مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (1) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (1) 2014

دراسة التأثيرات الجانبية لبعض المبيدات غير الفطرية على الفطر *Trichoderma harzianum* (Rifai.)

عفراء مطيع حيدر*

(تاريخ الإيداع 25 / 10 / 2013. قبل للنشر في 29 / 1 / 2014)

□ ملخّص □

نفذ هذا البحث مخبرياً خلال الفترة الممتدة من أيلول عام 2012 حتى آذار عام 2013 لاختبار تأثير المبيدات الحشرية والأكاروسية (carbofuran, propargite, abamectin, وdichlorvos) بالتراكيز [1 , 10 , 100 , 500 , 1000 جزء بالمليون مادة فعّالة] في نمو الخيوط الفطرية, وسرعة تشكلّ الأبواغ, ونسبة إنتاش الأبواغ للنوع *Trichoderma harzianum* (Rifai.) الذي تشكلّ أبواغه المادة الفعّالة لمستحضر المبيد الحيوي الفطري بيوكونت.

بيّنت الدراسة ما يأتي:

- تأثُّر نمو الخيوط الفطرية للفطر المدروس سلباً (بدرجات متباينة) بالمبيدات المختبرة؛ إذ كان المبيد abamectin أشدها تأثيراً؛ لأنه منع النمو بنسبة 100 % بالتركيز 500 جزء بالمليون مادة فعّالة.
- تأثُّر سرعة تشكلّ الأبواغ للفطر المدروس سلباً بالمبيدات الأربعة؛ إذ كان المبيدان abamectin و carbofuran أشد تأثيراً من المبيدين الآخرين.
- إضافة إلى التأثير السلبي للمبيدات الأربعة بدرجات متفاوتة على النسبة المئوية لإنتاش أبواغ الفطر المدروس, حيث كان المبيد abamectin أكثرها تأثيراً لأنه منع الإنتاش بنسبة أعلى من 90 % قياساً بالشاهد اعتباراً من التركيز 10 جزء بالمليون مادة فعّالة وما فوق.

الكلّمات المفتاحية: *Trichoderma harzianum* , propargite, abamectin, carbofuran, dichlorvos.

* معاون قائم بالأعمال- قسم وقاية النبات- كلية الزراعة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (1) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (1) 2014

A Study of the Side Effects of Some Non-Fungicides on *Trichoderma Harzianum* (Rifai.)

Afra' Mutee' Haider*

(Received 25 / 10 / 2013. Accepted 29 / 1 /2014)

□ ABSTRACT □

The research was carried out in a laboratory during the period from September 2012 until March 2013. The biological effects of four pesticides (carbofuran, propargite, abamectin, and dichlorvos) on croissance, sporulation speed, and spores germination percentage for *Trichoderma harzianum* (Rifai.) were examined at concentrations 1, 10, 100, 500, and 1000ppm (a. i.). The *Trichoderma harzianum* spores are the active ingredient of the formulation of fungal biofungicide whose commercial name is Biocont. The study showed that the four examined pesticides negatively affected the croissance, sporulation speed, and spore germination percentage but according to different degrees; the abamectin pesticide was the most dangerous on *Trichoderma harzianum*.

Keywords: *Trichoderma harzianum*, propargite, abamectin, carbofuran, dichlorvos

***Teaching assistant, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria**

مقدمة:

تلعب المبيدات دوراً مهمّاً في مكافحة الآفات الزّراعيّة وقد تطوّر استخدامها خلال السّنوات السّابقة وأصبحت في فترة من القرن السّابق الطّريقة الوحيدة الّتي يعتمد عليها المزارع للحدّ من خطورة الآفات الزّراعيّة من حشرات وأكاروسات وفطور وأعشاب ونيماتودا, وتبيّن لاحقاً أنّ لهذه المبيدات نتائج سلبيّة انعكست على صحّة الإنسان وسلامة البيئة ومكوّناتها ولاسيما تلوّث التّربة والمياه والهواء, وأسهمت هذه النّتائج في تبنّي عددٍ من الباحثين طرقاً أخرى للمكافحة خاصّة المكافحة الحيويّة.

وفي الواقع تمّ التّعرّف على أنواع مختلفة من عناصر المكافحة الحيويّة من أكاروسات وحشرات وفطور وبكتريا أسهمت جميعها في الحدّ من استخدام المبيدات من جهة والحدّ من خطورة الآفات من جهة ثانية. ويعدّ الجنس *Trichoderma* spp. من الفطور المهمّة المستخدمة في المكافحة الحيويّة لعدد من الممرضات النّباتيّة (أجريوس, 1994) حيث تمّ التّعرّف على أنواع عدّة من الجنس الفطريّ *Trichoderma* spp. تستخدم في المكافحة الحيويّة للفطور الضّارّة بالنّباتات وأهمّها: *T.virens, T.harzianum, T. koningii, T. hammatum, T. viride* (Copping, 1998) وبالتّالي يمكن استخدامها في مكافحة الممرضات الفطريّة التي تصيب النباتات المزروعة مما يقلّل من استخدام المبيدات التقليدية ويوفّر أماناً أكثر للبيئة والكائنات المفيدة. يتبع الجنس *Trichoderma* spp فصيلة Moniliaceae ورتبة Moniliales وصفّ الفطور النّاقصة Deuteromycetes (Barnett and Hunter, 1972).

يمكن تحديد جنس *Trichoderma* spp بالاعتماد على خصائصه المورفولوجيّة والمزرعيّة لكنّ عمليّة تحديد الأنواع تعدّ صعبة جداً بسبب التّداخل الكبير بين صفات الأنواع وبالتّالي تحتاج عمليّة تحديد الأنواع دراسة واسعة ومستفيضة (Gams, 2006). وأكثر أنواع الجنس *Trichoderma* spp تحديداً ومعرفة هي:

