق للحصول على مستعمرات فطرية نقية لسهولة التعريف والدراسة .

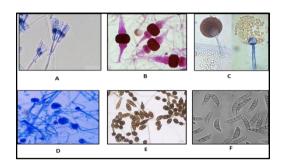


 (\mathbf{CDA}) بعض الفطريات المعزولة على الوسط الغذائي (\mathbf{A}) . (\mathbf{A}) بعض الفطريات المعزولة على الوسط الغذائي. (PDA).

: Purification of Isolated Fungi: تنقية الفطريات المعزولة الحصول على المزارع المختلفة والمتداخلة للفطريات المعزولة كما ذكر سابقا، تم تنقيتها وذلك بعزل الفطريات على أطباق أخرى (Sub-Culture) جديدة ومعقمة طبقاً للشكل المورفولوجي لهذه المستعمرات، لونها، خصائصها و صفاتها المظهرية الأخرى وذلك بأخذ مستعمرة فطرية لكل نوع فطري بواسطة أبرة تلقيح (Loop) معقمة ونقلها إلى أطباق أخرى جديدة تحتوى على الأوساط الغذائية الفطرية المعقمة (PDA) و (CDA) المستخدمة في هذه الدراسة كلاً على حدى وبواقع ثلاثة مكررات (3 أطباق) لكل نوع فطري ، اخيرا تم تحضين جميع هذه الاطباق عند درجة حرارة 28مْ لمدة 5-7 أيام. تم اجراء عملية التنقية (Purification) اكثر من مرة حتى الحصول على مستعمرات نقية لكل نوع فطرى لإجراء الفحص الميكروسكوبي والتعريف.

الفحص الميكروسكوبي Microscopic Magnification :

بعد الحصول على المستعمرات النقية للفطريات المعزولة من الخطوة السابقة، ثم تعريفها و ذلك بفحصها تحت المجهر الضوئي المركب للتعرف على خصائصها الفسيولوجية من حيث شكل الخيوط الفطرية (مقسمة او غير مقسمة) وتفرعاتما المختلفة كأشباه الجذور والممصات وغيرها، شكل الجراثيم اللاجنسية (الحوافظ الجرثومية، الجراثيم الكلاميدية، الكونيدات) وفي بعض الاحيان الجراثيم الجنسية (كالجراثيم الزيجية) وغيرها لبعض الفطريات القادرة على التكاثر الجنسي، حيث تم استخدام الفحص بطريقة الشريط اللاصق الشفاف بطول 2 سم وذلك بملامسة وضغط الجهة اللاصقة للشريط مع سطح المستعمرة الفطرية النامية على الوسط الصلب وتحت ظروف معقمة ثم رفع ولصق الشريط على شريحة زجاجية نظيفة فحصت الشريحة تحت المجهر الضوئي المركب لملاحظة الخصائص المختلفة للمستعمرات الفطرية. تم الاستعانة بالمراجع العلمية المتخصصة في (Pitt and Hocking, 1985; Botton et al., 1990; التعريف Champion, 1997).



شكل رقم (3): بعض الجراثيم للفطريات المعزولة .(A): الحوامل والجراثيم الكونيدية للبنسيليوم .(B) الخلايا المعلقة والزيجوت(اللاقحة) للرايزوبس الحوامل والجراثيم الحافظية للرايزوبس (\mathbf{D}) الحوامل والرؤوس الكونيدية (\mathbf{C}) للاسبرجلس (E) كونيدات الالترناريا (F) كونيدات الفيوزاريوم.

حساب النسبة المئوية لظهور الفطريات Calculation of the Observed :Fungal Percentage: تم حساب النسبة المئوية لظهور الفطريات حسب المعادلة التي اوضحها العامري واخرون (2018) كالتالي:

طريقة الحفظ باستخدام أنابيب الآجار المائل Preservation by Slant Agar: استخدمت هذه الطريقة الإدامة المزارع الفطرية (Maintaining Stock Cultures) المدروسة، وذلك بتلقيح جزء من المستعمرة الفطرية النقية (Cultures Culture) لكل نوع فطري في انابيب ماثلة تحتوي على الوسط الغذائي المعقم (PDA) وتحضينها عند درجة الحرارة المناسبة 28مْ لمدة من 5-7 ايام وبعد اكتمال النمو حفظت جميع الانابيب المائلة عند درجة حرارة 4مْ لحين الاستخدام.

