مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (32) العدد (1) 2010
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (32) No. (1) 2010

دراسة مخبرية لتقييم تأثير بعض المبيدات الفطرية في نمو الفطر *Trichoderma spp.*

الدكتور محمد طويل *
ديما زيني **

(تاريخ الإيداع 24 / 1 / 2010. قبل للنشر في 31 / 3 / 2010)

□ ملخّص □

لتقييم تحمل عزلتين من الفطر *Trichoderma* spp في دراسة مخبرية استخدمت المبيدات الفطرية هكساكونازول – كلوروتالونيل – مانكوزيب – ميتالاكسيل بتراكيز 0.1 , 1 , 10 ,100 جزء في المليون . تبين أن المبيدين هكساكونازول و كلوروتالونيل أكثر المبيدات تأثيراً في منع نمو الخيوط الفطرية للعزلتين حتى بالتركيز 1 جزء في المليون ، كما منعا انتاش الأبواغ بصورة كاملة بالتركيز 100 جزء في المليون ، وبصورة شبه كاملة بالتركيز 10 جزء في المليون .أوقف المبيد هكساكونازول كلياً نمو الخيوط الفطرية للعزلتين في التركيز10 جزء في المليون وكان تأثير المبيد مانكوزيب ضعيف جداً في نمو الخيوط الفطرية للعزلتين ، في حين منع انتاش الأبواغ بالتركيزين 10و 100 جزء في المليون. لم يلاحظ تأثير واضح للمبيد ميتالاكسيل في نمو الخيوط الفطرية أو انتاش الأبواغ للعزلتين.

الكلمات المفتاحية : *Trichoderma* spp ، مبيدات فطرية، خيوط فطرية ، انتاش أبواغ.

* أستاذ – قسم وقاية النبات –كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
** طالبة دراسات عليا (ماجستير) – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (32) العدد (1) 2010
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (32) No. (1) 2010

Laboratory Evaluation Study of the Effect of Some Fungicides on *Trichoderma* spp.

Dr. Mohamed Tawil *
Dima Zini **

(Received 24 / 1 / 2010. Accepted 31/3/2010)

□ ABSTRACT □

To assess the effect of some fungicides on two isolates of Trichoderma fungus., four fungicides were used in the concentrations, 0.1, 1, 10 and 100 ppm. The results showed that hexaconaxole and chlorothalonil were the most effective fungicides in preventing hyphal growth for the two isolates, even in the concentration of 1 ppm., also, they inhibeted entirely the spores germinations at the 100 ppm , and most of them in the concentrations of 10 ppm. The fungicides hexaconaxole stopped entirely the hyphal growth for the two isolates at 10 ppm., however , the effect of The fungicides mancozeb was very weak on the hyphal growth in the two isolates at 10 ppm. and 100ppm. We didn't observe a clear effects of metalaxyl on hyphal growth or the spores germinations of the two isolates.

Key words: *Trichoderma* spp. ; Spores germinations; Hyphal growth ; Fungicides

* **Professor, plant Protection Department, Faculty of Agriculture , Tishreen University , Latakia , Syria**
** **Postgraduate Student , Faculty of Agriculture , Tishreen University, Latakia , Syria .**

مقدمة:

تعدّ الممرضات النباتية لاسيما الفطور إحدى أهم الآفات التي تصيب النباتات إلى درجة الوباء عند توافر الظروف المناسبة، كما أن بعضها صعبة المكافحة؛ لأنها تنتج تراكيب سكون مثل الأجسام الحجرية والأبواغ الكلاميدية أو البيضية للإبقاء على حياتها لأطول فترة ممكنة تحت معطيات البيئية غير المناسبة (Baker and Cooke , 1974). إن استخدام المبيدات الفطرية لمكافحة هذه الممرضات مكلف مادياً كما أن تكرار استخدام مبيد معين أو مبيدات من المجموعة الكيماوية نفسها يؤدي إلى ظهور سلالات ممرضة تتمتع بصفة تحمل ومقاومة للمبيد المستخدم ولمجموعته الكيميائية (Benitez *et al.* , 2004) وبالتالي عدم استمرار نجاح عملية مكافحة الأمراض، فضلاً عن المشاكل الأخرى التي تسببها هذه المبيدات بسبب تراكمها في السلاسل الغذائية مما يسبب ضرراً للإنسان والبيئة، كما تؤثر سلباً في الكائنات المفيدة الموجودة في التربة (Tiamos *et al*., 1992). مما دعا العلماء إلى البحث عن طرائق حيوية لها قدرة مماثلة لفعالية المبيدات الكيميائية، وتعتبر بعض أنواع الجنس *Trichoderma* spp.من الفطور المفيدة المستخدمة في المكافحة الحيوية للفطور الممرضة المتواجدة في التربة أو على المجموع الخضري، إذ يملك الفطر تريكودرما واحدة أو أكثر من آليات التأثير (المنافسة على الغذاء والمكان – تعديل الظروف البيئية – تحفيز آليات مقاومة في النبات – التضاد الحيوي – استهلاك مفرزات النبات الجذرية ومنعها من تحريض الأحياء الممرضة في الريزوسفير – التطفل المباشر وإنتاج الأنزيمات المفككة لمكونات الجدر الخلوية ومحتويات خلايا الميسليوم) (Howell , 2003 ; Benitez *et al.* , 2004 ; Harman *et al.* ,2004 ; El-katatny *et al.* ,2001).

أشار Monte إلى أن أغلب أنواع *Trichoderma* spp. صنف كفطر ناقص حيث ليس له طور جنسي معروف (Monte, 2001) إلا أن بعض أنواع *Trichoderma* spp هي مورفولوجياً مشابهة للطور اللاجنسي لـ *Hypocrea* وقد كشفت الدراسات قربهما التصنيفي (Monte, 2001 ; Hermosa *et al.* , 2000). تعيش أنواع الفطر تريكودرما حياة حرة وتكون عالية التأثير في الجذر والتربة والمجموع الخضري، إذ تمتاز بمقدرتها على زيادة نمو الجذور وتطورها وإنتاجية المحاصيل كما تجعل امتصاص واستخدام المغذيات متاحاً من قبل النبات (Ranasingh *et al.* ,2006 ; Ram *et al.* , 1999) مما جعلها تستخدم بنجاح في التجارب الحقلية لمكافحة العديد من أمراض المحاصيل (Reino *et al.* , 2008) حيث تعتبر عزلات هذا الفطرفعالة في مكافحة أمراض العفن الرمادي الناتج عن الفطر *Botrytis cinerea* والإنتراكنوز على الفريز الناتج عن الفطر *Colletotrichum acutatum*، وتزداد فعالية المكافحة بشكل كبير بتحميل النحل بلقاح *T. harzianum* باستخدام مادة ناشرة (Triwaks) (Freeman *et al.* , 2004 ; Shafir *et al.* , 2006).