T. longibrachiatum, T. pseudokoningii, T. viride, T. harzianum, T. asperellum, T. citrinoviride, T. atroviride, T. hammatum, T.reesei, T.polysporum, T.virens, T.koningii (Kuhls *et al*., 1999) ولوحظ في السّنوات الأخيرة إدخال الفطر تريكودرما ضمن برنامج المكافحة المتكاملة لمحصول البندورة في الزّراعة المحميّة في السّاحل السّوريّ؛ إذ أسهم هذا الإجراء إلى حدّ ما في الحدّ من انتشار المسبّبات المرضيّة وخاصّة الفطور ساكنات التّربة مثل *Fusarium* , *Verticillium* و *Rhizoctonia*. وقد ثبت أنّ أنواع الفطر تريكودرما المستخدمة في المكافحة الحيويّة لفطور التّربة تملك واحدة أو أكثر من آليّات التّأثير التّالية: المنافسة على الغذاء والمكان, التّطفّل المباشر , التّضادّ الحيويّ بإفراز مضادّات حيويّة , تحفيز آليّات مقاومة في النّبات , إفراز مضادّات حيويّة طيّارة مضّادّة لنموّ الفطور الممرضة , استهلاك مفرزات النّبات الجذريّة ومنعها من تحريض الأحياء الممرضة في الريزوسفير (Howell, 2003). كما أثبتت الأبحاث المتتابعة مقدرة الفطر *Trichoderma* spp. على إنتاج الأنزيمات المفككة لمكوّنات الجدر الخلويّة ومكونات خلايا ميسليوم الفطور الّتي تهاجمها (Ridout *et al*., 1986), وتبيّن أنّ المنتجات الغازيّة والمستخلصات المائيّة لعزلات الفطر تريكودرما تنتج مواد استقلاب ذات أثر مثبّط لنموّ الفطور المحلّيّة الممرضة (تموز, 2005). ونظراً لأهمية الفطر *Trichoderma harzianum.* في المكافحة الحيوية للعديد من آفات التربة فقد اختبرت إمكانية المزج بين المبيد الحيوي لهذا النوع مع مبيدات كيميائية فطرية وأخرى غير فطرية من قبل العديد من الباحثين في العديد من دول العالم في إطار تنظيم برامج المكافحة المتكاملة للآفات, فقد أثبت Thomas و Bhai عام 2010 في تجارب حقلية ومخبرية هدفا من خلالها

دراسة إمكانية المزج بين *T. harzianum* المستخدم لمكافحة مسببات أعفان السوق الأرضية والكبسولات لنبات حب الهال وستة مبيدات حشرية من بينها المبيد carbofuran 54% أن هذا الأخير ذو قابلية عالية للمزج مع *T. harzianum* وعلاوة على ذلك فقد أثبت الباحثان أن هذا المبيد يزيد كثافة مجتمع التريكودرما. كما أثبتت إمكانية المزج بين *T. harzianum* (Rifai) والمبيد propargite 57% EC من قبل Sarkar وزملائه عام 2010 .

أهمية البحث وأهدافه:

إنّ إدخال الفطر تريكودرما ضمن برامج المكافحة المتكاملة يتطلّب اتّخاذ الإجراءات الضّروريّة لحمايته من تأثير المبيدات الّتي يمكن استخدامها في مكافحة الآفات المختلفة؛ إذ يعتقد للوهلة الأولى أنّ معظم المبيدات الفطريّة لها تأثير مباشر في الفطر تريكودرما وعلى العكس من ذلك قد يعتقد أنّ المبيدات الحشريّة أو الأكاروسيّة ليس لها أيّ تأثير في الفطور ومنها الفطر تريكودرما ولكن الواقع قد يكون مخالفاً لهذا الاعتقاد لعدد من المبيدات المستخدمة في مكافحة الحشرات والأكاروسات.

يهدف هذا البحث إلى التّعرّف على التّأثير الثّانويّ لبعض مبيدات الحشرات والأكاروسات والنيماتودا المستعملة في الزّراعة المحميّة في نموّ الخيوط الفطرية, وسرعة تشكلّ الأبواغ, ونسبة إنتاش الأبواغ للنوع *Trichoderma harzianum* الذي تشكلّ أبواغه المادة الفعّالة للمستحضر التجاري بيوكونت المستخدم في المكافحة الحيويّة للمسبّبات المرضيّة للنّبات.

طرائق البحث ومواده:

1). مكان تنفيذ البحث:

نفذ هذا البحث في مختبر المبيدات التابع لقسم وقاية النبات في كلّية الزراعة بجامعة تشرين.

2). تصميم التجربة:

تم اتباع تصميم القطاعات العشوائية الكاملة, وشملت الدراسة اختبار أربعة مبيدات بواقع خمسة تراكيز للمبيد الواحد هي (1 , 10 , 100 , 500 , 1000 ppm ضمن المستنبت الغذائي) (أي عشرون معاملة) بمعدل خمسة مكررات لكلّ تركيز.

3). الاختبارات المنفذة في البحث:

استخدمت في هذا البحث المواد والأدوات الآتية:

1. وحدة العزل والحاضنة والمجهر.
2. مستنبت غذائي جاهز لتنمية الفطور هو البطاطا والدكستروز آغار (PDA= Potato Dextrose Agar).
3. أطباق بتري بلاستيكية بقطر قاعدة 85 ملم.
4. أرلنمايرات زجاجية بسعات مختلفة (25 , 50 , 100 , 250 , 500 مل).
5. أنابيب اختبار زجاجية.
6. كؤوس زجاجية مدرجة.
7. أسطوانات زجاجية مدرجة بسعات مختلفة (10 , 50 , 100 مل), وأقماع زجاجية وقضبان تحريك زجاجية.
8. ماصات زجاجية مدرجة بسعات مختلفة (1 , 2 , 5 , 10 مل).

9. مقص, بارافيلم, أكياس نايلون شفافة, إبر, مسبار معدني قطر فوهته 5 ملم, مسطرة, مصباح كحول.
10. شريحة مالاسيه, وشرائح مقعرة ذات ثلاث حجرات في الشريحة.
11. قطن وكحول وورق قصدير.
12. المستحضر التجاري للفطر تريكودرما (بيوكونت), والمستحضرات التجارية للمبيدات المعتمدة في البحث؛ حيث استخدم في هذا البحث أربعة أنواع من المبيدات غير الفطرية موضحة في الجدول (1).

الجدول (1): خصائص المبيدات غير الفطرية المختبرة واستعمالاتها, وخصائص المبيد الحيوي بيوكونت.

الاسم التجاري	اسم المادة الفعّالة ونسبتها	مجال الاستخدام	التركيز المنصوح به حقلياً على الخضار(ppm)
ماتريكس (سائل معلق SC)	carbofuran 48%	مبيد حشري نيماتودي جهازي	958
ستورمي (مستحلب مركز EC)	propargite 73%	مبيد أكاروسي	547.5 – 365
فيراميك (مستحلب مركز EC)	abamectin 1.8%	مبيد أكاروسي	8.1 – 5.4
تاندرا (مستحلب مركز EC)	dichlorvos 50%	مبيد حشري أكاروسي	998 – 624
بيوكونت– ت (مسحوق قابل للبلل WP)	أبواغ حية للفطر Trichoderma harzianum	مبيد حيوي لمكافحة الفطور والنيماتودا	1 غ مسحوق مبيد/1 لتر ماء

1 – اختبار تأثير المبيدات في نمو الخيوط الفطرية للفطر تريكودرما:

