004/2002

الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة - جيجل-

معهد البيولوجيا

09/02

مذكرة تخرج

لنيل شهادة الدراسات العليا (D.E.S)

في البيولوجيا

فرع: بيوكيمياء

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة
المركز الجامعي جيجل

تأثير بعض المبيدات على نمو وإنتاج أبواغ الفطر (Beauveria bassiana)

من إعداد الطالبتين:

حـرحود وافيـــة

شيهـوب خيـــرة

تحت إشراف الأستاذ:

بوحـوس مصطفـــى

مكتبة

دفعة: 2002/2001

تشكـــــــــرات

نتقدم بتشكراتنا إلى الأستاذ المشرف

بوحوس مصطفى الذي أرشدنا في إنجاز هذا البحث.

كما نشكر الأساتذة: معياش بوعلام، بوالجدري محمد.

ونشكر أيضا كل أساتذة معهد البيولوجيا.

وفي النهاية نشكر كل من ساعدنا من قريب أو من بعيد في إنجاز هذه

المذكرة.

مقدمة..... ص01

I- الجزء النظري

I-1 تقسيم الفطريات ص02

I-1-1 حسب مصادر الغذاء ص02

I-1-2 حسب المميزات..... ص02

I-2 الأضرار و الفوائد الإقتصادية للطوائف..... ص03

I-3 الفطريات الناقصة..... ص03

I-4 التصنيف ص05

I-4-1 الشكل المرفولوجي للفطر Beauveria bassiana ص05

I-5 العوامل البيئية المؤثرة على الممرضات الحشرية ص05

I-5-1 الحرارة ص07

I-5-2 الرطوبة ص07

I-5-3 الضوء و الإشعاع ص08

I-6 المبيدات ص08

I-6-1 تعريف المبيد ص08

I-6-2 الأقسام الرئيسية للمبيدات ص08

I-6-3 خصائص بعض المبيدات الفطرية ص10

الجزء العملي

II- المواد والطرق ..... ص 11

II-1 تحضير الوسط PSA..... ص11

II-2 تحضير الفطر ص11

II-3 إستخلاص الأبواغ ص11

II-4 إختبار حساسية الفطر للمبيدات ص11

II-4-1 معاملة وسط الزرع بالمبيدات ص11

III- النتائج ص13
III -1 تأثير المبيدات على الفطر Beauveria bassiana..... ص13
أ- النمو القطري ص13
ب-إنتاج الأبواغ ص20
IV- المناقشة..... ص22
- الخاتمة..... ص23

الجزء النظري

المقدمة :

تلعب مبيدات الآفات دورا هاما في حياة الإنسان و رفاهيته فهي تكافح الآفات الزراعية فتوفر بذلك الغذاء بزيادة الإنتاج كما تكافح الآفات الناقلة للأمراض و الآفات المنزلية (آفات الصحة العامة) ،و مند اكتشاف المبيدات و ظهور نتائجها الإيجابية بدأت تستخدم بكثرة حتى و صلت درجة الإسراف .

هذا الإسراف و استخدام المبيدات بكثرة نتجت عنه آثار جانبية سيئة على التلوث البيئي و صحة الإنسان .

و تشير الدراسات في الولايات المتحدة (1995) إلى تعرض أكثر من 97000 حالة تسمم بالمبيدات .

و لذلك تم التفكير في طرق أخرى بديلة للمقاومة منها استعمال المبيدات الفطرية كالمكافحة الميكروبيولوجية مثل : البكتيريا *Bacillus thuringiensis* التي تستعمل في مكافحة العديد من الأنواع الحشرية و هناك فطريات ممرضة للحشرات منها الفطر *Metarhizium anisopliae* الذي يستعمل في مكافحة الجراد و كذلك الفطر *Verticillium lecani* الذي يستعمل في مكافحة المن (*Aphids*) (1981, Hall) .

و من هذه الفطريات الفطر*B.bassiana* و الذي عرف كمادة بيولوجية تستعمل في مكافحة الآفات الحشرية الضارة بالمحاصيل الزراعية ،و لقد درس PARMER(1965) تأثيره على دودة الحرير Heliothis zeoالذي يسبب لها المسكاردين (Muscardine)

و نهدف من خلال هذا العمل إلى دراسة تأثير المبيدات الفطرية المستعملة حقليا في مكافحة الآفات على نمو الفطر *B.bassiana* و إنتاج الأبواغ التي تضمن انتشار الوباء في وسط الآفة و ذلك لغرض تجنب برمجة استعمالها إلى جانب هذا الفطر في المكافحة البيولوجية للآفات الحشرية .

I-1- تقسيم الفطريات:

الفطـــريات حقيقية النواة وثالوسها الفطري لا يحتوي على جذور وسيقان وأوراق وتشبه الطحالب مـــن حيث تركيبها فيتركب جسمها الفطري من خلية واحدة، أو خيطا فطريا Hyphae وهو عبارة عن خـــيوط رفـــيعة مـــن الفطـــر، يكون مقسما إلى عدد من الخلايا تفصلها حواجز عرضية تسمى Septa، تكـــون هـــذه الخلايـــا وحيدة النواة أو ثنائية أو عديدة الأنوية، أو قد يكون الخيط الفطري غير مقسم إلى خلايـــا أي عديـــم الحواجـــز ويطلق عليه مدمج خلوي، وعندما تكون الخيوط(الهيفات) الفطرية متفرعة ومتشـــابكة تكـــون غـــزلا فطـــريا. والفطريات لا تحتوى على الكلوروفيل ولذلك فهي غير ذاتية التغذية، ويمكن تقسيمها:

I-1-1- حسب مصادر الغذاء:

فطـــريات مـــتطفلة: وهي التي تستمد غذائها من الخلايا الحية للإنسان أو الحيوان أو النبات فتسبب لها أمراضا تسمى بالأمراض الفطرية، مثل فطر صدأ القمح.

فطـــريات مـــترممة: وهـــي التي تعتمد على المواد العضوية سواء كانت بقايا حيوانية أو نباتية. مثل فطر عفن الخبز وفطر عيش الغراب.

فطـــريات اختـــيارية: تعـــيش في الظروف الطبيعية مترممة فإذا وجدت الظروف ملائمة للتطفل فإنها تســـتطيع التطفل، والعكس كأن تعيش في الأصل متطفلة ولكنها إذا لم تجد العائل الملائم فإنها تلجأ إلى الترمم، مثل فطريات التفحم للذرة والقمح وأوراق النخيل.

الفطـــريات المـــتكافلة: وهي التي تعيش بطريقة التكافل أي تبادل المنفعة مع كائنات حية أخرى فتكون مـــع الطحالب (الأشنات)، وتكون مع جذور النباتات(فطريات الجذور)، حيث يتكافل الفطر مع الكائن الآخـــر ليحصـــل علـــى المـــواد الغذائية التي لا يستطيع تكوينها بنفسه ويساعد الفطر الكائن الآخر في امتصاص الماء والمواد المذابة. وتعرف هذه العلاقة بالعلاقة التكافلية.

