تقويم فاعلية عزلتين من الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill. في مكافحة بعض الآفات الحشرية والحلمْ واختبار كفاءة بعض أوساط الإكثار

إبراهيم جدوع الجبوري / إسماعيل احمد الزوبعي / سنداب سامي الدهوي
قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة بغداد / العراق

الملخص :

اختبرت عزلتين من الفطر *B. bassiana* الاولى معزولة من يرقة حفار ساق النخيل ذو القرون الطويلة *Jebusea hammerschmidti* وجدت ميتة في جذع نخلة مصابة بالحفارات في منطقة المحاويل / محافظة بابل وأعطيت الرمز BJH ، والثانية من تربة في محافظة البصرة أعطيت الرمز Bb على آفات حشرية مختلفة والحلم ، وقدرت النسبة المئوية المصححة للموت لكلا العزلتين بعد 1 – 10 أيام من المعاملة بابواغ الفطر وظهر أنهما ذات كفاءة عالية في مكافحة هذه الآفات اذ بلغت النسبة 100% بعد 5 ايام لكل من المن على الخيار وحشرة الأرضة والحشرة القشرية على الحمضيات والزيتون وثربس العنب ، وبعد 7 ايام لكل من المن على البطاطا وبارلتوريا النخيل (الحشرة القشرية) وعثة درنات البطاطا وحوريات الذباب الأبيض ، وبعد 10 ايام لكل من حفار ساق اللوزيات ويرقات وكاملات الكابنودس .وكانت النسبة المئوية المصححة للموت 100% بعد 7 ايام لكل من الحلم والسونة عند رشهما بابواغ العزلة BJH و 10 ايام للعزلة Bb . كما اختبرت اوساط اكثار صلبة كان اكثرها انتاجاً للابواغ وسط بذور الرز 3.2 x 10 ^{8} بوغ/غرام ، واوساط سائلة اعطى فيها وسط البطاطا والسكروز السائل اكثر عدداً للابواغ 5 10x ^{7} بوغ/مل ، كما امكن انتاج ابواغ الفطر بتركيز 3.9 10x ^{7} بوغ/مل على وسط الدبس المخفف بالماء .

كلمات مفتاحية : العراق، الآفة، القدرة الامراضية، *Jebusea* ، *Beauveria*

المقدمة:

يعد الفطر *Beauveria bassiana* من اقدم المسببات المرضية التي تصيب الحشرات ، اكتشفه اوغستينوبازي عام 1885 متطفلا على دودة الحرير ومنذ ذلك الوقت بدا استعماله في مجال المكافحة الحيوية للافات (12) وتشير الدراسات الحديثة الى وجود اكثر من 200 نوعا من الحشرات التي تعود الى رتب غمدية وحرشفية الاجنحة يستطيع الفطر اصابتها (2) يقوم الفطر باصابة الحشرة بعدة اليات منها افرازه لانزيم protease الذي يحلل البروتينات المعقدة في جسم الحشرة وكذلك انزيم chitinase الذي يحلل الكايتين الداخل في تركيب جسم الحشرة وانزيم beauvariein وتسبب هذه السموم قتل الحشرة ، ثم يهاجم الفطر الاعضاء الداخلية للحشرة وتبدا الهايفات بالنمو خارج جدار الجسم وتنتج الكونيديات خلال 24 ساعة من خروج الهايفة (1) مما ينتج عن ذلك مرض خطير يسمى White muscardin disease ، استغل هذا المرض على الحشرات واصبح مسببه ينتج بشكل تجاري عن طريق انتاج الابواغ ، واستخدم كمبيد حيوي تحت مسميات مختلفة مثل Botanigard E و Botanigard 22WP و Naturalis TDN وغيرها (5) و تختلف كفاءة الفطر باختلاف عزلاته فلكل مستحضر عزلته الخاصه به ، يهدف هذا البحث الى تقويم عزلتين محليتين للفطر الاولى عزلت من يرقة مصابة لحفار ساق النخيل والثانية من التربة على بعض الافات المهمة وكذلك اختبار كفاءة بعض الاوساط الغذائية لاكثار الفطر بهدف انتاجه بشكل تجاري .

مواد البحث وطرائقه:

1. عزلات الفطر:

أ. **العزلة BJH :** عزلت من يرقة مصابة لحفار ساق النخيل ذو القرون الطويلة *Jebusea hammerschmidti* في احد بساتين منطقة المحاويل / محافظة بابل .

ب. **العزلة Bb :** عزلت من تربة من منطقة الحوطة محافظة البصرة .

نقيت العزلتان على وسط Doberski مكون من (كلوكوز D 40 غم + بيبتون 10غم +اكار(Agar) 40غم + Crystal violet 0.01 gm + Ampicilin 1غم) (4). كثر الفطر على وسط PDA في اطباق زجاجية عند درجة الحرارة 25 ± 1 س لغرض اعداد القاح .

