الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة عبد الحق بن حمودة.جيجل
معهد البيولوجيا

01/02

MB08/02A1

مذكرة تخرج

لنيل شهادة الدراسات العليا(D.E.S)
في العلوم البيولوجيا
فرع : علم الاحياء الدقيقة

تأثير بعض المبيدات على نمو إنبات أبواغ الفطر (Beauveria Bassiana)

من إعداد الطالبات :
زدام دنيازاد
بولعراق فوزية
دريسي الزهرة

تحت إشراف :
الاستاذ
بوحوس مصطفى

دفعة 2002/2001

تشكرات:

أولا وقبل كل شيء نشكر الله عز و جل و نحمده كثيرا الدي أمدنا بالقوة و العزم، الصبر و الشجاعة لاتمام هدا العمل المتواضع.

ونتقدم بالشكر الجزيل و الخالص الى الأستاد المشرف:بوحوس مصطفى على المساعدات الجبارة التي بدلها من أجل اتمام هدا البحث البسيط.

كمانشكر كل من الأستاذ: زدام ياسين ، و الأستاذ: بوجدري محمد على مساعدتهما لنا في انجاز هدا العمل.

كما نشكر كل من ساعدنا من قرب أو من بعد في اتمام هدا العمل.

مقدمة

I)-الجزء النظري:

1.I)الشكل المرفولجي *للفطر B.bassiana* .

2.I)نمو و تطور الفطر على بعض الأوساط.

3.I)مراحل تطور الفطر.

4.I)تأثير بعض العوامل البيئية على *الفطر B.bassiana* .

1.4.I)تأثير درجة الحرارة و الرطوبة.

أ) -درجة الحرارة.

ب) -الرطوبة.

2.4.I)تأثير أشعة الشمس.

5.I)الانبات:

1.5.I)تأثير درجة حرارة التخزين على الانبات.

2.5.I)تأثير مدة التخزين على الانبات.

3.5.I)العلاقة بين الانبات و القدرة المرضية.

6.I)القدرة على الاصابة.

7.I) -تأثير المواد المنظمة لنمو النبات على الفطر.

8.I)-المبيدات الكميائية و الميكروبيولوجية.

9.I)الأقسام الرئيسية للمبيدات.

10.I)خصائص بعض المبيدات.

II)المواد و الطرق:

أ) تحضير الوسط PSA .

ب) استخلاص الأبواغ.

ج) اختبار حساسية الفطر للمبيدات.

معاملة وسط الزرع بالمبيدات.

دراسة انتاج الأبواغ.

III)النتائج:

1.III)تأثير المبيدات على الفطر *B.bassiana*.

أ) *النمو القطري*.

ب) الانبات.

IV)المناقشة:

الخاتمة.

المقدمة

اتجه اهتمام العالم في السنوات الأخيرة إلى استعمال و تطوير المكافحة الحيوية كمخرج لمشاكل استعمال المكافحة بطرق كيميائية على نطاق واسع و بأسلوب لا عقلاني .و من أخطر المشاكل التي ظهرت عقب استعمال الكيماويات هو التلوث البيئي ،وتلوث المصادر المائية،و ظهور متبقيات كيماوية في السلاسل الغذائية،ففي سنة 1981 أشارت المنظمة العالمية للصحة إلى تسمم 500.000 شخص بما فيها 5.000حالة موت. (1989,SIRLY&RIBA) .هدا إلى جانب ظهور آفات جديدة و سلالات من الآفات مقاومة للمبيدات المستخدمة.

و من أهم فروع المكافحة الحيوية، المكافحة الميكروبيولوجية كالبكتريا:*Bacillus thuringiensis* التي تستعمل في مكافحة العديد من الأنواع الحشرية لرتبة حرشفيات الأجنحة (*Lepidoptera*) على كل محاصيل القطن و التبغ ..... و هناك فطريات ممرضة للحشرات منها الفطر *Metarhizium anisopliae* الذي يستعل في مكافحة الجراد و كذلك الفطر *Verticillium lecanii* الذي استعمل في مكافحة المن (Aphids) (1981, HALL).

و لقد عرف الفطر *B.bassiana* كمادة بيولوجية واسعة الاستعمال في مكافحة الآفات الحشرية الضارة بالمحاصيل الزراعية ، بالخصوص المنتشرة تحت البيوت البلاستيكية التي تعتبر كبيئة مناسبة لنمو هدا الفطر . و لقد درس PARMER (1965) تأثيره على دودة الحرير *Heliothis zea* الذي يسبب لها المسكاردين (*Muscardine*) ، و لأهمية هذا الفطر كان من الضروري معرفة بعض الظروف البيئية المناسبة لنمو و تطور الفطر و التي تساعد و تحافظ على حيويته ، و الهدف من خلال التجارب العملية إلى معرفة مدى تأثير هذا المبيد البيولوجي بالمبيدات الكيميائية المستعملة في الحقول ، سواء ضد الحشرات أو ضد الفطريات ،ولمعرفة مدى حساسية الفطر لها لغرض النصح لاستعمالها أو تجنبها إلى جانب هدا الفطر .

I- 1)الشكل المر فولوجي للفطر *Beauveria bassiana*

ينتمي هذا الفطر إلى الفطريات الناقصة ، و عرفت بهذا الاسم لأن الطور الجنسي لها غير معروف . فتتميز بالميسيليسيوم المقسم و تتكاثر لاجنسيا فقط ، و ذلك بتكوين الجراثيم الكونيدية على حوامل أو داخل تراكيب اكثارية خاصة . كثير من الفطريات الناقصة تهاجم الحشرات و منها الأجناس *Metarhizium*، *Trichoderma*, , , *Beauveria*

- **جنس *Beauveria*** : غزل فطري مقسم و متفرع ، ذو لون أبيض أو أصفر ، و يشكل أحيانا خلايا كروية أو مغزلية الشكل, في القاعدة تستطيل على شكل قفاز ، و تكون أبواغ وحيدة الخلية ، رخوة و ملساء ، كروية أو بيضوية الشكل .

- **نوع *Beauveria bassiana*** : هذا النوع غالبا يوجد في التربة ، و هو عادة طفيلي على الحشرات(دودة القز خاصة).

وهو عبارة عن فطر خيطي ،صوفي ، أبيض اللون في البداية ثم يصبح أصفر أو وردي بعد فترة من النمو . انطلاقا من الهيفات تتكون مجموعة من الحوامل الكونيدية ذات قاعدة منتفخة ، دائرية شفافة ، ملساء ، صغيرة الحجم يتراوح قطرها بين 2 الى 2،5 µm. الحوامل الكنودية تكمل نموها بعد إعطاء الأبواغ ، و تكون لها شكل نتوء سني.

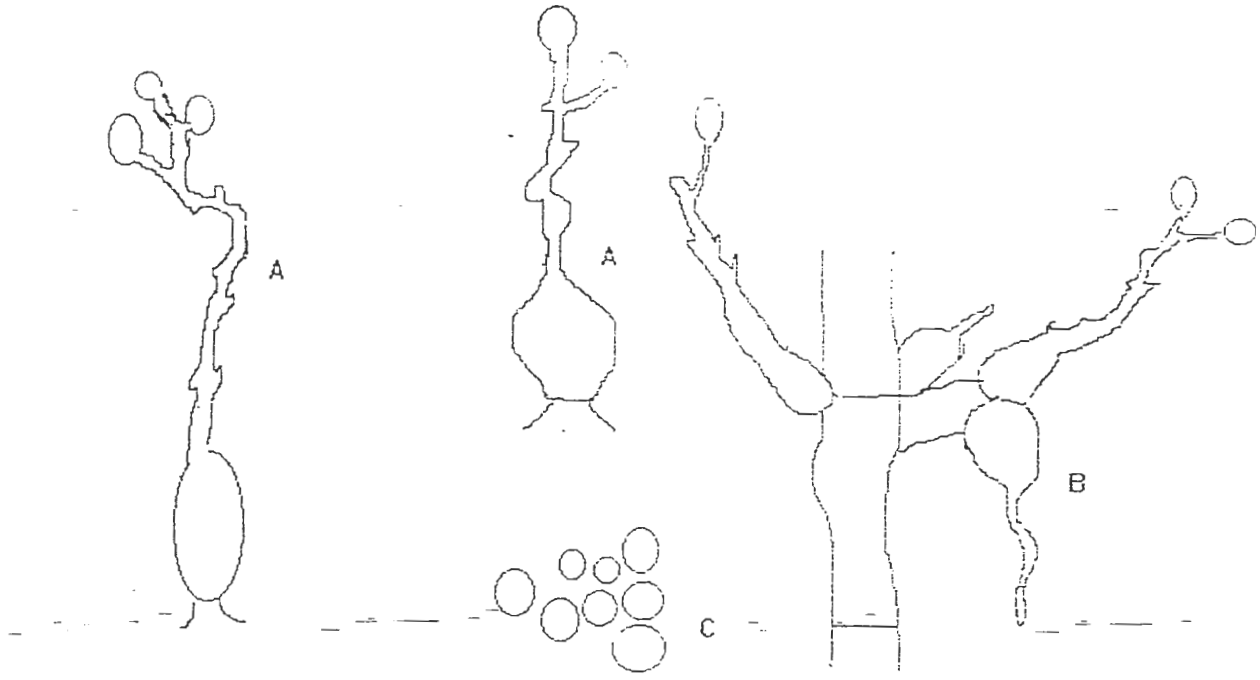
يتكاثر هذا الفطر بطريقة لاجنسية فقط ، و إنتاج المستعمرات أو المجاميع الكونيدية ، يؤذي إلى ألياف منعرجة (شكل: 01). (1990,BOTTON & al)

I-2)نمو و تطور الفطر *B.bassiana* على بعض الأوساط السائلة :

استعملت أربعة أوساط سائلة لنمو الفطر *B.bassiana* و هي كالآتي :

- YPG (Yeast Peptone Glucose): 0,2% مستخلص خميرة ، 1 % ببتون ، 2% جليكوز .
- PG (Peptone Glucose): 1 % ببتون ، 2% جليكوز .
- P(Peptone) : 1 % ببتون.
- G(Glucose): 2% جليكوز .

تكون أبواغ *B.bassiana* أنابيب الانبات في كل الأوساط السائلة ، أما الأبواغ البرعمية (blastospores) فتنتج على كل الأوساط ماعدا الجليكوز (G) .



شكل (1) : ***Beauveria bassiana***

A – الخـــلايـــا البـــوغـيـــة .

B – الـتـــراكيـــب البـــوغـيـــة.

C – الأبـــــــــــــــواغ .

(BOTTON و آخرون ، 1990)

يكون انتاج الأبواغ البرعمية في وسط ببتون الجليكوز(PG) أكبر بأربعة مرات من انتاجها في وسط الجليكوز ببتون مستخلص الخميرة(YPG).

غير أن نمو و تطور المسيليوم يكون بكمية عالية في وسط الجليكوز ببتون مستخلص الخميرة (YPG) .

وقد لاحظ SAMSINAKOVA (1966) أن ظهور الأبواغ في الأوساط السائلة يكون على شكل بيضوي ، تسمى مبدئيا أبواغ برعمية (blastospores) أستعملت هذه الأخيرة في وصف الأبواغ البيضوية لـ *B.bassiana*_ (SAMSINAKOVA ، 1966 ; TAMURA ، 1977 ; BRADY ، 1979 ; STOREY ، 1986).

الأبواغ البرعمية وحيدة الخلية ذات جدار رقيق ، رخوة و لمساء وهي أجسام بيضوية يتراوح طولها بين 5 الى7،4 µm و عرضها 2 إلى 2،6 µm .

إنتاج الأبواغ البرعمية يكون من 4 إلى 6 أيام بعد التلقيح في كل الأوساط ، ويكون إنتاجها في وسط PG أعلى بـ 4 و 2،5 مرة منه في وسطYPG على التوالي ، بينما إنتاج المسيليوم فيبقى ثابتا في الأوساط YPG وPG .