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية التي أجريت على التربة الزراعية لثلاث مناطق في مدينة مصراته والمشار اليها مسبقا (السكت ، طمينة ، الدافنية) وجود خمسة اجناس فطرية مختلفة وبنسب متفاوتة، والاجناس التي تم عزلها تمثلت في: Aspergillus ، Alternaria ، Fusarium ، Penicillium و Phizopus ، تم تعريف ثلاث أجناس على مستوى النوع وهي : Aspergillus , Rhizopus stolonifer , Alternaria alternata miger بإستخدام المجهر الضوئي المركب و المراجع علمية المذكورة سابقاً .

الفطريات المعزولة من منطقة طمينة على وسط CDA:

أظهرت النتائج ان العزلات الفطرية المتحصل عليها من التربة الزراعية في منطقة طمينة على الوسط الغذائي ${\rm CDA}$ على التخفيفين ($^{2-10}$ و $^{3-10}$) احتوت على عدة أجناس فطرية، وكان فطر Aspergillus niger الأكثر تواجدا وظهوراً وبنسبة 60% عند التخفيف10-2، بينما كان الفطر Alternaria alternata الأعلى توجداً وبنسبة 66.67% عند التخفيف10-3، كما تشير النتائج الى عدم تواجد الفطرين Aspergillus niger و . Penicillium sp اطلاقاً (00%) على وسط CDA عند التخفيف10-3، في حين

تواجد الاخير بنسبة 40% عند التركيز 3 10 اما بالنسبة لفط 3 10 فلم يظهر أي مستعمرات على هذا الوسط عند التركيز 2 10 وظهر بنسبة 33.33% عند التركيز 3 10 كما هو مبين بالجدول (1) الموضح أدناه .

جدول رقم (1). الفطريات المعزولة من منطقة طمينة على وسط ${
m CDA}$ للتخفيفين 2 -10 و 2 -10

نسبة الظهور %		t titl mat ti
^{3–} 10	² -10	العزلات الفطرية
%00	%60.00	Aspergillus niger
%00	%40.00	Penicillium sp.
%66.67	%00	Alternaria alternata
% 33.33	%00	Fusarium sp.

الفطريات المعزولة من منطقة طمينة على وسط PDA:

اوضحت نتائج هذه الدراسة ان المستعمرات الفطرية المعزولة من التربة الزراعية لمنطقة طمينة على الوسط الغذائي PDA عند التخفيفين $^{2-}$ 10 و $^{3-}$ 10 احتوت على عدة أجناس فطرية متنوعة وكان فطر . Penicillium sp الأكثر تواجدا وبنسبة 3 00 عند التخفيف $^{2-}$ 10 ولم يعطي أي نمو عند التخفيف $^{3-}$ 10 ولم يعطي أي نمو خاند التخفيف $^{3-}$ 10 الأعلى توجداً وبنسبة 3 46.61 وعلى العكس من ذلك فكان الفطر 3 10 التخفيف 3 10 التخفيف 3 10 التخفيف 3 10 التخفيف 3 10 مناسبة المناسبة وظهر بنسبة المناسبة المناسبة للفطر 3 10 وظهرا بنسبة 3 10 وظهرا بنسبة 3 10 عند التخفيف 3 20 عند التخفيف منهما (3 40) عند 3 34.01 منهما (3 40) عند التخفيف 3 20 يند التخفيف 3 34.01 عند 3 34.01 منهما (3 40) عند التخفيف 3 20 يند التخفيف 3 35 يند التخفيف 3 36 يند التخفيف 3 47 يعطون أوبد التخفيف 3 48 يند التخفيف 3 49 يند التخفيف 3 40 يند التخفيف ويند الت

جدول رقم (2). الفطريات المعزولة من منطقة طمينة على وسط PDA للتخفيفين $^{2}-10$

لهور%	نسبة الض	s tate estate
^{3–} 10	2-10	العزلات الفطرية
%46.61	%00	Aspergillus niger
%00	%60.00	Penicillium sp.
%19.37	% 00	Rhizopus stolonifer
%00	%40.00	Alternaria alternata
% 34.01	%00	Fusarium sp.