2. الاختبارات الحيوية على بعض الافات :

تم تقويم عزلتي الفطر BJH و Bb على بعض الافات التابعة لرتب حشرية مختلفة وكذلك الحلم حسب الجدول(1).

جدول (1): الافات النباتية التي تم اختبار الفطر *B. bassiana* في مكافحتها

الافة Pest	الاسم العلمي Scientific name	العائلة Family	الرتبة Order	العائل النباتي Host plant
الحلم Mites	*Tetranychus spp.*	Tetranychidae	Acarina	*Hibiscus* spp.
المن Aphid	*Aphis gossypii*	Aphididae	Homoptera	الخيار Cucumber
المن Aphid	*Myzus persica*	Aphididae	Homoptera	البطاطا Potato
الحشرة القشرية Scale insect	*Parlatoria blanchardi*	Coccidae	Homoptera	النخيل Date Palm
الحشرة القشرية Scale insect	*Aonidella orientalis*	Diaspididae	Homoptera	الحمضيات والزيتون Citrus and Olive
الذبابة البيضاءWhite fly	*Bemisia tabaci*	Aleyrodidae	Homoptera	البرتقال Orange
حفار ساق اللوزياتStone fruit borer	*Chalcophorella bagdadensis*	Buprestidae	Coleoptera	المشمش Apricot
يرقات وبالغات حفارات السيقان Capnodis larvae and adult	*Capnodis miliaris*	Buprestidae	Coleoptera	الرمان Pomegranate
الارضة Termite	*Microcerotermes diversus*	Termitidae	Isoptera	سيقان الرمان والمشمش Apricot and Pomegranate stem
عثة درنات البطاطا Potato tuber moth	*Phthorimaea operculella*	Gellechiidae	Lepidoptera	البطاطا Potato
السونة Sunn pest	*Eurygaster integriceps*	Pentatomidae	Hemiptera	القمح Wheat
ثربس العنب Grape thrips	*Retithrips syriacus*	Thripidae	Thysanoptera	العنب Grape

أ. طريقة الاختبار للافات (الحلم والمن والحشرات القشرية والثربس والذبابة البيضاء وعثة درنات البطاطا) هيئت اطباق بلاستيكية قطرها 9 سم وسمك 1.5 سم وضعت فيها طبقة من القطن الطبي المرطب بالماء ثم وضعت عليها اوراق العائل النباتي المبين في (جدول 1) ازاء كل افة بعد تعقيم هذه الاوراق بمحلول الفورمالين تركيز 0.01 %وذلك بتغطيسها فيه لمدة 10 دقائق لتفادي نمو الاحياء المجهرية عليها ثم نقل الى كل طبق 10 افراد من الافة المراد معاملتها بواقع ثلاثة اطباق لكل معاملة .

ب. طريقة الاختبار بالنسبة للافات (الارضة وحفار ساق الرمان والمشمش وحشرة السونة).

وضعت قطع السيقان المصابة داخل اطباق زجاجية بقطر 20سم وسمك 7 سم ثلاثة اطباق لكل معاملة .عوملت الاطباق في الفقرة ا و ب بمحلول عزلتي الفطر *B. bassiana* المنميتان على وسط PDA لمدة اسبوع عند درجة حرارة 25 ± 1 س بتركيز $10x5^{7}$ بوغ/مل (16,14) باستعمال رشاش يدوي سعة 1 لتر ورشت المقارنة بالماء فقط ، حفظت الاطباق عند درجة حرارة 25 ± 1س ورطوبة 85-90 % سجلت نسبة القتل بعد 1 و3 و5 و7و 10 ايام من المعاملة وصححت النسبة حسب معادلة Abbot (3) حللت النتائج وفق التصميم الاحصائي CRD ضمن التجارب العاملية .

3. اختبار اوساط الاكثار للفطر:

أ. **وسط بذور الرز :** تم وزن 200 غم رز ووضع في دوارق زجاجية سعة 500 مل اضيفت له كمية من الماء حتى تم تغطيته بالكامل عقم الوسط في جهاز التعقيم البخاري Autoclave لمدة نصف ساعة واضيف له المضاد الحيوي امبنسلين تركيز 200 جزء بالمليون . نقلت اقراص من مستعمرة الفطر بقطر 5 ملم بعمر 7 ايام بواقع 3 اقراص لكل دورق ثم حفظت عند درجة حرارة 25 ± 1س لمدة 21 يوم .تم حساب تركيز الابواغ بالمل الواحد باستعمال شريح العد الهيموسايتوميتر (9) .

ب. **وسط بذور السيسبان *Sesbania* spp.:** اجريت العملية نفسها من تحضير الوسط والتحضين وقياس تركيز السبورات كما ورد في اعلاه .

ج. **وسط البطاطا والسكروز السائل Potato sucrose broth :** تم وزن 200غم بطاطا قشرت وهرست واخذ الراشح واضيف له 10غم سكروز واكمل الحجم الى 1 لتر قسم الى 5 دوارق في كل منها 200مل وعقم وبرد واضيف له امبنسلسين ونقل اليه 3 اقراص بقطر 5ملم من مستعمرة الفطر و حفظت عند درجة حرارة 25±1س لمدة 21 يوم وتم حساب تركيز الابواغ .