بعد يوم من التلقيح للأبواغ البرعمية على وسطYPG كانت نسبة إنتاج الميسليوم 90% بينما كان إنتاج الميسيليوم بنسبة 60 % ، 10 % ، 00 %على الأوساط G, P, PG على التوالي،و هدا يدل على ان مستخلص الخميرة YPG غير ضروري لانتاج الأبواغ البرعمية لكنه ضروري في إنتاج الميسيليوم،بينما إضافة الجليكوز إلى الببتون يزيد من إنتاج لأبواغ البرعمية.

لاحظ SMITHو GRULA (1981) أن مصدر الكربون ضروري في الإنبات الأولي لـ *B.bassiana*.بينما مصدر النتروجين ضروري لنمو المسيليوم، و في غياب مصدر النيتروجين الخارجي يكون النيتروجين الداخلي المخزن داخل الأبواغ غير كاف لنمو المسيليوم بصورة جيدة.

I.3) مراحل تطور الفطر

هناك ستة (06) مراحل لتطور الفطر *B.bassiana*_ وهي :

- البوغة
- انتفاخ البوغة
- ظهور أنبوب الانبات
- تطاول أنبوب الانبات و ظهور أول حاجز عرضي.
- تطاول قطبي و ثنائي الأقطاب و بداية تكوين الأبواغ البرعمية
- انفصال الأبواغ البرعمية

إذن يمكن وصف التطورات المرفولوجية المصحوبة للأبواغ البرعمية الموجودة عند *B.bassiana* بالمراحل التالية :

المرحلة الأولى : تمثل البوغة ، (شكل : 02: 1a) تكون الأبواغ دائرية يبلغ قطرها من 2 الى 3µm .

المرحلة الثانية :الإنتفاخ التدريجي للبوغة (شكل 02 : c,1b) عموما ما يمكن ملاحظته أن من 30% حتى 100 %من الأبواغ يزداد قطرها .ولا يحدث تغير في خصائص البوغة و جدرانها .

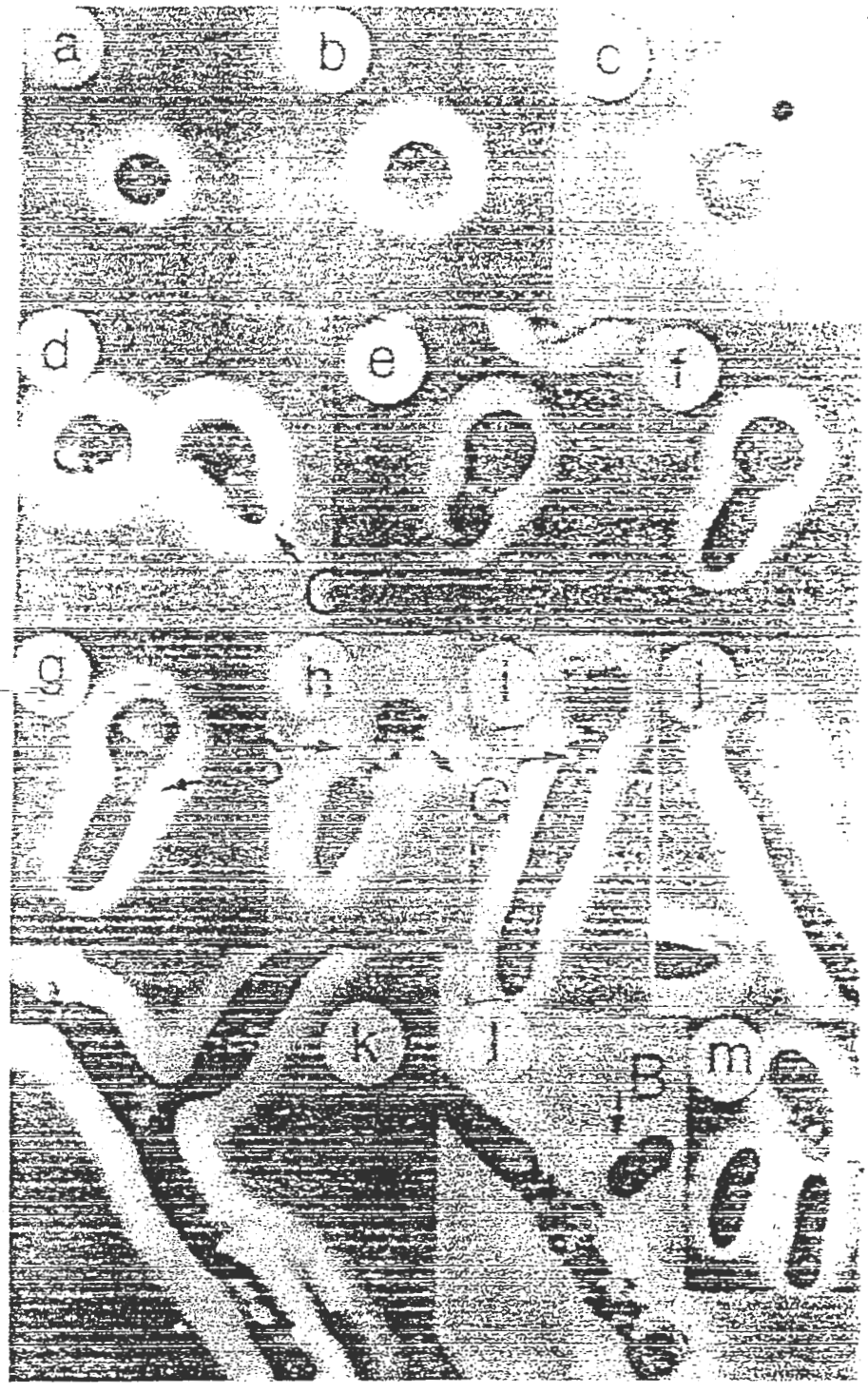
المرحلة الثالثة : ما يميز هذه المرحلة هو ظهور أنبوب الانبات من البوغة (شكل:1d,e) حيث تكون البوغة في المراحل المبكرة من بروز أنبوب الانبات على شكل أيجاصي (شكل 02: 1d) ، ويكون أنبوب الانبات أحادي القطب متصل فيزيولوجيا بالبوغة ، أما الحواجز العرضية فلا تظهر في هذه المرحلة (شكل 02 : 1f) و يكون ; الطول الأعظمي لأنبوب الانبات أقل من 10 µm .

المرحلة الرابعة : زيادة طول أنبوب الانبات و ظهور الحواجز العرضية (شكل 02 :i,1g) ، و الميسليوم يبلغ طوله من 10 إلى 30 µm و يضم من 02 الى 05 حواجز عرضية ، ويلاحظ من 01 إلى 03 حبيبات خلوية سوداء بجانب الحاجز العرضي و التي تكون واضحة في المرحلة الخامسة ، ووظيفة هذه الحبيبات السوداء غير معروفة حاليا .

المرحلة الخامسة : نمو المسيليوم ثنائي الأقطاب (شكل 02 : 1j) حيث أن نمو القطب الثاني يبدأ في المرحلة الثالثة ، بعد تطاول المسيليوم إلى 30 µm أو أكثر (شكل 02 : 1k) يكون أول ظهور للبوغ البرعمي على جانب المسيليوم (شكل 02 :1l) الذي بدوره مقسم بحواجز عرضية ، البعد بينها تقريبا 6 µm .

المرحلة السادسة : تتميز بانفصال الأبواغ البرعمية و تحررها (شكل 02 : 1m) ، ويكون هذا بواسطة الانزيمات المحللة الموجودة في الجدار الخلوي ، و الأبواغ البرعمية المنفصلة تكون على شكل بيضوي ، تظهر فيه الحبيبات الخلوية و العضيات بوضوح .

(1987,KHACHATOURIANS & al)



شكـل (2) : مراحـل تطـور ***Beauveria bassiana***

(Michael و آخـرون، 1987)

I.4) تأثير بعض العوامل البيئية على *B.bassiana*

يتأثر الفطر *B.bassiana* بتغير العوامل البيئية و بصفة خاصة درجة الحرارة ، الرطوبة ، وأشعة الشمس .

I.4.1) تأثير درجة الحرارة و الرطوبة :

درجة الحرارة و الرطوبة هي عوامل بيئية محددة لنمو الفطر *B.bassiana* على الحشرات .
(1991, MILNER & GLARE-1991, FERRON & al)

أ) **درجة الحرارة :**

درجة الحرارة مرتبطة بالنمو و التطور ، و أوضح تأثيرها في الكثير من الفطريات الممرضة للحشرات HALL و BELL (1960 ، 1961) و من بينها *B.bassiana* فهذا الأخير ينمو طبيعيا في مدى حراري يتراوح من 0° م إلى 40 °م و أمثل نمو بين 22°م و 26° م . و في دراسة على بعض الفطريات من بينها *B.bassiana* كشفت أن تلك الفطريات تتطلب درجات حرارة بين 15°م و 25°م للإنبات الجرثومي ، النمو الهيفي و الإنتاج الجرثومي ، و قتلت جراثيم كل الفطريات بالقرب من 50°م و فقدت حيويتها بعد عدة أشهر قليلة على 21°م ، و لكن عندما خزنت على 8 °م بقيت الجراثيم محتفظة بحيويتها لمدة عام. (البارونى وعصمت محمد حجازي ، 1994)

ب) **الرطوبة**

عرف في السنوات عديدة أن الماء في صورته السائلة أو البخارية ضروري لانبات الجراثيم في معظم الفطريات الممرضة . و اعتبرت الرطوبة عنصر هام لنمو الهيفات التكاثرية و إنتاج الجراثيم ، و التي يمكن أن تنتج فقط إذا اقتربت الرطوبة النسبية من 100 % .

و في دراسة حقلية على خنافس القلف *Scolytus multistuatus* ذكر أن الفطر *B.bassiana* يقتل 92% من اليرقات في القلف الرطب للأشجار المظلمة ، و لكن 4% من اليرقات يقتل في القلف الجاف المجموع من أشجار المواطن المفتوحة الأكثر جفافا (البارونى وعصمت محمد حجازي ، 1994).

I.2.4) تأثير أشعة الشمس :

لأشعة الشمس تأثير هام على الفطر الممرض للحشرات *B.bassiana* ، فقد قام 1993,GOETTEL & JOHNSON بتجارب على مجموعتين من الجراد موضوعة في أقفاص ، حيث وضعت المجموعة الأولى في الحقل (معرضة لأشعة الشمس) ، و المجموعة الثانية في البيوت البلاستيكية (محمية من أشعة الشمس) ، و بعد ذلك ترش بكميات معتبرة من الأبواغ .

فلوحظ بعد عدة أيام (3 حتى 4 أيام) انتشار المرض الفطري في المجموعة الأولى و كانت النسبة من 0% إلى 15 %، أما المجموعة الثانية فكانت النسبة من 83% إلى 89 % ، هذا يعني أن الأبواغ تفقد حيويتها في وجود أشعة الشمس و بالتالي الأشعة فوق البنفسجية ، هذه الأخيرة لها مفعول ضار ، إذ تؤدي إلى فقدان سريع و كبير لحيوية الأبواغ ، حيث انخفضت حيوية الأبواغ *B.bassiana* و*Metarhizium flavoviridae* عند تعريضها لأشعة الشمس فوق البنفسجية عند 40 ° م لمدة 8،4 ،16 ،24 ساعة ، و كانت نسبة إنبات الأبواغ من 10% إلى 50% ، و قد أعطت عزلة وحيدة من *M.flavoviridae* نسبة إنبات أكثر من 50% بعد تعريضها للأشعة فوق البنفسجية لمدة 24 ساعة ، وأظهرت عزلة أخرى أدنى نسبة إنبات مساوية لـ 9،6 % بعد أن كانت 72،1 % بعد 8 ساعة ، في حين أظهرت عزلة أخرى أدنى نسبة إنبات مساوية لـ 23،4 % بعد 24 ساعة بعد أن كان الإنبات الجيد (87،4%) بعد 16 ساعة (1994,MORLEY DAVIES&MOORE) ، وهناك عدة أبحاث عالجت الاستقرار البيئي لـ *B.bassiana* ، حيث عرضت الأبواغ الموجودة على أوراق الأشجار إلى أشعة الشمس من يوم إلى عدة أيام ، فلوحظ أنها تفقد حيويتها الأصلية من50%إلى 100% (1977,GARDNER&al-1982,ROBERT). وقد أشار1985,INGLIS إلى مجال الأشعة فوق البنفسجية الأكثر تأثير على حيوية الأبواغ يكون مابين 280 µm و 300 µm.