الفطريات المعزولة من منطقة السكت على وسط CDA:

يقضح من الجدول (3) بالأسفل ان التربة الزراعية لمنطقة السكت تحتوي على مجموعة متنوعة من الفطريات التي تم عزلها على الوسط الغذائي CDA عند التخفيفين $^{2-}10$ و $^{2-}10$ عند التخفيفين $^{2-}10$ عند الفطر $^{2-}10$ عند الفطر $^{2-}10$ عند التخفيفين $^{2-}10$ الأكثر تواجدا وبنسبة ظهور تراوحت ما بين مع التنافج السابقة للتواجد الكبير لهذا الفطر في تربة منطقة طمينة مع اختلاف التركيز ، جاء فطر $^{2-}10$ على التوالي وهذا يتطابق المنافية حيث اعطى نمواً وبنسبة $^{2-}10$ و $^{2-}10$ على هذا الوسط عند التخفيفين $^{2-}10$ و $^{2-}10$ على التوالي، اما بالنسبة للفطرين على هذا الوسط عند التخفيفين $^{2-}10$

يعطيا أي Alternaria alternata و Fusarium sp. و Alternaria فكانا محتلفين حيث لم يعطيا أي مستعمرات (00%) عند التخفيف 2 0 و 3 10 على التوالي في حين اعطى الأول نمواً بنسبة 10.05% عند التخفيف 3 10 والثاني ظهر بنسبة 22.30% عند التخفيف 2

جدول رقم (3).الفطريات المعزولة من منطقة السكت على وسط 2 0 للتخفيفين 2 10 هـ 2 10 م

نسبة الظهور %		s teste mote to
^{3–} 10	² -10	العزلات الفطرية
%52.38	%44.4	Aspergillus niger
%28.57	%33.3	Penicillium sp.
%19.05	%00	Alternaria alternata
% 00	%22.30	Fusarium sp.

الفطريات المعزولة من منطقة السكت على وسط PDA:

من التتاثيج المتحصل عليها في هذه الدراسة والمبينة بالجدول 4، يتضح بان تربة منطقة السكت ايضاً احتوت على مجموعات فطرية متنوعة اثناء زراعتها على وسط PDA بطريقة التخفيف $^{2-1}$ 0 المتسلسل، حيث بينت النتائج ان العزلات الفطرية ظهرت بنسب مختلفة على التخفيفين $^{3-1}$ 0 و $^{3-10}$ 0 واحتل الفطر . Penicillium sp. المرتبة الاولى من حيث التواجد والظهور معطياً نسبة 68.1% عند التخفيف $^{2-10}$ 0 ونسبة $^{3-10}$ 0 ونسبة $^{3-10}$ 0 عند التخفيف $^{3-10}$ 0 وينسبة $^{3-10}$ 0 عند التخفيف $^{3-10}$ 1 بينما لم يظهر الفطر نمائياً عند التخفيف $^{3-10}$ 1 مع ما تم الحصول عليه سابقاً اذ لم ينمو هذا الفطر مطلقاً ($^{3-10}$ 0) على وسط $^{3-10}$ 2 عند التخفيفين المدروسين . اما بالنسبة فطر $^{3-10}$ 3 عند التخفيف $^{3-10}$ 4 واخيراً وأعطى نسب متقاربة للنمو على هذا الوسط حيث كان بنسبة $^{3-10}$ 3 واخيراً $^{3-10}$ 4 عند التخفيفين $^{3-10}$ 4 واحد على التوالى.

جدول رقم (4).الفطريات المعزولة من منطقة السكت على وسط ${
m PDA}$ للتخفيفين 2 -10 و 2 -10.

ظهور %	نسبة ال	العزلات الفطرية
^{3–} 10	² -10	
%00	%40.7	Aspergillus niger
%35.00	%14.8	<i>Penicillium</i> sp.
%65.00	%00	Rhizopus stolonifer
%00	%44.5	Alternaria alternata
%00	%00	Fusarium sp.

الفطريات المعزولة من منطقة الدافنية على وسط CDA:

بين الجدول (5) ان التربة الزراعية لمنطقة الدافنية كانت فقيرة في اعداد الميكروبات الفطرية مقارنة مع تربتي طمينة والسكت على الوسط CDA عند التخفيفين $^{2-10}$ و 3 ، باستثناء فطر. Fusarium sp الذي اعطى نسبة ظهور عالية بعض الشيء والتي تساوي66.7% عند التخفيف 3 . اما فيما يتعلق بالفطرين 3 10 فلم يظهرا اي نمو Phizopus stoloniter ، Aspergillus niger فام يظهرا اي نمو وكانت النسبة صفرية (3 00) عند التخفيفين المدروسين، وكذلك لم يلاحظ أي مستعمرات

نامية على الاطلاق للفطر . Penicillium sp عند التخفيف³⁻10 حيث كانت نسبة الظهور 00% ، فيما اعطى هذا الجنس نسبة ظهور قليلة تقدر فقط بحوالي 13% عند التخفيف 2-10، يأتي فطر Alternaria alternata في المرتبة الاخيرة حيث اعطى نسبة ظهور تساوى 50% و 33.3% عند التخفيفين 10⁻² و 10⁻³ على التوالى.