تضـــم أكـــثر مـــن 100نوع، ويزداد هذا الرقم باستمرار، وتوجد في كل مكان تتوافر فيه المواد العضـــوية، فهـــي بغزارة في الظلام والضوء الضعيف وخاصة في البيئات الرطبة، والحارة والمعتدلة والباردة، وفي التربة والهواء وقليل منها في مياه البحار والأنهار والبرك. (المكافحة الحيوية)

I-1-2- حسب المميزات :

يعتمد تصنيف الفطريات على عدة مميزات رئيسية أهمها:

- وجود أو عدم وجود الأطوار المتحركة في دورة الحياة.
- انقسام أو عدم انقسام الخيط الفطري إلى خلايا

- شكل و ترتيب أسواط الأبواغ السابحة.

- نـــوع وطبيعة الأبواغ الجنسية المتكونة بعد التزاوج الجنسي فقد تكون أبواغ بيضية أو أبواغ زيجوية أو أبواغ كيسية أو أبواغ (زقية) بازيدية.

وعلى هذا الأساس تقسم الفطريات إلى عدد من الطوائف الرئيسية أهمها:

* طائفة الفطريات الكيتريدية.*chytridiomycetes*
* طائفة الفطريات البيضية. *Oomycetes*
* طائفة الفطريات الزيجوية. *Zygomycetes*
* طائفة الفطريات الكيسية (الزقية). *Ascomycets*
* طائفة الفطريات البازيدية . *Basidomycets*
* طائفة الفطريات الناقصة.*Deuteromycetes* (عالم الفطريات)

I-2- الأضرار والفوائد الاقتصادية لبعض الطوائف:

- **الفطريات الكيسية(الزقية):**

تلعـــب الأنـــواع الرمية و الطفيلية دور في تحلل المواد العضوية سواء النباتية أو الحيوانية مســـببة فســـادها، ويســـتفاد مـــنها في الأغراض الصناعية كتحضير الفيتامينات، الأنزيمات، المضادات الحيوية،الخبز والجبن.

- **الفطريات البازيدية:**

فطـــريات مجهرية تتطفل على النباتات مسببة لها تلفا مثل أمراض الصدأ وأمراض التفحم وبعضـــها يتطفل على أشجار الغابات وأشجار الظل، والبعض يعيش مترمما في التربة، وتضم أنواع من الفطريات عيش الغراب المستهلكة وهي معروفة منذ القدم.

I-3- الفطريات الناقصة *Deutromycetes* :

هـــي مجموعـــة كبـــيرة للغايـــة من فطريات يتكون مسيليومها من هيفات مقسمة ومتفرعة وتتكاثر لا جنســـيا فقـــط بتكويـــن الكونيديات، بينما لم تكتشف لها حتى الآن طريقة التكاثر الجنسي ، ولما كانت هـــذه الفطـــريات ينقصـــها وجـــود الطـــور الجنســـي لذلـــك أطلق عليها اسم الفطريات الناقصة *Imperfect Fungi*.

معظـــم هـــذه الفطريات تكون أطوار كونيدية شديدة الشبه بالأطوار الكونيدية لبعض الفطريات الأسكية المعـــروفة، وعلـــى ذلك يمكن اعتبار معظم الفطريات الناقصة أطوار كونيدية لفطريات آسكية تنتج في الطبـــيعة أطوارهـــا الجنسية تحت ظروف خاصة نادرة لم تشاهد حتى الآن، وأنها خلال تطورها تخلت تماما عن إنتاج الأطوار الأسكية في دورة حياتها.

ومن مميزاتها نذكر أنها:

- تتكاثر لا جنسيا بتكوين الأبواغ الكونيدية.

- تعيش مترممة في التربة وعلى بقايا النباتات وبعضها يعيش متطفلا على النباتات والإنسان.

مثال: أنواع من الفيوزاريوم – الألترانيا – أنواع من البنسيليوم – أسيروجللس
وتضم هذه الفطريات بعض الرتب التي ترتبط أفرادها إرتباطا وثيقا بالحشرات، ومن أهمها:

- رتبة. *Sphaeropsidales*

- رتبة *moniliales* وهي أكبر الرتب في الفطريات الناقصة، فهي تضم أكثر من مائة ألف نوع، كثير منها له أهمية خاصة بالنسبة للإنسان، سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة.

نذكر على سبيل المثال : محمد علي (1998) .

- **جنس *Beauveria*** :

يعتـبر أكثر الفطريات الممرضة للحشرات طبيعيا في الحقول، حيث يسبب مرض المسكاردين الأبيض لعديد من العوامل الحشرية ، و من أهم الأنواع التابعة له :

- فطر *Beauveria bassiana*.

- فطر *Beauveria bronyniaru*.

ويضـم فطـر *B.bassiana* عديـدا من السلالات التي تختلف في إصابة العوامل الحشرية ويمتاز هذا الفطر بأن كونيدياته تعيش لفترة طويلة إلا أنها تتكون بكميات محدودة و يصيب هذا الفطر يرقات دودة الحرير و دودة الشمع و صغار سبات الذرة الأروبي.

وتحـت الكـبوة عـن طريق التصاق كونيدة الفطر بجلد اليرقة حيث تنبت بعد حوالي يومين مكونـة أنـبوب إنـبات يخـترق جلد اليرقة محللا أنسجتها وتصل هيفات الفطر إلى التجويف الدموي وتهاجم الدم مما يتسبب في شلل اليرقة وموتها.

وتظهـر هيفات الفطر ذات اللون الأبيض على سطح اليرقات الميتة ثم تتكون الكونيديات بعد حوالـي يومين وتظهر على اليرقة المصابة بقع زيتية عند أماكن اختراق أنابيب الإنبات لجلد الحشرة نتـيجة تحلـل المشيمتين بفعل أنزيمات الفطر ويلاحظ توقف الحشرة عن الحركة والتغذية ثم تموت، ومن بين الأجناس كذلك توجد:

- جنس *Culicinomyces* - جنس *Hirsutella* - جنس *Metarhizium*

- جنس *Nomuraea* - جنس *Paecilomyces* - جنس *Tolypacladium*

- جنس *Verticillium* الأروبى

www.educast.gov.sa/qAteFF/ahyaa/Kingdoms/fungi.htm

I-4- تصنيف الفطر *B. bassiana* :

القسم :*Eumycota*

الصف :*Deuteromycetes*

الرتبة : *Monilianes*

العائلة :*Moniliaceae*

الجنس : *Beauveria*

النوع : *Beauveria bassiana*

(botton و أخرون 1990)

I-4-1- الشكل المورفلوجي:

ينتمي هذا الفطر إلى الفطريات الناقصة، فتتميز بالمسيليوم المقسم وتتكاثر لا جنسيا فقط، وذلك بتكوين الأبواغ على حوامل أو داخل تراكيب إكثارية خاصة(شكل 1) .

كثير من الفطريات الناقصة تهاجم الحشرات ومنها الأجناس:

Trichoderma, Metarhizium, Beauveria

- النوع:

يوجد النوع ***B. bassiana*** غالبا في التربة، وهو عادة طفيلي على الحشرات (دودة القز خاصة). وهو عبارة عن فطر خيطي، صوفي أبيض اللون في البداية ثم يصبح وردي أو أصفر بعد فترة من النمو. إنطلاقا من الهيفات تتكون مجموعة من الحوامل الكونيدية ذات قاعدة منتفخة، دائرية، شفافة ملساء صغيرة الحجم يتراوح قطرها بين 2 إلى 2.5 $m\mu$.

