Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

تأثير المبيدات الفطرية على نمو الفطريات الصائدة للنيماتود وكفاءتها الأفتراسية وقابلية إنبات أبواغها

علي عبدالواحد قاسم

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ميسان

الخلاصة Summary

تم دراسة تأثير ثلاث مبيدات فطرية هي Mancozeb 80 و Vitavax و Metalachem 50 % ، ولخمسة تراكيز (0.25 ، 0.5 ، 1 ، 1.5، 2) ملغم / مل لكل مبيد على النمو ألشعاعي ، وبالتراكيز (0.5 ، 1 ، 1.5) ملغم مبيد / مل لكل مبيد على نسبة إنبات الابواغ وتكوين أدوات الاصطياد ، وبالتراكيز (2.2 ، 2.3 ، 2.4 ، 2.5 ، 2.6 ، 2.7) ملغم مبيد / مل لكل مبيد لتحديد MIC و MFC لخمسة أنواع من الفطريات الصائدة للنيماتود Nematode trapping fungi وهي *Arthrobotrys arthrobotryoides* ، *A.conoides* ، *A.lonigspora* ، *Dactyleria thaumasia* ، *Monacrosporium megalospora* . كان المبيد Mancozeb 80 هو الأكثر تأثيراً على الفطريات المختبرة من حيث حساسيتها وتأثر نموها وإنبات كونيداتها بالمقارنة مع المبيدين الآخرين ، تلاه المبيد Vitavax ثم المبيد Metalachem 50 % ، ولوحظ أن النمو الشعاعي ونسبة إنبات الابواغ والكفاءة الأفتراسية تنخفض مع زيادة تركيز المبيدات . لوحظ أن تأثير المبيد Mancozeb 80 كان واضحا على نمو الفطرين *A.conoides* و *D.thaumasia* إذ بلغ معدل النمو 26.4 ملم و 26.53 ملم ونسبة تثبيط بلغت 70.67 % و 70.52 لكل منهما على التوالي . اظهر الفطر *A.conoides* أكثر نمو شعاعي بلغ 32.87 ملم ، تلاه الفطر *A.arthrobotryoides* بلغ 32.47 ملم عند معاملته بالمبيد Vitavax . أما في معاملة المبيد Metalachem 50% اظهر الفطر *A.conoides* اقل نمو شعاعي بلغ 30.8 ملم وبنسبة تثبيط 65.78 . كان تأثير المبيد Mancozeb 80 هو الأكثر تأثيرا على أنبات الابواغ وتلاه المبيد Vitavax ثم المبيد Metalachem 50 % . وجد أن تأثير المبيد Metalachem 50 % كان واضحا على نسبة أنبات الابواغ ، ففي التركيز 1 ملغم/ مل كانت هذه النسبة منخفضة في الفطر *M.megalospora* بلغت 10.1% . أما المبيد Vitavax ففي التركيز 1 ملغم/ مل ظهرت أعلى نسبة إنبات في أبواغ الفطر *A.lonigspora* بلغ 78.3 % . وجد أن هنالك علاقة واضحة بين التأثير السلبي لهذه المبيدات على النمو الشعاعي وبين عملية تكوين أدوات الاصطياد ، فظهر بان تثبيط النمو أدى إلى انخفاض عدد أدوات الاصطياد وبالتالي انخفاض الكفاءة الأفتراسية لها . ظهرت اختلافات واضحة بين التراكيز المثبطة الأدنى (MIC) والتراكيز القاتلة الأدنى (MFC) ، اظهر الفطر *A.arthrobotryoides* أعلى قيمة MIC و MFC في المبيد Mancozeb 80 بلغت 2.3-2.4 و 2.4-2.5ملغم / مل على التوالي ، بينما أعطى الفطران *D.thaumasia* و*M.megalospora* اقل قيم بلغت 2.2 و2.3 ملغم / مل على التوالي ، أما المبيد Vitavax فأظهر الفطر *A.arthrobotryoides* أيضا أعلى قيمة MIC و MFC (2.4 و 2.5 ملغم / مل على التوالي) وأعطت بقية الفطريات قيم مختلفة ، وبينت الدراسة كذلك أن الفطر *A.arthrobotryoides* أعلى قيمة MIC و MFC بلغت 2.5-2.6 و 2.7 ملغم / مل على التوالي في المبيد Metalachem 50 % .

المقدمة Introduction

تعتبر الفطريات المهلكة للنيماتود مجموعةً بيئيّةً مستوطنة في التربة soil Inhabitants ، مثيرةً للاهتمام لأن العلاقة بين هذه الفطريات والنيماتود هي علاقة لافتة للنظر ومهمة أيضا في الطبيعة ، وذلك بسبب طريقة الاصطياد المثيرة التي تقوم بها هذه الفطريات للنيماتود ومن الممكن استخدامها في السيطرة الحيوية على النيماتود الممرضة للحيوان والنبات على حد سواء (Herrera-Estrella *et al*.2016) . هذه الفطريات تتأثر بمختلف العوامل البيئية الإحيائية واللاإحيائية ، ومنها المبيدات الفطرية . والمعلوم أن هناك حوالي 20000 نوع من النيماتود بعضها مفيدة وبعضها متطفلة على النبات والحيوان وتؤدي إلى تلف النباتات حيث تتغذى على جذور إما خارجيا أو داخليا ، وقد أدت المخاوف بشأن مبيدات النيماتود Nematicides التقليدية إلى الاهتمام المتزايد في استخدام المكافحة البيولوجية للسيطرة على النيماتود الطفيلية (Gopalan and Venkatachalam , 2014). بما أن هذه الفطريات تستخدم كعوامل سيطرة حيوية ضد النيماتود المتطفلة على النباتات وبالتالي فهي يمكن أن تتأثر بالمبيدات المضافة إلى التربة والتي يمكن أن يؤدي ذلك إلى تقليل أو إيقاف تأثيرها كعامل سيطرة حيوي كأحياء غير مستهدفة (Lei *et al*., 2007