جدول رقم (5). الفطريات المعزولة من منطقة الدافنية على وسط CDA للتخفيفين .3-10 , 2-10

نسبة الظهور%		s testi mediciti
^{3–} 10	² -10	العزلات الفطرية
%00	%00	Aspergillus niger
%00	%12.5	<i>Penicillium</i> sp.
%00	%00	Rhizopus stolonifer
%33.3	%50.00	Alternaria alternata
% 66.7	%37.5	Fusarium sp.

الفطريات المعزولة من منطقة الدافنية على وسط PDA:

الجدول (6) ادناه اعطى نتائج متفاوتة لتواجد الفطريات على الوسط الغذائي PDA على التخفيفين 10-2 و 3-10 حيث كان الفطر Rhizopus stolonifer في الترتيب 3 الاول بنسبة ظهور عالية الى حد ما تساوي 65% عند التخفيف 3 ينمو بشكل نحائي (00%) عند التخفيف 2-10، بينما تشابحا الفطرين Alternaria alternata و Aspergillus niger في ظهورهما الى حد كبير عند التخفيف 2-10 وبنسبة 44.5% و 40.7% على التوالي في حين لم يظهرا أي مستعمرات نامية (00%) عند التخفيف 3-10. فطر . Penicillium sp هو الاخر اعطى ظهور غير كبير على هذا الوسط وبنسبة قدرت (35% ، 14.8%) عند التخفيفين 10⁻³ و ²⁻10 على التوالي. على الخلاف مع وسط CDA اعلاه فان فطر.Fusarium sp لم يظهر بشكل نمائى (00%) على وسط PDA عند التخفيفين 2 و $^{-10}$ و المدروسين.

جدول رقم (6). الفطريات المعزولة من منطقة الدافنية على وسط PDA للتخفيفين .3-10 , 2-10

نسبة الظهور %		العزلات الفطرية
^{3–} 10	² -10	العود ت القطوية
%00	%00	Aspergillus niger
%68.1	%10.00	Penicillium sp.
%00	%50.00	Rhizopus stolonifer
%00	%5.00	Alternaria alternata
%31.9	%35.00	Fusarium sp.

أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود اجناس فطرية مختلفة شملت Fusarium، Penicillium, Rhizopus ، Aspergillus ،Alternaria في التربة الزراعية لثلاث مناطق في مدينة مصراته وهي السكت ، طمينة و الدافنية وكانت هذه الاجناس بدرجات متفاوتة حسب ما تم استعراضه في النتائج الحالية وان هذه الاجناس تنوعت ما بين الفطريات الاسكية والزيجية وهذه النتائج منطقية جدا على اعتبار ان هذه الفطريات تستطيع المعيشة كرميات في التربة من ناحية اي لها المقدرة على تحليل المادة العضوية المعقدة وتحويلها الي مواد بسيطة يسهل امتصاصها والاستفادة منها بفعل هذه الميكروبات وكذلك زيادة خصوبة