يؤثر الفطر تريكودرما في الفطور الأسكية والنافصة والبازيدية (Monte, 2001) وتزداد كفاءته في المكافحة الحيوية طرداً مع توافر النترات والمغنزيوم المنحل والنحاس والحديد والبورون وكميات قليلة من الفوسفور المتاح ودرجة pH مائلة إلى الحموضة (Duffy *et al.* , 1997). يعود نجاح سلالات التريكودرما كعوامل مكافحة حيوية إلى قدرتها التكاثرية العالية و القدرة على البقاء تحت ظروف سيئة جداً و الكفاءة في استخدام العناصر المغذية و القدرة على تعديل المحيط الجذري و العدوانية القوية ضد الفطور الممرضة و الكفاءة في تحفيز نمو النبات وآليات الدفاع. مما جعل هذا الفطر موجود في كل مكان وبكثافات عالية (Chet *et al.* , 1997). لوحظ في السنوات السابقة اعتماد مزارعي البندورة في الزراعة المحمية في الساحل السوري على هذا الفطر ضمن مفهوم المكافحة المتكاملة للمسببات

المرضية في التربة. ولكن بسبب كثرة المبيدات المستخدمة من قبل المزارعين لمكافحة الأمراض الفطرية التي تصيب المجموع الخضري تتساقط كمية كبيرة من هذه المبيدات على التربة وبالتالي تؤثر في الفطر *Trichoderma*. ففي دراسة أجريت لتقييم حساسية خمس عزلات تابعة لخمسة أنواع من الفطر *Trichoderma* تجاه خمسة مبيدات فطرية أظهرت كل عزلات التريكودرما حساسية منخفضة للمبيدين carboxin و thiram وحساسية عالية للمبيد prochloraz (Roberti *et al*., 2006) .فمن حيث التأثير على النمو الشعاعي للخيوط الفطرية تبين أن الفطر *T. viride* عالي الحساسية للمبيدات guazatine و prochloraz وtriticonazole ، وكان الفطر *T. harzianum* معتدل الحساسية للمبيدات carboxin و thiram و guazatine. أما من حيث التأثير على إنبات الكونيديا فقد كان الفطر *T. longibrachiatum* الأكثر حساسية للمبيدات الفطرية (Roberti *et al*., 2006). وفي دراسة أخرى أجريت لتقييم تحمل أربعة أنواع من التريكودرما (*T. harzianum* ، *T. pseudokoningii* ، *T. longibrachiatum* ، *T. viride*) لأربعة مبيدات فطرية (Benomyl, Topsin-M ,Carbendazim , Cuprocaffro) بتراكيز 10000 , 1000 , 100 , 10 , 1 ppm مادة فعالة كان المبيدين Topsin-M و Carbendazim أكثر المبيدات تأثيراً في منع نموأنواع التريكودرما حتى في التراكيز المنخفضة . كما أوقف المبيد Topsin-M كلياً نمو الفطر *T. harzianum* عند تركيز 10 ppm (Khan and Shahzad , 2007) .

وقد أكدت الدراسات أن استخدام عوامل المكافحة الحيوية مع مستويات منخفضة من المبيد الفطري (مكافحة متكاملة) تحفز درجة تثبيط العامل الممرض بشكل مماثل لتلك المنجزة مع المعاملة الكاملة بالمبيد الفطري (Monte , 2001 ; Srinivas and Ramakrishnan, 2002 ; Hjeljord and Tronsmo, 1998).حيث تم الحصول على نتائج ممتازة للمكافحة المتكاملة باستخدام سلالات من الفطر *T. viride* والمبيد ميتالاكسيل ضد الفطر *Pythium ultimum* الذي يصيب القطن (Chet *et al.* , 1997) ، وسلالات من الفطر *T. harzianum* والمبيد كابتان ضد الفطر *Verticilium dahliae* الذي يصيب البطاطا (Chet and Inbar , 1994) ، وسلالات من الفطر *T. virens* والمبيد ثيرام ضد الفطر *Rhizoctonia solani* الذي يصيب التبغ ومحاصيل أخرى (Chet *et al.* , 1997).وقد سجل بأن العديد من أنواع التريكودرما لديها مقاومة متأصلة أو تحدث مقاومة للعديد من المبيدات الفطرية ويختلف مستوى المقاومة باختلاف المبيد (Omar, 2006).

أهمية البحث وأهدافه:

يهدف هذا البحث إلى دراسة التأثيرات السلبية لبعض المبيدات الفطرية الأكثر استخداماً في الزراعة المحمية في الساحل السوري في نمو بعض أنواع الفطر *Trichoderma* بهدف استبعاد الأكثر تأثيراً منها من برامج المكافحة الكيميائية واستبداله بمبيدات لاتؤثر في هذا الفطر، أو لها تأثير ضعيف.

طرائق البحث ومواده:

تم إجراء البحث في مركز تربية الأعداء الحيوية (محطة بحوث الهنادي) خلال عام 2008.

- استخدم في هذا البحث عزلتين من الفطر *Trichoderma* spp

1. Tbio عزلة تجارية للفطر *T. harzianum* من المستحضر التجاري بيوكونت يحوي على $19X10^7$ بوغة /غ.

2. T1 عزلة محلية (*Trichoderma* spp) تم الحصول عليها من تربة أحد البيوت البلاستيكية المزروعة بالبندورة في منطقة بانياس من قبل مركز تربية الأعداء الحيوية.

- **المبيدات المستخدمة:**

تم استخدام أربعة مبيدات من مجموعات كيماوية مختلفة ، تعدّ من أكثر المبيدات استخداماً في الزراعة المحمية

1. كلوروتوسيب: المادة الفعالة chlorothalonil بنسبة 492 غ/ ل مبيد فطري سطحي عضوي من مجموعة المشتقات البنزينية والفينولية ، يستعمل بشكل وقائي على عدد من الفطور المسببة لأمراض البياض الزغبي واللفحة المتأخرة وتبقعات الأوراق والعفن الزيتوني على البندورة، بالإضافة لتأثيره العلاجي تتمثل آلية عمله بان مجموعة النتريل الموجودة فيه تؤثر على مجموعة الثيول للأنزيمات وتمنع النشاطات الأيضية للكائنات الحية الدقيقة (Vincent and Sisler, 1968 ; Katayma *et al.* , 1991). وقد لاحظ Sun ورفاقه عام 2006 تناقص في نشاط كائنات التربة الدقيقة بعد تطبيق الكلوروتالونيل.

2. هكسازول: المادة الفعالة hexaconaxole بنسبة 50 غ / ل مبيد فطري جهازي من مشتقات التريازول يؤثر بصورة وقائية وعلاجية في عدد كبير من الفطريات الناقصة والأسكية والبازيدية، تتمثل آلية عمله بمنع تركيب الإيرغوستيرول.

3. ديكوزيب: المادة الفعالة mancozeb بنسبة 80% مبيد فطري سطحي عضوي من مجموعة المركبات الكرباماتية له تأثير وقائي إذ يؤثر في مواقع عديدة ويمنع انتاش الأبواغ ونمو الخيوط الفطرية. يستعمل للوقاية ومكافحة تبقعات الأوراق المتسببة عن الفطور (Septoria , Helminthosporium , Ascochyta)، والفطور المسببة لأمراض اللفحة المبكرة والمتأخرة والبياض الزغبي والانتراكنوز، وله تأثير على فطريات التفحم بمعاملة البذور.