I.5) الإنبات

I.5.1) تأثير درجة الحرارة التخزين على الإنبات :

لقد تعرضت بعض الدراسات لهذا الموضوع الهام حيث وجد الباحثان CLERK&MADELIN,(1981) أن 99 % من كونيديات الفطر B.bassiana تحتفظ بحيويتها لمدة سنة تحت ظروف التخزين في جوجاف (0 % رطوبة نسبية) وعند الحرارة 8 °م بينما عند التخزين على حرارة 18°م و رطوبة 29% انخفضت نسبة الكونيديات الحية إلى 53% .

و في دراسة أخرى وجد ROBERT&WARD,(1981) أن إضافة بعض معادن التربة مثل الكاؤلينت Kaolinite يساعد على بقاء الفطر *B.bassiana* محتفظا بحيويته عند درجة حرارة 26° م ، حيث فقدت هذه الكونيديات حوالي 70% من حيويتها بعد التخزين لمدة سنة على درجة الحرارة السابقة،بينما فقدت الكونيديات غير المعاملة بالكاؤلينت حوالي 94 %من حيويتها.(محمد علي أحمد،1998).

وفي دراسة أخرى على طول عمر الجراثيم الجافة *B .bassiana*وجد أن هناك ثلاث سلالات من هذا الفطر تنتج جراثيم ذات معدلات حياتية مختلفة،ووجد أنه على 4°م بقيت السلالات حية من88 الى128 أسبوع،و أن حياة الجراثيم انخفضت بشدة من 6 الى12 أسبوع عند 23°م،وأن الجراثيم التي خزنت على 38°م للسلالات الثلاث المختلفة عاشت لفترة 4الى7 أسابيع فقط.(الباروني و عصمت محمد حجازي، 1994).

I.2.5)تأثير مدة التخزين على الانبات:

المستحضرات المحفوظة عند 15°م إلى 38°م تنقص حيويتها من 1 إلى 8 أشهر ، أما الأبواغ المستخلصة مباشرة من المسيليوم لا تكون حية تماما بعد شهرين .

تعتبر كل من العوامل الحيوية و الاحيوية مسؤلة عن انخفاض النشاطية بالنسبة للعديد من الفطريات المستعملة في المكافحة البيولوجية ، ومن أجل الاستعمال التجاري يتوقع أن التحضيرة الممرضة للحشرات*Entomopathogene* يمكن أن تعيش 18 شهر طيلة مدة الحفظ دون فقدان الحيوية (1981,COUCH&IGNOFFO) و عندما حفظت العينات لمدة 7 سنوات في الثلاجة لم يظهر إنبات الأبواغ 100% بعد 24 ساعة من الحضن في وسط الزرع و لكن بعد 36 حتى 72 ساعة من الحضن عند 26°م بلغت نسبة الإنبات 100 % ، في حين الأبواغ المنتجة حديثا كانت نسبة الإنبات بها 100% و ذلك بعد 12 ساعة فقط من الحضن ، أما الأبواغ المحفوظة في المجمدة أظهرت نسبة إنبات 100% بعد 24 ساعة من الحضن. (1996,ALVES&al)

I.3.5) العلاقة بين الإنبات و القدرة المرضية:

إن القدرة المرضية لكل من*B.bassiana* و *Manisopliae* نحو مختلف الحشرات مرتبطة بسرعة إنبات عالية للأبواغ(YOKOYAMA&al, 1993) و لا توجد هذه العلاقة عند *Verticilliumlecanii* في الذباب الأبيض . (1993,CHANDLER&al).

لاحظ كل منBOUCIAS وPENDLAND (1984) إنبات بطيء للعزلة الممرضة*Nomuraeariley* أكثر من العزلات ذات القدرة المرضية الضعيفة.

I.6) القدرة على الإصابة :

تعتبر درجة الحرارة العامل الذي يؤثر على فترة الحضن اللازمة لتطور الإصابة ، (فترة الحضن هي المدة بين بداية دخول الفطر و موت العائل) كما أن هناك عوامل أخرى كعمر العائل و الجرعة تلعب دور في تطور الإصابة .(1982,JOHNSON&al-1980,BOUCIAS-1980,JOHNSON).
أظهرت التجارب على حشرة *Triatoma infestans* (المسبب لمرض اللشمانيا) في طورها اليرقي الثالث حساسية عالية لـ *B.bassiana* و *M.anisopliae* ، و قد تم الحصول على نسبة إصابة عالية و موت سريع في رطوبة مقاربة للتشبع. (1994,LUZ&al-1992,ROMANA-1990,LUZ-1987,FARGUES&ROMANA)
وعند رطوبة نسبية 50% كانت نسبة الإصابة مختلفة من عزلة لأخرى إذ تراوحت نسبة الموت ما بين17.5% الى97.5 %بعد15 يوم من المعاملة،وزمن نصف الحياة (T50) يختلف من 6 إلى 11 يوم، أما الجرعة القاتلة لـ 50 % من العشيرة تتراوح من $10x7.1^{5}$ - $10x4.3^{6}$ بوغ/ملل.(1994,LUZ&al).
هناك اختلافات واضحة في المرفولوجية و الفيزيولوجية وسلوك الحشرات المستعملة في الاختبارات و بعض هذه العوامل مهمة في تحديد العلاقة بين سرعة إنبات الأبواغ و القدرة على الإصابة وقد تبين أن هناك علاقة بين سرعة الإنبات والقدرة المرضية عند *Diatraea saccharalis*،و لا توجد هده العلاقة عند *Solenopsis saevissima*،
وتكون القدرة المرضية لأبواغ *B.bassiana* عند*Solenopsis saevissima* و ثاقب قصب السكر *Diatraea saccharalis* عالية عندما تكون الأبواغ جديدة أو محفوظة في المجمدة أكثر من تلك المحفوظة في الثلاجة.
أظهرت *B.bassiana* و*M.flavoviridae* درجة عالية من التخصص لمستقيمات الأجنحة (Orthoptera) والعزلات ذات القدرة المرضية العالية أدت إلى موت الحشرات خلال5 أيام. (1993, BATEMAN&al)
أثبت MAURER&al(1997) وجود علاقة واضحة بين تركيبة عشيرة *B.bassiana* و بعض أنواع العوائل.
و مؤخرا أشار VIDAL&al(1997) إلى وجود علاقة بين الأصل الجغرافي للفطر *Paeci lomyces fumosorosens* و درجة الحرارة التي يتطلبها خلال نموه على أوساط تجريبية.

I.7)تأثير المواد المنظمة لنمو النبات على الفطر:

أجريت العديد من الدراسات حول حيوية الفطر *B.bassiana* إثر تغير الظروف المحيطية.فالأبواغ المعرضة لأشعة الشمس تفقد حيويتها في مدة قدرها يوم أو عدة أيام(1982, ROBERTS ; 1977 , GARDNER et al)
درجة الحرارة ،الرطوبة و المواد الكيميائية لها تأثير كبير على نشاط *B.bassiana* .بالمقابل الأبواغ الموجدة في التربة تبقى محافظة على حيويتها أكثر من عامين. (1981 ,LING&al;1977,GOTTWALD; 1977 ;WOJCIECHOWSKA)

وبناء على ذلك فالأرض هي الخزان الطبيعي للأبواغ الفطرية،و قد توفر بيئة ممتازة للأبواغ المزروعة اصطناعيا(1981,FERRON)،و قد لوحظ أن استقرار *B.bassiana* يتأثر بمثبطات كمياوية زراعية موجودة أو مضافة إلى التربة، و أغلبية المبيدات خاصة الفطرية منها تثبط نمو و إنبات الفطر مخبريا

وقد قام(1986،GARDNER&al) بدراسة تأثير المواد المنظمة لنمو النبات و ذلك لاستعمالها الشديد في الأعشاب و الكلأ و البساتين، و هي *Flurprimidol* ،*Paclobutrazol*،*Silaid*، *Mefluidide* على فطر *B.bassiana* حيث استعملت *Spodoptera frugiperda* كحشرة اختبار فوجد أن *Mefluidide* هو الوحيد من المواد الأربعة المنظمة لنمو النبات الذي لا يثبط نمو و إنبات *B.bassiana* ،و إن وجد فهو طفيف جدا و كانت نسبة موت اليرقات المعاملة بالأبواغ *Mefluidide* هي 38.9 % أما نسبة موت اليرقات المعاملة بـ *B.bassiana* وحده فكانت 37.3%

I.8) المبيدات الكيميائية و الميكروبيولوجية:

تعتبر الآفات الزراعية إحدى المشاكل الكبرى التي تعاني منها معظم دول العالم، مما أدى الى استعمال مبيدات حشرية و فطرية في مكافحة الآفات الحشرية و الفطريات الممرضة للنبات.

و تمت دراسة حساسية *B.bassiana* لبعض هده المبيدات (1985,GARDNER&al-1983,LORIA&al-1982,CLARK et al - ١٩٨٥,TEDDERS)،
خاصة الفطرية منها ،و هي من مثبطات نمو و تطور *B.bassiana*

و قد تطور حديثا الفطر الممرض للحشرات *Verticillium lecanii* كمبيد مكروبيولوجي للحشرات، حيث استعمل ضد المن *Aphids*(الحشرة التي تمتص عصارة النبات)، و الذباب الأبيض(1982,HALL).

و تستعمل عوامل المكافحة البيولوجية مثل *Verticillium lecanii* إلى جانب مبيدات حشرية، كيميائية و فطرية،و في دراسة لـ HALL (1981) لاحظ أن خليط من المبيدين Iprodione- بتركيز 1.5 غ/ل و Carparyl بتركيز 1.5 غ/ل يعمل على تثبيط انبات أبواغ Verticillium *lecanii*.

I.9) الأقسام الرئيسية للمبيدات:

- المبيدات الحشرية: تستعمل لمكافحة الحشرات،تتميز بنشاطية واسعة أو متخصصة.
- المبيدات الفطرية: تستعمل لغرض مكافحة الفطريات الممرضة للنبات.
- المبيدات النيماتودية: تستعمل لمكافحة النيماتودا.
- المبيدات الأكاروسية: تستعمل لمكافحة الأكاروسات.
- المبيدات العشبية: تستعمل للقضاء على الأعشاب الضارة، و تكون متخصصة أو واسعة المجال

I.10) خصائص بعض المبيدات:

✓ **Vectra 10 S C: فكترا 10 م م**(مركز معلق)

هو مبيد فطري جهازي يحتوي على مادة البروموكونازول من عائلة التريازول ذات فعالية وقائية و علاجية ضد البياض الزغبي (أوديوم) للخضر وات، العنب و الأشجار المثمرة....و مرض تبقع أشجار التفاح و الأجاص.

✓ **Proplant 72.2% S L: بروبلانت_72.2** سائل مركز:

هو مبيد فطري جهازي و وقائي، يستخدم للوقاية و لمكافحة الأمراض الفطرية في التربة كتعفن البذور، و تعفن الشاتلات و السيقان.

✓ **Benlat**

هو عبارة عن مبيد فطري، يحتوي على 50% من بنوميل Benomyl (المادة الفعالة)، و هو مطلوب للمراقبة لعدد هام من الأمراض،مثل:البياض الزغبي*Oïdium* للأشجار المثمرة.