البيئة المعتمدة في هذه التجارب هي بيئة البطاطا PDA, حُضّرت بإضافة كمّيّة 40 غ من مسحوق البيئة الجاهزة بالتّدريج إلى كمّيّة من الماء المقطر المعقم مع التّحريك المتواصل لمنع تجمّع جزيئات البيئة ضمن الماء, ومن ثمّ إكمال الحجم بالماء المقطر المعقم إلى 1000 مل والاستمرار بالتّسخين مع التّحريك المتواصل لمدّة تجاوزت 10 دقائق بعد بداية الغليان حتّى تمام تجانس البيئة. ثمّ وزّعت البيئة في دوارق مخروطيّة سعة 250 مل بمعدّل محسوب مسبقاً وعقّمت في الأوتوكلّاف على حرارة 110 مْ لمدّة 45 دقيقة. في أثناء ذلك تم تحضير محاليل المبيدات ضمن وحدة العزل بشكلّ ضَمِنَ الوصول إلى التراكيز 1 , 10 , 100 , 500 , 1000 جزء بالمليون مادّة فعّالة في البيئة النّهائيّة مع الأخذ بالاعتبار أن حجم البيئة النهائي هو 100 مل لكلّ معاملة. **بعد إخراج الدّوارق من الأتوكلّاف وتركــها حتّى تنخفض حرارتها إلى 45 – 50 سْ تمّت إضافة** 1 مل من محلول المضادّ الحيويّ أمبسلين لكلّ دورق بحيث بلغ تركيز المضاد الحيوي في البيئة النهائية 100 ppm ومن ثمّ **الكمّيّة الواجب إضافتها من محلول المبيد**, حضرت بيئة الشّاهد بمكوّنات بيئات المعاملات نفسها من دون استخدام المبيد.

بعد المزج الجيد لمكونات البيئة صُبّ المزيج في أطباق بتري نظيفة ومعقّمة بمعدل 18 – 22 مل /طبق (5 أطباق لكلّ معاملة تعبّر عن خمسة مكرّرات). بعد تصلّب البيئة في الأطباق تمّت زراعة الفطر باقتطاع أقراص بقطر 5 ملم من حواف مستعمرة فطريّة (محضّرة قبل 3 أيّام من تنفيذ الاختبار بنثر أجزاء من المستحضر التجاري بيوكونت على سطح بيئة الPDA) وزراعتها في مراكز أطباق البتري. تركت الأطباق في الحاضنة على حرارة

27 ± 1 سْ, أخذت النّتائج بشكلٍ يومي بقياس أقطار المستعمرات الفطريّة لكلّ تركيز والشّاهد خلال فترات زمنيّة محدّدة مع الحرص قدر الإمكان على أن يفصل بين القراءة والأخرى فترات زمنيّة متساوية (Tawil; 1985) وفي اختبارنا هذا فصلت بين القراءة وتاليتها 24 ساعة. تمّ التّوقّف عن أخذ القراءات عند بلوغ النّموّ الفطريّ حواف الطّبق في مكرّرات الشّاهد تحديداً بعد يومين من الزرع.

ولتحليل النّتائج تمّ الاعتماد على معادلة (Sundar *et al*., 1995) لحساب نسبة النّموّ المصحّحة لكلّ تركيز في موعد القراءة الأخيرة بالمقارنة مع الشّاهد وفق العلاقة:

$$\text{النّموّ المصحّحة (\%)} = \frac{\text{متوسّط قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسّط قطر مستعمرة الشّاهد}} \times 100$$

حُدِّد بعد ذلك تركيز المبيد الذي يمنع نمو الفطر بنسبة 50 % من الشاهد بالاعتماد على المنحني البياني الممثل للعلاقة بين تراكيز المبيد ونسب النمو المصححة وعُبِّر عن هذا التركيز بالاصطلاح IC_{50} اختصاراً لعبارة Inhibition of Croissance

2 – اختبار تأثير المبيدات في سرعة تشكلّ أبواغ الفطر تريكوديرما:

نفذت تجربة الكشف عن تأثير المبيد على تشكلّ الأبواغ باستعمال الأطباق نفسها المخصصة لتجربة تأثير المبيد في نمو الخيوط الفطرية؛ إذ أخذت في آخر يوم من التجربة مساحات صغيرة من المستعمرة الفطرية بشكلٍ يمثل كامل سطح المستعمرة (أخذ من كلّ طبق 10 أقراص بقطر 5 ملم, وبشكلّ قطرين يمثلان كامل مساحة المستعمرة مع العلم أنه تم اختيار ثلاثة مكررات من كلّ معاملة عشوائياً) وضعت الأقراص في 50 مل ماء مقطر معقم, حركت لمدة 2 دقيقة يدوياً ثم رُشِّحت عبر قطعة من القطن الطبي للحصول على المعلق البوغي (Tawil; 1985). بعد معرفة عدد الأبواغ في 1 ملم^3 من المعلق البوغي بواسطة شريحة مالاسيه أمكن معرفة عدد الأبواغ في 50 مل من المعلق البوغي, وبالتالي عدد الأبواغ المتشكلّة على وحدة المساحة في كلّ من معاملات الشاهد والتراكيز المختلفة من المعادلة التالية:

$$\text{كـ م} = \frac{\text{ح} \times \text{ك}}{\text{س} \times \text{ع}}$$

حيث: كـ م= عدد الأبواغ المتشكلّة على 1 ملم^2 من المستعمرة.

ك = عدد الأبواغ في 1 ملم^3 من المعلق.

ح = حجم المعلق / ملم^3 (50 مل= 5 × 10 ^{4} ملم^3).

س = مساحة القرص الواحد (ملم^2).

ع = عدد الأقراص الكلّية (30 قرص).

بعد معرفة عدد الأبواغ المتشكلّة ضمن وحدة المساحة, ومعرفة مساحة المستعمرة وعدد أيام التجربة تم حساب سرعة تشكلّ الأبواغ (ويقصد بها عدد الأبواغ المتشكلّة في اليوم الواحد للمستعمرة الواحدة كقيمة متوسطة لأيام التجربة وعدد المكررات لكلّ تركيز) لكلّ من الشاهد وتراكيز المبيد من المعادلة الآتية:

$$\text{سر} = \frac{\text{م} \times \text{كـ م}}{\text{ن}}$$

إذ: سر = سرعة تشكّل الأبواغ.

م = مساحة المستعمرة / ملم^2 .

ن = عدد أيام التجربة.

كـ م= عدد الأبواغ المتشكّلة على 1 ملم^2 من المستعمرة.