التربة مما ينعكس ايجابياً على انتاجية النباتات المزروعة فيها وهذا بدوره يعمل على وفرة المحاصيل بالأسواق وتحسين الحالة الاقتصادية، ومن ناحية اخرى تعتبر الثلاثة ترب المدروسة في هذا البحث من اهم المناطق الزراعية بمدينة مصراتة والتي تزرع بما المحاصيل والخضروات بشكل كبير لذا فقد تتعرض للإصابة بالأمراض الفطرية في أي من مراحل النمو او اثناء او بعد الحصاد بفعل بعض من الفطريات المعزولة كالفيوزاريوم او الالترناريا او الرايزوبس والتي قد تعيش كطفيليات في بعض الاحيان. نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع عدة دراسات سابقة من بينها الدراسة التي اجراها Sharma واخرون (2023) والتي عزل فيها 7 أجناس و 10 أنواع من الفطريات المختلفة من عشرين عينة تربة في راجاستان شملت كلا من Aspergillus niger Microsporum , Trichophyton rubrum , Aspergillus flavus Rhizopus arrhizus Microsporum canis gypseum Fusarium , Chrysosporium tropicum , Pencillium citrinium Aspergatus ، solusum . كذلك تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسة التي قام بما Begum واخرون (2023) بالهند في سنتي 2022 و 2023 على عينة تربة مزروعة بقصب السكر، الذرة، الحمص، والقطن وغيرها، حيث تم عزل 11 نوعاً تنتمي إلى 5 أجناس من الفطريات شملت كلاً من الفطريات الناقصة (Deuteromycotina) والزيجية (Zygomycotina) والاسكية (Ascomycotina) ومن الأجناس الأكثر شيوعًا pleomorphism , Aspergillus flavus , Aspergillus niger کانت Pencillium . و Fusarium oxysporum . ايضاً تتفق مع دراسة واخرون (2015) الذي قام بعزل وتحديد فطريات التربة في الحقول الزراعية في تكالى ماندال في سريكاكولا في سنة 2014 حيث استطاع عزل 168 مستعمرة تنتمي إلى 18 نوعاً تابعة إلى 6 أجناس من الفطريات مختلفة على وسط PDA ، من بين العزلات التي تم الحصول A. ،A. nidulans ،A. fumigatus ، Aspergillus flavus : عليها الأتى P. frequentens Penicillium chrysogenum A. terreus iniger واخيرا نتائج الدراسة الحالية تتفق بدرجة كبيرة مع نتائج الى تحصل عليها يازجي وآخرون ،(2011) لدراسة التنوع الفطري لتربة زراعية في بعض المناطق الزراعية السورية في الفترة الممتدة 2008-2008، واستطاعوا تحديد 100 نوع فطرى، تابعة إلى مجموعة الفطريات الأسكية و الناقصة، وكان أكثر الأجناس تنوعاً وشيوعا جنس Aspergillus بواقع 10 أنواع يليه جنس Penicillium بواقع 7 أنواع و Pythium بواقع 6 أنواع وارتبط توزيع وانتشار الفطريات بالشروط البيئية المدروسة وفصول السنة.

يعلل انتشار فطر Fusarium بكثرة في الأراضي الزراعية بسبب تمكنه من احداث امراض للنباتات النامية في التربة، مثل العدوى الفطرية في الجذور والسيقان والأوراق، مما يؤثر سلباً على إنتاجية المحاصيل الزراعية في المناطق الرطبة كما يتميز الفطر بقدرته على إفراز مركبات وسموم فطرية (Mycotoxins)، والتي يمكن أن تكون سامة للنباتات، الحيوان وقد تصل للإنسان عبر سلسلة الغذاء، على الرغم من ذلك، فإن بعض الأنواع الزراعية والخضروات يمكن أن تقاوم هذا الفطر Ramesh واخرون (2021). كما ان وجود فطر Alternaria يمكن أن يؤدي إلى العديد من المشاكل الزراعية الضارة، يتواجد الفطر في التربة من خلال النباتات المصابة والمخلفات النباتية المتحللة والتي تعتبر مصدراً مهما للعدوى الفطرية، وتشير بعض الدراسات إلى أن فطر Alternaria يسبب إضعاف النباتات ونموها، حيث يؤثر على نمو النبات في التربة بإضعاف النظام الجذري له الذي بدوره يؤثر على الانتاجية الزراعية، كما أظهرت دراسة نشرت في مجلة العلوم الزراعية والغذائية (Journal of Agricultural and Food Chemistry) بأن فطر Alternaria نوعا ما يمكن أن يسبب تحفيز عملية التآكل الحيوي لبعض أنواع التربة مما قد يؤدي إلى تدهور الخصوبة علاوة على ذلك، قد يسبب فطر Alternaria قلة في الغلة وصغر حجم الثمار بسبب تدني نمو النبات أو تآكل جذوره. يجب الأخذ في الاعتبار أيضاً أن فطر Alternaria قد يسبب أمراض في المحاصيل الهامة مثل