4. ريدوميل سائل ذهبي: المادة الفعالة metalaxyl بتركيز 480 غ/ ل مبيد فطري جهازي يمتص من قبل الأوراق والأجزاء الغضة ، من المشتقات الأميدية له تأثير وقائي وعلاجي في عدد من الفطريات البيضية خصوصاً رتبة Peronosporales (Park *et al.* ,2002 ; Odvody and Frederiksen , 1984)، ويؤثر على الفطر بمنع تركيب الحمض النووي RNA.

وقد تم استخدام أربعة تراكيز من هذه المبيدات وهي 0.1 , 1 , 10 , 100 جزء في المليون مادة فعالة.

لدراسة تأثير المبيدات في نمو الخيوط الفطرية استخدمت بيئة البطاطا PDA بعد تعقيمها في الاوتوكلاف على 110ْم لمدة 45 دقيقة أضيف لها المضاد الحيوي أمبسلين بتركيز $2 \text{ X } 10^5$ وحدة دولية في اللتر لتفادي نمو البكتريا ثم أضيف لها المبيد ضمن مذيب عضوي بحيث تكون نسبة المذيب العضوي في البيئة النهائية 1% ، ثم صبت في أطباق بيتري وبعد أن تصلبت تمت زراعة الفطر في طرف الطبق ثم حضنت الأطباق في حاضنة على درجة حرارة 25 ± 1 ْ م ورطوبة 60% وتم أخذ نصف قطر مستعمرة الفطر المتشكلة بعد 72 ساعة من الزراعة وقورنت النتائج مع الشاهد (بدون وجود المبيد) (Tawil,1979) .وتم حساب نسبة منع النمو مقارنةً مع الشاهد بتطبيق الصيغة المقترحة من قبل Vincent عام 1947

$$\% \text{ منع النمو} = \frac{\text{نصف قطر مستعمرة الشاهد} - \text{نصف قطر المعاملة بالمبيد}}{\text{نصف قطر مستعمرة الشاهد}} \times 100$$

لدراسة تأثير المبيدات في إنتاش الأبواغ الفطرية استخدمت بيئة البطاطا السائلة (بدون آغار) بعد تعقيمها في الأوتوكلاف على 110ْم 45 دقيقة. وبعد تحضير محاليل المبيدات المستخدمة تم استخدام ثلاثة تراكيز من كل مبيد (1 – 10 – 100 جزء في المليون) بالإضافة للشاهد وتم تحضير هذه التراكيز في 20 مل بيئة نهائية(Tawil,1979).

تم تحضير المعلق البوغي من مستعمرات فطرية قديمة بعمر يتراوح بين 8 – 21 يوماً(وذلك لضمان كثافة مرتفعة من الأبواغ إذ إن المستعمرات الحديثة تكون فيها كثافة الأبواغ منخفضة)، يضاف للمستعمرة الفطرية كمية 10 5 – مل من الماء المقطر والمعقم وبإجراء كشط بسيط لسطح المستعمرة بواسطة إبرة الزرع أو سكين حتى انفصال الأبواغ وتوضعها في الماء مع أجزاء من الخيوط والبيئة، وبعد الترشيح تم الحصول على معلق الأبواغ وتم تحديد كثافة الابواغ في المعلق حسب ماهو مطلوب وذلك بالاعتماد على الفحص المجهري للمعلق في شريحة مالاسيه التي نحصل منها على كثافة الأبواغ في المعلق ومنها تحسب نسبة التخفيف للمعلق بحيث تكون كثافة الأبواغ في البيئة النهائية 60 $10 \text{ X} - 40^4$.

أخذت كمية 1 مل من المعلق وأضيفت إلى أنبوب الاختبار الحاوي على البيئة المغذية ومحلول المبيد للحصول على المزيج المطلوب (بيئة + مبيد + أبواغ الفطر) وبعد التجانس أخذت عدة قطرات من المزيج الجديد ووضعت في شريحة مقعرة وخصصت شريحة واحدة لكل تركيز بثلاثة مكررات ، ووضعت الشرائح بعد ملء حجراتها ضمن أطباق بيتري كبيرة (يخصص طبق واحد لكل عزلة) تحتوي على القطن الطبي المعقم والمشبع بالماء المعقم لتفادي جفاف المحلول ضمن الحجرة المقعرة، ثم وضعت الأطباق في حاضنة كهربائية على درجة حرارة 20 $\pm$ 1ْ م لمدة 24 ساعة ، فحصت الشرائح مجهرياً بمعدل 100 بوغة لكل مكرر، ثم حسبت نسبة الإنتاش المتوسطة في الشاهد ولكل تركيز من تراكيز المبيد الثلاثة (100, 10 , 1) ppm . ومن ثم تحسب النسبة المئوية لمنع الإنتاش المصححة لكل مبيد في كل تركيز لاستبعاد تأثير العوامل الطبيعية في الإنتاش (Tawil,1979) وذلك بتطبيق المعادلة: (ABBoTT, 1925)

$$\% \text{ منع الانتاش المصححة} = \frac{\text{\% منع انتاش المعاملة بالمبيد} - \text{\% منع انتاش الشاهد}}{100 - \text{\% منع انتاش الشاهد}} \times 100$$

تم تحليل النتائج إحصائياً بطريقة Anova عند المستوى 0.05

النتائج والمناقشة:

1 – تأثير المبيدات في نمو الخيوط الفطرية

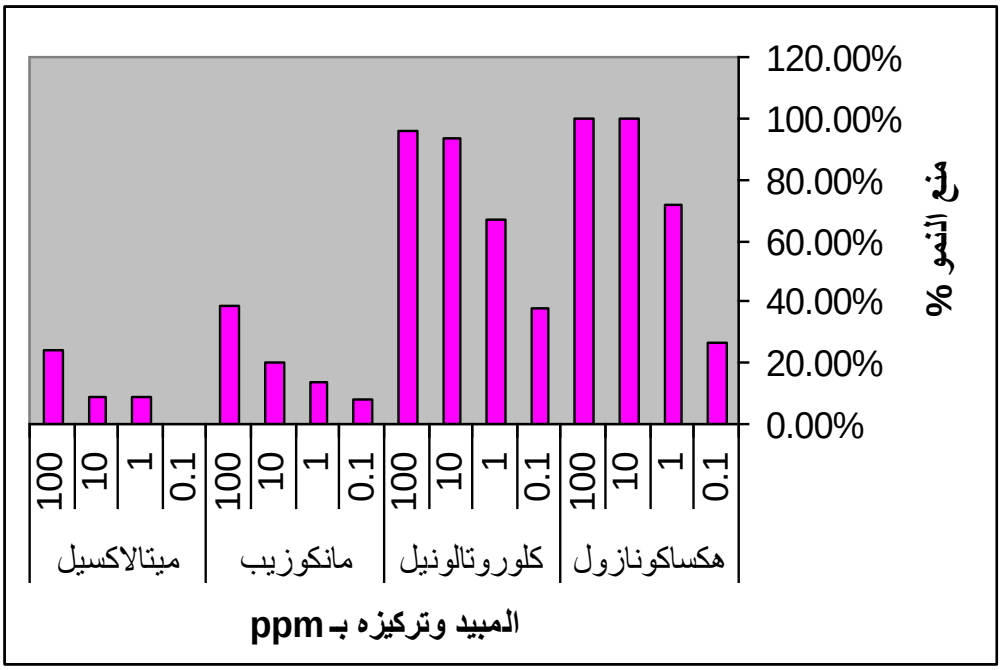
يبين الجدول /1/ متوسط نصف قطر المستعمرة الفطرية للعزلة المحلية تحت تأثير المبيدات المختبرة بعد ثلاثة أيام من المعاملة.