ومن ثم تم حساب النسبة المئوية لسرعة تشكّل الأبواغ لكلّ تركيز بالمقارنة مع الشاهد من المعادلة الآتية:

$$\%\text{سرعة تشكّل الأبواغ} = \frac{\text{سرعة التشكل لكل تركيز}}{\text{سرعة التشكل للشاهد}} \times 100$$

حُدِّد بعد ذلك تركيز المبيد الذي يمنع تشكّل أبواغ الفطر بنسبة 50 % مقارنة مع الشاهد بالاعتماد على المنحني البياني الممثل للعلاقة بين تراكيز المبيد والنسب المئوية لسرعة تشكّل الأبواغ, وعُبِّر عن هذا التركيز بالاصطلاح IS_{50} اختصاراً لعبارة Inhibition of Sporulation

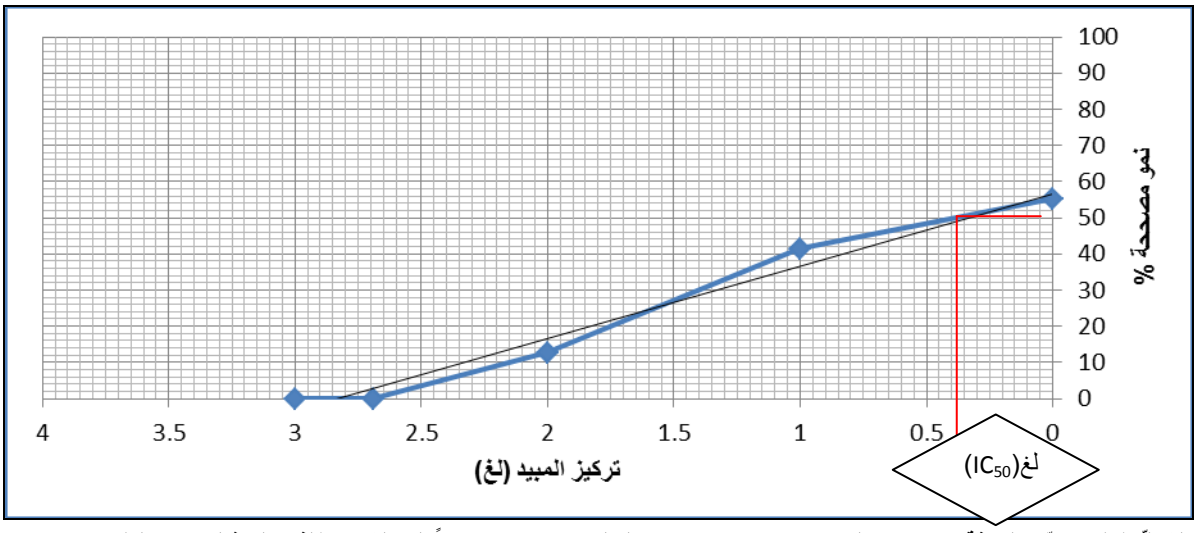
3 – اختبار تأثير المبيد في إنتاش الأبواغ:

اعتمدت طريقة ماكلّان (Mc-CALLAN). بعد تحضير بيئة البطاطا السائلة (PD = Potato Dextrose) وزعت في أرلنمايرات سعتها 100 مل بمعدل 97 مل بيئة لكلّ أرلنماير, ثم عقمت في الأوتوغلاف على حرارة 110 سْ لمدة 45 دقيقة, وبعد إخراج البيئات من الأوتوغلاف وبلوغها درجة الحرارة **20 – 30 سْ** أضيف لكلّ أرلنماير 1 مل من محلول المبيد، إذ اختبرت التراكيز 1 , 10 , 100 , 500 , 1000 ppm لكلّ مبيدٍ باستثناء المبيد carbofuran الذي لم يختبر تأثيره بالتركيزين 500 و 1000 ppm ويعود ذلك لعدم قدرتنا على تمييز جزيئات المبيد عن أبواغ الفطر غير المنتشة مجهرياً للتشابه الشكلّي بينهما مما أعاق حساب نسبة الإنتاش, وما يزال البحث والتجريب باستخدام التقنيات المتاحة جارٍ للوصول إلى طريقة تمكننا من الفصل الدقيق الذي لا يعروه الشك بين جزيئات المبيد والأبواغ غير المنتشة للفطر تريكودرما (أضيف 1 مل ماء مقطر معقم لمعاملة الشاهد) + 1 مل محلول مضاد حيوي هو الأمبسلين بحيث بلغ تركيزه 100 ppm في البيئة النهائية + 1 مل من المعلق البوغي للفطر المدروس بحيث بلغ محتوى البيئة النهائية 10 ^{3} بوغة في 1 مل بيئة PD), وبعد تجانس المزيج (بيئة + مبيد + مضاد حيوي + أبواغ الفطر تريكودرما) أخذت عدة قطرات من كلّ تركيز لتوضع في أحد حجر الشريحة المقعرة ذات الحجرات الثلاث؛ إذ خصصت شريحة واحدة لكلّ تركيز, وضعت كلّ شريحة بعد ملء حجراتها ضمن طبق بتري كبير يحوي قطعة قطن مشبعة بالماء ثم حضنت الأطباق على حرارة 27 سْ لمدة 20 ساعة لتفحص الشرائح بعد ذلك مجهرياً بمعدل 100 بوغة لكلّ مكرر, ثم حسبت نسبة الإنتاش المتوسطة للشاهد ولكلّ تركيز من تراكيز المبيد (Tawil; 1985).

حُدِّد بعد ذلك تركيز المبيد الذي يمنع إنتاش الأبواغ بنسبة 50 % مقارنة مع الشاهد بالاعتماد على المنحني البياني الممثل للعلاقة بين تراكيز المبيد والنسب المئوية لإنتاش الأبواغ, وعُبِّر عن هذا التركيز بالاصطلاح IG_{50} اختصاراً لعبارة Inhibition of Germination .

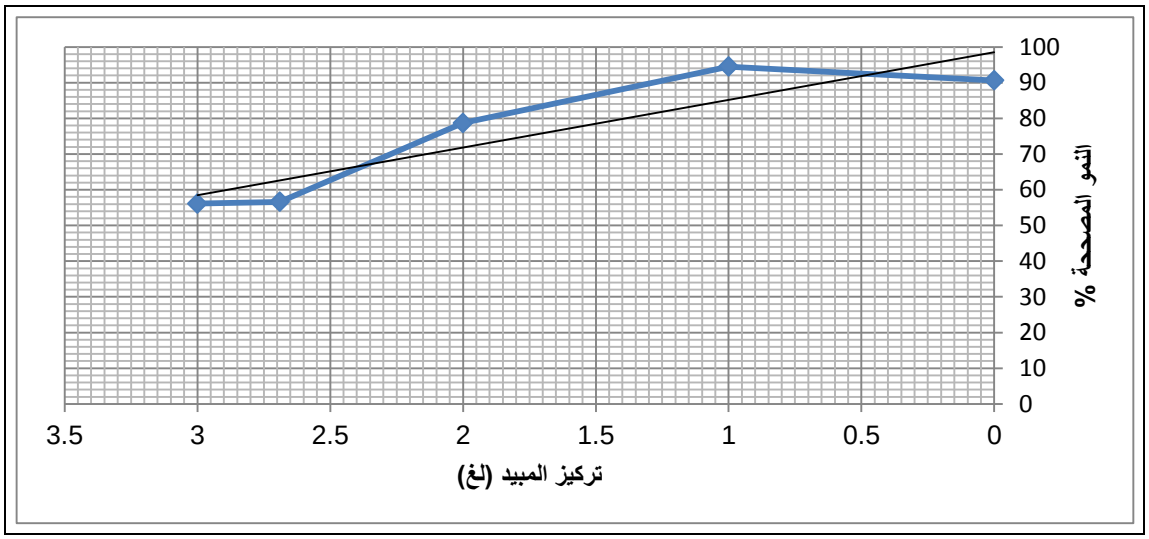
النتائج والمناقشة:

أولا: تأثير المبيدات المختبرة في نمو الخيوط الفطرية للفطر تريكودرما:



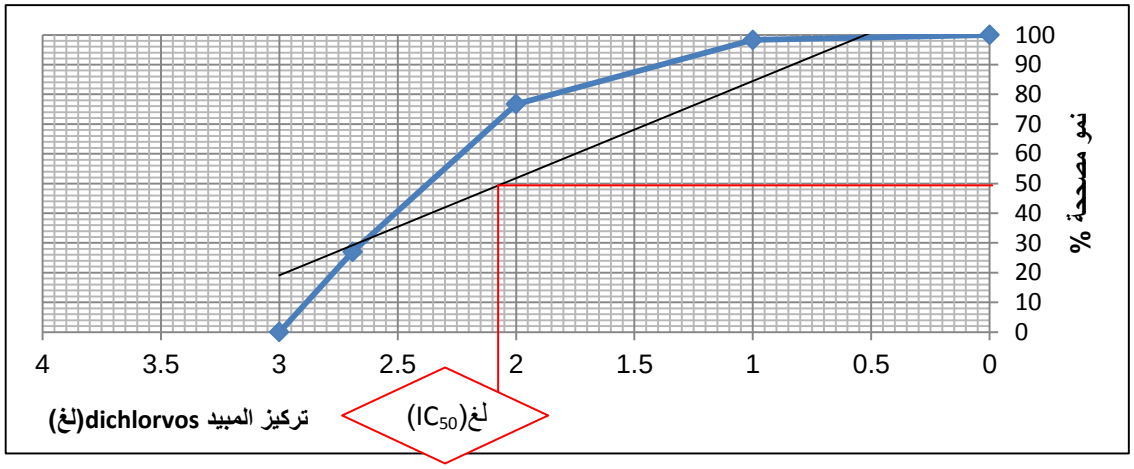
الشكلّ (1): يوضّح العلاقة بين تركيز المبيد abamectin ونمو الفطر تريكودرما منسوباً إلى الشاهد (الذي بلغ قطره 83 ملم) بعد يومين من الزرع على بيئة PDA والتحضين في الظلام على حرارة 27 ± 1 سْ

تشير النتائج إلى أن تركيز المبيد الأكاروسي abamectin الذي يمنع نمو الفطر تريكودرما بنسبة 50% هو 2.2 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار (5.4 – 8.1 ppm), وكما يوضّح الشكلّ فإن نسبة النمو المصححة للفطر تتناسب عكساً مع التركيز المختبر لينعدم النمو عند التركيز 500 ppm فأكثر مما يرفع قيمة احتمال التأثير السلبي لهذا المبيد الأكاروسي على المبيد الحيوي عند تطبيقهما سوية على محاصيل الخضار حقلياً.



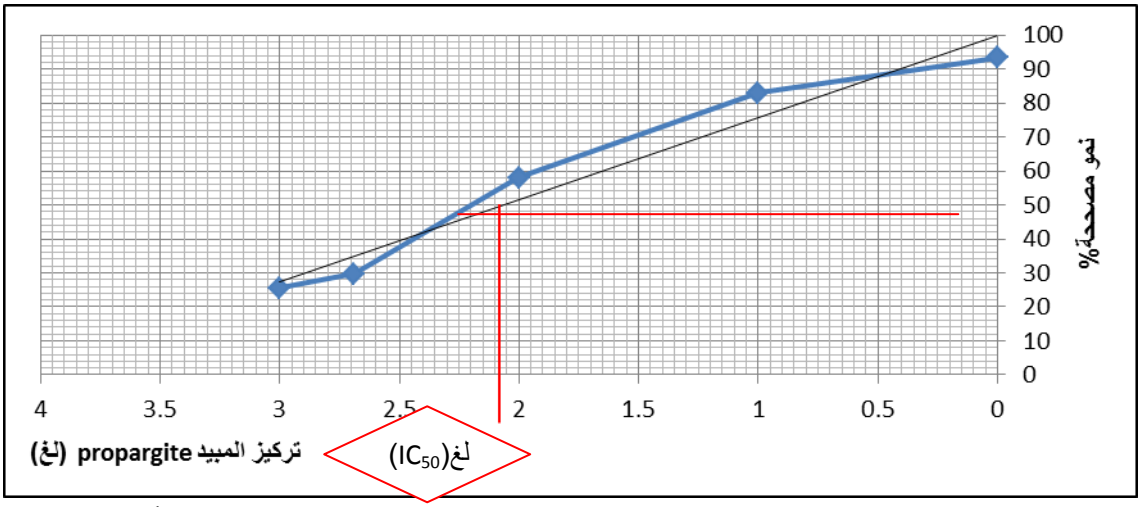
الشكلّ (2): يوضّح العلاقة بين تركيز المبيد carbofuran ونمو الفطر تريكودرما منسوباً إلى الشاهد (الذي بلغ قطره 83 ملم) بعد يومين من الزرع على بيئة PDA والتحضين في الظلام على حرارة 27 ± 1 سْ

تشير النتائج في الشكلّ (2) إلى أن تركيز المبيد الحشري النيماتودي carbofuran الذي يمنع نمو الفطر تريكودرما بنسبة 50% أكثر من 1000 ppm وهو أكبر من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار الذي يبلغ 950 ppm, وأن منع النمو المصححة المستقرة نوعاً ما للتركيزين 500 , 1000 ppm التي تراوحت بين 43.9 – 43.4 % تشير إلى انخفاض تأثر الفطر بالمبيد تدريجياً مع ارتفاع تركيزه عن 500 جزء بالمليون في حين كان تأثر الفطر بالتراكيز الأقل للمبيد كبيراً ولاسيما عند تعرضه للتراكيز 100 ، 500 ppm وهي تراكيز أقل من التركيز المنصوح به حقلياً. إن هذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه Thomas و Bhai عام 2010.