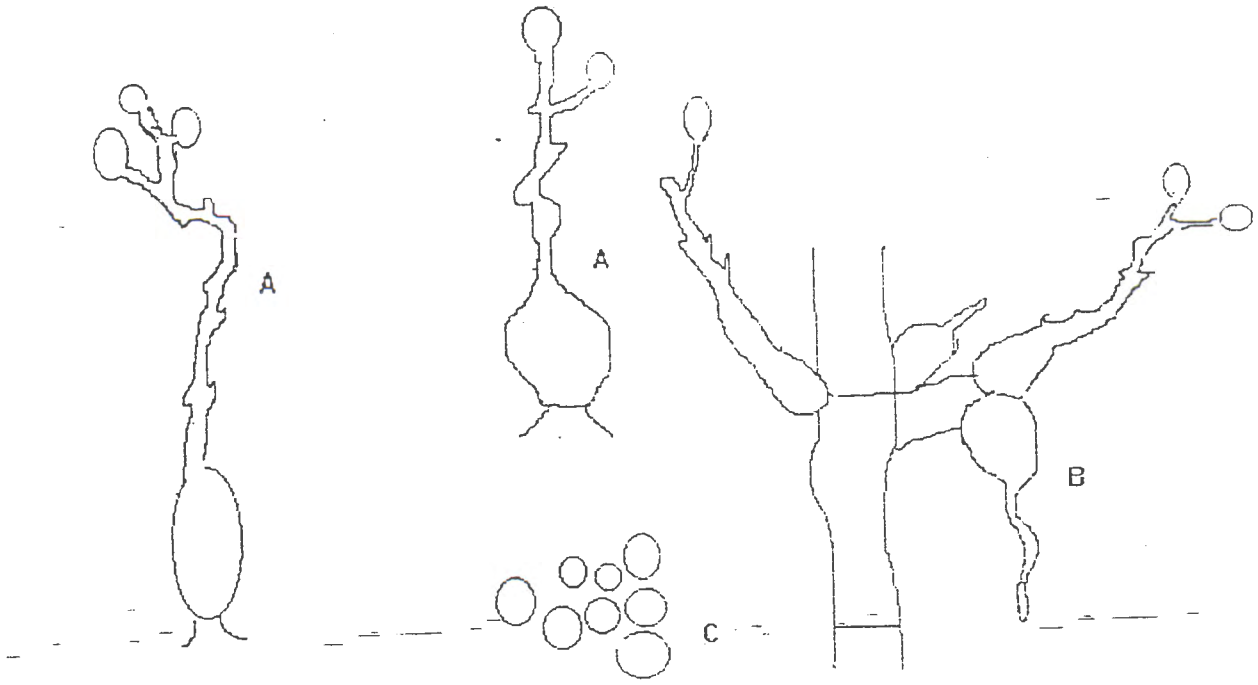
الحوامل الكونيدية تكمل نموها بعد إعطاء الأبواغ، وتكون لها شكل نتوء سني.

وإنتاج المستعمرات أو المجاميع الكونيدية، يؤدي إلى ألياف منعرجة BOTTON et all 1990

I-5-العوامل البيئية المؤثرة على الممرضات الحشرية:

تتأثر الفطريات التي تسبب أوبئة في الحشرات لظروف منها الحرارة والرطوبة. والظروف المناخية المحيطة التي تؤثر في الحشرة في مقاومة المرض في الفطر بدرجات مختلفة مسؤولة لحد كبير عن مقدرة الحشرة في مقاومة المرض أو مقدرة المرض الفطري على بداية العدوى. وهناك عوامل معينة في البيئة سواءا كانت موجودة طبيعيا أو أحدثها الإنسان قد تحد بشدة النمو الطبيعي للحشرة أو المرض.

وعندما نفهم تماما العلاقات المتداخلة بين الحشرات والفطريات الممرضة لها والبيئة إجمالا، فإنه يمكن تقييم ميكانيكيات الأمراض الفطرية ويمكن تطبيقها للإستغلال أو لتثبيط العدوى الفطرية.



الشكل (1) : *Beauveria bassiana*

A – الخلايا البوغية .

B – التراكيب البوغية .

C – الأبواغ .

(BOTTON و آخرون ، 1990)

I-5-1- الحرارة:

بينـــت الدراسات على تأثير درجة الحرارة بأن العدوى بـــ *Beauveria* يعتمد على احتياجات الفطـــر. فالجـــنس *Beauveria* بـــنمو طبيعيا في مدى حراري يتراوح من 0 إلى 40 درجة مئوية، وأمثل نمو بين 22 إلى 26 درجة مئوية، وفي دراسة على الفطريات الممرضة منها *Beauveria bassiana* كشـــفت أن تلك الفطريات تتطلب درجة حرارة بين 15 و 25 درجة مئوية للإنـــبات الجرثومـــي والـــنمو الهيفـــي والإنتاج الحرثومي. وأن أمثل درجات الحرارة لهذه المجموعة لمراحل النمو في الفطريات كانت بين 25 و 30^0 م. وقتلت أبواغ الفطريات بالقرب من 50^0 م وفقدت حيويتها بعد عدة أشهر قليلة على 21^0 م، ولكن عندما خزنت على 8^0م بقيت الأبواغ محتفظة بحيويتها لمدة عام.

وفي دراسة على طول عمر الأبواغ الجافة للـــ *Beauveria bassiana* وجد أن هناك ثلاث ســـلالات مـــن هذا الفطر تنتج أبواغ ذات معدلات حياتية مختلفة. ووجد أنه على 4^0 م بقيت السلالات حـــية من 88 إلى 128 أسبوع، وأن حياة الأبواغ انخفضت بشدة إلى ما بين 6 – 12 أسبوعا على 23 درجة مئوية، وأن الأبواغ التي خزنت على 38^0 م للسلالات الثلاثة المختلفة عاشت لفترة من 4 إلى 7 أسابيع.(عالم الفطريات) .

I-5-2- الرطوبة:

عرف منذ سنوات أن الماء في صورته السائلة أو البخارية ضروري لإنبات الأبواغ في معظم الفطـــريات الممرضـــة، وأن للأنـــواع المخـــتلفة من الفطريات احتياجات رطوبية مختلفة. وفي بعض الإختـــبارات وجد أن بعض الفطريات تتطلب نحو 95 % إلى 100 % رطوبة نسبية ذات أهمية أقل. وقـــد ادعـــى الـــبعض بأن الرطوبة النسبية ذات أهمية أقل في عملية العدوى ولكنها أساسية في إنبات الكونيديات، واعتبرت الرطوبة هامة في نمو الهيفات التكاثرية وإنتاج الأبواغ والتي يمكن أن تنتج فقط إذا اقتربت الرطوبة النسبية من 100 %.

وفي دراسة حقلية على خنافس القلف *Scolitus multistiatus* ذكر أن الفطر *Beauveria bassiana* يقـــتل 92 % من اليرقات في القلف الرطب للأشجار المظللة ولكن 4 % فقـــط مـــن الـــيرقات تقـــتل في القلف الجاف المجموع من أشجار في المواطن المفتوحة الأكثر جفافا.(عالم الفطريات).

I-5-3- الضوء والإشعاع:

وجـد أن أبواغ البكتيريا *Baccilus popilliae* الحديثة التكوين أكثر فاعلية على عائلها عن تلك التي خزنت لفترة طويلة أو عرضت للحرارة العالية أو لأشعة الشمس المباشرة.