الجدول /1/: نصف قطر المستعمرة المتشكلة للعزلة T1 بـ مم تحت تأثير المعاملة بالمبيدات المختبرة

المبيد	الشاهد	التركيز ppm0.1	التركيز ppm1	التركيز ppm10	التركيز ppm100	LSD
هكساكونازول	52.38 A	38.5 B	14.75 C	0 D	0 D	3.39
كلوروتالونيل	49.5 A	30.75 B	16.5 C	3.12 D	2.125 D	4.67
مانكوزيب	54.56 AB	50.06 ADC	47.25 CD	43.37 D	33.5 E	6.7
ميتالاكسيل	52.25 AB	52.75 B	47.5 CD	47.5 D	39.75 E	2.98

- الأحرف تدل على الفروقات المعنوية على مستوى المبيد الواحد بين التراكيز المستخدمة (ضمن السطر الواحد) .

كما يبين الشكل (1) المقارنة بين تأثير المبيدات المختلفة في منع نمو الفطر بالمقارنة مع الشاهد.



شكل (1): تأثير المبيدات المختبرة في منع نمو الخيوط الفطرية للعزلة المحلية T1

يلاحظ من خلال هذه النتائج أن تأثير المبيد هكساكونازول في التركيزين 10و100 ppm متشابهاً إذ منع نمو الفطر بشكل كامل في حين كان التأثير الأقل للتركيز 0.1 ppm ثم التركيز 1 ppm مع وجود فروق معنوية بين التراكيز والشاهد عند المستوى 5 %وبين التراكيز فيما بينها ماعدا التركيزين 10 و100 ppm . وكان تأثير المبيد كلوروتالونيل متشابهاً في التركيزين 10و100 ppm حيث أعاق نمو الفطر بنسبة 93.70%و 95.71%على التوالي بينما كان التأثير الأقل للتركيز 0.1 ppm بنسبة منع نمو لم تتجاوز 37.88 % تلاه التركيز 1 ppm مع وجود فروق

معنوية بين التراكيز والشاهد وبين التراكيز فيما بينها ماعدا التركيزين 10 و100 ppm. وكان تأثير المبيد مانكوزيب ضعيفاً حتى في التركيز 100 ppm حيث بلغ متوسط نصف قطر المستعمرة المتشكلة 33.5 مم في بيئة تحتوي هذا التركيز وكانت نسبة منع النمو 38.60% وازداد متوسط نصف قطر المستعمرة المتشكلة في بيئة تحتوي التركيز 10 ppm مع وجود فرق معنوي بين التركيزين مع بعضهما ومع الشاهد. بينما كان تأثيره متشابهاً في التراكيز 1 , 0.1 ppm ولم يوجد فرق معنوي بين التركيز 0.1 ppm والشاهد وبين التركيزين 1 و10 ppm. أما المبيد ميتالاكسيل فكان الأضعف تأثيراً إذ بلغ متوسط نصف قطر المستعمرة المتشكلة 39.75 مم في التركيز 100 ppm و كان تاثيره متقارباً في التركيزين 10 , 1 ppm حيث بلغت نسبة منع النمو 9.09% و14.83% على التوالي مع وجود فرق معنوي بينهما وبين التركيز 100 ppm والشاهد، وكان تأثيره أقل مايمكن في التركيز 0.1 ppm حيث لم يوجد فرق معنوي بينه وبين الشاهد.

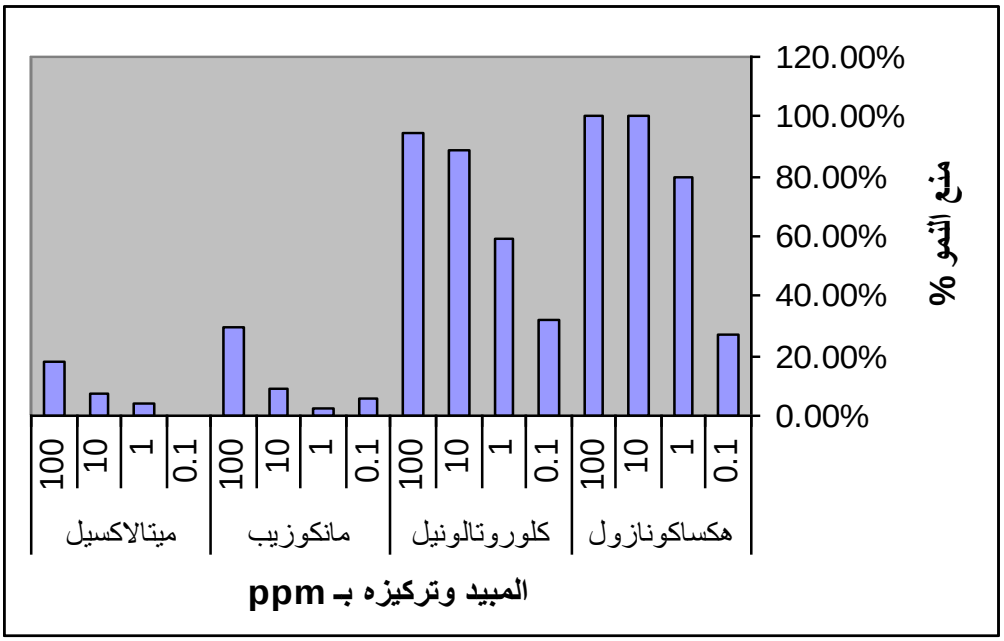
وبالمقارنة بين تأثير كل من المبيدات الأربعة على العزلة T1 من حيث النسبة المئوية لمنع النمو بالمقارنة مع الشاهد كانا المبيدين هكساكونازول وكلوروتالونيل الأكثر تأثيراً إذ منع المبيد هكساكونازول النمو بشكل كامل بالتركيزين 10و100 ppm كما كانت النسبة المئوية لمنع النمو في التركيزين 1 و0.1 ppm على التوالي 71.84% و 26.49 %، بينما كانت النسبة المئوية لمنع النمو للمبيد كلوروتالونيل بالتراكيز (0.1,1,10,100) ppm هي على التوالي (95.71% ,93.69% ,66.67% ,37.88%) ، تلاهما المبيد مانكوزيب إذ كانت النسبة المئوية لمنع النمو بالمقارنة مع الشاهد بالتراكيز (0.1,1,10,100) ppm هي على التوالي (38.60% , 20.51 % , 13.40% , 8.25%)،بينما جاء المبيد ميتالاكسيل في المرتبة الأخيرة حيث كانت النسبة المئوية لمنع النمو بالمقارنة مع الشاهد بالتراكيز (0.1,1,10,100) ppm هي على التوالي (23.92% , 9.09% , 14.83% , 0%).