✓ **Rubigan**

هو مبيد فطري ، ينتمي إلى مجموعة *Pyrimidines-methanol* يقضي تماما على العديد من الفطريات.

✓ **Methyl thiophanate**

هو مبيد فطري يحتوي على 70 %من *Thiophanatemethyl* ، له فعالية ضد التبقع *Tavelure* للأشجار المثمرة، و البياض الزغبي*Oïdium* للقرعيات (Cucurbitacée).

✓ **Galben**

هو مبيد فطري(يحتوي على 8 %من*Benalaxyl*و 65 %(*Mancozebe*)
هو ذو فعالية ضد ميلديو(*Mildiou*) البطاطا،الطماطم و العنب.

الجزء التطبيقي

II) المواد و الطرق

1.II) تحضير الوسط PSA(Potatos Saccharose Agar)

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

2.II) تحضير الفطر:

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

3.II) استخلاص الأبواغ:

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

a) استخلاص الأبواغ:

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 .

b) الترشيح :

و يتم ترشيح مستوى طبق بتري بوسطة شاش معقم .

c) القراءة

يتم حساب تركيز الأبواغ بعد إجراء سلسلة التخفيفات الازمة لكل مستخلص باستعمال خلية THOMAS و المجهر الضوئي بالتكبير (X 40).

4.II) اختبار حساسية الفطر للمبيدات

أ- معاملة وسط الزرع بالمبيدات:

يحضر دورق سعته 250 ملل،يحتوي على الوسطpsa المحضر سابقا،يوضع في كل دورق التركيز المناسب من المبيد المراد معاملة الفطر به (جدولI) ،مع ترك دورق بدون معاملة كشاهد،بعد رج محتوى الدوارق جيدا،يتم التعقيم لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة 120مْ.وبعدها يفرغ الوسط في أطباق بتري محدد مركزها، و تترك ليتصلب الوسطبواسطة ثاقب الفلين تؤخذ أسطوانات بقطر 0.5سم من الفطر المزروع و توضع على سطح الوسط في مركز الأطباق، تغلق الأطباق باحكام و يتم الحضن عند درجة حرارة المخبر في الظلام. ويتم حساب قطر النموبعد 10،5و 15يوما(على حد HOKKANEN ,1992)

جدول(I):المبيدات و التراكيز المستعملة.

الاسم التجاري	المادة الفعالة	التركيز المنصوح به	نوع المبيد
Benlat	Benomyl 50%	100 g/hl	فطري
Galben	Mancozeb 65% + Benalaxil 8%	250 g/hl	فطري
Rubigan	Fenarimol	35 ml/hl	فطري
Vectra	Bromuconazole	3 ml/hl	فطري
Proplant	Propamocarbehydrochloride 72,2%	2 l/m^2	فطري
Methyl - Thiophanate	Thiophanate Methyl	70 g/hl	فطري

(Annonyme , 1999)

ب)دراسة انبات الأبواغ:

تحضر أطباق بتري البلاستيكية المعقمة و توضع بداخلها أوراق ترشيح معقمة، و توضع داخل كل واحدة شريحة زجاجية معقمة يوضع عليها 100 ميكرولتر من الوسط Sabouraud، مضاف اليه 30ميكرولتر من المعلق البوغي ذو تركيز محدد(جدولI) المتحصل عليه بعد عملية استخلاص الأبواغ،بعدها توفر الرطوبة باضافة الماء المقطر المعقم لورق الترشيح،و تغلق الأطباق باحكام
و توضع في الظلام لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المخبر.
بعد مرور مدة الحضن ،تفتح الأطباق و تترك لتجف ثم يحسب عدد الأبواغ النابتة و الغير النابتة و هذا باستعمال المجهر الضوئي(40 ×).(HALL,1983).

الجدول رقم II : تأثير المبيدات المستعملة على نسبة إنبات الفطر *B.bassina* بعد 24 ساعة من الحضن عند درجة حرارة المخبر

المبيدات / المكرر	الشاهد		مبيد Benlat		مبيد Galbeh		مبيد Vectra		مبيد Rubigan		مبيد Proplant		مبيد Methyl-thiophanate	
	تركيز معلق البوغي 108 بوغ/مل	نسبة الانبات %	تركيز معلق البوغي 108 بوغ/مل	نسبة الانبات %	تركيز معلق البوغي 108 بوغ/مل	نسبة الانبات %	تركيز معلق البوغي 108 بوغ/مل	نسبة الانبات %	تركيز معلق البوغي 108 بوغ/مل	نسبة الانبات %	تركيز معلق البوغي 108 بوغ/مل	نسبة الانبات %	تركيز معلق البوغي 108 بوغ/مل	نسبة الانبات %
1	3.08	97	3.25	93	1.85	41	2.96	45	1.08	88	3.59	91	1.22	81
2	0.86	98	2.17	91	1.01	45	1.68	81	0.88	84	2.56	80	1.27	89
3	1.84	96	2.87	89	1.09	15	2.18	44	1.47	78	1.29	85	1.03	85
4	2.46	87	2.92	85	2.45	30	2.24	82	0.23	70	3.10	90	1.20	87
5	2.85	82	3.39	87	1.56	35	2.40	63	1.30	75	1.43	89	1.03	83
المعدل	**2.21**	**92**	**2.92**	**89**	**1.59**	**33.2**	**2.29**	**63**	**1.19**	**79**	**2.84**	**87**	**1.15**	**85**

III) النتائج:

1.III) تأثير المبيدات على الفطر *Beauveria bassiana*:

أ) النمو القطري:

تم إجراء التحاليل الإحصائية لمقارنة معدلات النتائج باستعمال اختبار t (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 القطري: 3.07سم، 4.26سم و 5.72 سم في الأيام 5 ، 10 و 15 على التوالي.

أما بالنسبة للفطر المنمى على الوسط المعامل بالمبيدان: Galben (2.5 mg/ml) و Rubigan ($0.3x10^{-3}$ ml/ml) فقد أظهر الفطر حساسية اتجاه هذان المبيدان، بحيث بلغ معدل النمو القطري (0.56 سم، 0.76 سم و 1.56 سم) و(0سم، 0.56سم و 1.03سم).(جدول III). و ذلك بعد 5، 10 و 15يوم من الحضن عند درجة حرارة المخبر(شكل: 3 و 4) و ذلك مقارنة بالشاهد الذي بلغ أقصى معدل له 5.72 سم،بعد 15 يوم من الحضن (شكل 5) .

و قد تبين من خلال تحليل النتائج إحصائيا وجود فرق معنوي بين معدلات النمو القطري.(جدول IV).

أما بالنسبة للمبيدات الفطرية Benlat (1 mg/ml) Methyl-thiophate (0.7 mg/ml) Vectra ($0.03x10^{-3}$ ml/ml) . فقد أدت إلى تثبط كلي لنمو الفطر(جدول III)و عند اجراء سلسلة من التخفيفات لهذه المبيدات انطلاقا من التراكيز المستعملة سابقا، و قد استعملت التراكيز التالية Benlat(0.1mg/ml)، (Methyl-thiophate 0.07mg/ml) و Vectra($0.003x10^{-3}$ ml/ml)، فلم تظهر هذه المبيدات تأثير على النمو القطري للفطر بشكل معنوي و هذا مقارنة بالشاهد . (جدول IV)(شكل 6، 7 و 8).

ما المبيد Proplant ($2x10^{-3}$ ml/ml).فلم يظهر أي تأثير على الفطر.(شكل 9).

ب) الإنبات:

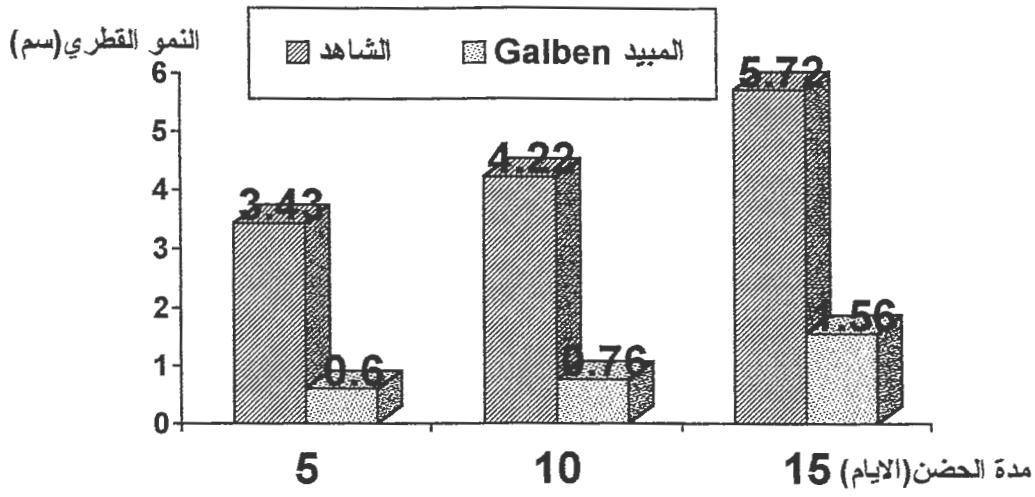
بعد انتهاء مدة الحضن، تم استخلاص الأبواغ من جميع الأطباق و أجريت التخفيفات اللازمة بغرض دراسة انبات الأبواغ، و استعملت لذلك الجرعات المحددة في الجدول II.

حيث كانت بالنسبة لـ Galben 10 بوغ/ملل)، (1.19×10^{8} بوغ/ملل) و بلغت نسبة إنبات الأبواغ 33.2% و 79% على التوالي، و قد كانت بالنسبة للشاهد 92% و ذلك بعد الحضن لمدة 24 ساعة ،عند درجة حرارة المخبر.(شكل 10 و 11)

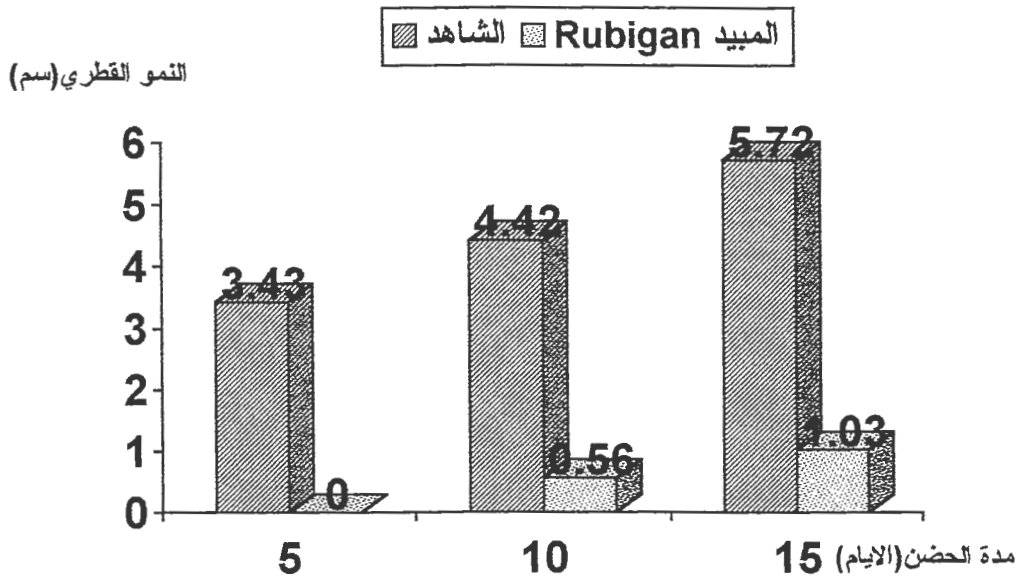
جدول III : تأثير المبيدات المستعملة على النمو القطري للفطر *B.bassiana* بعد 5-10-15 يوما من الحضن عند درجة حرارة المخبر.