ووجد أن الأبواغ تظل في التربة لمدة طويلة قد تصل لمدة خمس سنوات، ولكن تعريض الأبواغ لـ 90 درجة مئوية أو للأشعة فوق البنفسجية يقلل من فاعليتها.

مـن ناحـية أخرى فإن الضوء ذات الموجات القصيرة قد ينبه إنبات أبواغ بعض الفطريات مثل تلك الـتابعة لرتـبة *Entomophtorales*، ولكن عددا من الفطريات مثل البكتيريا والفيروسات قد تفقد فاعليتها عند تعرضها لأشعة الشمس، لهذا قد يجري تطبيق بعض تلك الممرضات ليلا لتجنب ضوء الشمس بعض من الوقت كما يحدث في تطبيق بعض الفيروسات والبروتوزوا على أشجار الغابات في كندا محمد علي : 1990، 1998 .(عالم الفطريات).

I-6- المبيدات:

إن المبـيدات فـي غايـة الأهمـية للمجتمع، إلاّ أنها في غاية الخطورة عند سوء الإستخدام والتخزيـن، وتسـتعمل المبيدات لوقاية الإنسان من نواقل المرض، ووقاية الأغذية والمزروعات من الآفات النباتية والحيوانية.

I-6-1- تعريف المبيد:

المبـيد أي مـادة أو خلـيط من المواد تستعمل لأجل منع أو قتل أو طرد أو الحد من الآفات كالحشرات والقوارض، والحشائش الطفيلية والفطريات والبكتيريا والفيروسات وغيرها، ولكل من هذه الآفـات مبيدات خاصة بها بالإضافة إلى مبيدات أخرى كمنظمات النمو ومزيلات الأوراق والمجففات المستخدمة في وقاية المزروعات.

I-6-2- الأقسام الرئيسية للمبيدات:

تقسم المبيدات كما يلي :

- حسب الطبيعة الكيمياوية .

- حسب الآفة التي تأثر عليها .

I- حسب الطبيعة الكيمياوية :

-مبيدات عضوية هالوجينية :

الكلورين العضوية:

تـم اسـتعمال مبيدات الكلورين العضوية بشكل واسع في الفترة ما بين (1945- 1965) في مكافحـة الآفـات الزراعية والصحة العامة، ومن المشاكل الهامة لهذه المجموعة أنها تؤثر في البيئة

لســنوات طويلــة وعــدم تكسرها بسهولة بالإضافة إلى تراكمها في الأنسجة الذهنية للمستهلك ضمن السلاســل الغذائــية، ومــن أمثلة هذه المبيدات (DDT) وذلك لاستعماله خلال الحرب العالمية الثانية والذي أنقد الملايين من البشر من الأوبئة والأمراض وعلى رأسها الطاعون والكوليرا والملاريا.

ومــع أنه تم حضر استعماله فهو مازال يستعمل في كثير من البلدان النامية لمكافحة الطاعون والملاريــا والليشــمانيا. وتعتــبر هــذه المبيدات سامة جدا وتعمل على اختلال عمليات التكاثر والنمو والتأثير على الجهاز العصبي، ولها علاقة بسرطان الثدي.

- مبيدات عضوية فسفورية :Les organophosphorés

الفوسفات العضوية:

المجموعة الثانية من المبيدات التي استعملت مع بداية الأربعينات، وتتميز بالخواص الجهازية، بمعنى تؤخذ بواسطة الآفات الملازمة للعائل فتؤدي إلى موتها. أمثلة هذه المجموعة الميلاثيون والبراتيون. وتؤكد الدراسات بأن تعرض الأطفال لهذه المبيدات له علاقة وطيدة بسرطان الدم، سرطان المخ، سرطان الجهاز العصبي للأجنة والرضع، وتسمم الأعصاب في البالغين.

- مبيدات الكاربامات : Les carbamats

الكارباميتات:

تــم اســتخدام هــذه المبــيدات بشكل كبير في الخمسينات، ومن أمثلتها (كاربارِيل، مبتومايل، بــرورِكس). وتتمــيز هــذه المجموعة بعدم بقائها في البيئة، ولكنها شديدة السمية لكثير من المخلوقات الحية. ويشتبه في كونها مسرطنة وتسبب أمراض للكلى، والرئتين والكبد والجهاز العصبي والمناعي.

الفينوكسي:

وتتمــثل هــذه المجموعــة في مبيد (2-D-4) الأكثر استخداما في مكافحة الحشائش الطفيلية. وتشير الدراسات لحديثة إلى علاقة هذه المجموعة بالتسرطن.

البيريثرويدس:

وهي البيريثرين المصنع مثل: (الدلتا، السيبرميترين، البريترين). ونجد أن الدراسات لم تبين بعد آثارها السامة على الإنسان والمخلوقات الأخرى، إلا أن البعض منها تؤكد على تأثيرها على الجهاز العصبي وتسببها في بعض الأورام الخبيثة.

.www.egalibya.org/arb/elmajla/second/mash.htm

I-6-3- خصائص بعض المبيدات:

Vectra 10sc:

هـو مبـيد فطري جهازي يحتوي على مادة البروموكونازول من عائلة التريازول ذات فعالية وقائـية وعلاجية ضد البياض الزغبي (أوديوم) للخضروات، العنب والأشجار المثمرة ... ومرض تبقع أشجار التفاح والإيجاص.

Proplant 72,2% cl:

هو مبيد فطري جهازي ووقائي، يستخدم للوقاية ولمكافحة الأمراض الفطرية في التربة كتعفن البذور، وتعفن الشاتلات والسيقان.

Rubigan:

هو مبيد فطري، ينتمي إلى مجموعة *pyrimidines- methanol* يقضي تماما على العديد من الفطريات Anonyme, 1999

2- حسب الآفة التي تأثر عليها :

- مبيدات الحشرات Insecticide
- مبيدات الحشائش . herbicides
- مبيدات البكتيريا . Bactericides
- مبيدات القوارض . Roenticides
- مبيدات الفطريات . Pongicide
- مبيدات الديدان . Nematocides
- مبيدات القرديات . Acoricides

.(Christian et Jean- Louis1985)

II- المواد و الطرق

II-1- تحضير الوسط (*Potatos saccharose Agar) PSA*

توزن 200 غ من البطاطا بعد تقشيرها و تنظيفها و تقطيعها إلى قطع رقيقة ، لتوضع في إناء فيه 500 ملل من الماء المقطر ، يغلى الخليط على موقد بنزن لمدة 1 ساعة ، بعدها يرشح الخليط على شاش،يضاف 20 غ من سكروز إلى ناتج الترشيح مع التحريك ، و في نفس الوقت يتم تحضير ماء الآغار و ذلك بتسخين 500 ملل من الماء المقطر في إناء سعته 1 ل ، على صفيحة التسخين ، ثم يضاف تدريجيا 20 غ من الآغار و ذلك للحصول على الآغار المتجانس يمزج مرشح البطاطا و ماء الآغار للحصول على 1 ل من وسط الزرع (PSA) (BOTTON et al 1990) .

II-2- تحضير الفطر :

نزرع الفطر على وسط Sabouraud ، بواسطة إبرة زرع معقمة ، و يحضن عند درجة حرارة المخبر لمدة 8 أيام .