الطماطم و القرع يازجي وآخرون ،(2011). اما بالنسبة لوجود فطر Aspergillus في الأراضي الزراعية فيمكن أن يسبب ضررًا على التربة الزراعية بسبب قدرته على الإفراط في تحطيم المادة العضوية وإفراز عوامل التحلل الحيوي، من خلال العديد من الدراسات العلمية التي أجريت في هذا المجال وجد أن فطر Aspergillus يعتبر واحدًا من أهم الممثلين للفطريات البيئية في التربة، حيث يمكنه العيش حتى في ظروف قلة الأكسجين، كما تم العثور على فطر Aspergillus في المزارع والحدائق حيث يصيب الدرنات، البذور، الأوراق والجذور ومن الأضرار التي يمكن أن يسببها فطر Aspergillus في التربة الزراعية هي الإفراط في الحرارة حيث تكون الآثار على التربة الزراعية من امتصاصه للماء والمادة العضوية وخلق بيئة منخفضة Kumar et الجودة وغير لائقة للنباتات

(Ramesh et al., 2021; Begum et al., 2023; al., 2015) فىما يتعلق بفطر Rhizopus فيمكنه ان يسبب ضررًا على التربة الزراعية بسبب قدرته على إفراز الإنزعات المحللة والتي تسبب تحطم المادة العضوية وخفض نسبة المواد الغذائية في التربة وبحسب العديد من الدراسات العلمية فإن فطر Rhizopus يتواجد بشكل عام في التربة وأحيانًا قد يكون بكثافة عالية، وقد تم العثور على فطر Rhizopus في التربة المحاطة بنباتات الفاصوليا والحبوب وتشير الدراسات العلمية إلى أن فطر Rhizopus يمكن أن يسبب ضررًا على التربة الزراعية بخفض نسبة النيتروجين فيها نتيجة تفكك وتحلل المواد العضوية في التربة. كما يمكن أن يؤدي فطر Rhizopus إلى تكوين طبقة زلالية على سطح التربة، الأمر الذي يمكن أن يؤدي إلى تشكيل قنوات تسربية للماء المحيط بها وتشير الدراسات أيضًا إلى أن فطر Rhizopus يمكن أن ينتج مجموعة متنوعة من المواد السامة والتي يمكن أن تؤدي إلى ضرر على النباتات المزروعة، وقد أوضح العديد من الباحثين أن فطر Rhizopus يمكن أن يؤدي إلى تحطم الحبيبات وتقليل فاعلية النمو النباتي وإنتاج الفاكهة Sharma واخرون (2023). يعتبر جنس Penicillium من الاعفان التي تنتشر على نطاق واسع في التربة، كما انه يمكن ان يحدث امراض نباتية خطيرة من اهمها العفن الاخضر والازرق للحمضيات، ويعتبر من أكثر الفطريات شيوعًا في المناطق الرطبة والتربة العضوية ولحسن الحظ فإن Penicillium غير ضار للتربة الزراعية وقد يكون حتى مفيداً حيث يفيد في تحلل وتحطيم العناصر الغذائية المختلفة في التربة، مما يساعد في إصلاح الصفائح الطينية ورفع قدرة التربة الزراعية على الاحتفاظ بالماء (Begum et al., 2023; Kumar et al., 2015).

الخلاصة

اوضحت النتائج المتحصل عليها في الدراسة الحالية وجود العديد من الاجناس الفطرية والتي قثلت في الاتي Rhizopus ، Aspergillus ،Alternaria ،Fusarium , Penicillium في تربة ثلاثة مناطق زراعية بمدينة مصراتة وهي (السكت ، طمينة ، الدافنية) وذلك باستخدام نوعين من الاوساط الفطرية الزراعية وهي PDA و CDA وباستخدام طريقة التخفيف التسلسلي عند التركيزين 10⁻² و ³⁻10 . الفطريات المتحصل عليها ظهرت بنسب متفاوتة عند هذين التركيزين بالاعتماد على نوع التربة المدروسة والوسط الزراعي المستخدم في العزل.

التوصيات Recommendations: من خلال النتائج المتحصل عليها من الدراسة الحالية فانه يوصى بالاتى:

اجراء المزيد من الدراسات العلمية باستخدام أوساط زراعية متنوعة و عوامل نمو مختلفة من حرارة، رطوبة و pH للحصول على المزيد من الفطريات القاطنة في

عزل وتعريف ميكروبات التربة من مناطق أخرى زراعية هامة بمدينة مصراتة مثل زريق، الكراريم ، عبدالرؤوف وغيرها للتعرف على الدور التي تلعبه هذه الميكروبات في التربة .