المبيدات	القطر المستعمرة خلال مدة الحضن (سم)																				
	الشاهد			مبيد Benlat 1غ/ل			مبيد Galbenl 2.5 مع/مل			مبيد Vectra $0.03x10^{-3}$ مل/مل			مبيد Rubigan $0.3x10^{-3}$مل/مل			مبيد Proplant $2x10^{-3}$مل/مل			مبيد Methyl-thiophanate 0.7ملغ/مل		
مدة الحضن بالأيام / المكرر	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
1	1.3	2.95	3.6	-	-	-	0.5	0.65	1.2	-	-	-	0	0.95	1.4	1.65	3.05	4.65	-	-	-
2	2.1	4.5	7.1	-	-	-	0.5	0.75	1	-	-	-	0	0.3	0.7	3.8	4.25	6.6	-	-	-
3	4.2	4.75	6.97	-	-	-	0.6	1	1.25	-	-	-	0	0.7	1.2	0.45	1.45	3.73	-	-	-
4	3	3.4	3.85	-	-	-	0.3	0.75	2.45	-	-	-	0	0.6	1.1	0.62	4.65	5.52	-	-	-
5	4.75	5.5	7.12	-	-	-	0.4	0.65	1.9	-	-	-	0	0.25	0.75	1.85	3.4	5.32	-	-	-
المعدل:	**3.43**	**4.22**	**5.72**	-	-	-	**0.56**	**0.76**	**1.56**	-	-	-	**0**	**0.56**	**1.03**	**1.53**	**3.36**	**5.16**	-	-	-

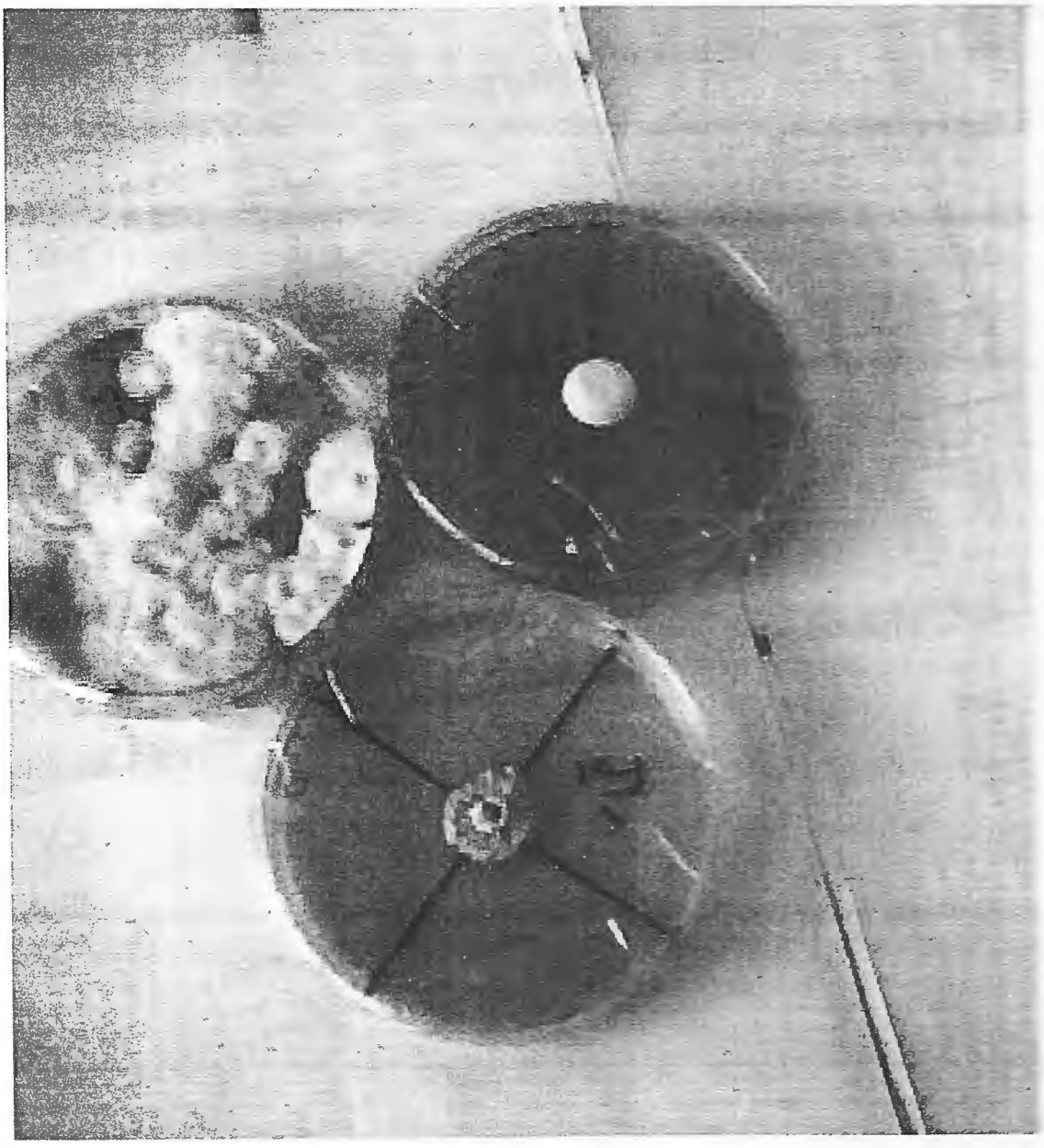
(-): لم يحدث نمو



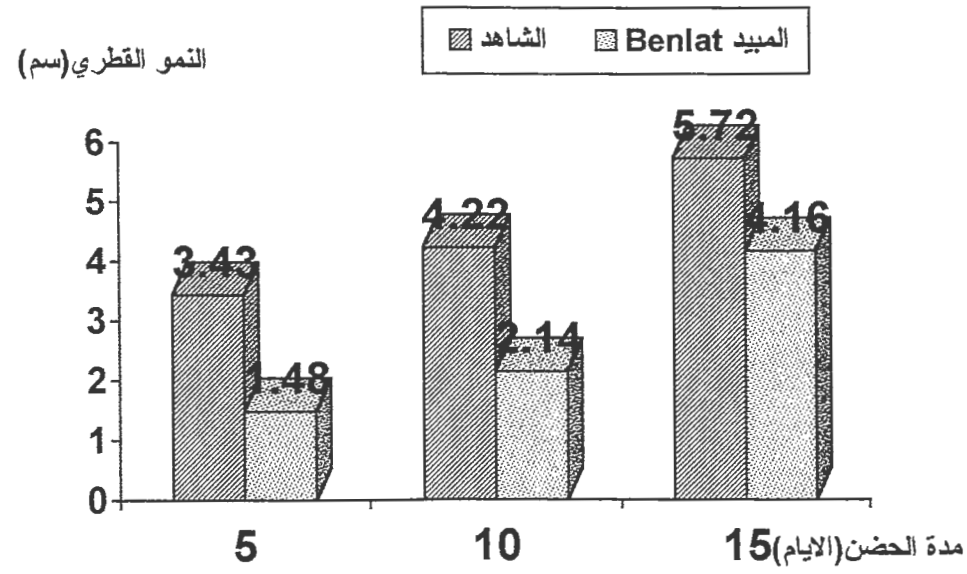
شكل 3 : تأثير المبيد Galben على النمو القطري للفطر
B. bassiana



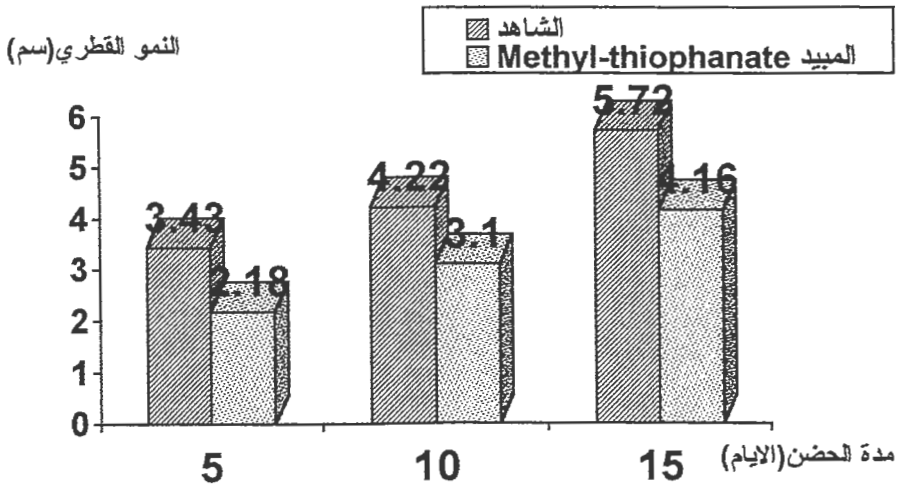
شكل 4 : تأثير المبيد Rubigan على النمو القطري للفطر
B. bassiana



شكل 05: يوضح الشاهد والخطر المعامل باطبيدين:
Rubigan و- Galben .



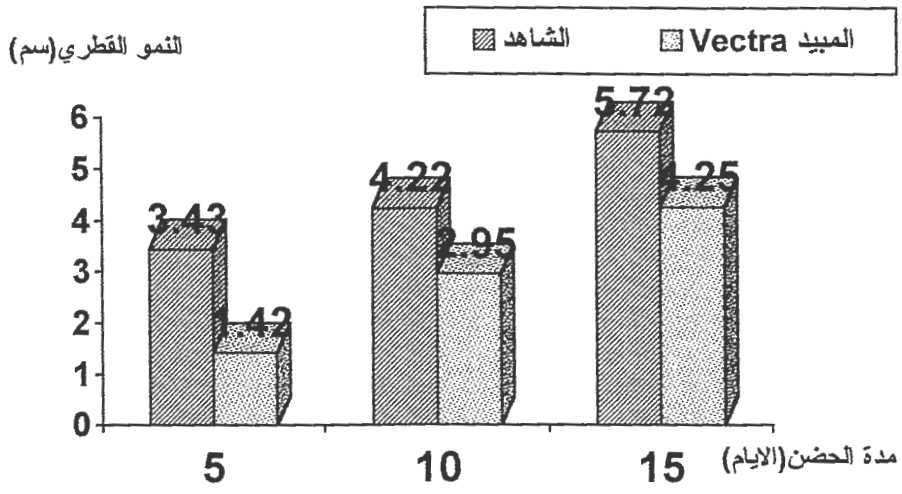
شكل 6 : تأثير المبيد Benlat على النمو القطري للفطر
B. bassiana



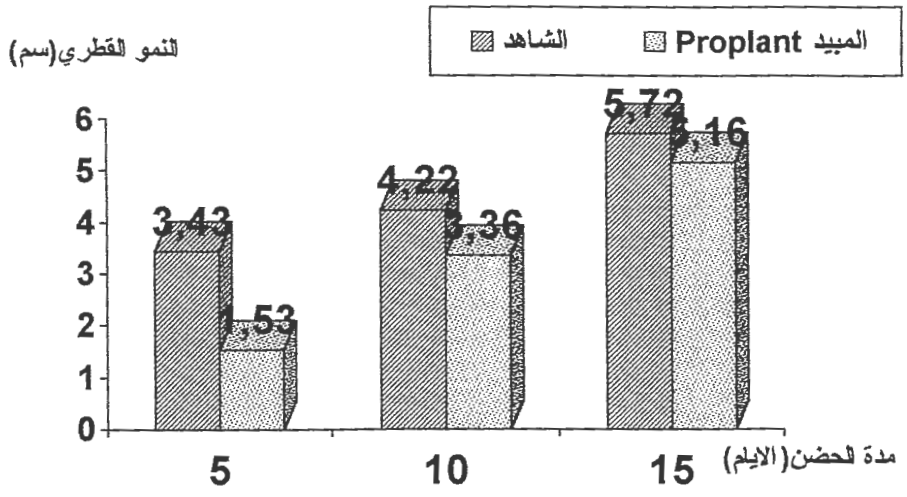
شكل 7 : تأثير المبيد Methyl-thiophanate
على النمو القطري للفطر B. bassiana

جدول IV : تأثير المبيدات المستعملة(بعد إجراء التخفيف) على النمو القطري للفطر *B.bassiana* بعد 5-10-15 يوما من الحضن عند درجة حرارة المخبر.