II-3- استخلاص الأبواغ :

بعد تنمية الفطر لمدة 15 يوما ، نقوم باستخلاص الأبواغ ، و يتم ذلك على 3 مراحل :

- يضاف 10 ملل من Tween 80 (0.02 %) إلى سطح مستعمرة الفطر داخل طبق بتري ، ثم يحك السطح بواسطة إبرة زرع معقمة ، بعدها يحرك الطابق بلطف . و يتم استخلاص الأبواغ .
- يتم ترشيح مستوى طبق بتري بواسطة شاش معقم .
- يتم حساب تركيز الأبواغ بعد إجراء سلسلة التخفيفات اللازمة لكل مستخلص باستعمال خلية THOMASو المجهر الضوئي بالتكبير (x 40).

II-4- اختبار حساسية الفطر للمبيدات :

II-4-1- معاملة وسط الزرع بالمبيدات :

يحضر دورق سعته 250 ملل ، يحتوي على وسط PSA المحضر سابقا ، بوضع في كل دورق التركيز المناسب من المبيد المراد معاملة الفطر به (جدول I) ، مع ترك دورق بدون معاملة كشاهد ، بعد رج محتوى الدوارق جيدا ، يتم التعقيم لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة 120°م . و بعدها يفرغ الوسط في أطباق بتري محدد مركزها ، ويترك ليتصلب الوسط ثم بواسطة ثاقب الفلين.

تؤخذ أسطوانات بقطر 0.5 سم من الفطر المزروع و توضع على سطح الوسط في مركز الأطباق ، تغلق الأطباق بإحكام و يتم الحضن عند درجة حرارة المخبر في الظلام . و يتم حساب قطر النمو بعد 5-10 و 15 يوما (HOKKANEN, 1992)

جدول (I) : المبيدات و التراكيز المستعملة

الاسم التجاري	المادة الفعالة	التركيز المنصوح به	نوع المبيد
Rubigan	Fenarimol (120 g/l)	35 ml / hl	فطري
Vectra	Bromuconazole (100 g/l)	3 ml / hl	فطري
Proplant	Propamocarbehydrochlride (722 g/l)	2-4 l / m^2	فطري

(ANNONYME, 1999)

III - النتائج :

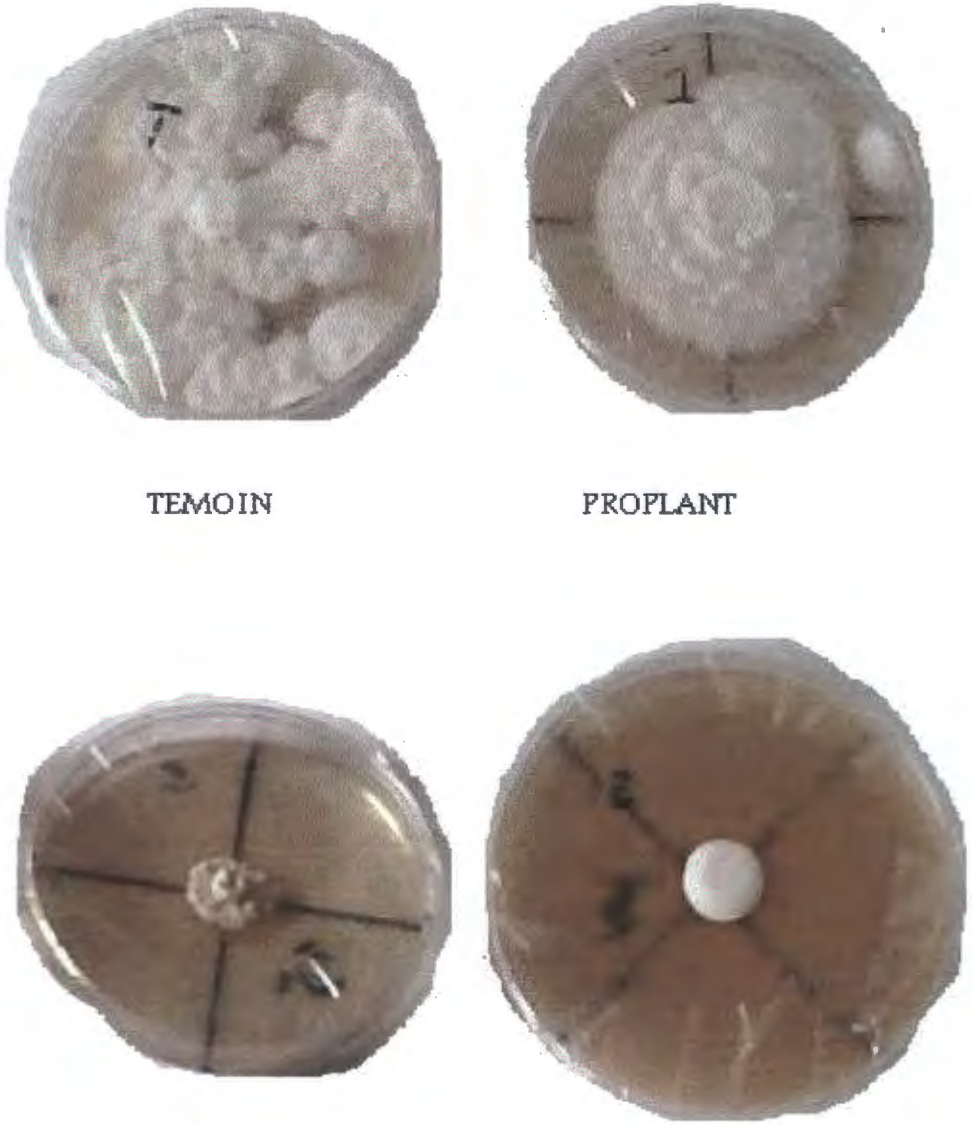
III-1- تأثير المبيدات على الفطر *Beauveria bassiana*

أ – النمو القطري :

تم إجراء التحاليل الإحصائية لمقارنة هذه النتائج باستعمال إختبار + (TEST T)

بعد تنمية الفطر *B. bassiana* على الوسط PSA المعامل و الغير معامل بالمبيدات لمدة 15 يوما ،و قياس أقطار النمو ،تبين أن هناك زيادة في معدل نمو الفطر المستعمل كشاهد ،حيث بلغ معدل النمو الفطري : 3,07 سم ،4,26 سم و 5,72 سم في الأيام 5،10 و 15 على التوالي .