(Dijksterhuis *et al.*, 2011 ; لأن بعض المبيدات غير متخصصة ولها تأثير على أحياء التربة الأخرى (Rachid , 2010 ; Van den Brink *et al.*, 2007) . لذلك أن استخدام هذه الفطريات بنجاح في حقل المكافحة الحيوية يجب أن يكون من خلال تقييم علمي لمدى توافقها مع مجموعة متنوعة من المبيدات الفطرية والحشرية وغيرها (Delisha, *et al.*, 2015) . بشكل عام أن أهم الخطوات في معرفة التركيز المثبط الأدنى (MIC) Minimum inhibitory concentration والتركيز القاتل الأدنى Minimum Fungicidal Concentration (MFC) في اختبارات المبيدات الفطرية هو تقدير قيمة التراكيز (Pujol *et al.*, 2000) . وقد أشارت الكثير من البحوث إلى أنه لا توجد ظروف مثلى لعمل المبيدات الفطرية في التربة ضد الفطريات ، ولكن وجد أن معرفة التركيز القاتل الأدنى MFC له مردود أفضل في المكافحة الحيوية من معرفة التركيز المثبط الأدنى MIC (Walsh *et al.*,1992 ; Espinel-Ingroff, *et al.*, 2002) على هذا الأساس جاء البحث ليلقي الضوء على معرفة تأثير المبيدات الفطرية على نموها الشعاعي وتكوين أدوات الاصطياد ونمو وحداتها التكاثرية (الكونيدات) وقياس MIC و MFC

المواد وطرق العمل Material and Methods :-

اختيرت 5 أنواع من الفطريات الصائدة للنيماتود وهي *A.arthrobotryoides* ، *A.conoides* ، *A.lonigspora* ، *D.thaumasia* ، *M.megalospora* ، لدراسة تأثير ثلاث أنواع من المبيدات الفطرية Fungicides (Mancozeb 80 و Vitavax و% 50 Metalachem) على النمو الشعاعي لهذه الفطريات وإنبات الكونيدات وكفاءتها الأفتراسية لتحديد التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MFC .

تأثير المبيدات على النمو الشعاعي للفطريات

نميت الفطريات المختبرة على الوسط الزرعي Corn Meal Agar (CMA) وذلك للحصول على مزارع فتية . ثم حضر نفس الوسط الزرعي وبعد تعقيمه أضيفت المبيدات الفطرية بعد تبريده إلى ما قبل التصلب وبالتراكيز (0.25 ، 0.5 ، 1 ، 1.5، 2 ، 2.5) ملغم / مل لكل مبيد ، ثم صب الوسط بأطباق زجاجية معقمة بمعدل ثلاث مكررات لكل فطر ولكل مبيد فطري ولكل تركيز . بعد تصلب الوسط الزرعي اخذ قرص دائري بقطر 5 ملم من المستعمرات الفتية للفطريات ووضعت بشكل مقلوب على الوسط الزرعي لكل تركيز ، أما معاملة المقارنة فقد كانت بدون إضافة المبيدات ، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ± 1 مْ وعند وصول النمو في معاملة المقارنة لحافة الطبق ، تم قياس معدل ثلاثة أقطار متعامدة من النمو لكل معاملة ، ثم حسب نسبة التثبيط لنمو الفطريات وفق معادلة Abott وكالأتي :

$$\text{نسبة التثبيط \%} = \frac{\text{معدل أقطار الفطر في المقارنة - معدل أقطار الفطر في المعاملة}}{\text{معدل أقطار الفطر في المقارنة}} \times 100$$

تأثير المبيدات على إنبات الابواغ

للحصول على عالق من الابواغ أخذت مستعمرات فتية بعمر سبعة أيام لكل فطر ، وأضيف لها 8 مل ماء مقطر لكل طبق وحركت الأطباق حركة رحويه لتطويف الابواغ ، رشح العالق باستخدام قطع من الشاش المعقم لعزل الابواغ عن بقية مكونات العالق ، ثم صب الراشح في أنابيب اختبار ، وتم حساب عدد الكونيدات في المليلتر الواحد لكل فطر باستخدام شريحة Haemocytometer ، استخدمت تقنية شريحة إنبات الابواغ (Spores Germination Slide Technique) حيث تم مزج 0.05 مل من كل تركيز من التراكيز التالية (0.25 ، 0.5 ، 1) ملغم / مل لكل مبيد مع 0.05 مل من عالق الكونيدات بمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز وحضنت الشرائح بدرجة حرارة 25 ± 1مْ ولمدة 15- 18 ساعة ، وبعدها تم حساب نسبة إنبات الابواغ تحت المجهر من خلال المعادلة الآتية :

$$\text{النسبة المئوية لإنبات الابواغ} = \frac{\text{عدد الابواغ النابتة}}{\text{عدد الابواغ الكلي}} \times 100$$

تأثير المبيدات على تكوين أدوات الاصطياد

اختبرت المستعمرات الفطرية النامية في التراكيز (0.25 ، 0.5 ، 1 ملغم مبيد / مل) للمبيدات الثلاثة ، لأنها أعطت نمو واضح ، ثم أضيف عالق من النيماتود حرة المعيشة (500 ± 25) نيماتود لكل طبق (تم الحصول عليها حسب طريقة (Duddington ، 1955) وعملت ثلاث مكررات لكل فطر ومعاملة ، وحضنت الإطباق بدرجة حرارة 25 ± 1مْ ، وتم حساب عدد أدوات الاصطياد المتكونة في السنتمتر المربع الواحد بعد 24 ساعة ، والتي تمثل الكفاءة الأفتراسية للفطريات مختبرياً .

قياس التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى MIC و MFC

اتبعت طريقة Saxena *et al.*(2012) لتحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MFC) للفطريات المختبرة ، حضرت ستة أنابيب اختبار حاوية على 15 مل من وسط خلاصة الذرة السائل (CMB) وبالمعاملات (2.2 ، 2.3 ، 2.4 ، 2.5 ، 2.6 ، 2.7) ملغم مبيد/ مل لكل مبيد فطري ، أضيف لكل أنبوبة 2 مل من عالق الابواغ المحضر في الفقرة ثانياً ، وحضنت لمدة يومين بدرجة حرارة 25 ± 1مْ ، حضرت أطباق بلاستيكية حاوية على الوسط خلاصة الذرة الصلب (CMA) ، قسمت الأطباق من الخارج إلى 6 مناطق بواسطة قلم تعليم (منطقة لكل تركيز) ، وأضيف 0.1 مل من كل معاملة لكل قسم وعلى مسافة 1 سم من حافة الطبق ، حضنت الأطباق بعد تلقيحها في درجة حرارة 25 مْ وبعد 48 تم تحديد MIC و MFC تحت المجهر الضوئي ، وعملت ثلاث مكررات لكل فطر ومعاملة .