الشكلّ (3): يوضّح العلاقة بين تركيز المبيد dichlorvos ونمو الفطر تريكودرما منسوباً إلى الشاهد (الذي بلغ قطره 83 ملم) بعد يومين من الزرع على بيئة PDA والتحضين في الظلام على حرارة 27 ± 1 سْ

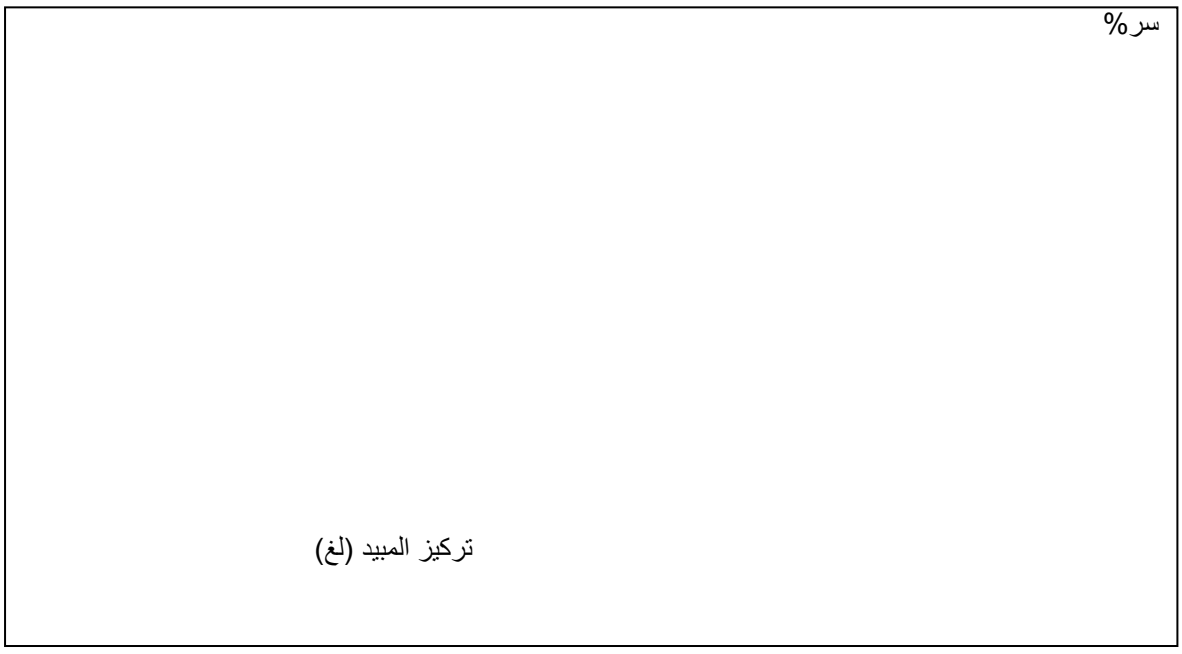
تشير النتائج في الشكلّ (3) إلى أن تركيز المبيد الحشري الأكاروسي dichlorvos الذي يمنع نمو الفطر تريكودرما بنسبة 50% بلغ 112.2 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار والذي هو (624 – 998 ppm), وكما يوضّح الشكلّ فإن نسبة النمو المصححة للفطر تتناسب عكساً مع التركيز المختبر لينعدم النمو عند التركيز 1000 ppm مما يرفع قيمة احتمال التأثير السلبي لهذا المبيد الحشري الأكاروسي على المبيد الحيوي عند تطبيقهما سوية على محاصيل الخضار حقلياً.

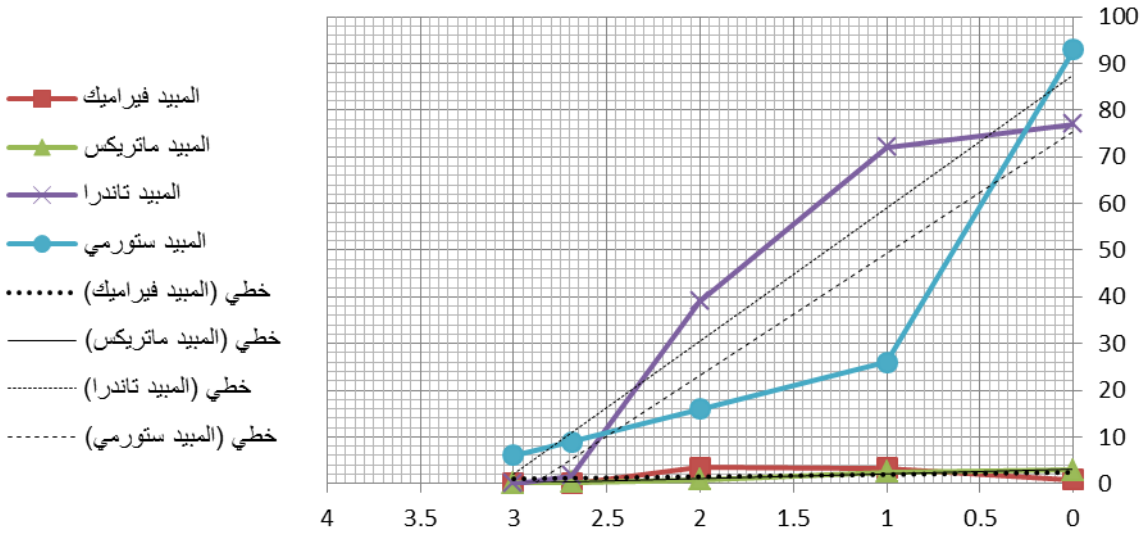


الشكلّ (4): يوضّح العلاقة بين تركيز المبيد propargite ونمو الفطر تريكودرما منسوباً إلى الشاهد (الذي بلغ قطره 83 ملم) بعد يومين من الزرع على بيئة PDA والتحضين في الظلام على حرارة 27 ± 1 سْ

تشير النتائج في الشكلّ (4) إلى أن تركيز المبيد الأكاروسي propargite الذي يمنع نمو الفطر تريكودرما بنسبة 50% بلغ 118.9 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار والذي هو (365–547.5 ppm)، وكما يوضّح الشكلّ فإن نسبة النمو المصححة للفطر تتناسب عكساً مع التركيز المختبر مما يرفع قيمة احتمال التأثير السلبي لهذا المبيد الأكاروسي على المبيد الحيوي عند تطبيقهما سوية على محاصيل الخضار حقلياً. إن هذه النتائج تتناقض مع ماتوصل إليه Sarkar وزملاؤه عام 2010 الذين اختبروا تأثير المبيد propargite بالتراكيز 10, 25, 50, 100, 200, 300 ppm في نمو الخيوط الفطرية للفطر تريكودرما فلم تتجاوز نسبة منع النمو 10% حتى التركيز 100 ppm ولم تتجاوز 25% عند التركيزين 200, 300 ppm مع العلم أن الخلاف التجريبي الوحيد بيننا هو أنهم حضنوا على حرارة 25 سْ في حين حضنا على حرارة 27±1 سْ.