- أما بالنسبة للفطر المنمى على الوسط المعامل بالمبيد *Rubigan* (0,3 x 10 ml/ml) فقد أظهر الفطر حساسية إتجاه هذا المبيد ،بحيث بلغ معدل النمو الفطري (0 سم ،0،56 سم ،1،03 سم) (جدول II) .وذلك بعد 5 ،10 و 15 يوما من الحضن عند درجة حرارة المخبر (شكل2) و (شكل 3–ب) و ذلك مقارنة بالشاهد الذي بلغ أقصى معدل له 5,72 بعد 15 يوم من الحضن (شكل3–ب) و قد تبين من خلال تحليل النتائج إحصائيا و جود فرق معنوي بين معدلات النمو القطري (جدول IV)
- أما بالنسبة للمبيد الفطري *Vectra*، (0.03 x 10 ml /ml) فقد أدى إلى تثبيط كلي لنمو الفطر (جدول،II) و (شكل 2) .
- أما المبيد *Proplant* (2 x 10 ml / ml)، فلم يظهر سوى تأثير قليل على الفطر.(شكل3– أ)

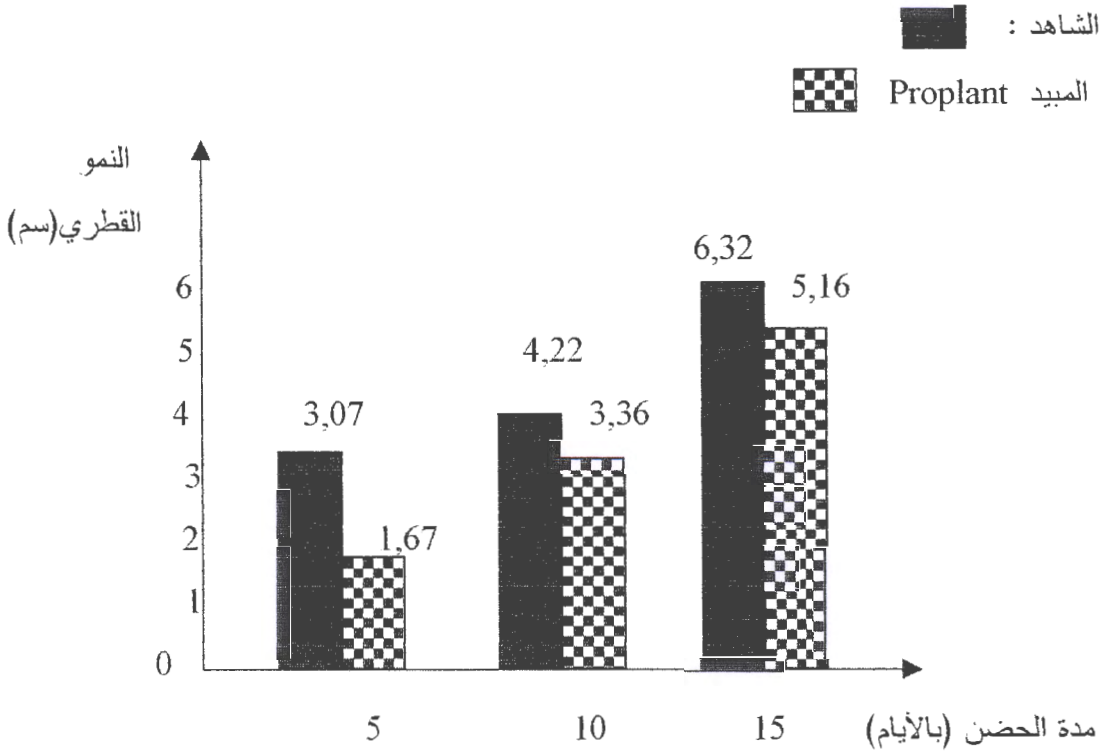


الشكل (2) : تأثير المبيدات Vectra، Rubigan و Proplant على النمو القطري لفطر *B.Bassiana*

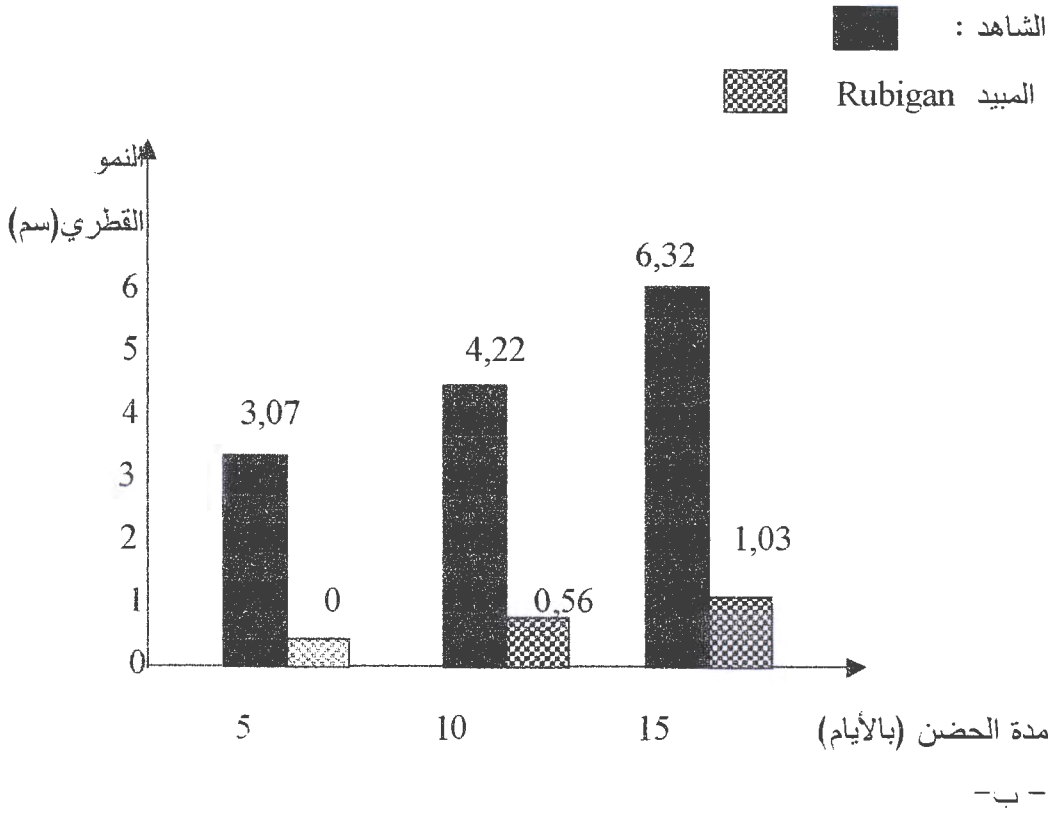
جدول II: تأثير المبيدات المستعملة على النمو الفطري لفطر B.bassiana بعد 5–10 و 15 يوما من الحضن عند درجة حرارة المخبر .

قطر المستعمرة خلال مدة الحضن (سم)												
مبيد Proplant 2×10^{-3} مل / مل			مبيد Rubigan $0,3 \times 10^{-3}$ مل / مل			مبيد vectra $0,03 \times 10^{-3}$ مل / مل			الشاهد			المبيدات
15	10	5	15	10	5	15	10	5	15	10	5	مدة الحضن بالأيام / المكرر
4,65	3,05	1,65	1,4	0,95	0	-	-	-	3,6	2,95	1,3	1
6,6	4,25	3,8	0,7	0,3	0	-	-	-	7,1	4,5	2,1	2
3,73	1,45	0,45	1,2	0,7	0	-	-	-	9,97	4,75	4,2	3
5,52	4,65	0,62	1,1	0,6	0	-	-	-	3,85	3,4	3	4
5,33	3,4	1,85	0,75	0,25	0	-	-	-	7,12	5,5	4,75	5
5,16	3,36	1,67	1,03	0,56	0	-	-	-	6,32	4,22	3,07	المعدل