التحليل الإحصائي

اختير التصميم العشوائي الكامل C.R.D واختبار اقل فرق معنوي المعدل R.LS.D تحت مستوى معنوية ($P > 0.5$) لمقارنة الفرق بين أقطار المستعمرات مع التراكيز المختلفة للمبيدات المستخدمة في التجربة . (الراوي ، 1980)

النتائج Results :-

تأثير المبيدات على النمو الشعاعي للفطريات :

بينت النتائج بان المبيدات الفطرية كان لها تأثير واضح على المعايير المدروسة من النمو الشعاعي للفطريات الصائدة للنيماتود ونسبة إنبات أبواغها وكفاءتها الأفتراسية و MIC و MFC . ولوحظ أن هذه المبيدات قد اختلفت فيما بينها من حيث تأثيرها على هذه الفطريات ، وكذلك اختلفت حساسية الفطريات المختبرة تجاه المبيدات والمعاملات المستخدمة باختلاف أنواعها ، فكان المبيد Mancozeb 80 هو الأكثر تأثيراً على الفطريات المختبرة من حيث حساسيتها وتأثر نموها وإنبات أبواغها بالمقارنة مع المبيدين الآخرين ، تلاه المبيد Vitavax ثم المبيد Metalachem 50 % ، حيث لوحظ أن النمو الشعاعي ونسبة إنبات الكونيدات والكفاءة الأفتراسية تنخفض مع زيادة تركيز المبيدات .

أظهرت الفطريات المختبرة معدلات نمو مختلفة في التراكيز المختلفة للمبيد Mancozeb 80 بالمقارنة مع معاملة السيطرة ، فلوحظ أن تأثير هذا المبيد كان واضحا على نمو الفطرين *A.conoides* و *D.thaumasia* إذ بلغ معدل النمو 26.4 ملم و 26.53 ملم ونسبة تثبيط بلغت 70.67 % و 70.52 لكل منهما على التوالي وبفارق معنوي مع بقية الفطريات ودون فارق بينهما عند مستوى المعنوية ($P < 0.05$) ، في حين كان تأثيره قليلا على الفطر *A.arthrobotryoides* بمعدل نمو بلغ 32.3 وبنسبة تثبيط بلغت 64.07 % وبفارق معنوي مع بقية الفطريات . لوحظ أن نمو أنواع الفطريات قد انخفض مع زيادة التركيز وبفروق معنوية واضحة ، وتبين أن نمو الفطريات

اختلف عند تركيز 0.25 ملغم/مل فكان عاليا للفطر *M.megalospora* إذ بلغ 56.67 ملم وبنسبة تثبيط بلغت 37.04 % بينما كان نمو الفطر *A.conoides* واطئا إذ بلغ 42 ملم وبنسبة تثبيط 53.33 % . ولوحظ أيضا أن نمو الفطريات اختلف في التركيز 2 ملغم / مل ، فكان نمو الفطر *D.thaumasia* الأكثر حساسية مقارنة ببقية الفطريات إذ بلغ 3 ملم تلاه الفطر *M.megalospora* وبقطر 6 ملغم / مل (جدول 1) . ولوحظ أن المبيد Vitavax كان تأثيره مختلفاً باختلاف أنواع الفطريات ، فاظهر الفطر *A.conoides* أكثر نمو شعاعي بلغ 32.87 ملم تلاه الفطر *A.arthrobotryoides* إذ بلغ 32.47 ملم في حين انخفض نمو الفطر *M.megalospora* إلى 26.8 ملم . وكما لوحظ في تأثير تراكيز المبيد السابق ، لوحظ انخفاض النمو مع زيادة تركيز مبيد Vitavax ففي التركيز 0.5 ملغم/مل لوحظ أن نمو الفطر *M.megalospora* انخفض بشكل واضح بلغ 35.33 ملم وبنسبة تثبيط 60.74 % ، بينما كان الفطر *A.arthrobotryoides* الأقل تأثرا إذ بلغ 42.33 ملم ونسبة تثبيط 52.96% (جدول 1) . أظهرت النتائج أن تراكيز المبيد Metalachem 50% كان له تأثير واضح على نمو الفطريات وبفروق معنوية واضحة ، فاظهر الفطر *A.conoides* اقل نمو شعاعي بلغ 30.8 ملم وبنسبة تثبيط 65.78 وبفرق معنوي واضح مع بقية الفطريات ، تلاه الفطر *M.megalospora* (31.07 ملم ، ونسبة تثبيط 65.48 %) ، اظهر التركيز 1 ملغم/مل تأثير واضح على نمو الفطر *D.thaumasia* بلغ 29.67 وبنسبة تثبيط 67.04 % تلاه الفطر *A.conoides* بنمو بلغ 30.33 ونسبة تثبيط 66.3 % بدون فارق معنوي بينهما (جدول 1) .