المبيدات	القطر المستعمرة خلال مدة الحضن (سم)											
	الشاهد			Benlat مبيد 0.1 mg/ml			Vectra مبيد 0.003×10^{-3} ml/ml			Methyl-thiophanate مبيد 0.07 mg/ml		
مدة الحضن بالأيام / المكرر	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
1	1.3	2.95	3.6	1.5	2.5	2.9	1.7	3.4	5.3	2.1	2.6	.3.45
2	2.1	4.5	7.1	1.5	1.5	3.5	1.7	2.2	3.5	1.5	4.8	5.25
3	4.2	4.75	6.97	1.5	2.8	4.75	1.9	2.7	4.5	1.5	1.7	2
4	3	3.4	3.85	1.4	1.4	5.75	1.82	3.7	4.4	1.1	1.6	3.1
5	4.75	5.5	7.12	1.5	2.5	3.8	1.40	2.7	3.5	4.75	4.8	6.02
المعدل:	**3.43**	**4.22**	**5.72**	**1.48**	**2.14**	**4.16**	**1.42**	**2.95**	**4.25**	**2.18**	**3.1**	**4.16**



شكل 8 : تأثير المبيد Vectra
على النمو القطري للفطر B. bassiana



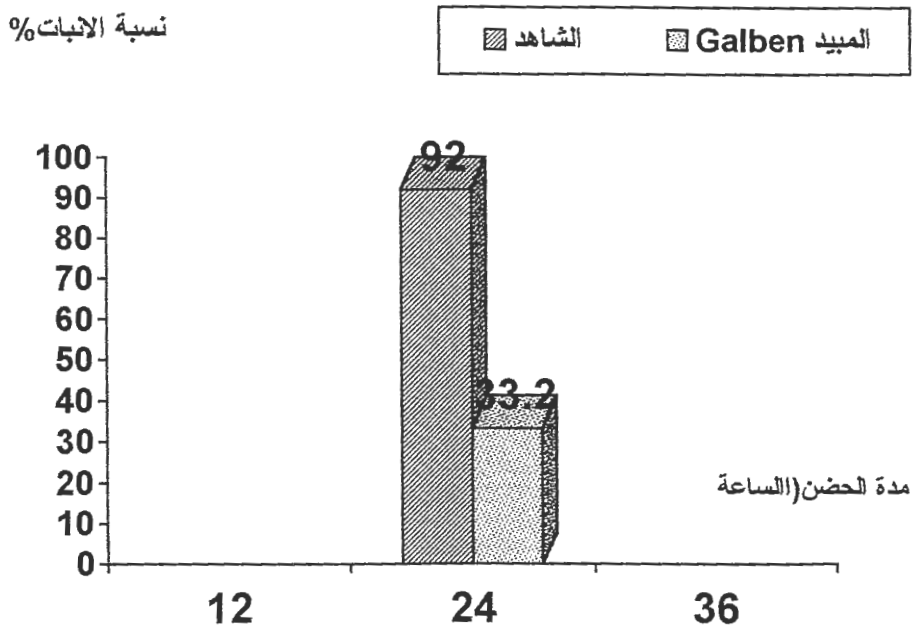
شكل 9 : تأثير المبيد Proplant على النمو القطري
للفطر B. bassiana

جدولV : التحليل الإحصائي.

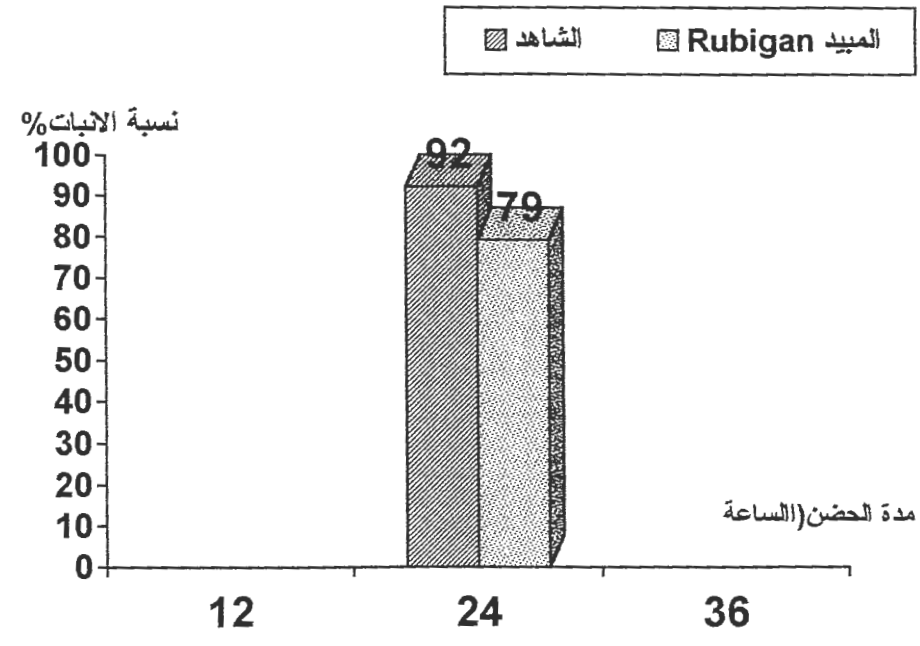
المبيدات	الشاهد			Benlat مبيد			Galbenlمبيد			Vectra مبيد			Rubigan مبيد			Proplant مبيد			Methyl-thiophanate مبيد		
مدة الحضن بالأيام	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
معدل النمو القطري	3.07	4.22	5.73	1.48	3.52	4.14	0.46	0.76	1.56	1.78	2.94	5.06	-	0.56	1.03	1.67	4.37	6.16	2.19	3.1	3.96
الاحتمال (P)	-	-	-	-	0.59	0.17	-	0.001	0.01	-	0.13	0.56	-	0.002	0.006	-	0.84	0.64	-	0.12	0.11

-اما بالنسبة لنسبة انبات ابواغ الفطر المستخلصة من الأوساط المعاملة بالمبيدات Benlat (2.92×10^8 بوغ/ملل)، Methyl-thiophanate (1.15×10^8 بوغ/ملل) و Vectra (2.29×10^8 بوغ/ملل) فقد كانت مرتفعة و مقارنة بنسبة الانبات عند الشاهد، حيث كانت نسبة الانبات عند استعمال المبيدين الأول والثاني 89و85 على التوالي، في حين لم تصل سوى 63%بالنسبة للمبيد الثالث(شكل: 12 ، 13 و14).

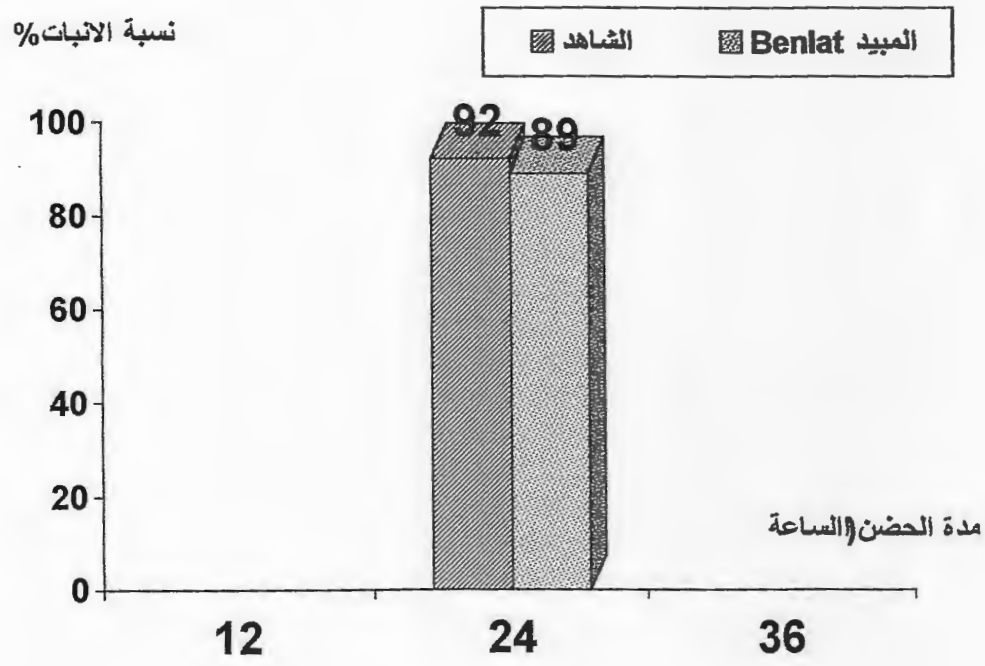
-أما بالنسبة للفطر المنمى على الوسط المعامل بالمبيد Proplant (1.84×10^8 بوغ/ملل) فكانت نسبة إنبات الأبواغ مساوية لـ87 %(شكل 15)



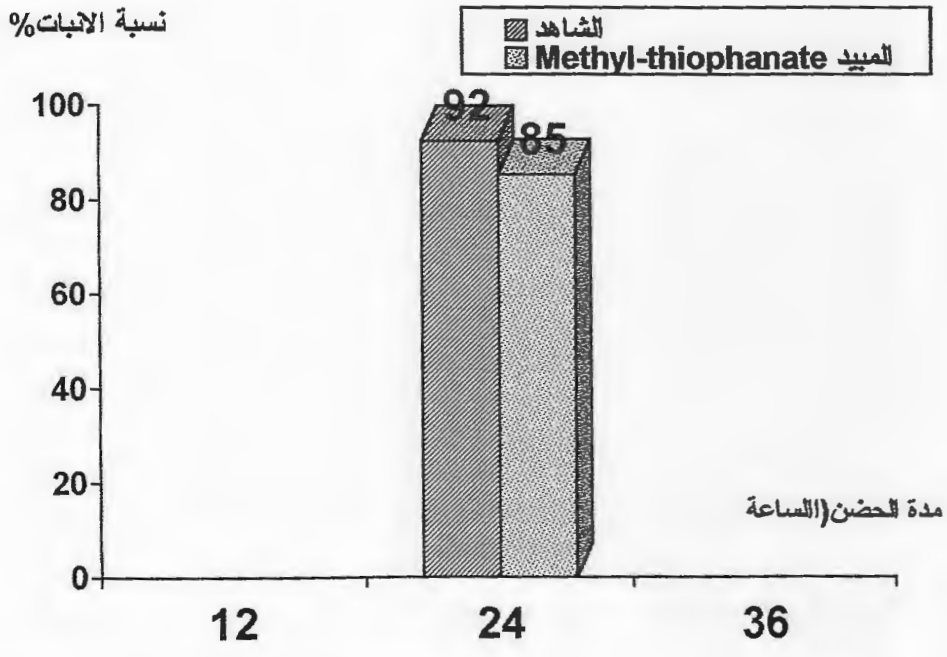
شكل10 تأثير المبيد Galben على نسبة انبات للفطر
B. bassiana