ثانياً: تأثير المبيدات المختبرة في سرعة تشكلّ أبواغ الفطر تريكودرما:





الشكلّ (5): يوضّح العلاقة بين تراكيز المبيدات المختبرة والنسبة المئوية لسرعة تشكلّ أبواغ الفطر تريكودرما مقارنة مع الشاهد بعد يومين من الزرع على بيئة PDA والتحضين في الظلام على حرارة 27±1 سْ

تشير النتائج في الشكلّ (5) إلى التأثير السلبي الشديد للمبيد abamectin (فيراميك) في سرعة تشكلّ أبواغ الفطر تريكودرما مقارنة مع الشاهد (الذي بلغت سرعة تشكلّ الأبواغ فيه 8.1×10^{6} بوغة/ملم^2/يوم) حيث عرقل تشكلّ الأبواغ بالتراكيز (1 ، 10 ، 100 ppm) بنسبة لم تنخفض عن 96% قياساً بالشاهد خلال فترة التجربة، أما زيادة النسبة المئوية لسرعة تشكلّ الأبواغ مع ازدياد هذه التراكيز فتعزى إلى ردة فعل الفطر اتجاه التركيز الأعلى من المبيد كطريقة لاستمرارية البقاء.

كما يتضح من الشكلّ السابق أن المبيد carbofuran (ماتريكس) أثر سلباً وبنسبة عالية جداً (لم تنخفض عن 97%) في سرعة تشكلّ أبواغ الفطر تريكودرما مقارنة مع الشاهد غير المعامل بالمبيد وذلك بجميع التراكيز المختبرة، إذ تناسب منع تشكلّ الأبواغ طرداً مع ازدياد قيمة التركيز المختبر وهذا التناسب الطردي يزيد من سلبية المبيد تجاه المبيد الحيوي.

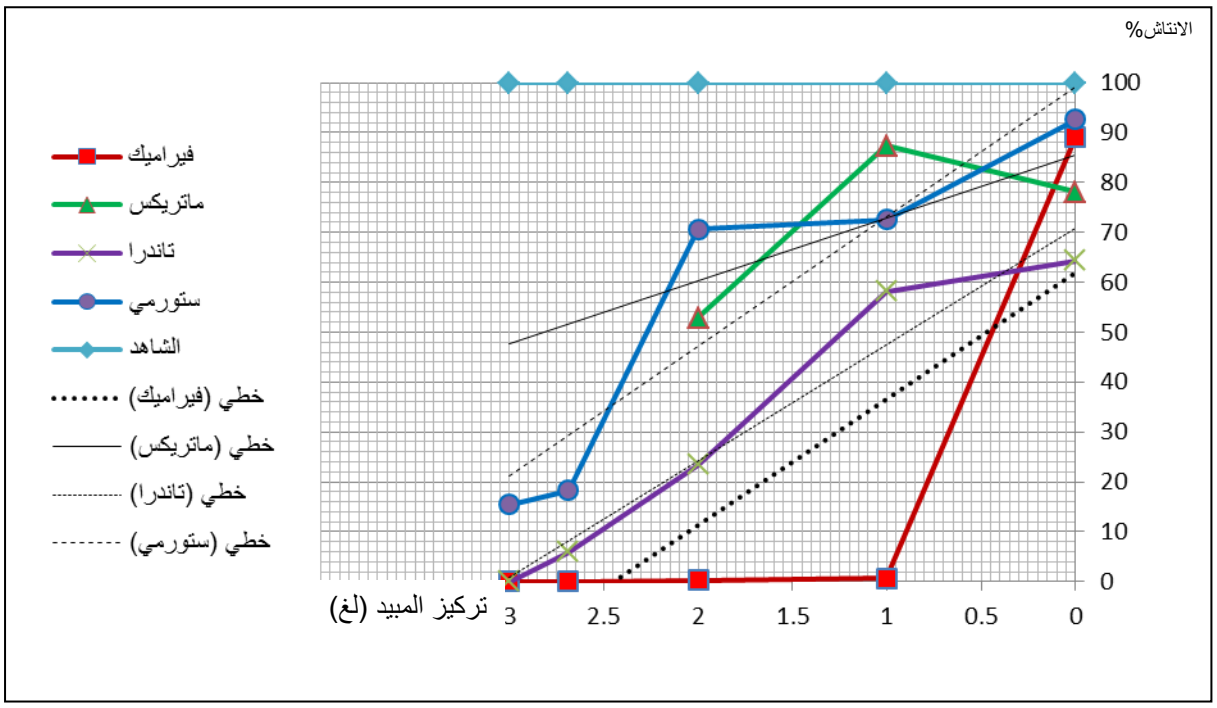
هذا وتشير النتائج إلى أن تركيز المبيد dichlorvos (تاندرا) الذي يمنع تشكلّ أبواغ الفطر تريكودرما بنسبة 50% بلغ 19.95 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار والذي هو (624 – 998 ppm), وكما يوضّح الشكلّ (5) فإن نسبة منع تشكلّ الأبواغ للفطر تتناسب طرداً مع التركيز المختبر مما يرفع قيمة احتمال التأثير السلبي لهذا المبيد الحشري الأكاروسي على المبيد الحيوي عند تطبيقهما سوية على محاصيل الخضار حقلياً.

كذلك يوضّح الشكلّ (5) أن تركيز المبيد propargite (ستورمي) الذي يمنع تشكلّ أبواغ الفطر تريكودرما بنسبة 50% بلغ 7.94 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار والذي هو (365– 547.5 ppm), وكما يوضّح الشكلّ (5) فإن نسبة منع تشكلّ أبواغ الفطر تتناسب طرداً مع التركيز المختبر مما يرفع قيمة احتمال التأثير السلبي لهذا المبيد الأكاروسي على المبيد الحيوي عند تطبيقهما سوية على محاصيل الخضار حقلياً.

ثالثاً: تأثير المبيدات المختبرة في إنتاش أبواغ الفطر تريكودرما:

يبين الجدول (2) النسب المئوية لإنتاش أبواغ الفطر تريكودرما تحت تأثير المبيدات الأربعة بعد 20 ساعة من التحضين على حرارة 27 سْ.