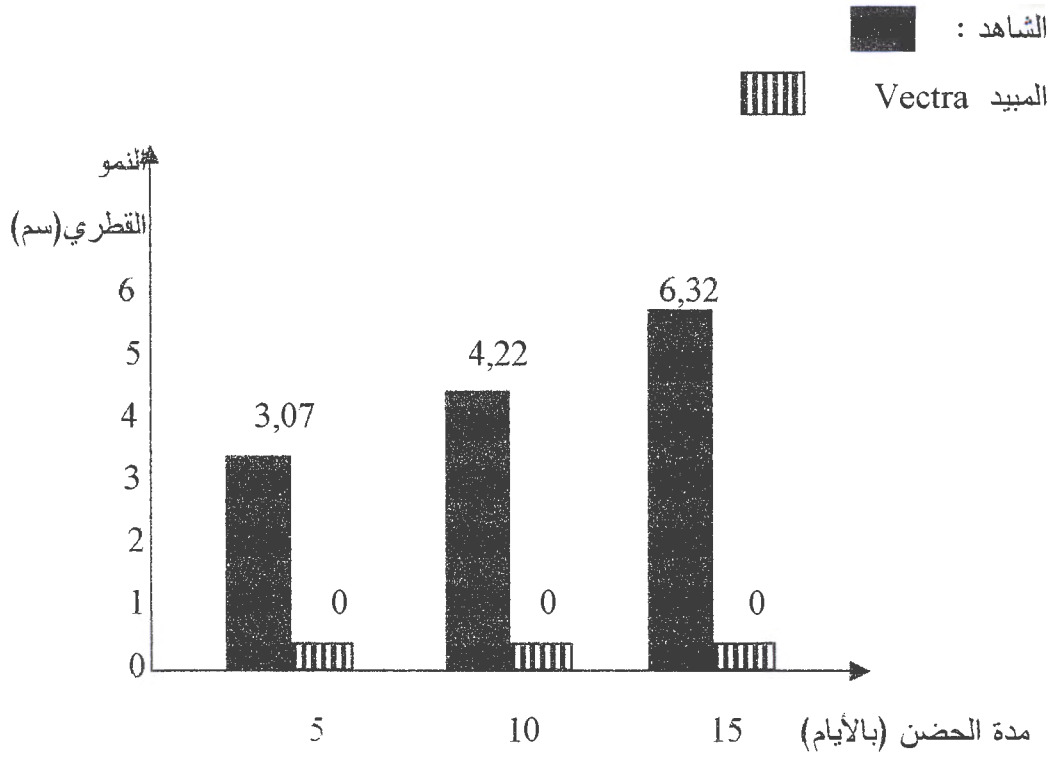
(-):لم يحدث نمو .



شكل3: تأثير المبيد على النمو القطري لفطر *B.bassiana*
Proplant –أ



شكل3: تأثير المبيد على النمو القطري لفطر *B.bassiana*
ب-Rubigan



شكل 3 : تأثير المبيد على النمو القطري لفطر *B.bassiana*

جـ- Vectra

جدول IV: التحليل الإحصائي

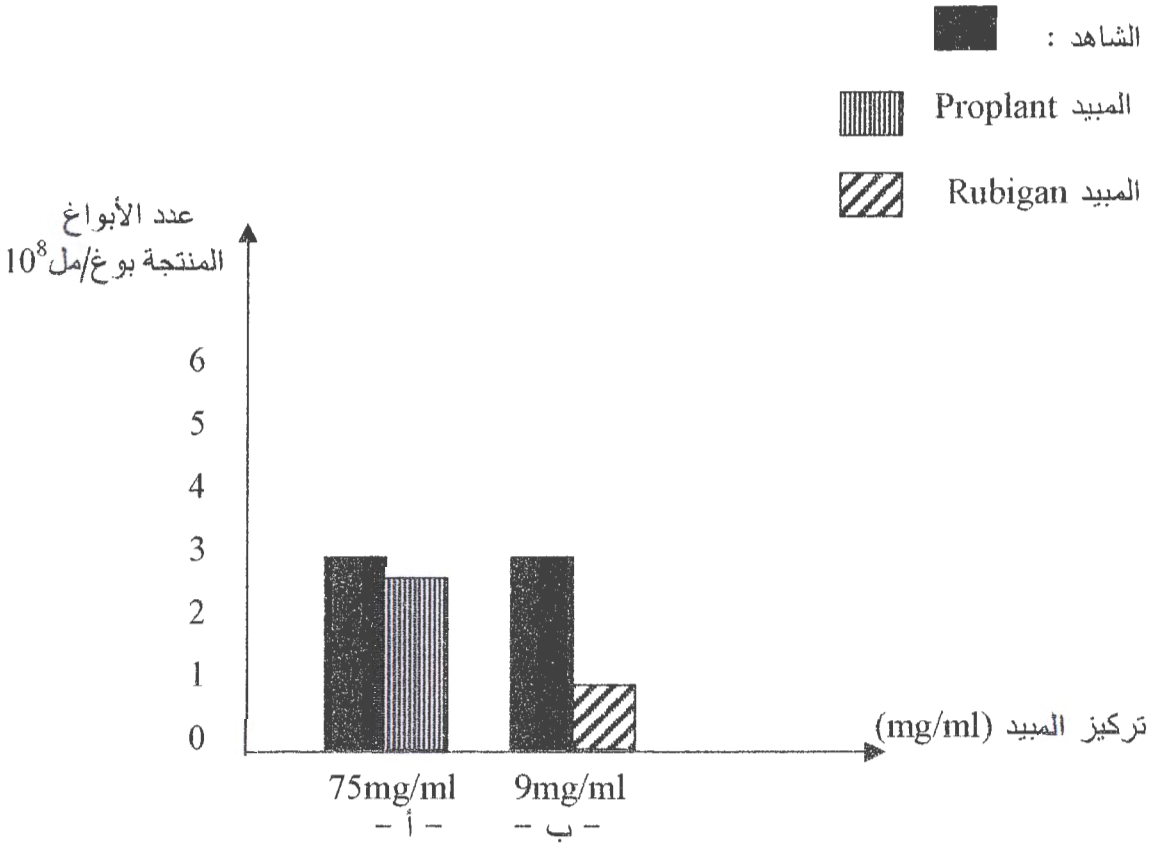
المبيدات	الشاهد			مبيد vectra			مبيد Rubigan			مبيد Proplant		
مدة الحضن بالأيام	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
معدل النمو القطري	3,07	4,22	6,32	1,78	2,94	5,06	-	0,56	1,03	1,67	4,37	6,16
الإحتمال (p)	-	-	-	-	0,13	0,56	-	0,002	0,006	-	0,84	0,64

ب – إنتاج الأبواغ :

تم استخلاص الأبواغ من الفطر المنمى لمدة 15 يوم تحت ظروف التجربة و حسب عدد الأبواغ عند كل من الشاهد و المعامل و بلغ معدل الإنتاج (28,2 10^8 بوغ /ملل) عند الشاهد و (0,87 10^8بوغ/ملل) و(27 10^8بوغ/ملل) بالنسبة للمبيدين (9 mg / ml) *Rubigan* و(75 mg / ml) *Proplant* (الشكل 4).