تأثير المبيدات على إنبات الابواغ

أظهرت نتائج هذه دراسة أن أنبات أبواغ الفطريات المختبرة اختلف باختلاف الأنواع الفطرية وبأنواع المبيدات وتراكيزها ، فكان تأثير المبيد Mancozeb 80 هو الأكثر تأثيرا على أنبات أبواغها وتلاه المبيد Vitavax ثم المبيد Metalachem 50 % . ويبين الشكل 1 أن تأثير المبيدMancozeb 80 كان واضحا على نسبة أنيات الكونيدات ، فكانت نسبة منخفضة عند التركيز 1 ملغم/ مل بينما كانت عالية عند النسبة 0.25 ملغم/ مل . ولوحظ أن نسبة الإنبات اختلفت في التركيز الواحد باختلاف الفطريات ، ففي التركيز 1 ملغم/ مل كانت هذه النسبة منخفضة في الفطر *M.megalospora* إذ بلغت 10.1% تلاه الفطر *A.conoides* وبنسبة إنبات 10.7% في حين كانت مرتفعة في أبواغ الفطر *A.lonigspora* بلغت 15.4 % ، أما في التركيز 0.25 ملغم/ مل لوحظ أن نسبة الإنبات منخفضة لأبواغ الفطر *A.conoides* بلغت 68.2 % ويليه الفطر *M.megalospora* وبنسبة إنبات 69.9 % ، في حين ظهرت أعلى نسبة إنبات في أبواغ الفطر *A.lonigspora* (76.3 %) . أما المبيد Vitavax فأوضحت الدراسة أن نسبة الإنبات مختلفة أيضا ، ففي التركيز 1 ملغم/ مل ظهرت أعلى نسبة إنبات في أبواغ الفطر *A.lonigspora* (78.3 %) تلاه الفطر *D.thaumasia* وبنسبة 75.2 % ، بينما كانت هذه النسبة منخفضة في الفطر *A.conoides* إذ بلغت 69.1 % . أما عند التركيز 0.5 ملغم/ مل فكانت نسبة أنبات الابواغ مختلفة فكانت في الفطر *A.lonigspora* 49.1 % تلاه الفطر *D.thaumasia* (47.4 %) ، في حين كانت نسبة الإنبات 36.6 % في الفطر *A.conoides* وهي الأقل (شكل 2) .

Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

جدول(1) أقطار مستعمرات الفطريات المدروسة (ملم) ونسبة التثبيط (%) وتراكيز المبيدات الفطرية المستخدمة

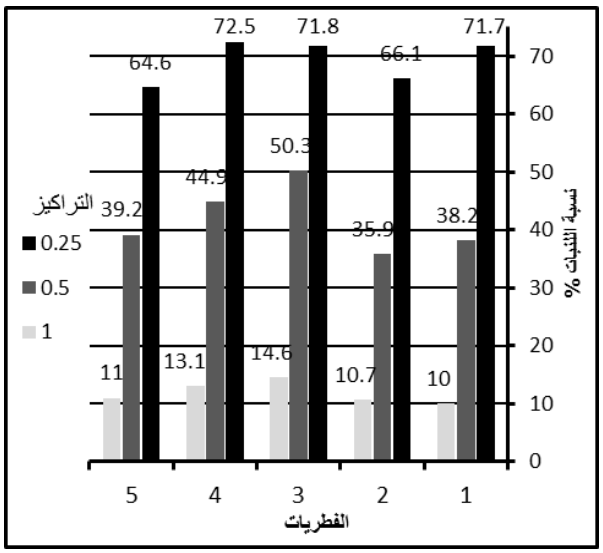
Fungicide	التركيز ملغم/ مل	الفطريات										المعدل للتراكيز
		A.arthrobotryoides		*A.conoides*		*A.lonigspora*		*D.thaumasia*		*M.megalospora*		
		القطر (ملم)	التثبيط %	القطر (ملم)	التثبيط %	القطر (ملم)	التثبيط %	القطر (ملم)	التثبيط %	القطر (ملم)	التثبيط %	
Mancozeb 80	0.25	52.67	41.48	42.00	53.33	51.33	42.96	52.33	41.85	56.67	37.04	51
	0.5	42.00	53.33	34.67	61.48	42.00	53.33	36.00	60.00	44.67	50.37	39.87
	1	34.67	61.48	25.33	71.85	31.00	65.56	27.67	69.26	30.67	65.93	29.87
	1.5	20.67	77.04	18.67	79.26	19.00	78.89	13.67	84.81	18.00	80.00	18
	2	11.67	87.04	11.33	87.41	9.33	89.63	3.00	96.67	6.00	93.33	8.27
	2.5	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
المعدل للفطريات		32.33	64.07	26.40	70.67	30.53	66.07	26.53	70.52	31.20	65.33	
Vitavax	0.25	54.00	40.00	52.33	41.85	53.67	40.37	51.67	42.59	51.67	42.59	52.67
	0.5	42.33	52.96	41.67	53.70	41.33	54.07	39.33	56.30	35.33	60.74	40.00
	1	34.33	61.85	39.33	56.30	30.67	65.93	30.33	66.30	24.33	72.96	31.80
	1.5	20.33	77.41	19.67	78.15	19.67	78.15	13.00	85.56	16.33	81.85	17.80
	2	11.33	87.41	11.33	87.41	12.33	86.30	10.00	88.89	6.33	92.96	10.27
	2.5	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
المعدل للفطريات		32.47	63.93	32.87	63.48	31.53	64.96	28.87	67.93	26.80	70.22	
Metalachem 50%	0.25	54.33	39.63	49.67	44.81	59.33	34.07	56.00	37.78	50.00	44.44	53.87
	0.5	44.67	50.37	42.33	52.96	48.00	46.67	44.00	51.11	41.00	54.44	44.00
	1	37.00	58.89	30.33	66.30	34.33	61.85	29.67	67.04	32.33	64.07	32.73
	1.5	23.33	74.07	19.33	78.52	22.67	74.81	21.00	76.67	20.67	77.04	21.40
	2	14.00	84.44	12.33	86.30	12.67	85.93	9.33	89.63	11.33	87.41	11.93
	2.5	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
المعدل للفطريات		34.67	61.48	30.80	65.78	35.40	60.67	32.00	64.44	31.07	65.48	
السيطرة	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90	0	

قيمة الـ RLSD :(Mancozeb 80 ، أقطار الفطريات = 2.08 ، التراكيز = 2.08 ، التداخل = 3.71)، (Vitavax: أقطار الفطريات = 2.15 ، التراكيز = 2.15 ، التداخل = 3.25)، (Metalachem 50% : أقطار الفطريات = 1.07 ، التراكيز = 1.07 ، التداخل = 3.4)