كما يبين الجدول /2/ متوسط نصف قطر المستعمرة الفطرية للعزلة التجارية تحت تأثير المبيدات المختبرة بعد ثلاثة أيام من المعاملة.

الجدول /2/: متوسط نصف قطر المستعمرة المتشكلة للعزلة Tbio تحت تأثير المعاملة بالمبيدات المختبرة

المبيد	الشاهد	التركيز ppm0.1	التركيز ppm1	التركيز ppm10	التركيز ppm100	LSD
هكساكونازول	62.75 A	45.75 B	12.5 C	0 D	0 D	2.68
كلوروتالونيل	51 A	34.5 B	20.75 C	5.625 D	3 E	1.29
مانكوزيب	51.75 ABC	48.625 BCD	50.625 CD	47 D	36.625 E	4.39
ميتالاكسيل	54.5 ABC	55.25 BC	52.75 CD	50.25 D	44.5 E	2.87

كما يبين الشكل (2) المقارنة بين تأثير المبيدات المختلفة في منع نمو الفطر بالمقارنة مع الشاهد.



شكل (2): تأثير المبيدات المختبرة في منع نمو الخيوط الفطرية للعزلة التجارية Tbio

نلاحظ من هذه النتائج أن تأثير المبيد هكساكونازول في التركيزين 10و100 ppm متشابهاً إذ منع نمو الفطر بشكل كامل في حين كان تأثيره ضعيفاً في التركيز 0.1 ppm بنسبة منع نمو 27.09% ثم التركيز 1 ppm بنسبة منع نمو 80.08% مع وجود فروق معنوية بين التراكيز و الشاهد . تناسب نمو الفطر عكساً مع زيادة تركيز المبيد كلوروتالونيل إذ كان نصف قطر المستعمرة أقل مايمكن عند التركيز 100 ppm ويزداد كلما انخفض تركيز المبيد مع وجود فروق معنوية بين التراكيز الأربعة للمبيد والشاهد . بينما كان نمو الفطر ضعيفاً على البيئة الحاوية على المانكوزيب بتركيز 100 ppm حيث بلغت نسبة منع النمو 29.23%ولكن مع وجود فرق معنوي مع الشاهد والتراكيز الأخرى، وتشابه تأثير المبيد بالتراكيز 10 , 1 , 0.1 ppm وكانت نسبة منع النمو 9.18% و2.17% و 6.04%على التوالي .مع وجود فرق معنوي بين التركيز 10 ppm والشاهد بينما لم يوجد فرق معنوي بين المعاملة بالتركيزين 0.1 و1 ppm والشاهد. كذلك أعطى الفطر نمواً جيداً على البيئة الحاوية على الميتالاكسيل بتركيز 100 ppm ولكن مع وجود فرق معنوي بين هذا التركيز و الشاهد والتراكيز الثلاثة المتبقية، في حين تشابه تأثير المبيد بالتركيزين 10 , 1 ppm بوجود فرق معنوي بين التركيز 10 ppm والشاهد بينما لم يوجد فرق معنوي بين المعاملة بالتركيزين 1 , 0.1 ppm والشاهد .

وبالمقارنة بين تأثير المبيدات المختبرة على نمو الخيوط الفطرية للعزلة Tbio نلاحظ أن المبيد هكساكونازول كان الأكثر تأثيراً إذ منع النمو بصورة كاملة بالتركيزين 10و100 ppm بينما كانت النسبة المئوية لمنع النمو في التركيزين 1 و0.1 ppm هي على التوالي (80.08% , 27.09%) ، تلاه المبيد كلوروتالونيل حيث كانت النسبة المئوية لمنع النمو للمبيد كلوروتالونيل بالتراكيز (0.1,1,10,100) ppm هي على التوالي (94.12% , 88.97% , 59.31% , 32.35%)، ثم جاء المبيد مانكوزيب بفارق كبير عنهما إذ بلغت النسبة المئوية لمنع النمو بالتراكيز (0.1,1,10,100) ppm على التوالي(29.23% , 9.18% , 2.17% , 6.04%) ، ثم المبيد

ميتالاكسيل الذي احتل المرتبة الأخيرة حيث بلغت النسبة المئوية لمنع النمو بالتراكيز (0.1,1,10,100) ppm على التوالي (18.35% , 7.8% , 4.13% , 0%).

و من خلال المقارنة بين تأثير المبيدات المختبرة في نمو الخيوط الفطرية للعزلتين نلاحظ تشابهاً كبيراً في حساسية العزلتين المحلية والتجارية تجاه المبيدات المختبرة للتراكيز المختلفة لكل مبيد باستثناء المبيد مانكوزيب الذي كان أكثر تأثيراً في العزلة المحلية بالتراكيز 100و 10 و 1 ppm .

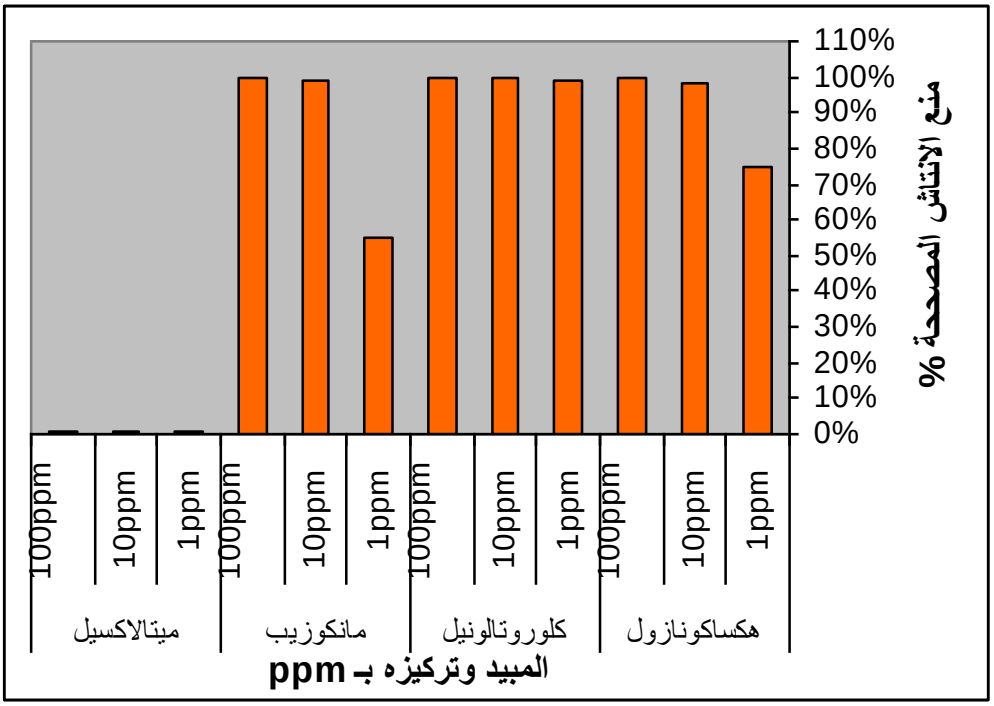
2 – تأثير المبيدات المستخدمة في انتاش الأبواغ:

يبين الجدول /3/ متوسط نسبة انتاش أبواغ العزلة المحلية T1 تحت تأثير المبيدات المختبرة بعد 24 ساعة من المعاملة

الجدول /3/: متوسط نسبة انتاش أبواغ العزلة T1 تحت تأثير المبيدات المختبرة

المبيد	الشاهد	التركيز 1ppm	التركيز 10ppm	التركيز 100ppm	LSD
هكساكونازول	98 A	24.5 B	1.5 C	0 C	3.104
كلوروتالونيل	98.5 A	1 B	0 C	0 C	0.982
مانكوزيب	99.5 A	44.5 B	1.02 C	0 C	2.35
ميتالاكسيل	98.5 A	97.5 A	98 A	97.5 A	2.59

كما يبين الشكل (3) المقارنة بين تأثير المبيدات المختلفة في منع انتاش الأبواغ بعد استبعاد تأثير العوامل الطبيعية في الانتاش.



مخطط (3): تأثير المبيدات المختبرة في منع انتاش أبواغ العزلة المحلية T1

نلاحظ من هذه النتائج التأثير الكبير للمبيدين هكساكونازول وكلوروتالونيل في انتاش الأبواغ في جميع التراكيز حيث منعا الانتاش بشكل كامل في التركيز 100 ppm لكل منهما كما بلغت النسبة المئوية لمنع انتاش الأبواغ للمبيد هكساكونازول بالتركيزين 10 و 1 ppm 98.5%و 75.5%على التوالي و100%و 99% للمبيد كلوروتالونيل مع وجود فروق معنوية بين التراكيز والشاهد. أما المبيد مانكوزيب فكان تأثيره جيداً أيضاً بالتركيزين 10و100 ppm إذ منع الانتاش بشكل كامل في التركيز 100 ppm وبلغت نسبة منع الانتاش بالتركيز 10 ppm 98.98%بينما انخفض تأثيره بالتركيز 1 ppm حيث بلغت نسبة منع الانتاش 55.5%مع وجود فروق معنوية بين التراكيز والشاهد . وعلى العكس من ذلك كان تأثير المبيد ميتالاكسيل مهمل ومتشابه في جميع التراكيز(1,10,100) ppm إذ بلغت نسبة منع الإنتاش في هذه التراكيز على التوالي 2,%2.5% , 2.5% ولم توجد فروق معنوية بين المعاملة بالمبيد والشاهد.

وبالمقارنة بين تأثير المبيدات الأربعة في انتاش الأبواغ للعزلة T1 بعد إهمال تأثير العوامل الطبيعية على الانتاش نلاحظ أن المبيد كلوروتالونيل كان الأكثر تأثيراً حيث منع الانتاش بصورة كاملة بالتركيزين 10و100 ppm بينما كانت النسبة المئوية لمنع الانتاش المصححة بالتركيز 1 ppm 98.98% ، تلاه المبيد هكساكونازول الذي منع الانتاش بصورة كاملة بالتركيز100 ppm بينما كانت النسبة المئوية لمنع الإنتاش المصححة بالتركيزين 10و1 ppm 98.47% و 75% على التوالي، واحتل المبيد مانكوزيب المرتبة الثالثة إذ كان تأثيره مشابهاً للمبيد هكسازول بالتركيزين 10و100 ppm بينما كان هناك فرق معه بالتركيز 1 ppm إذ بلغت النسبة المئوية لمنع الانتاش المصححة 55.28%، وأتى المبيد ميتالاكسيل في المرتبة الأخيرة لعدم تأثيره إذ بلغت النسبة المئوية لمنع الانتاش المصححة بالتراكيز1,10,100 ppm على التوالي1.02% , 0.51% , 1.02% .

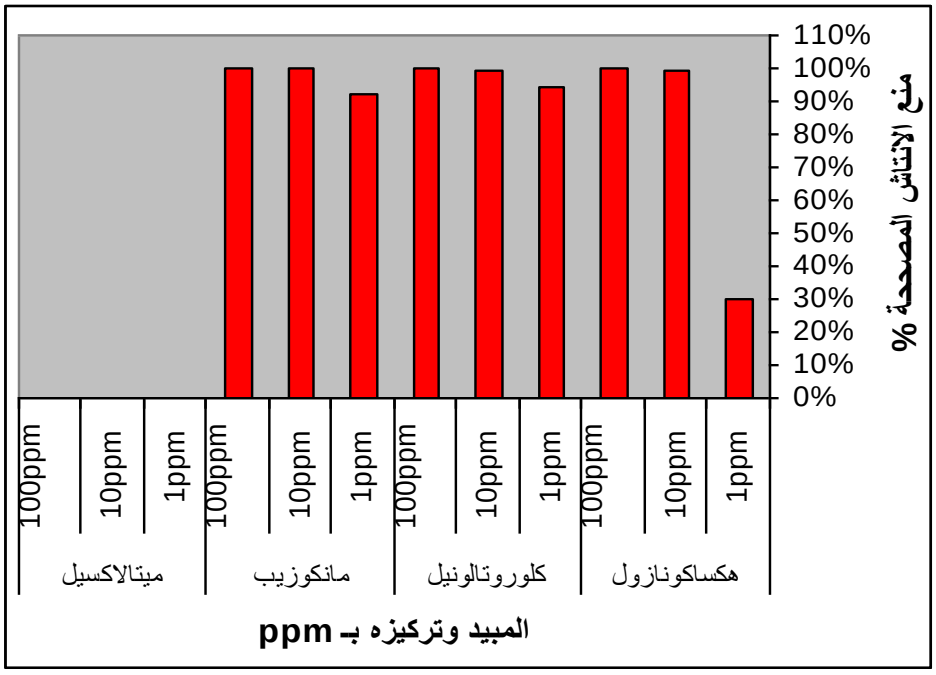
كما يبين الجدول /4/ متوسط نسبة انتاش أبواغ العزلة التجارية Tbio تحت تأثير المبيدات المختلفة بعد 24 ساعة من المعاملة

الجدول/4/: متوسط نسبة انتاش أبواغ العزلة Tbio تحت تأثير المبيدات المختبرة

المبيد	الشاهد	التركيز 1ppm	التركيز 10ppm	التركيز 100ppm	LSD
هكساكونازول	97.5 A	68.15 B	1 C	0 C	2.46
كلوروتالونيل	99 A	6 B	1 B	0 B	7.85
مانكوزيب	98.5 A	7.98 B	0 C	0 C	2.54
ريدوميل ذهبي	98.5 A	98.5 A	99 A	98.5 A	1.7