المبيد	تركيز المبيد (ppm)					IG_{50} (ppm)	إنتاش أبواغ الشاهد (%)
	1	10	100	500	1000		
abamectin	89.1	0.7	0.3	0.00	0	3.2	10 0%
carbofuran	78.1	87.4	52.9	–	–	أكثر من 100	
dichlorvos	64.3	58.2	23.4	5.9	0	15.8	
propargite	92.7	72.6	70.7	18.3	15.4	158	



الشكلّ (6): يوضّح العلاقة بين تراكيز المبيدات المختبرة والنسبة المئوية لإنتاش أبواغ الفطر تريكودرما مقارنة مع الشاهد بعد 20 ساعة من التحضين في الظلام على حرارة 27 سْ ضمن بيئة PD

تشير النتائج إلى أن تركيز المبيد abamectin (فيراميك) الذي يمنع إنتاش أبواغ الفطر تريكودرما بنسبة 50% بلغ 3.2 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار الذي هو (5.4–8.1 ppm), وكما يوضّح الجدول (2) فإن إنتاش الأبواغ يتأثر بشدةٍ بالمبيد abamectin بالتركيز 10 ppm في حين كان التأثر

منخفضاً بالتركيز 1 ppm؛ إذ لم يتجاوز منع الإنتاش 11% قياساً بالشاهد لكن مجال التركيز المنصوح به حقلياً محصور ضمن مجال التراكيز التي تؤثر سلباً في إنتاش الأبواغ مما يزيد قيمة احتمال أن يؤثر المبيد abamectin سلباً في إنتاش أبواغ الفطر حقلياً.

كذلك تشير النتائج في الشكلّ (6) إلى أن تركيز المبيد carbofuran (ماتريكس) الذي يمنع إنتاش أبواغ الفطر تريكودرما بنسبة 50% أكثر من 100 ppm لكنها أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار الذي هو (958 ppm), إلا أن التناسب العكسي بين تركيز المبيد المختبر والنسبة المئوية للإنتاش يزيد احتمال التأثير السلبي للمبيد carbofuran على إنتاش أبواغ الفطر تريكودرما في حال تطبيقهما حقلياً معاً.

ويتضح من النتائج أن تركيز المبيد dichlorvos (تاندرا) الذي يمنع إنتاش أبواغ الفطر تريكودرما بنسبة 50% بلغ 15.8 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار والذي هو (624 – 998 ppm), وكما يوضّح الشكلّ (6) فإن نسبة الإنتاش تتناسب عكساً مع التركيز المختبر لينعدم الإنتاش عند التركيز 1000 ppm مما يرفع قيمة احتمال التأثير السلبي لهذا المبيد الحشري الأكاروسي على المبيد الحيوي عند تطبيقهما سوية على محاصيل الخضار حقلياً.

تشير النتائج إلى أن تركيز المبيد propargite (ستورمي) الذي يمنع إنتاش أبواغ الفطر تريكودرما بنسبة 50% بلغ 158 ppm وهو أقل من التركيز المنصوح به حقلياً على محاصيل الخضار والذي هو (365– 547.5 ppm), وكما يوضّح الشكلّ (6) فإن نسبة الإنتاش تتناسب عكساً مع التركيز المختبر مما يرفع قيمة احتمال التأثير السلبي لهذا المبيد الأكاروسي في المبيد الحيوي عند تطبيقهما سوية على محاصيل الخضار حقلياً.

الاستنتاجات والتوصيات:

1. نستنتج مما سبق أن المبيدات الأربعة المختبرة أثرت سلباً في نمو الخيوط الفطرية للفطر تريكودرما المختبر؛ إذ كان المبيد carbofuran أقلها تأثيراً في حين كان المبيد abamectin هو الأشد تأثيراً.
2. كما أثرت المبيدات الأربعة سلباً في سرعة تشكلّ الأبواغ للفطر تريكودرما؛ إذ كان المبيدان abamectin و carbofuran أشد تأثيراً من المبيدين الآخرين.
3. أبدت المبيدات الأربعة المختبرة تأثيراً سلبياً جلياً في نسبة إنتاش أبواغ الفطر تريكودرما ولاسيما المبيد abamectin الذي كان الأشد ضرراً على إنتاش الأبواغ تحت ظروف الاختبار.

إن ما سبق ذكره يقودنا إلى التوصية بما يأتي:

1. ضرورة استكمال دراسة تأثير هذه المبيدات (باعتبارها الأكثر مبيعاً في السوق المحلية حالياً) على هذا الفطر بتجارب نصف حقلية ومن ثم تجارب حقلية وفي مواعيد مختلفة (أي تحت ظروف مختلفة) بالنسبة للتجارب الحقلية.
2. يمكن أن نوصي مبدئياً بعدم تطبيق هذه المبيدات الكيميائية مع المستحضر التجاري للمبيد الحيوي تريكودرما.

المراجع:

1. أجريوس, جورج. *أمراض النّبات* – ترجمة محمود موسى أبو عرقوب, جامعة قاريونس– ليبيا, 1994، 1451.

2. تمّوز, منذر. *المكافحة الحيويّة لبعض فطور التّربة الممرضة لنبات البندورة* – أطروحة ماجستير في وقاية النّبات – كلّيّة الزّراعة – جامعة تشرين, 2005 , 112.

3). BARNETT , H.L., and B.B. HUNTER. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess publishing comp . Minnesota state . USA., 1972, 241p.

4). COPPING ,L. G.. *The Bio Pesticide Manual*. Ed, British Crop Protection council (UK). 1998, 333.

5). GAMS, W.. *Hypocrea and Trichoderma studies marking the 90th birthday of Joan M. Dingley*. Studies in Mycology 56 (September, 2006).

6). HOWELL, C.R.. *Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant disease :The history and evolution of current concepts*. plant disease 87.2003. 7 – 10.

7)- KUHLS, K., E. LIECKFELDT, T. BORNER, and E. GUEFO. Molecular reidentification of fuman pathogenic *Trichoderma* isolates as *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma citrinoviride* . Med Mycol. 1999. 37 : 25 – 33.

8)- RIDOUT, C. J., J. R.,COLEY–SMITH, and J. M., LYNCHM. *Enzyme activity and electrophoretic profile of extracellular protein* included in *Trichoderma spp. By cell walls of Rhizoctonia solani* : J . Gen . Microbiol. 1986. 132 : 2345 – 2352

9). SARKAR, S., P. NARAYANAN, A. DIVAKARAN, A. BALAMURUGAN, and R. PREMKUMAR. *The in vitro effect of certain fungicides, insecticides, and biopesticides on mycelial growth in the biocontrol fungus Trichoderma harzianum*.

Turk J Biol, 34 (2010), 399-403

10). Sundar AR, Das ND, Krishnaveni D. *In-vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. *against two fungal pathogens of Castor*. Indian J Plant Protec 23: 152-155, 1995.

11). TAWIL, M.. *Synthése et Tests Biologiques (Correlation Structeur-Activité) de Composes Heterocyclique Susceptibles de Presenter une Activité Anti-fongique*. Thése Docteur ES Science presenté a l' université D' Aix-Marseille III (France). 1985.

12). THOMAS, J., and B. S. BHAI. *Compatibility of Trichoderma harzianum (Rifai.) with fungicides, insecticides and fertilizers*. Indian Phytopathology, Vol 63, No 2 (2010).