

## النشاط السمي لمبيد Furfural على ثلاث عوامل للمكافحة الاحيائية

*Trichoderma viride* Pers ، *Trichoderma harzianum* Rifani*Paecilomyces lilacinus* (Thoms) Samson

زيد ناجي حسن \* د. محمد جبير حناوي \*\* د. هادي مهدي عبود \*\*\*

\* الجامعة المستنصرية- كلية العلوم- قسم علوم الحياة ، بغداد العراق

\*\* جامعة واسط -كلية العلوم- قسم علوم الحياة ، واسط - العراق

\*\*\* وزارة العلوم والتكنولوجيا - دائرة البحوث الزراعية ، بغداد - العراق

## الخلاصة

اظهرت نتائج دراسة التأثير السمي للمبيد Furfural في ثلاث عوامل للمكافحة الاحيائية هي *Trichoderma viride* ، *Trichoderma harzianum* ، *Paecilomyces lilacinus* ان تأثير المبيد اعتمد على نوع الفطر ومعيار النمو الفطري المختبري وتركيز المبيد اذ اظهرت النتائج وجود علاقة طردية بين تركيز المبيد ومعدل النمو الفطري والقابلية على التجزئ وحيوية الابواغ .فقد احدث المبيد furfural تثبيطا تاما لنمو وتجزئ وحيوية ابواغ الفطر *Trichoderma harzianum* عند التركيز 840 في حين سجل مثل هذا النشاط للمبيد عند التركيز 400 للفطر *Trichoderma viride* وعند التركيز 80 للفطر *Paecilomyces lilacinus* واعتمادا على قيمة التركيز النصفى المثبط IC50 . اظهرت النتائج ان اقل تأثير للمبيد كان في معايير معدل النمو الفطري يليه في ذلك القدرة على التبوغ بينما سجل معيار حيوية الابواغ حساسية عالية للمبيد .

كلمات مفتاحية: مكافحة احيائية ، مبيد الفورفورال ، ترايكوديرما ، باسيلومايسيز

### The Toxic Activity of Furfural on Three Biocontrol Agents (*Trichoderma harzianum* , *Trichoderma viride* , *paceilomyces lilacinus*)

\*Zaid Naji Hassan \*\* Mohammed Jubair Hanawi \*\*\* Hadi Mahdi Aboud

\*.Al mustansiriyh Univ. -Collage of Science-Dept. of Biology , Baghdad - Iraq

\*\* Wassat Univ.- Collage of Science-Dept. of Biology , Wassit – Iraq

\*\*\* Directerate of Agric. Research- Ministry of Science and Technology , Baghdad – Iraq

E-mail:Zaidnaji1096%@yahoo.com

## Abstract

The results of Furfural toxic activity against three biocontrol agent *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* and *paceilomyces lilacinus* revealed that the toxicity found to be fungal species, fungal growth parameter and furfural concentration dependent. The results showed positive relationship between furfural concentration and fungal radial growth ,sporulation and spore viability, furfural completely inhibited fungal growth, sporulation and spores viability for *Trichoderma harzianum* at 840 ppm furfural , while it was 400ppm for *Trichoderma viride* and 80ppm for *paceilomyces lilacinus* .based on IC50 value the results showed that fungal radial growth was the less effected then fungal growth parameter followed by the sporulation while the spores viability was the more sensitive to furfural.

**Keywords:** Biocontrol agent , Furfural , *Trichoderma* , *Pacilomyces* .

## المقدمة

في مكافحة الآفات وأمنية على الإنسان والبيئة وقد أطلق عليها المبيدات الصديقة للبيئة Pesticides Environmentally Friendly وكان لمركب الفورفورال الأثر الكبير في مكافحة العديد من الآفات ومنها الفطريات الممرضة للنبات كالفطر *Pythium Sclerotinia sclerotiorum* وكذلك الديدان الثعبانية (Gerik,2005a; Gerik2005b; Walter and Rodriguez-kabana,1992) وقد أطلق على هذا المركب حارس النبات Crop Guard و Agric Gard وقد أعتبر البديل الأمين للمبيد بروميد المثيل Methyl Bromide (Gerik, 2005; Gerik et al., 2006 ;Burger, 2005a; Burger, 2005b) وقد سجل Canullo et al.,1992 كفاءة عالية لهذا المركب في مكافحة الفطر *Sclerotium rolfsii* في التربة إضافة إلى تعزيز القدرة التضادية للفطر *Trichoderma spp* والبكتريا في التربة. ونظرا للتوجهات الحديثة التي تشير الى ضرورة مكافحة الآفات بأكثر من طريقة ضمن برنامج الإدارة المتكاملة للآفات IPM ولأهمية الفطريات *T. viride* ، *T. harzianum* و *Paecilomyces lilacinus* في معظم مجالات مكافحة الأحيائية وضد العديد من الآفات والممرضات فقد جاءت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المركب *furfural* في الفطريات المذكورة كخطوة اولى في استخدامها في برامج مكافحة الاحيائية .