كما يبين الشكل (4) المقارنة بين تأثير المبيدات المختلفة في منع انتاش أبواغ العزلة Tbio بعد استبعاد تأثير العوامل الطبيعية على الانتاش. نلاحظ من هذه النتائج التأثير الكبير للمبيد هكساكونازول في إنتاش الأبواغ إذ منع الانتاش بصورة كاملة في التركيز 100 ppm كما بلغت نسبة منع الانتاش بالتركيز 10 ppm 99%، في حين انخفض تأثيره إلى 31.85% بالتركيز 1 ppm مع وجود فروق معنوية بين التراكيز والشاهد. كذلك كان للمبيد كلوروتالونيل تأثير كبير في جميع التراكيز إذ منع الانتاش بصورة كاملة في التركيز 100 ppm كما بلغت نسبة منع الانتاش بالتركيزين 10 , 1 ppm 99%و 94%على التوالي مع عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز في حين كان

هنالك فروق معنوية بين التراكيز والشاهد.و كذلك المبيد مانكوزيب كان تأثيره كبيراً ومتشابهاً بالتركيزين 10و100 ppm إذ منع الانتاش بشكل كامل، بينما كانت نسبة منع الانتاش بالتركيز 1 ppm 92.02%مع وجود فروق معنوية بين التراكيز والشاهد.



مخطط(4): تأثير المبيدات المختبرة في منع انتاش أبواغ العزلة التجارية Tbio

أما المبيد ميتالاكسيل فقد كان تأثيره مهملاً ومتشابهاً في جميع التراكيز (1,10,100) ppm إذ بلغت نسبة منع الانتاش في هذه التراكيز 0%و 1%و 1.5%على التوالي و لم توجد فروق معنوية بين المعاملة بالمبيد والشاهد.

وبالمقارنة بين تأثير المبيدات الأربعة في إنتاش الأبواغ للعزلة Tbio نلاحظ أن المبيد مانكوزيب جاء في المرتبة الأولى إذ منع الانتاش بصورة كاملة بالتركيزين 10و100 ppm بينما كانت النسبة المئوية لمنع الانتاش المصححة بالتركيز 1 ppm 91.90% تلاه المبيد كلوروتالونيل بفارق بسيط بالتركيزين 10و1 ppm إذ بلغت النسبة المئوية لمنع الانتاش المصححة على التوالي 98.99% و 93.94%، بينما جاء المبيد هكساكونازول بالمرتبة الثالثة بفارق بينه وبين المبيد كلوروتالونيل بالتركيز ppm1 إذ بلغت النسبة المئوية لمنع الانتاش المصححة 30.10%، أما المبيد ميتالاكسيل فقد جاء في المرتبة الأخيرة مع وجود فرق كبير بينه وبين المبيدات الثلاثة السابقة في جميع التراكيز، إذ بلغت النسبة المئوية لمنع الانتاش المصححة في جميع التراكيز 0%.

و من خلال المقارنة بين تأثير المبيدات المختبرة في انتاش الأبواغ للعزلتين المحلية والتجارية يمكن ملاحظة تقارب حساسية العزلتين للمبيدات الأربعة المختبرة مع وجود بعض الفروقات البسيطة في بعض الحالات إذ كانت العزلة المحلية أكثر تأثراً بالمبيد هكسازول من العزلة التجارية بالتركيز المنخفض 1 ppm. في حين كانت العزلة التجارية أكثر حساسية للمبيد مانكوزيب من العزلة المحلية في التركيز المنخفض 1 ppm.

لم توجد دراسات سابقة مسجلة عن تأثير كل من المبيدات هكساكونازول و كلوروتالونيل ومانكوزيب وميتالاكسيل على نمو الخيوط الفطرية وانتاش الأبواغ للفطر تريكودرما ولكن درس تأثير مبيدات أخرى تنتمي

للمجموعات الكيميائية التي تنتمي إليها بعض المبيدات الأربعة السابقة الذكر، إذ أثبت تموز في عام (2005) التأثير الشديد للمبيد فلوزيلازول الذي ينتمي إلى مشتقات التريازول (التي ينتمي إليها المبيد هكساكوناول) على نمو الخيوط الفطرية وانتاش الأبواغ للفطر تريكودرما إذ منع نمو الخيوط الفطرية وانتاش الأبواغ بتراكيز متدنية جداً مقارنة بالتراكيز المطبقة من المبيدات الأخرى المدروسة.

كذلك أثبت حاتم في عام (2003) أن أكثر المبيدات تأثيراً في نمو الفطر تريكودرما هو المبيد فلوزيلازول إذ كانت نسبة انخفاض النمو للفطر عند التركيزين 100 و 10ppm حوالي 100% .

وهذا يتوافق مع نتائج هذه الدراسة.

الاستنتاجات والتوصيات:

1 – التشابه الكبير في حساسية العزلتين المحلية والتجارية من حيث نمو الخيوط الفطرية وانتاش الأبواغ تجاه المبيدات المختبرة للتراكيز المختلفة باستثناء بعض الفروقات البسيطة.

2 – ساهم المبيدان هكساكونازول وكلوروتالونيل في خفض نمو الخيوط الفطرية ونسبة انتاش الأبواغ للعزلتين بالتركيز 1ppm.

3 – منع المبيد هكساكونازول كلياً نمو الخيوط الفطرية للعزلتين في التركيزين 10و100 ppm .

4 – منعا المبيدان كلوروتالونيل و هكساكونازول انتاش الأبواغ للعزلتين بصورة كاملة بالتركيز 100ppm وبشكل شبه كامل بالتركيز 10ppm.

5 – كان تأثير المبيد مانكوزيب ضعيفاً جداً في نمو الخيوط الفطرية للعزلتين في حين منع انتاش الأبواغ للعزلتين بالتركيزين 10و100 ppm وهذا يعود إلى طبيعة الجدر الخلوية للخيوط الفطرية والأبواغ.

6 – لم يلاحظ تأثير واضح للمبيد ميتالاكسيل في نمو الخيوط الفطرية أو انتاش الأبواغ للعزلتين.

وفي حال استخدام الفطر Trichoderma كمبيد حيوي نوصي بما يأتي:

1 – متابعة التقصي والبحث عن مبيدات فطرية أخرى ضعيفة التأثير في الفطر تريكودرما لإدخالها ضمن برنامج الإدارة للمتكاملة للأمراض الفطرية.

2 – متابعة الدراسة ضمن تجارب حقلية للتأكد من النتائج التي تم الحصول عليها.