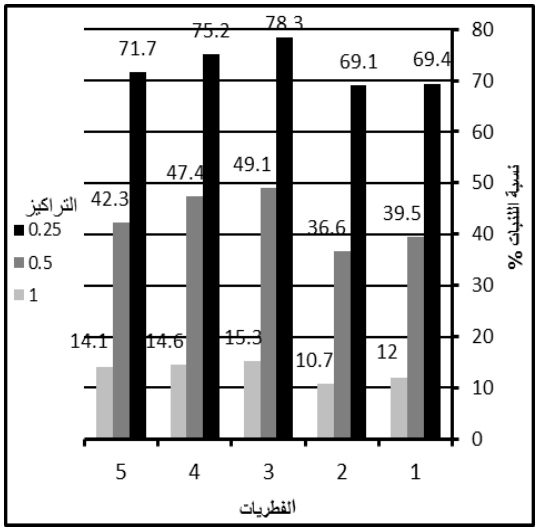
ويظهر الشكل 3 أن المبيد Metalachem 50 % كان له تأثير واضح على نسبة إنبات الابواغ ، فأظهر الفطر *A.arthrobotryoides* اقل نسبة إنبات عند التركيز 1 ملغم/ مل بلغت 10.0 % ، تلاه الفطر *A.conoides* (10.7%) ، في حين اظهر الفطر *A.lonigspora* نسبة إنبات عالية بلغت 14.6 % ، أما عند تركيز 0.25 ملغم/ مل لوحظ أن اقل نسبة إنبات ظهرت في الفطر *M.megalospora* (64.6 %) .

تأثير المبيدات على تكوين أدوات الاصطياد :-

عند دراسة تكوين أدوات الاصطياد في هذه الفطريات وجد أن هنالك علاقة بين التأثير السلبي لهذه المبيدات على النمو الشعاعي وبين عملية تكوين أدوات الاصطياد ، فظهر بان تثبيط النمو أدى إلى انخفاض عدد أدوات الاصطياد وبالتالي انخفاض الكفاءة الأفتراسية لها . وهذا ما لاحظناه في جميع الأنواع الفطرية والمعاملة بالتركيز المختلفة من هذه المبيدات على حد سواء (جدول 2) . ولوحظ أن تكوين أدوات الاصطياد مثبطة تماما عند وجود تراكيز عالية من المبيدات ، ووجد في بعض الأحيان وجود نمو فطري لكن لا تتكون أدوات اصطياد ، وهذا ما ظهر في الفطر *D.thaumasia* في التركيز 1 ملغم/مل في مبيد Metalachem والفطرين *A.conoides* و*M.megalospora* في نفس التركيز لكن في المبيد Mancozeb 80 ، بينما أعطت الفطريات *M.megalospora* في المبيد Metalachem 50 % و *A.conoides* في المبيد Vitavax و*D.thaumasia* في المبيد Mancozeb 80 أداة اصطياد واحدة عند نفس التركيز ، ولوحظ أن الفطرين *A.arthrobotryoides* و *A.lonigspora*



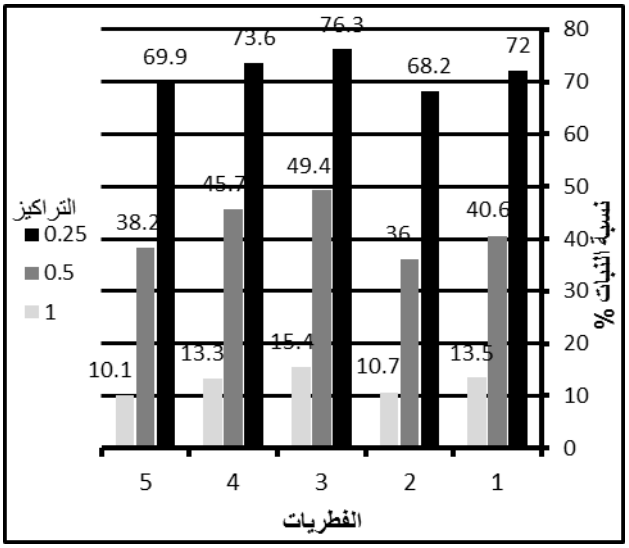
شكل 1 : تأثير تراكيز مختلفة من مبيد Mancozeb 80 المختبرة



شكل 2 : تأثير تراكيز مختلفة من مبيد Vitavax

الأرقام في المحور الأفقي تمثل

1-*A.arthrobotryoides*
2-*A.conoides*
3-*A.lonigspora*
4- *D.thaumasia*



شكل 3 : تأثير تراكيز مختلفة من مبيد Metalachem 50 % على إنبات الكونيدات للفطريات المختبرة

كانا الأكثر كفاءة في تكوين أدوات الاصطياد وفي اغلب التراكيز في المبيدات الثلاثة أظهرت الدراسة أن تأثير المبيد Mancozeb 80 على عملية تكوين أدوات الاصطياد كان الأكثر تأثيراً من المبيدين الآخرين (جدول2)

قياس التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى MIC و MFC

يبين جدول (3) وجود اختلافات واضحة بين التراكيز المثبطة الأدنى (MIC_s) والتراكيز القاتلة الأدنى (MFC_s) على الفطريات المختبرة اختلفت حسب نوع الفطر والمبيد ، لوحظ أن بعض الفطريات أظهرت قيمتين للـ MIC و MFC فمثلا اظهر الفطر *A.arthrobotryoides* أعلى قيمة MIC و MFC عند المعاملة في المبيد Mancozeb 80 إذ بلغت 2.3-2.4 و 2.4-2.5ملغم / مل على التوالي ، بينما أعطى الفطران *D.thaumasia* و*M.megalospora* اقل قيم إذ بلغت 2.2 و2.3 ملغم / مل على التوالي ، أما المبيد Vitavax فأظهر الفطر *A.arthrobotryoides*أيضا أعلى قيمة MIC و MFC إذ بلغت 2.4 و 2.5 ملغم / مل على التوالي وأعطت بقية الفطريات قيم مختلفة ، وبينت الدراسة كذلك أن الفطر *A.arthrobotryoides* اظهر أعلى قيمة MIC و MFC بلغت 2.5-2.6 و 2.7 ملغم / مل على التوالي في المبيد Metalachem 50 % ، وظهرت قيم متفاوتة لبقية الفطريات (جدول3) .

Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

جدول (2) الفطريات الصائدة للنيماتود وكفاءتها في تكوين أدوات الاصطياد

في التراكيز المستخدمة من المبيدات الفطرية (أداة/ سم^2)

المبيدات	التركيز ملغم/مل	الأنواع الفطرية				
		A.arthrobotryoides	*A.conoides*	*A.lonigspora*	*D.thaumasia*	*M.megalospora*
		عدد أدوات الاصطياد	عدد أدوات الاصطياد	عدد أدوات الاصطياد	عدد أدوات الاصطياد	عدد أدوات الاصطياد
Mancozeb 80	0.25	*10	9	13	13	9
	0.5	6	5	9	7	3
	1	2	-	3	1	-
Vitavax	0.25	13	8	12	11	15
	0.5	8	3	7	5	9
	1	3	1	2	2	3
Metalachem 50 %	0.25	16	13	14	12	12
	0.5	11	9	10	4	5
	1	4	4	5	-	1
السيطرة		24	21	22	21	19

الإشارة *: تعني أن الرقم هو معدل ثلاث مكررات

جدول (3) : التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MFC) (ملغم / مل)

للمبيدات الفطرية على الفطريات الصائدة للنيماتود المختبرة

الأنواع الفطرية	Mancozeb 80		Vitavax		Metalachem 50 %	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
A.arthrobotryoides	2.3-2.4	2.4-2.5	2.4	2.5	2.5-2.6	2.7
A.conoides	2.2-2.3	2.4	2.2-2.3	2.3-2.4	2.3-2.4	2.5
A.lonigspora	2.2-2.3	2.3-2.4	2.2-2.3	2.4	2.2-2.3	2.4
D.thaumasia	2.2	2.3	2.2-2.3	2.4	2.2-2.3	2.4-2.5
M.megalospora	2.2	2.3	2.2-2.3	2.4	2.3	2.4

المناقشة Discussion :

دراسات كثيرة أجريت حول تأثير استخدام المبيدات المختلفة pesticides على الكائنات الحية المفيدة وغير المستهدفة Non-target الموجودة في التربة حيث تم التحقق من عدد من المواد الكيميائية وعوامل المكافحة البيولوجية ، أن هذا الموضوع له من الأهمية بمكان في المكافحة الحيوية (Meyer *et.al.*,1999 ; Gopalan and Venkatachalam , 2014) خصوصاً أن بعض المبيدات الفطرية تكون غير متخصصة ويمكن أن تؤثر في أحياء أخرى (Van den Brink *et al.*, 2007) . لوحظ في هذه الدراسة أن الفطريات الصائدة للنيماتود المختبرة قد تأثر نموها وحجم مستعمراتها باختلاف نوع الفطر وتركيز المبيد المضاف أي أن هذه الفطريات تمتلك حساسية مختلفة تجاه المبيدات الفطرية وتراكيزها وان هذه الاختلاف في نمو الفطريات المدروسة قد لوحظ في العديد من الدراسات السابقة (Lei *et al.*, 2007 ; Jansson and Lopez – Llorca , 2004) . وأشار Dackman *et al.*,(1992) إلى أن المبيدات لها تأثير سلبي على نمو الفطريات المهلكة للنيماتود وعلى فعاليتها في تكوين أدوات الاصطياد . أشارت الدراسات إلى أن **المبيدات تعمل في أكثر من مكان داخل خلايا الفطر من خلال تحطيم جدار خلايا الفطر ووقف عمليات التنفس والتمثيل الغذائي داخلها** ، وهناك مبيدات تعمل على وقف البناء الحيوي لمادة Ergosterol وهي مادة توجد في جدران الخلايا الفطرية فقط (Dijksterhuis *et al.*, 2011) . وأشار Jason *et.al.*, (2005) إلى أن المبيدات ثبطت نمو الخيوط الفطرية وإنبات الابواغ في الفطر *Arthrobotrys oligospora* . أشار Gopalan and Venkatachalam, (2014) إلى أن انخفاض أعداد الابواغ التي يكونها الفطر *Paecilomyces lilacinus* بوجود المبيدات الفطرية.

بينت الدراسة أن المبيد Mancozeb 80 هو الأكثر تأثيراً على الفطريات المختبرة من حيث حساسيتها وتأثر نموها وإنبات أبواغها بالمقارنة مع المبيدين الآخرين ، المبيد Vitavax ثم المبيد Metalachem 50 % . ويعتقد أن المبيدات ومنها المبيد مانكوزيب 80 يؤثر على عملية الهضم بالإنزيمات خارج الخلايا التي تقوم بها الفطريات ويقلل نفاذيه الغشاء البلازمي للخيوط الفطرية (Islam *et al.*,2001 ; Supriyanto and Irawan ,2005) . وأشار Huynh *et al.*, (2005) إلى أن المبيدين Mancozeb 80 و Vitavax لهما تثبيط واضح ضد نمو

الفطريات. وأشار الدراسات إلى أن المبيد Vitavax له قدرة تثبيطية عالية تصل إلى 100 % على نمو الفطريات (Islam *et al.*,2015 ; Masum *et al.*, 2009) وتعود القدرة التثبيطية للمبيد Metalachem 50 % إلى تثبيط تخليق الحامض النووي rRNA وبناء البروتينات (Zuno-Floriano *et.al.* , 2012)

أوضحت الدراسة أن نمو الفطريات يقل كلما ازداد تركيز المبيد المضاف ، أي أن هناك علاقة عكسية ظهرت بين قطر المستعمرات الفطرية وتركيز المبيد المضاف وهذا يتفق مع بعض الدراسات التي أشارت إلى إن بعض الفطريات تستطيع النمو في أوساط معاملة بتراكيز معينة من المبيدات وذلك لقدراتها على تحطيم جزئيات المبيد . وهذا يمكن ملاحظته في نمو بعض الفطريات مثل *A.arthrobotryoides* و *A.conoides* التي أعطت نموا أفضل من بقية الفطريات المدروسة ونفس الشيء يمكن مشاهدته في إنبات أبواغ هذه الفطريات مثل الفطر *A.lonigspora* (Pandit *et al.* , 2014 ; Supriyanto and Irawan, 2005) ، ذكر Barron, (2002) أن كبر حجم البوغ يعني قابليتها على تكوين كتلة اكبر من الخيوط الفطرية عند الإنبات بسبب كمية الغذاء المخزون فيها ، وبسبب كبر حجم أبواغ الفطريات المذكورة أعلاه مما يعني قابليتها على تكوين خيوط فطرية بكمية اكبر من بقية الفطريات المدروسة أي إعطائها قدرة اكبر على تحليل بعض جزئيات المبيد ، بينما أشار Meyer *et al.*, (1991) إلى أن الفطرين *P.lilacinus* و*V.chlamydosporium* اظهرا مقاومة واضحة لتراكيز معينة من المبيد Benomyl.