## المواد وطرق العمل

## المبيد الكيميائي

تم الحصول على المبيد:

Group guard *furfural aldehyde* 990

gm/L من شركة درعاوي للخدمات الزراعية.

## عوامل المكافحة الاحيائية:

استعملت في هذه الدراسة ثلاث عوامل للمكافحة

الاحيائية هي الفطريات :

تعد مكافحة الأحيائية للممرضات النباتية من الطرق المعول عليها في الوقت الحاضر كطريقة آمنة للإنسان والبيئة وكطريقة بديلة عن المبيدات الكيميائية لما لهذه المبيدات من تأثيرات جانبية كثيرة ، وكان للفطريات دوراً كبيراً في هذا المجال وخاصة الفطر *Trichoderma* والفطر *Paecilomyces* ، إذ تم استخدام هذين الفطرين في مكافحة العديد من الممرضات النباتية والحشرات (Al-fattah et al., 2007; Sebastian and Richard, 2007; Fiedler and Sosnowska, 2007) وقد أجريت العديد من الدراسات والأبحاث العلمية الخاصة بتحسين وتطوير هذه الطريقة من خلال برمجتها مع طرق أخرى ضمن برامج الإدارة المتكاملة للآفات IPM ، ومن هذه الطرق استخدام المبيدات الكيميائية ، المستخلصات النباتية إضافة إلى استخدام أكثر من عامل للمكافحة الأحيائية جنباً إلى جنب في مكافحة الآفات ، فقد أشارت إحدى الدراسات إلى كفاءة استخدام كل من الفطر *Paecilomyces lilacinus* والفطر *Trichoderma viride* والمبيد الكيميائي *Furadan* في مكافحة نيماتود العقد الجذرية *Meloidogyne incognita* على محصول الطماطة في البيوت الزجاجية (Bijoy et al., 2006).

كما كان لبعض أنواع البكتريا وفطريات المايكورايزا دوراً تآزرياً كبيراً في هذا المجال ، إذ لوحظ أن استخدام البكتريا *Pasteuria penetrans* والفطر *Glomus intraradices* مع *Paecilomyces lilacinus* دوراً فعالاً بشكل كبير في مكافحة النيماتود *Meloidogyne incognita* وقد تفوق تأثيرهما معاً على تأثير كل منهما على انفراد في مكافحة (Benjamin and Grover,1987 ; Christtos et al., 2006) أن التأثيرات الضارة للمبيدات الكيميائية في البيئة والإنسان بالرغم من كفاءتها في مكافحة الآفات قد حفز الباحثين للتفكير في إيجاد مركبات كيميائية فعالة

ولحساب معدل عدد الأبواغ في قرص 0.5 سم اخذت ثلاث أقراص بقطر 0.5 سم من مزارع كل معاملة بالمبيد على مسافة 2م من مركز الطبق ويوضع كل قرص في 50 مل ماء مقطر معقم ويحرك على جهاز الخلاط المغناطيسي لمدة ثلاث دقائق بعدها يتم عد الأبواغ في العالق باستخدام شريحة العد (Lomer and Haemocytometer) (Lomer, 1997).