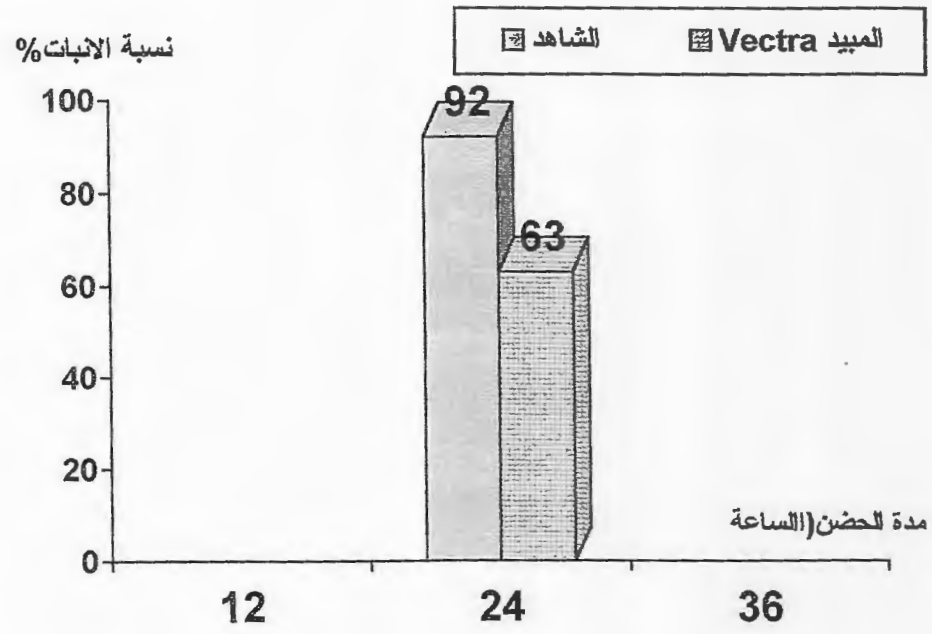
شكل11 تأثير المبيد Rubigan على نسبة انبات للفطر
B. bassiana



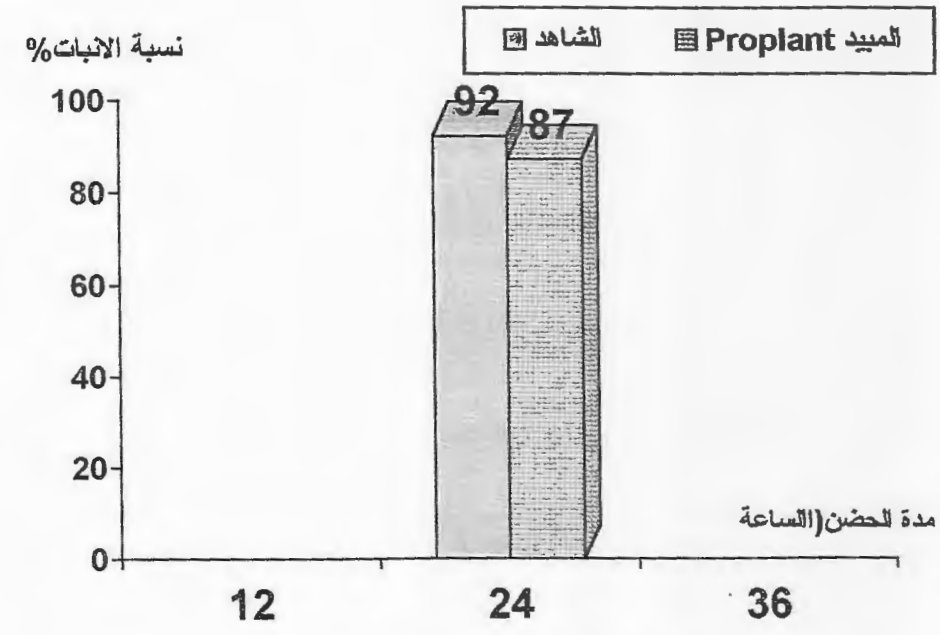
شكل12 تأثير المبيد Benlat على نسبة انبات الفطر
B.bssiana



شكل13 تأثير المبيد Methyl-thiophanate على نسبة انبات الفطر B.bssiana



شكل14 : تأثير المبيد Vectra على نسبة انبات الفطر B.bssiana



شكل 15 تأثير المبيد Proplant على نسبة انبات الفطر B.bssiana

IV) المناقشة

لقد أجريت العديد من التجارب لاختبار تأثير مختلف المبيدات على نمو و حياة الممرضات الفطرية مخبريا.(1959,DUNN&HALL)
و قد تم في هده الدراسة اختبار حساسية الفطر *B.bassiana* لـ6 مبيدات فطرية و هي:Proplant,Vectra,Methyl-thiophanate,Galben,Benlat,Rubign
و تبين من تحليل نتائج استعمال المبيدات الفطرية سواء على نمو الفطر أو انبات الأبواغ أن:

المبيدGalben كان له تأثير واضح على النمو القطري و إنبات الأبواغ، أما المبيدRubigan فلم يؤثر سوى على النمو القطري.

أما المبيدات:Vectra,Benlat,Methyl-thiophanate فقد ظهر لها تأثير واضح على النمو القطري عند استعمال التراكيز المنصوح بها، لكن بعد إجراء التخفيفات لم يظهر لها أي تأثير سواء على النمو القطري أو إنبات الأبواغ، فيما عدا المبيدVecta الذي ظهر له تأثير على الإنبات دون النمو القطري.

أما المبيدProplant فلم يظهر الفطر حساسية جهته.
و قد أشار SOPER&al(1974) وFRITZ(1976) إلى كون عدد كبير من المبيدات الفطرية الجهازية و الغير جهازية بتراكيزها المستعملة تثبط نمو الفطريات مخبريا بشكل قوي كمبيد Benomyl الذي ثبط كليا إنبات أبواغ الفطر *Eymianeaphidis* بينما كان له تأثير عكسي على الفطر *Verticillium lecanii*(1991,HALL) . و في تجارب أخرى تعلقت بتأثير المبيد Confidor الذي أظهر تثبيط لانبات أبواغ الفطر *B.bassiana* بينما لم يؤثركل من Durban و Rubigan بشكل كبير على هذا الفطر .(عقيدة و العايب،2000).

قد تعود قدرة المبيدات المستعملة في تأثيرها على النمو دون الإنبات إلى كون التراكيز المستعملة كانت كافية لتثبيط النمو دون الإنبات الجرثومي أو إلى طريقة استعمال المبيد، حيث توصل ZIMMERMAN(1978) عند رش المبيد على المن المصاب على الممرض الفطري إلى نتائج مخالفة لما وجده عند استعمال طريقة الغمس ، وتم تفسير هذا الاختلاف بعدم وصول المبيد الكيميائي الفطري إلى داخل الحشرة المصابة بالمرض و بالتالي لطريقة المكافحة دور مهم في نجاحها.

و قد بين كذلكHALL(1991) أن المبيدات Clorothalonil,Dimethomorph,Thiram سامة لـ *V.lecanii*، و بين أن : Fenarimol,Kasugamycin,Carbendazium تؤثر على النمو المسليومي، بينما لا تؤثر على انبات الأبواغ.

وفي دراسة قام بها KELLER(1993)باستعمال 17 مبيدا فطريا على الفطر *B.brongniartii* أظهرت أن 5 مبيدات فقط تؤثر كليا على تثبيط النمو المسليومي، بينما لم تؤثر على إنبات الأبواغ .

الخاتمة

تعتبر الفطريات من أهم الكائنات الدقيقة المستعملة في المكافحة البيولوجية ضد الآفات الحشرية الضارة بالمحاصيل الزراعية، لذلك كان الاهتمام بمعرفة الظروف البيئية الملائمة لنمو و تطور هذه الفطريات. اذ يكون النمو الأمثل لـ *B.bassiana* عند 25 مْ، و يتراوح مداه الحراري بين 0 و 40 مْ، بينما تفقد الأبواغ حيويتها عند 50 مْ، كما أن الفطر يفقد حيويته عند تعريضه لاشعة الشمس، و كذلك من الضروري توفير الرطوبة لنجاح عملية المكافحة.
يكون إنبات أبواغ لـ *B.bassiana* على أربع أوساط سائلة:G,P,PG,YPG يكون الإنتاج الأمثل للأبواغ البرعمية على وسط PG ، أما مستخلص الخميرة فهو ضروري لنمو المسليوم، بينما هو غير ضروري لانتاج الأبواغ البرعمية.
أما عن تخزين أبواغ الفطر فيتم في جو جاف و درجة حرارة منخفضة، كما أن اضافة بعض معادن التربة مثل الكاؤلينت،يساعد على بقاء الفطر محتفظا بحيويته لمدة طويلة.

أظهر الفطر لـ *B.bassiana* حساسية لبعض المبيدات خاصة الفطرية منها، و عند استعمال المواد المنظمة لنمو النبات وجد أن Nefluidide هو الوحيد الذي لم يثبط نمو و تطور *B.bassiana* .

إن التجارب العملية التي أجريت مخبريا على الفطر *B.bassiana* المعامل بالمبيدات ، أظهرت أن استعمال المبيدات:Methyl-thiophanat,Vectra,Benlat بالتركيز المنصوح بها أدت إلى تثبيط كلي لنمو الفطر ، لهدا ينصح بعدم استعمالها إلى جانب الفطر، و نسجل أنه عندما أجريت تخفيفات على هذه المبيدات إلى غاية الوصول الى التراكيز التي درست عمليا، و التي سمحت بنمو الفطر و بذلك يمكن ابتداء من هذه التراكيز أن تستعمل هذه المبيدات إلى جانب الفطر.
أماالمبيدينRubigan و Galbenفكان لهما تثبيط جزئي للنمو القطري للفطر، في حين لوحظ أن المبيد Galben له تأثير واضح على نسبة إنبات أبواغ الفطر، لدى ينصح بعدم استعمال هدين المبيدين إلى جانب الفطر.بينما ينصح باستعمال المبيد Proplant إلى جانب الفطر في مكافحة الآفات الزراعية لعدم تأثيره على الفطر.

المراجع:

1) مراجع باللغة العربية:

- عصمت محمد حجازي و محمد أبو مرداس الباروني:1994؛المكافحة الحيوية(ممرضات الحشرات)، الطبعة الأولى، منشورات جامعة عمر المختار،البيضاء.
- محمد علي أحمد:1998؛عالم الفطريات، الطبعة الأولى، الدار العربية للنشر والتوزيع.
- عقيدة والعايب : مذكرة التخرج (2000) : تأثير بعض المبيدات على والعوامل البيئية على فعالية وإنبات أبواغ الفطر B.bassiana

المراجع الأجنبية

1) ALVES,S.B ;PEREIRA,STIMAC, J.L ; and VIERA,JL; (1996) Delayed germination of Beauveria bassiana conidia after prolonged storage at low, above – Freezing temperature. Biocontrol science and technology, 6:575-56
2) BATEMAN,R,P;CAREY,M; MOORE, D and PRIOR ,C (1993). The enhanced infectivity of Metamizium flavoviridein oil formulation to desert locusts at low humidities, Annals of applied Biologiy, 122: 145 – 152
3) BOTTON,B;BERTON,A;FEVRE,M;GAUTIER,S; GUY,Ph; LARPENT J.P;PEYMOND,P,SANGLIER,J,J. VAYSSIER,Y; et VEAU, P; (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle.ED.MASSON, P : 121-122.
4) BOUCIAS,D.G ; JONHSON,D.W ; and ALLEN, G.E (1980) Effect of host age, virus dosage and temperature on the infectivity of a nucleopolyhedrosis virus against the velvetbean caterpillar, Anticarsia germatalis, Larvae. Environ. Entomol, -M59-61.
5) BOUCIAS, D.G ; and PENLQNDm JC, (1984) Nutritional requirements for Conidial germination of several host range pathotypes of the entomopathologenic fingus Nmuraea rileyl. Journal oj invertebrate pathology, 43:288-292
6) BRADY BLK: Beauveria bassiana. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria . N° 602, 1979
7) CHENDLER, D. HEALE,J.B and GILLESPIE, AT ; (1993) Germination of the entomopathogenic fungus Verticilim lecanii on scale of the glasshouse whitefly Trialeurodes vaporaium . Biocontrol science and technology, 3;161-164.
8) CLARK,R.A;R.A. CASAGRANDE, and D.B. WALLACE. (1982) .influence pesticides on Beauveria bassiana, a pathogene of the Colorado potato beetie, Environ, Entomo 11M 67-70
9) COUCH,T.L, and IGNOFFO,C,M (1981).Formulation of insect pathogene, in Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980 (BURGES,H.D ; Ed) Academic press, New Work, pp: 621-634.
10) FERRON,P; (1981) Pest control by the fungi beauveria and metarhizium, p.463-482 .In H.D BURGES (ed.) Microbial control of pests and plant diseases,1970-1980.Academic ^ress, Inc. (London). Ltd; London.
11) FERRON, P. FARGUESJ. RIBAG; (1991) Fungi as microbial insecticides against pests, p . 665-705 In DK Arora, Lajello, KG Mukerji (eds) Handbook of applied mycology , vol. 2, Humans, Animals and Insects, MarcelDekker Inc, New York.
12) FRITZ,R,(1976). Action de quelque fongicides sur la croissance mycélienne de trios especes d'entomophtoral . entrmorphga. 21 : 239-249