المراجع:

1. تموز، منذر. *المكافحة الحيوية لبعض فطريات التربة الممرضة لنبات البندورة* . أطروحة ماجستير في وقاية النبات – كلية الزراعة– جامعة تشرين ، 2005 ، 112.
2. حاتم، محمد. *دراسة تأثير بعض المبيدات على المجموعات الرئيسية للكائنات الدقيقة في الترب الزراعية المحمية والحقلية (فطور).*أطروحة ماجستير في وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة تشرين ، 2003 ، 119.
3. ABBOTT, W.S. *method computing the effectiveness of an insecticide*. In J. econ. Entomol. College Park 18, 1925, 265 – 267.
4. BAKER, K.F and COOKE , R.J. *Biological control of plant pathogens*. W.H. Freeman and compaly, San Francisco, 1974, 433.
5. BENITEZ, T., A.M. RINCON, M.C. LIMON and CODON, A.C. *Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains*. Int.. Microbiol., 7,4, 2004, 249-260.
6. CHET, I. ; INBAR, J. ; HADAR, I. *Fungal antagonists and mycoparasites*. In: WICKLOW, D.T.; SODERSTROM, B. (eds) The Mycota IV: *Environmental and microbial relationships*. Springer-Verlag, Berlin, 1997, 165-184.
7. CHET, I. ; INBAR, J. *Biological control of fungal pathogens*. Appl Biochem Biotechnol, 48 , 1994,37-43.
8. DUFFY , B. K. ; OWNLY , B. H., and WELLER ,D.M. *soil chemical properties associated with suppression of take-all of wheat by T . koningii*. Phytopathology, 87 , 1997, 1118- 1124.
9. EL-KATATNY, M.H.; GUDELJ, M.; ROBRA, K.H.; ELNAGHY, M.A.; GUBITZ, G.M. *Characterization of a chitinase and an endo-®-1,3-glucanase from Trichoderma harzianum Rifai T24 involved in control of the phytopathogen Sclerotium rolfsii.* Appl Microbiol Biotechnol ,56 , 2001,137-143.
10. FREMAN , S. ; MINZ , D. ; KOLESNIK ,I ; BARBUL , O. ; ZVEIBIL ,A.; MAYMON,M .; NITZANI , Y. ; KIRSHNER , B. ; DAVID , D.R. ; BILU,A. ; DAG , A .; SHAFIR ,S., and ELAD ,Y. *Trichoderma biocontrol of Colletotrichum acutatum and Botrytis cinerea and survival in strawberry*. Plant pathlogy, 110 , 2004,361 – 370.
11. HARMAN, G.E. ; HOWELL, C.R. ; VITERBO, A. ; CHET, I. ; LORITO, M. *Trichoderma species-opportunistic, avirulent plant symbionts*. Nature Reviews, 2 , 2004, 43-56.
12. HERMOSA, M.R. ; GRONDONA,I. ; ITURRIAGA,E.A. ; DIAZ-MINGUEZ, J.M.; CASTRO,C. ; MONTE, E. ; GARCIA-ACHA,I. *Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of Trichoderma cpp.* Appl Environ Microbiol , 66, 2000,1890 – 1898.
13. HJELJORD, L. and TRONSMO, A. *Trichoderma and Gliocladium in biological control*: *an overview* . 1998 . pp.393. *In* (Eds.) :.HARMAN , G.E. & KUBICEK , C.P. *Trichoderma & Gliocladium-Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*. Taylor & Francis Ltd, London, Great Britain,vol.2,part3,2003, 131-151.
14. HOWELL, C.R . *Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts*. Plant Dis, 87, 2003,4-10.
15. KATAYAMA , A. ; ISEMURA , H. and KUWATSUKA , S. *suppression of chlorothalonjl dissipation in soil by repeated applications.* Pesticide science 16,2, 1991, 233 – 238.
16. KHAN,M.O.and SHAHZAD,S. *screening of trichoderma species for tolerance to fungicides*.j.Bot.Pak.,39,3,2007,945 – 951.

17. MONTE, E. *Understanding Trichoderma: between biotechnology and microbial ecology*. Int Microbiol, 4 , 2001,1 – 4.
18. ODVODY,G.N. and FREDERIKSEM,R.A. *use of systemic fungicides Metalaxyl and Fosetyl – AL for control of sorghum downymildew in corn and sorghum in south TEXAS II : foliar application.* Plant disease , Vol. 68 No.7, 1984, 608 – 609.
19. Omar, P. Eng. *Agricultural use of Trichoderma. Technical revision by Gonzalo Bernaza*, Eng. and Miguel Acosta,2006. in KHAN,M.O.and SHAHZAD,S. *screening of trichoderma species for tolerance to fungicides*.j.Bot.Pak.,39,3,2007,945 – 951.
20. PARK,K.I. ; KIM,Y.K. ; CHO,S.I. and YAO,M.H. *molecular and crystal structure of metalaxyle, C15H21NO4. C*rystallography KOREAN , Vol.13 , No. 3/4, 2002 , 148 – 151.
21. RAM, P.; MATHUR , K. and LODHA , B.C. *Integrated management of rhizome rot of ginger involving biocontrol agents and fungicides*. J. Mycol. Plant Pathol., 29,3, 1999, 416-420.
22. RANASINGH,N.; SAURABH,A. and NEDUNCHEZHIYAN,M.*use of trichoderma in disease management.*Orissa Review ,2006, 68 – 70.
23. REINO , J.L. ; GUERRERO ,R.F ; GALAN , R.H., and COLLADO , I.G. *Secondary metabolites from species of the biocontrol agent Trichoderma.*Phytochem Rev, 7 , 2008, 89 – 123.
24. ROBERTI ,R. ; BADIALI ,F.; PISI,A .;PANCALDI ,D., and CESARI ,A. *Sensitivity of Clonostachys rosea and Trichoderma spp. As Potential Biocontrol Agents to Pesticides*. Phytopathology, 154, 2006, 100 – 109.
25. SHAFIR ,S. ; DAG,A. ; BILU ,A. ; ABU-TOAMY ,M. , and ELAD ,Y. *Honey bee dispersal of biocontrol agent Trichoderma harzianum T39: effectiveness in suppressing Botrytis cinerea on strawberry under field conditions* .Plant Pathology, 116, 2006, :119 – 128.
26. SRINIVAS, P. and RAMAKRISHNAN, G. *Use of native microorganisms and commonly recommended fungicides in integrated management of rice seed borne pathogens*. Annl. Pl.Protect. Sci., 10,2, 2002, 260-264.
27. SUN, M.H. and LIU , X.Z. *Carbon requirements of some nematophagous, entomophathogenic and mycoparasitic hyphomycetes as fungal biocontrol agents.* Mycopathologia, 161, 2006, 295-305.
28. TAWIL, M.Z. *Synthese et tests biologiques (correlation structeur activite) de composes heterocyclique susceptibles de presenter une activite anti-fongique.* These docteur ES Science. Presente a l universite D AIX-MARSEILLE III (FRANCE). 1985.
29. TIAMOS, E.C.; PAPAVIZAS, G.C. and COOK, R.J. (eds) . *Biological control of plant disease*s. Progress and challenges for the future , New York ,. Plenum Press, 1992. in BENITEZ, T., A.M. RINCON, M.C. LIMON and CODON, A.C. *Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains*. Int.. Microbiol., 7,4, 2004, 249-260.
30. VINCENT, J.M. *Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors*. *Nature*, 159 , 1947,850.
31. VINCENT, P.G. and SISLER, H.D. *mecahanism of antifungal action of 2,4,5,6,tetrachloroisopthalonitri*l . phsiol. Plant .21, 1968, 1249 – 1264.