ومن ثم حسبت النسبة المئوية لتنشيط الابواغ وفق المعادلة الآتية:

$$100 \times \frac{\text{معدل عدد الأبواغ في معاملة المقارنة} - \text{معدل عدد الأبواغ في معاملة المبيد}}{\text{معدل عدد الأبواغ في معاملة المقارنة}} = \text{النسبة المئوية لتنشيط نمو الأبواغ}$$

ولحساب حيوية الابواغ يأخذ 1مل من العالق البوغي المحضر سابقا ويتم زراعته على وسط PSA المجهز في أطباق بتري قطر 9سم وتحضن الأطباق في درجة حرارة 25±2 م° لمدة يوم واحد بعدها يتم حساب معدل عدد الوحدات المكونة للمستعمرة في كل طبق ويتم حساب حيوية الأبواغ في 1 مل من المعلق البوغي وفق القانون الآتي:

معدل عدد المستعمرات = معدل عدد الوحدات المكونة للمستعمرة × معامل التخفيف

ثم نحسب النسبة المئوية لتنشيط الحيوية وفق المعادلة الآتية:

$$100 \times \frac{\text{معدل عدد الوحدات في معاملة المقارنة} - \text{معدل عدد الوحدات في معاملة المبيد}}{\text{معدل عدد الوحدات في معاملة المقارنة}} = \text{النسبة المئوية لتنشيط الحيوية}$$

واعتمادا على النسبة المئوية لتنشيط تم حساب قيمة التركيز النصفى لكل معيار من معايير النمو (IC50)

#### النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج التأثير السمي لمبيد Furfural في ثلاث معايير للنمو هي النمو القطري والتجريم وحيوية ابواغ الفطريات *Trichoderma*

*Trichoderma* و *Trichoderma harzianum* و *Paecilomyces lilacinus* و *viride* حصل عليها من مركز المكافحة المتكاملة دائرة البحوث الزراعية ، نشطت العزلات على وسط (بطاطا سكرورز اكار PSA ) المجهز في أطباق بتري بلاستيكية ، حضنت بدرجة 25±2 % عند اكتمال النمو تحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مئوية لحين استخدامها .

التأثير السمي لمبيد الفورفورال في النمو القطري لعوامل المكافحة الاحيائية :

استخدمت تقنية الوسط الزراعي المسمم (Food poison technique) للتأثير السمي لمبيد الفورفورال في نمو وتجريم وحيوية الأبواغ لعوامل المكافحة الاحيائية المختبرة ، حيث جهز وسط البطاطا سكرورز اكار (20:10:200) في عشرة دوارق زجاجية سعة 250مل (200مل وسط زرعى /دورق) وبعد تعقيمها بالاتوكليف (121 درجة مئوية ، 1 كغم/سم<sup>2</sup>) لمدة ربع ساعة عوملت بمبيد الفورفورال وعلى أساس المادة الفعالة لتحضير التراكيز التالية (10,20,40,80,160,400,480,800,840) جزء بالمليون بعدها صبت في إطباق بتري قطر 9 سم (9طبق/تركيز) خصصت ثلاث أطباق لكل فطر من الفطريات الثلاث المختبرة وبعد تصلب الوسط لقع مركز الطبق بقرص قطر 0.5 سم من مزارع الفطريات على وسط PSA عمر أسبوع حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25±2 م° وتمت متابعه يومية لحساب معدل النمو اليومي في قطرين متعامدين استمرت المتابعة حتى وصول النمو في معاملة المقارنة إلى الحافة الخارجية للطبق وتم حساب النسبة المئوية لتنشيط النمو وفق المعادلة الآتية:

$$100 \times \frac{\text{معدل النمو القطري في معاملة المقارنة} - \text{معدل النمو القطري معاملة المبيد}}{\text{معدل النمو القطري في معاملة المقارنة}} = \text{النسبة المئوية لتنشيط}$$

بالمليون خفظا معنويا وازداد التركيز الى ان وصل الى اقصاه عند التركيز 40 جزء بالمليون . اما التأثير على حيوية الابواغ فقد احدث التركيز 10 جزء بالمليون خفظا معنويا وازداد التركيز الى ان وصل الى اقصاه عند التركيز 40 جزء بالمليون . و اعتمادا على قيمة (التركيز النصفى المثبط) (IC50) جدول(4) فان النتائج اظهرت ان النمو القطري هو الاقل تاثرا يليه في ذلك القابلية على التجزئ في حين سجل معيار حيوية الابواغ حساسية عالية اذ بلغت قيمته 396,377 و 15, 13.5,62,76 و 17.6,308,130 للفطريات *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma viride* و *Paecilomyces lilacinus* على التوالي وقد يرجع سبب قلت حساسية الغزل الفطري للمبيد الى امكانية في تقادي التأثير السام للمبيد في الوسط بينما مثل هذه القابلية محدودة جدا للابواغ .