13) GARDENER, W.A, and G.K. STOREY; (1985). Sensitivity of beauveria bassiana to selected herbicides. J.Econ. Entomol. 78 : 1275-1279.
14) STORY ; (1986) sentivity of the Enomogenous fungus beauveria bassiana to selected plant Growth Regulators and Spray Additives. J. Applied and Environmental microbiology p. 1-3.
15) GARDENER, W.A, and R. M.SUTTON, and R.NOBLET;(1977). Persistence of beauveria bassiana, nomurrea rileyi, and Nosama mecatrise on soybean foliage.Envoron.Entomol, 6:616-618.
16) GOTTWALD ,T.R;and W.L.TEDDERRRRS, (1977) Suppression of pecan weevil, Entomol. 12:471-474.
17) HALL, R.A. (1981) Laboratory studies on the effects of fungicides acaricides and insecticides on the entomopathogenic fungus Verticilium lecanii. Entomolll. exper .appli, 29:39-48
18) HALL, R.A. (1982) Control of whitefly and cotton aphid in glasshouses by two isolates of the fungus Verticilium. Ann. Appl. Biol; 101: 1-11.
19) HALL, R.A. (1983). Epizootic potential aphids of different isolates of the fungus . Verticilium lecanii.Entomophaga. 29(3): 311-321.
20) HALL,I.M, and BELL, J.v; (1961). Further studies of temperature on somme entomophthoraceous fungi.J. Insect pathol, 2: 289-296.
21) HASSAN,A.E.M; DILLON, R.J. and CHARNLEY, A.K; (1989). Influence of accelerated germination of conidia on the pathogenicity of Metarhizum anisopliae for Manduca sext journal of invertebrate pathology, 54: 277-279.
22) HOKKANEN, H.M.T, et KOTILUOTD; (1992). Bioassgy of the side effects of pesticides on beauveria bassiana and Metarhizum anisopliae standart dized sequential testing procedure. BULLTOCB; WPRS,SV, 3: 148-151.
23) JONHSON,D. W; (1980) Temperature dependent developmental Models for the Velvet-bean Caterpillar and an associated Nucleopolyhedrosis virus Ph. D.thesis, University of Florida Gainsville, Florida.
24) JONHSON,D. W; BOUCIAS, D.B; BARFIELD, C.S; and ALLEN, G.E; (1982) temperature – dependant development model for a nucleopolyhedrosis virus of the velvet bean Caterpillar, Anticarcia gematalis (Lepidoptera: Noctuidae) J. Invertebr –pathol, 40: 292-298.
25) JONHSON,D. L: and GOETTEL, M.S; (1993). Reduction of grasshopper populations folowwing field application of the fungus beauveria bassiana .Biocontrol Sci. technol, 3: 165-175.
26) KHACHTOURRIANS;G.G; and PFEIFER, T.A; BIDOCHKA. M.J;(1987). Development of the entomopathogenic fungus beauveria bassiana in liquid cultures, mycopthologia, 99: 77-83.
27) LING, A,J; and M.D, DONALDSON; (1981). Biotic and Abiotic Factors affecting stability of beauveria bassiana Cinidia in soil.J.Invertebr. Pathol. 38:191-200.
28) LORIA,R.S. GALAINI ; and D.W ROBERTS ; (1983) Survival of inoculum of the entomopathologenic fungus beauveria bassiana as I,fluenced by fungicides. Environ Entomol, 12: 1724-1726.
29) LUZ, C; (1990) Zur pathogenitat von beauveria bassiana (Fungi imperfect). Gegenuber mehreren ranbwanzenarten (rediviidae) , Triatomina). Und

Einfluss der retiven luftfenchtigkeit anf die infection von Rhodnius prolixus. Mitt dtsch Ges Allg Angew ent . 7: 510-511

30) LUZ, C; FARGUES, J; ROMANA, C.A. MORENO, J; GOUJET, R ; ROUGIER, M ;GRUNEWALD, J ; (1994) Potential of Entomopathogenic Hyphomycetes for the controlof the Triatomine Vectors of chagas disease. Proc 6Int coll Invertebr âth Microbial control, 1: 272-276.
31) MAURER,P; COUTEAUDIER, Y; GORARD, P;A BRIDGE, P;D;RIBA,G; (1977) Genetic diversity of beauveria bassiana and relatedness to host insect range, Mycol Res, 101: 159-164.
32) MOORE,D and MORLEY-DAVIS,J.(1994)The effects of Temperature and ultrat-violet irradiation on conidia of Metarhizuim flovoriride. Proceedings of the Bringhton crop protection conference-pests and disease- 1994, pp-1085-1090. British crop protection council: Farnham, U.K.
33) PARMER , D; (1965) Fungal parasite of insects and nematodes symposium on microbial insecticides. III. Bactorial. Rev. 29: 382-387.
34) RIBA,G et SIRLY, C (1989) Combattre les Ravageurs des cultures En jeux et perspectives INRA, Paris, pp : 230.
35) ROBERTS, D.W , R.A. LEBRUN ; and M.SEMEL; (1982). Controm the Colorado potato beetle with fungi. P. 119-137. In G.H Iashomb and R. casagrande (ed). Advances in potato pest management Van Nostrand Reinhold CO; Inc; New York.
36) ROMANA, C.A; (1992). Recherches sur les potentialities des Hyphomycetes. Entomopathogenes (Fungi imperfecti) dans la lutte contre les Triatominoe (Heteroptera) These de doctorat, Monpellier, 129pp.
37) ROMANA, C.A; FARGUES,J; (1987) Sensibilité des larves de l'hémiptére hématophage Rhdnius prolixus (Triatominaeà aux hyphomycétes en tomopathogenes Entomophaga, 32 : 167-179.
38) SAMSINAKOVA, A ; (1966). Growth and sporulation of submerged cultures of the Fungus Beauveria bassiana in various media .J.Invert pathol, 8: 395-400.
39) SMITH, R.J., GRULA., (1981). Nutritional requirements for condial germination and hyphal growth of . J. Invert pathol, 37M222-230
40) SOPER, R.S., HOLBROOK, F.R., and GARDNER,. (1974) Comparative pesticide, effects on entre mophtora and the phytopathogen Alternaria Solani. Environ Ento mal, 3M560-562.
41) STORY, G.K., GARDNER,W,A., (1986). Sensitivity of the entomogenons Fungus Beauveia bassiana to selected plant Growth regulators and spray additives, Appl Environ Micobial, 52:1-3.
42) TAMURA,S., (1977). Bassianolide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from Beauveria bassiana and Verticillium lecanii. Tetrahedron letters, 25:2187-2170.
43) TEDDERS, W.L., (1981). In vitro inhibition of the entomopathogenic Fungi pecan culture. Environ. Entomol, 10:346-349.
44) VIDAL, C., FARGUES, J., LACEY, L.A., (1997). Inraspecific variability of paecilomyces fumosoroseus, Effect of temperature on vegetative growth. J. Invertebr pathol, 70:18-26.

45) WOJCIECHOWSKA, M., K. KMITOWA, A. FEDORKO, and C.BAJAN., (1977). Duration of activity of entomopathogenic micro-organisms introduced into the soil. Pol. Ecol. Stud, 3:141-148.
46) YOKAYAMA, T. FUJIKATA, M. and FUJIIE, A., (1993). Improvement of infectivity of Metarhizium anisopliae (Metschnikoff) to Anomala Cuprea Hope (Coleoptera: Scarabaeidae) by ultrat violet irradiation of protoplasts. Applied Entomology and Zoology, 28:451-461.
47) ZIMMERMAN, G., (1978). Effect of high temperature and artificial sunlight on the viability of Conidia of Metarhizium anisopliae. Journal of invertebrate pathology, 40: 36-40.
48) ANNONYME.(1999). INDEX des produits phyto-sanitaires, Institut National de la Production des végétaux.

الملخص

من خلال التجارب العملية المجراة مخبريا على الفطر ***Beuaveria bassiana*** المعامل بالمبيدات تبين أن استعمال المبيدات **Benlat, Methyl-thiophanate** و**vectra** بالتراكيز المنصوح بها أدى إلى تثبيط كلي لنمو الفطر، لدى ينصح بعدم استعمالها إلى جانب الفطر في المكافحة الحيوية. لكن عند إجراء سلسلة من التخفيفات على هذه المبيدات لم يظهر تقريبا أي تأثير لهذه المبيدات على نمو الفطر.

أما عند استعمال المبيدين **Galben** و**Rubigan** فكان لهما تثبيط جزئي لنمو الفطر، وقد سجلت أقل نسبة إنبات للأبواغ عند الفطر المعامل بالمبيد **Galben** ، لدى ينصح بتجنب استعمال هذين المبيدين إلى جانب أبواغ الفطر، في حين ينصح باستعمال المبيد **Proplant** إلى جانب الفطر لعدم تأثيره على نموه .

كلمات المفتاح: *Beuaveria bassiana* ، المكافحة الحيوية،المبيدات، النمو، الإنبات.

Résumé

D'après les expériences pratiques appliquées au laboratoire sur le champignon ***Beuaveria Bassiana*** qui a été traité par les Pesticides, montre que l'utilisation des pesticides : **Benlat, Methylthiophanate** et **Vectra** par les concentration recommandées causées une inhibition totale de croissance du champignon, c'est pour ça, on évite l'utilisation de ces pesticides avec ce champignon dans la lutte biologique : mais après l'application d'une séries des dilution sur ces pesticides, n'a aucune influence de ces pesticides sur la croissance du champignon

Mais lorsque on utilise les pesticides : **Galben** et **Rubigan**, on a obtenus une inhibition partielle de croissance , et on a marqué le pourcentage inférieur de germination des spores pour le champignon traité par **Galben**, pour cela on conseille d'éviter l'utilisation de ces deux pesticides avec les spores du champignon . par contre , on conseille d'utiliser **Proplant** à coté du champignon, car il n'a aucune influence sur la croissance du champignon

Mots clés : *Beuaveria bassiana, la lutte biologique, les pesticides, croissance, germination.*

Summary

According to the convenient experiences applied to the laboratory on the mushroom ***Beuaveria Bassiana*** that has been treated by Pesticides, watch that the use of pesticides : **Benlat, Methylthiophanate** and **Vectra** by the recommended focusing caused a total inhibition of growth of the mushroom, it is for that, one avoids the use of these pesticides with this mushroom in the biologic struggle: but doesn't have any influence of these pesticides on the growth of the mushroom after the application of one sets of dilution on these pesticides

But when one uses pesticides: **Galben** and **Rubigan**, one got a partial inhibition of growth, and one marked the lower percentage of spore germination for the mushroom treated by **Galben**, for it one counsels to avoid the use of these two pesticides with spores of the mushroom. on the other hand, one counsels to use **Proplant** to quoted of the mushroom, because he/it doesn't have any influence on the growth of the mushroom

Key words: *Beuaveria bassiana*, the biologic struggle, pesticides, growth, germination