لوحظ في هذه الدراسة أن عدد أدوات الاصطياد انخفض بشكل واضح بوجود المبيدات الفطرية وهذا يعني انخفاض قابليتها الأفتراسية ، وجد Jaffee *et al.* (1994) أن إضافة الأسمدة والمبيدات إلى التربة يقلل من الكفاءة الأفتراسية لهذه الفطريات بسبب وجود مواد ضارة من ضمنها المعادن الثقيلة التي تدخل في التركيب الكيمياوي لبعض المبيدات . أكدت الدراسات أن إنزيم Collagenase الذي تفرزه الفطريات الصائدة للنيماتود لغرض اختراق جدار النيماتود وهضم محتوياتها يثبط بوجود الكثير من المواد ومنها العناصر الثقيلة ، وأن عملية تكوين أدوات الاصطياد في هذه الفطريات تبدأ بوجود مواد كيمياوية بعضها تفرز من النيماتود ، وهذه المواد تحفز الخيوط الفطرية على تكوين أدوات الاصطياد وبكفاءة عالية ، لكن هذه المواد تتأثر بوجود مواد كيمياوية عديدة من ضمنها الأسمدة والمبيدات وما تحتويه من مركبات كيمياوية (Mensin *et al.*, 2013 ; Nordbring-Hertz *et al.*, 2002) ، بالرغم من أن الفطريات الصائدة للنيماتود هي مجموعة مستوطنة في التربة soil inhabitants إلا أن النتائج الحالية أشارة إلى إنها لا تختلف عن بقية الفطريات الأخرى من حيث حساسيتها للمبيدات ، وان نموها يتأثر بالعوامل البيئية المحيطة بها وإذا كانت هذه الفطريات أكثر حساسية بسبب كونها فطريات ضعيفة الترمم غير قادرة على منافسة الفطريات المترممة الأخرى الموجودة في التربة (Jansson and Lopez – Lorca, 2004).

بالرغم من عدم وجود ظروف مثلى لعمل المبيدات الفطرية في التربة ضد الفطريات ، إلا انه وجد أن معرفة MFC له مردود أفضل في المكافحة الحيوية (Espinel-Ingroff, 2002). إن معرفة MIC قد يشير إلى MFC (Espine, *et al.*, 2002 ; Walsh *et al.*,1992) إلا أن بحوث أخرى أشارت إلى أنه لا يمكن التنبؤ بـ MFC من خلال معرفة MIC (Pujol *et al.*, 2003) ، بينما أفترض Cantón *et al.*, (2000) أن استخدام الوقت قد يعطينا تقييم عن فعالية الفطريات أفضل من MIC وMFC . استخدم الوسط السائل في هذه الدراسة لمعرفة MIC وMFC بدل الوسط الصلب لكي يكون التثبيط أكثر وضوحا ، حيث أشار عباس (2004) أن سبب ذلك يعزي إلى أن المادة الفعالة للمبيد تكون بتماس مباشر مع الخيوط الفطرية وبذلك يكون التأثير اكبر . يبين جدول 3 وجود اختلافات واضحة بين التراكيز المثبطة الأدنى (MIC) والتراكيز القاتلة الأدنى (MFC) على الفطريات المختبرة اختلفت حسب نوع الفطر والمبيد ، لوحظ أن بعض الفطريات أظهرت قيمتين للـ MIC و MFC ، وقد يعود سبب ذلك إلى قيمة MIC و MFC قد تكون متقاربة وهذا ما لوحظ ي بعض الدراسات (Islam *et al.*, 2001).

المصادر References

- عباس، محمد حمزة، (2004) . آفاءة بعض المبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطر *Mauginiella scaettae* المسبب لمرض

خياس طلع النخيل في البصرة. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 17 ، العدد 2

Barron G.L.(2003) . Predatory fungi , wood decay, and the carbon cycle. Biodiversity , 4: 3 - 9 .

Cantón E., Pemán J., Viudes A., Quindós G., Gobernado M. and Espinel- Ingroff A. (2003). Minimum fungicidal concentrations of amphotericin B for bloodstream *Candida* species. Diag Microbiol Infect Dis., 45: 203-206 .

Dackman C., Jansson H-B. and Nordbring – Hertz B. (1992) . Nematophagous fungi and their activities in soil . In soil Biochemistry (eds stotsky ، G. and Bollate ، J . M) Marcel ، Dakker Newyork . p : 232 – 279 .

Dijksterhurs J., Doorn T., Samson R.. and Postma J. (2011). Effects of Seven Fungicides on Non-Target Aquatic Fungi . Water Air Soil Pollut. 222:421–425

Delisha P., Ramesh P. and Anju K. (2015). Isolation and Molecular Characterization of Indian Isolates of Nematode Trapping Fungi . Inter. J. of Trop. Agri. Vol. 33, No. 3: 2349-2359

Espinel-Ingroff A., Fothergill A. , Peter J. , Rinaldi M. G. and Walsh T. J. (2002). Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents . J. of Clinical Microbiol. p. 3204–3208 .

Gopalan A. K. and Venkatachalam R.(2014) . Compatibility of agrochemical with entomopathogenic fungi (*paecilomyces lilacinus*) – a biological nematicide. Journal of Global Biosciences Vol. 3(2), 2014 pp.406-410 .

Herrera-Estrella A., Casas-Flores S. and Kubicek C. P.(2016) Nematophagous Fungi . Environmental and Microbial Relationships 3rd Edition, The Mycota IV I.S. Druzhinina and C.P. Kubicek (Eds. © Springer International Publishing Switzerland). 247- 267.

Islam M.S., Sarker M.N.I. and Ali M.A. (2015). Effect of seed borne fungi on germinating wheat seed and their treatment with chemicals. Inter. J. of Natur. and Soc. Scie., 2(1): 28-32.