*harzianum, Trichoderma viride , Paecilomyces lilacinus ,*

ان التأثير ارتبط بنوع الفطر والتركيز المستخدم ومعيار النمو المختبرة فيما يخص التأثير في الفطر *Trichoderma harzianum* فقد اظهرت النتائج جدول (1) ان خفضا معنويا لمعدل النمو القطري يحدث عند التركيز 80 جزء بالمليون وان هذا التأثير يزداد بزيادة التركيز الى ان يصل اقصاه عند التركيز 840 جزء بالمليون الذي احدث كبحا تاما لنمو الفطر . في حين احدث التركيز 20% خفضا معنويا لمعدل عدد الابواغ في 1مل وازداد التأثير بزيادة التركيز المستخدم الى ان وصل اقصاه الى التركيز 840 جزء بالمليون .

اما فيما يخص التأثير في حيوية الابواغ فقد اظهرت النتائج ان التركيز 10ppm اظهر خفضا معنويا في حيوية الابواغ الى ان وصل اقصاه الى التركيز 840 جزء بالمليون .

اما فيما يخص التأثير في الفطر *Trichoderma viride* فقد اظهرت النتائج (جدول2) ان خفظا معنويا لمعدل النمو القطري حدث عند التركيز 40PPM وان هذا التركيز يزداد بزيادة التركيز الى ان وصل الى اقصاه عند التركيز 400 جزء بالمليون الذي احدث تثبيطا كاملا لنمو الفطر .

اما التأثير في الابواغ فقد احدث التركيز 10 جزء بالمليون خفظا معنويا وازداد التأثير بزيادة التركيز الى ان وصل اقصاه بتركيز 840 جزء بالمليون . اما فيما يخص التأثير في حيوية الابواغ فقد سجل التركيز 10 جزء بالمليون خفظا معنويا لحيوية الابواغ الى ان وصل اقصاه عند التركيز 400 جزء بالمليون .

اما التأثير في الفطر *Paecilomyces lilacinus* فقد اظهرت النتائج جدول رقم (3) ان خفظا معنويا لمعدل النمو القطري عند التركيز 10 جزء بالمليون الى ان وصل الى اقصاه عند التركيز 80 جزء بالمليون الذي احدث تثبيطا كاملا للفطر ، اما فيما يخص التأثير في التبوغ فقد احدث التركيز 10 جزء

جدول ( 1 ) تأثير المبيد *furfural* في نمو وتجراثم وحيوية الفطر *T. harazianum*

النسبة المئوية لتثبيط الحيوية %	*معدل حيوية الابواغ $10^4 \times$	النسبة المئوية لتثبيط الابواغ %	*معدل عدد الابواغ $10^6 \times$	النسبة المئوية لتثبيط النمو %	*معدل النمو القطري cm	التركيز جزء بالمليون
0	160.8	0	54.5	0	8.4	<b>control</b>
4.2	153.9	7.3	50.5	0	8.4	<b>10</b>
15.4	135.3	16.1	45.7	0	8.4	<b>20</b>
34.3	105.5	29.9	38.2	1.1	8.3	<b>40</b>
52.1	77	41.6	31.8	2.3	8.2	<b>80</b>
77.2	36.6	61.2	21.1	17.8	6.9	<b>160</b>
92.4	12.2	80.9	10.4	27.3	6.1	<b>320</b>
96.7	5.2	91.7	4.5	53.5	3.9	<b>400</b>
98.5	2.3	98.1	1	77.3	1.9	<b>800</b>
100	0	100	0	100	0	<b>840</b>
	1.64		0.58		0.20	<b>LSD</b>

\* كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات

جدول ( 2 ) تأثير المبيد *Furfural* في نمو وتجراثم الفطر وحيوية *T. viride*

النسبة المئوية لتثبيط الحيوية %	*معدل حيوية الابواغ $10^4 \times$	النسبة المئوية لتثبيط الابواغ %	*معدل عدد الابواغ $10^6 \times$	النسبة المئوية لتثبيط النمو %	*معدل النمو القطري cm	التركيز جزء بالمليون
0	97.4	0	28.5	0	8.4	<b>control</b>
4.2	93.3	2.8	27.7	0	8.4	<b>10</b>
17.4	80.4	8	26.2	0	8.4	<b>20</b>
31.8	66.4	12.6	24.9	1.1	8.3	<b>40</b>
64.1	34.9	16.8	23.7	2.3	8.2	<b>80</b>
80.2	19.2	34.4	18.7	13	7.3	<b>160</b>
92.9	6.9	51.9	13.7	40.4	5.0	<b>320</b>
100	0	100	0	100	0	<b>400</b>
100	0	100	0	100	0	<b>800</b>
100	0	100	0	100	0	<b>840</b>
	1.17		0.87		0.16	<b>LSD</b>

\* كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات

جدول (3) تأثير المبيد Furfural في نمو وتجراثم وحيوية الفطر *P. lilacinus*

النسبة المنوية لتثبيط الحيوية %	*معدل حيوية الابواغ $10^4 \times$	النسبة المنوية لتثبيط الابواغ %	*معدل عدد الابواغ $10^6 \times$	النسبة المنوية لتثبيط النمو %	*معدل النمو القطري cm	التركيز جزء بالمليون
0	5.8	0	10.9	0	5.4	control
41.3	3.4	22.9	8.4	29.6	3.8	10
60.3	2.3	56.8	4.7	66.6	1.8	20
100	0	100	0	81.4	1	40
100	0	100	0	100	0	80
100	0	100	0	100	0	160
100	0	100	0	100	0	320
100	0	100	0	100	0	400
100	0	100	0	100	0	800
100	0	100	0	100	0	840
	0.87		0.57		0.13	LSD

\* كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات

جدول (4) التركيز النصفى المثبط IC50 لمعايير نمو ثلاث عوامل للمكافحة الاحيائية

التركيز النصفى المثبط لمعيار النمو PPM			الفطر
الحيوية	التجراثم	النمو القطري	
76	130	377	<i>T. harazianum</i>
62	308	396	<i>T. viride</i>
13.5	17.6	15	<i>P. lilacinus</i>

**Sebastian, K.** and Richard, A. S. (2006). Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood. *Biocontrol Science and Technology* 16, 535-546 .

**Fiedler, Ž** and Sosnowska, D.( 2007). "Nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson is also a biological agent for control of greenhouse insects and mite pests". *BioControl* 52 (4), 547–8 .

**Gerik, J. S.** (2005a). Drip-applied soil fumigation for freesia production. *HortTechnology* 15, 820-824.

**Gerik, J. S.** (2005b). Evaluation of soil fumigants applied by drip irrigation for *Liatris* production. *Plant Disease* 89, 883-887.

**Walter, G. J.**, and Rodríguez-Kábana R. (1992). Method for the treatment of nematodes in soil using furfural. U.S. Patent No. 5, 084-477

**Gerik, J. S.** (2005). Evaluation of soil fumigants applied by drip irrigation for *Liatris* production. *Plant Disease* 89, 883-887.

**Gerik, J. S.**; Greene, I. D.; Beckman, P. and Elmore, C. L. (2006). Preplant drip-applied fumigation for callalily rhizome nursery. *HortTechnology* 16, 297-300.

**Canullo, G. H.**; Rodríguez-Kábana, R. and Kloepper, J. W. (1992). Changes in populations of microorganisms associated with the application of soil amendments to control *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Plant and Soil* 144, 59-66 .

**Al-Fattah, A.**; Dababat, A. and Sikora, A. (2007). Use of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the Biological Control of *Meloidogyne incognita* on Tomato. *Jordan J. Agric. Sci.* 3, 297-309 .

**Bijoy, K. G.** ; Rajesh K. P.; Kabindra, S. R.; Chaitali, B. and Lokendra, S. (2006). Integrated application of some compatible biocontrol agents along with mustard oil seed cake and furadan on *Meloidogyne incognita* infecting tomato plants. *Journal of Zhejiang University Scienc* 7(11), 873–875.

**Benjamin, D.** and Grover C. S. (1987). Biological Control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. *J Nematol.* 19 (2), 222–227.

**Burger, G. J.** (2005a). An overview of the development of furfural (Crop Guard®) as a nematicide in South Africa: The chemistry of furfural within the soil and agricultural environment. *Proceedings of the Annual International Research Conference Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions.* 1-27.

**Christos, R.**; Stephan, R.; Sebastian K. and Richard A. S. (2006). Interactions of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 with the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*: Implications for *Meloidogyne incognita* control on tomato *Nematology* 8, 641-645 .

**Lomer, C. J.** and Lomer, C. H. (1997). *Insect pathology manual.*, pp. 241.