(جدول III) : تأثير المبيدات على إنتاج أبواغ فطر *B.bassiana* (10^8 بوغ/مل)

المبيدات / المكررات	الشاهد	Proplant	Vectra	Rubigan
1	29,4	25,6	-	0,88
2	33,6	52,9	-	1,47
3	21,6	2,43	-	0,27
المعدل	28,2	27	-	0,87



الشكل 4 : تأثير المبيدات على إنتاج أبواغ الفطر Beauveria bassiana
Proplant-أ
Rubigan-ب

IV-المناقشة :

تم في هذه الدراسة إختيار حساسية الفطر *B.bassiana* لثلاث مبيدات فطرية و هي Rubigan و Proplant و Vectra بالتراكيز المنصوح بها و ذلك من خلال متابعة النمو القطري للفطر و إنتاج الأبواغ بعد إنتهاء مدة الحضن .

و تبين من تحليل النتائج سواء فيما تعلق بالنمو القطري أو إنتاج الأبواغ أن :

المبيد : Rubigan كان له تأثير واضح على النمو القطري و إنتاج الأبواغ أما المبيد Proplant فلم يظهر أي تأثير سواء على النمو أو إنتاج الأبواغ بينما أدى المبيد Vectra إلى التثبيط الكلي لنمو الفطر .

قد يعود تأثير المبيدين و إلى كونها من المبيدات الفطرية التي تتميز بقدرة عالية في القضاء على الآفات التي تستعمل ضدها بالجرعة المنصوح بها و هي جرعة كافية للتثبيط الكلي أو الجزئي لنمو الفطر *B.bassiana* و إنتاج الأبواغ و قد يعود الاختلاف في التأثير بين المبيدين إلى طريقة تأثير كل مبيد .

و قد أشار SOPPER و آخرون (1974) و FRITZ (1976) إلى وجود عدد كبير من المبيدات الفطرية بتراكيزها المستعملة التي تثبط نمو الفطريات مخبريا بشكل قوي كمبيد Benomyl

كما أشار (1991,hall)إلى عدد من المبيدات مثل Fenarimol الذي يؤثر على النمو المسيليومي .

الخاتمة :

تعتبر الفطريات من أهم الكائنات المستعملة في المكافحة البيولوجية ضد الآفات الحشرية ،و خصوصا الفطريات الناقصة .

و لنجاح هذه المكافحة لا بد من توفر الظروف البيئية المناسبة التي تأثر على نمو هذه الفطريات،كدرجة الحرارة ،الرطوبة ، الضوء و الرياح التي تساعد على انتشار الوباء بين أفراد العشيرة الحشرية .

و قد تم اختيار الفطر Beauveria bassiana لهذه الدراسة لأنه من أكثر الفطريات الممرضة في الحقول .

حيث تبين العديد من الدراسات أن الفطر Beauveria bassiana له حساسية مختلفة للعديد من المبيدات المستخدمة في الحقل بالخصوص المبيدات الفطرية .

و تؤكد التجارب المخبرية المجراة على الفطر Beauveria bassiana المعامل بالمبيدات: Proplant-Vectra-Rubigan و ذلك بالتراكيز المنصوح بها :

تأثيرRubigan على النمو المسيليومي و إنتاج الأبواغ ،و التثبيط الكلي لنمو الفطر من قبلVectra أما Proplant فلم يظهر أي تأثير على الفطر .

و لهذا يمكن استعمال المبيدProplant إلى جانب الفطر في المكافحة البيولوجية للآفات الزراعية .

المراجع باللغة العربية :

- عصمت محمد حجازي و محمد أبو مرداس الباروني (1994)

المكافحة الحيوية (ممرضات الحشرات) ،منشورات جامعة عمر المختار ،البيضاء (الطبعة الأولى) 300 ص .

- محمد على أحمد (1998) :

عالم الفطريات ،الدار العربية للنشر و التوزيع (الطبعة الأولى) 907 ص .

المراجع باللغة الأجنبية :

- ANNONYME , (1999) : INDEX des produits phyto sanitaires (Réalise par l'institut nationale de la protection des végétaux (144 p) .
- BOTTON, B.,BERTON , a., FEVRE,M., GAUTHIER,S ., GUY, PH., LARENT, J.P., PEYMOND,SANGLIER,J.J .VAYSSIER,Y., et VEAU,P.,(1990).Moisissure utiles et nuisibles importance industrielle .ED.MASSON,P : 121-122 .
- FRITZ,R,(1976) . Action de quelques fongicides sur la croissance mycélienne de trois espèces d'entomophtoral . Entomophga , 21 : 239-249 .
- PARMER,d., (1965) . Fungal parasite of insects and meatodes symposium on micro bial insecticides . III .Bactorial .Rev,**29** : 382-387 .
- HALL : R.A, (1981) . La boratory studies on the effects of fungicides. A caricides and insecticides on entomopatathogenic Fungus verticillium lecanü.entomol . exper . applic , **29** : 39-48 .
- HOKKANEN , H.M.T et KOTILUOT,D., (1992) . Bioassay of the side-effects of pesticides on *Beauveria bassiana* and *metarhizium anisopliae :* standardized sequential Testing procedure . BULLIOCB; WPRS, SV, 3:148-151
- SOPER, R.S., HOLBROOK, F.R ., and GRADNER,. (1974) .Comparative pesticides effects on Entomophtora and the phytopathogen Alternaria solani.Environ Entomal , 3 : 560-562 .
- CHRISTIAN RECHARD , Jean louis Darey , (1985) : produits phytosanitaires recherche , développement, HomoloGation (Éd) nouvelle librrairie .Agri.nathan international (P : 12-13) .
- www.edueast.gov.sa/qAteff/ahyaa/kingdoms/fungi.htm
- www.egalibya.org/arb/elmajla/second/mash.htm
- www.egalibya.org/arb/elmajla/forth/anti.htm

الملخص

بينت الدراسة العملية التي تعلقت بتأثير المبيدات Rubigan، Vectra و Proplant على نمو و إنتاج أبواغ الفطر *Beauveria bassiana* .

تميز المبيدين Proplant و Vectra بسمية على الفطر و كانت هده السمية مختلفة و أن Proplant لم يظهر له أي تأثير سمي .

لدلك يجب تجنب برمجة استعمال المبيدين Vectra و Rubigan إلى جانب الفطر في المكافحة البيولوجية .

كلمات المفتاح: *Beauveria bassiana* ، المكافحة الحيوية ، المبيدات ، النمو ، التبوغ.

Résumé

L'étude scientifique cancernant l'influence des pesticides Proplant et Rubigan et Vectra , sur le développement et la production des spores des champignons ***Beauveria bassiana*** .

Les pesticides (Vectra et Rubigan) sont caractérisés par leurs toxicités sur les champignons et que le Proplant n'avait aucune influence pour ces raisons qu'il est recommandé d'éviter la programmation de l'utilisation de pesticides(Rubigan et Vectra) dans la lutte.

Mots clés : *Beauveria bassiana* , la lutte biologique , les pesticides , la croissance , sporulation.

Summary

The scintifique study concerning the influence of the pesticides Proplant and Rubigan and Vectra on the devlopment and the production of the spores of the mushroom ***Beauveria bassiana*** .

The pesticides will Vectra and Rubigan are characterized by their toxicity on mushroom and that the Proplant did not have any toxic influence . For these reasons it recommended to avoid the programming of the use of pesticides Rubigan and Vectra in the biological fight.

Key words : ***Beauveria bassiana , the biologic struggle , pesticides , growth , sporlation.***