Islam M.S., Faker H.G. A. and Asad-Ud-Duollah. (2001). Effect of physical seeds sorting ,seed treatment with Garlic extract and Vitavax 200 on seed borne fungal flora and seed yield of jute (*Corchorus capsularis* L.) .Pakistan J. Biolog. Scie. 4(12): 1509-1511.

Jansson H – B. and Lopez – Llorca L.V. (2004) . Control of Nematodes by fungi . IN Fungal Biotechnology in Agriculture Food ، and Environmental Application pp 205 – 215 ..

Jason E. W., Nathanr R. W., JackA W. D., Halin Z. and Dennis L. M.(2005). The influence of fungicides on *Arthrobotrys oligospora* in simulated putting green soil. Annals of Applied Biology , 146:115–121.

Lei L. , Minghe M., Qing Q. and Hong L .(2007). Compounds inhibitory to nematophagous fungi produced by *Bacillus* sp. strain H6 isolated from fungistatic soil. Eur.J.Plant Pathol.117:329-340

Masum . M. M. I. , Islam S. M. M. and Fakir M. G. A. (2009) Effect of seed treatment practices in controlling of seed-borne fungi in sorghum . Scientific Research and Essay Vol. 4(1), pp. 22-27.

Mensin S.,Soytong K., McGovern R.J. and To-anun G.(2013). Effect of agricultural pesticides on the growth and sporulation of nematophagous fungi. Journal of Agricultural Technology 9(4):953-961.

Meyer S. L. F., Sayre R. M. and Huettel R. N.(1991). Benomyl Tolerance of Ten Fungi Antagonistic to Plant-parasitic Nematodes . Journal of Nematology 23(4):402-408.

Mukherjee P. K., Leidich S.D., Isham N., Leitner I., Ryder N.S. and Ghannoum M. (2003). Clinical *Trichophyton* rubrum strain exhibiting primary resistance to terbinafine. Antimicrob. Agents Chemother.42:82-86 .

Nordbring-Hertz B. , Jansson, H – B. and Tunlid A. (2002). Nematophagous fungi . In encyclopedia of Life sciences . Macmillan publishers .، Basingstoke . p : 10 .

Pandit R., Pandya S., Kunjadia P. and Kunjadia A. (2014). Compatibility of Nematophagous fungi *Arthrobotrys conoides* and *Duddingtonia flagrans* various pesticides IJBAF, March, 2(3): 62-72

Pujol I. , Aguilar C. , Fernadez-Ballart J. and Guarro J. (2000). Comparison of the minimum

fungicidal concentration of amphotericin B determined in filamentous fungi by macrodilution

and microdilution methods . Medical Mycology , 38 : 23–26

Rachid R. (2010). Introduction and Toxicology of Fungicides, Fungicides, Odile Carisse (Ed.), ISBN: 978-953-307-266-1.

Seema S., Veena U. and Bhatt R.P.(2012) . Inhibitory effect of essential oils against *Trichosporon*

ovoides causing piedra hair infection . Brazi. J. of Microbiol. 1347-1354 .

Supriyanto and Irawan U.S. (2005) Effect of Mancozeb 80% concentrations on the growth of *Cenococcum geophilumfr* under *in vitro* condition . Biotropia No. 25, : 22 – 28.

Zuno-Floriano .F.G, Miller M.G., Aldana-Madrid M.L., Hengel M.J. and Gaikwad N.W. (2012) Effect of Acinetobacter sp on Metalaxyl Degradation and Metabolite Profile of Potato Seedlings (*Solanum tuberosum* L.) Alpha Variety. PLoS ONE 7(2): e31221.

The effect of fungicides on the growth of nematode-trapping fungi,

predatory efficiency and the ability of spores germination

Ali A. Kasim

Biological Dept., College of Sciences, Misan University

Abstract

The effect of three fungicides (Mancozeb 80 ,Vitavax and Metalachem) in different concentrations (0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 mg /ml) for each fungicide on radial growth were study, and different concentrations (0.5, 1, 1.5 mg / ml) on the germination of conidia , the formation of trapping devises , and different concentrations (2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7 mg / ml for each fungicide to determine the MIC and MFC for five of nematode-trapping fungi (*Arthrobotrys arthrobotryoides, A.conoides, A.lonigspora , Dactyleria thaumasia, Monacrosporium megalospora*). The effect of the fungicides Mancozeb 80 is the most

effective on the tested fungi of sensitivity and influenced its growth and germination of spores compared with other fungicides followed by the Vitavax then Metalachem 50 %, it was noted that the radial growth and germination percentage of conidia and efficiency of predatory decreases with increasing fungicides concentration. It was observed that the effect of the Mancozeb 80 was clear on the growth of two fungi *A.conoides* and *D.thaumasia* as growth of 26.4 mm and 26.53 mm and the percentage of inhibition reached 70.67% and 70.52 each respectively . It showed *A.conoides* more radial growth 32.87 mm, followed by *A.arthrobotryoides* 32.47 mm in Vitavax. In the Metalachem 50% showed *A.conoides* less radial growth reached 30.8 mm, and the percentage of inhibition reached 65.78. Mancozeb 80 is the most influential on conidial germination followed by Vitavax and Metalachem 50%. It was found that the effect of the Metalachem 50% was a clear on germination percentage of conidia, In1mg/ml this percentage was low in *M.megalospora* of 10.1% . 1 mg/ml of Vitavax showed the highest germination percentage in *A.lonigspora* 78.3% . The results revealed that there is a clear relationship between the negative effect of these fungicides on the radial growth and the formation trapping devises, it appeared that the inhibition of growth led to lower or reduce the number of trapping devises and thus lower its predatory efficiency. Clear differences were Showed between the (MIC) and (MFC), *A.arthrobotryoides* showed highest value of MIC and MFC in Mancozeb 80 reached to 3.2 to 4.2 and 2.4-2.5mg/ml respectively, while *D. thaumasia* and *M.megalospora* gave lower values (2.2 and 2.3 mg / ml, respectively). *A.arthrobotryoides* showed also higher value of MIC and MFC (2.4 and 2.5 mg / ml, respectively) in the presence of Vitavax and the rest fungi gave different values, the study also showed that *A.arthrobotryoides* highest value of MIC and MFC amounted to 5.2 to 6.2 and 2.7 mg/ml, respectively, in the presence of Metalachem 50%.