الشكر وتقدير

الشكر موصول لكل من ساهم في إنجاز هذا البحث، والله الموفق.

البوني, عبد العزيز محمد. 1993. أساسيات الفطريات العملي قسم النبات - كلية العلوم -جامعة طرابلس.

العامري، هديل احمد، داوود زهير عز الدين و مال فاتن نوري. 2018. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لشتلات اصناف الشليك و مقاومتها احيائيا وكيميائيا ، مجلة علوم الرافدين، العراق، المجلد 27 ،العدد 1 ،ص 82-94.

عبد الحميد، محمد عبد الحميد. 2000. الفطريات والسموم الفطرية، دار الجامعات للنشر - الطبعة الأولى مصر.

عمار، محمد محمد. 2003. الفطريات وعلاقتها بالبيئة والإنسان، الجزء الثاني، الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الأولى، القاهرة.

نخيلان، عبد العزيز مجيد. 2011. السموم الفطرية، دار دجلة للنشر والتوزيع، الطبعة الأولى. يازجي ، ميساء ؛ العوض ، دانيال. 2011. دراسة التنوع الفطري لتربة زراعية وتربة غابة صنوبرية في بعض مناطق الساحل السوري وتأثير بعض العوامل البيئية في انتشارها. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية ، سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (33) العدد (2).

Abdulakader, A. A., Abdula, A. M., Afrah and Jansen A. H2004. Microbiology in food products available in Qater. Journal of food control 15.P543-558.

Azaz, A.D; Pekel, O. 2002. Comparison of Soil Fungi Flora In Burnt And Unburnt Forest Soils In The Vicinity Of Kargicak. Turk J Bot, vol (26), 409-416.

Begum, I., Kauser, F, k., Habeeb, S, F, S., 2023. Isolation and Identification of Soil Mycoflora in Agricultural Fields of Aurangabad Maharashtra, India. International Journal of Advanced Research in Science. Communication Technology. 358-367. 10.48175/IJARSCT-9586.

Behera, N; Mukerji, K. G. 1985. Seasonal Variation And Distribution Of Microfungi In Forest Soils Of Delhi. Folia geobotanica et phyto taxonomica, vol (200), 291-311.

Berhanu M, Waktole H, Mamo G, Terefe G. 2022.

- Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry 4, no. 2: 484-490.
- Moubasher, A. H. 1995. Soil Fungi Are An Active Partner Of Our Ecosystem Their Biodiversity And Activities Should Be Appreciated. Qatar Univ. Sci. J. Vol 15(1), 239-247.
- Pitt J. I. and Hocking A. D. 1985. Fungi and Food spoilage. Academic press Inc. Sydney. Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Tokyo. Pp. 414.
- Ramesh, ch ; Baradwad ,M. 2021 . Isolation and Identification of Soil Mycoflora in Agricultural Fields Hubli Taluk. Karnataka, India. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci 10(08): 697-712.
- Sharma, Pallavi & Gupta, Shweta & Chauhan, Dr & Soni, Aadisha. 2023. Isolation and Identification of Keratinophilic fungal biota from different soil samples of Agricultural lands of Kota city of Rajasthan, India. 12./77.

- Isolation of Nematophagous fungi from soil samples collected from three different agro-ecologies of Ethiopia. BMC Microbiol. Jun 17;22(1):159. doi: 10.1186.
- Botton, B; Breton, A; Fevre, M; Gauthier, S; Guy, Ph larpent, J.P: Reymond, P; Saglier, J.J; Vayssier, Y. Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle, second ed, Masson, Paris.
- Champion, R. 1997. Identifier Les champignons transmis par Les semences. INRA edition. P. 401.
- Evans, E. G. V. 1989. Medical Mycology A Practical Approach, first ed, Oxford University Press, Oxford New York Tokyo, 1-300.
- Khalid, M; Yang, W., Kishwar, N., Rajput, Z. Arijo, A. 2006. Study of Cellulolytic Soil Fungi and two Nova Species and New Medium. Journal of zheiiang university science B, vol 7 (6), 459-466.
- Kumar, PK Ratna, G. Hemanth, P. Shiny Niharika, and S. K. K. 2015. Isolation and identification of soil mycoflora in agricultural fields at Tekkali Mandal in Srikakulam District." International Journal of