د. **وسط الدبس المخفف بالماء Date palm extract media:** حضرت ثلاثة تراكيز من الدبس 2.5% و5% و12.5 % وزعت على ثلاثة دوارق لكل تركيز ثم عقمت وبردت واضيف لها المضاد الحيوي امبسلين ولقحت بالفطر وحضنت كما مر سابقا.

النتائج والمناقشة:

الاختبارات الحيوية للافات:

تشير النتائج (جدول 2) الى ان الافات كافة تاثرت بشدة بعزلتي الفطر *B. bassiana* وهذا يتفق مع معظم الباحثين بأن الفطر يسبب امراضا على مدى واسع من الافات (10,6)

اشارت نتائج التحليل الاحصائي الى وجود فروق معنوية بين عزلتي الفطر من ناحية مجموع التاثير على الافات المدروسة اذ تفوقت العزلة Bb على العزلة BJH لكن الاخيرة تفوقت في سرعة القتل بالنسبة للحلم والسونة اذ حققت نسبة قتل 100% بعد 7 ايام قياسا الى العزلة Bb اذ حققت هذه النسبة لكن بعد 10 ايام وهذا يعود الى اختلاف خباثة (virulence) العزلة وهذا ماوجده (14,11) ان لاختلاف العزلة دور فعال في امراضيتها على الافة . كما اشارت النتائج ان عزلتي الفطر حققت نسبة موت بلغت 100% بعد 5 ايام لكل من المن على الخيار والحشرة القشرية على الحمضيات والزيتون والارضة وثربس العنب وبعد 7 ايام لكل من المن على البطاطا وبارلتوريا النخيل والذبابة الابيضاء وعثة درنات البطاطا ، وبعد 10 ايام لكل من حفار ساق اللوزيات ويرقات وبالغات الكابنودس .

جدول (2): تاثير عزلتي الفطر *B. bassiana* في النسبة المئوية المصححة للموت للافات بعد 1-10 ايام من المعاملة بابواغ الفطر

الافة	العزلة	النسب المئوية المصححة للموت بعد التلقيح بابواغ الفطر				
		1 يوم	3 يوم	5 يوم	7 يوم	10 يوم
الحلم	BJH	0	0	46.6	100	-
Tetranychus spp	Bb	0	0	16.6	50	100
المن على الخيار	BJH	0	23.3	100	-	-
Aphis gossypii	Bb	0	30	100	-	-
المن على البطاطا	BJH	0	26.6	53.3	100	-
Myzus persica	Bb	0	23.3	46.6	100	-
بارلتوريا النخيل	BJH	0	23.3	93.3	100	-
Parlatoria blanchardi	Bb	0	13.3	96.6	100	-
الحشرة القشرية على الحمضيات	BJH	0	16.6	100	-	-
Aonidella orientalis	Bb	0	30	100	-	-
الحشرة القشريةعلى الزيتون	BJH	0	46.6	100	-	-
Aonidella orientalis	Bb	0	53.3	100	-	-
الذبابة البيضاء	BJH	0	33.3	86.6	100	-
Bemisia tabaci	Bb	0	33.3	80	100	-
حفار ساق اللوزيات	BJH	0	0	43.3	73.3	100
Chalcophorella bagdadensis	Bb	0	26.6	66.6	83.3	100
يرقات الكابنودس	BJH	0	13.3	43.3	90	100
Capnodis miliaris	Bb	0	26.6	70	93.3	100
بالغات الكابنودس	BJH	0	0	33.3	70	100
Capnodis miliaris	Bb	0	0	50	83.3	100
الارضة	BJH	0	26.6	100	-	-
Microcerotermes diversus	Bb	0	43.3	100	-	-
عثة درنات البطاطا	BJH	0	30	73.3	100	-
Phthorimaea operculella	Bb	0	26.6	76.6	100	-
السونة	BJH	0	0	26.6	100	-
Eurygaster integriceps	Bb	0	0	20	96.6	100
ثربس العنب	BJH	0	26.6	100	-	-
Retithrips syriacus	Bb	0	46.6	100	-	-

ونلاحظ من النتائج ان هنالك اختلاف في المدة التي يحتاجها الفطر الى قتل افراد الافة كافة وهذا يعتمد على مجمل عوامل اهمها هو طبيعة التركيب الفيزياوي للجدار الخارجي للافة اذ نلاحظ ان الحشرات التي تمتاز بطبيعة جدار صلبة كالحشرات التي تعود الى غمدية الاجنحة Coleoptera (جدول 1)(حفار ساق اللوزيات ويرقات وكاملات الكابنودس) يحتاج الفطر فيها الى وقت اطول للوصول الى نسبة موت 100% ، اما الحشرات التي لها جدارا اقل صلابة كالتي تعود الى متشابهة الاجنحة Homoptera (المن والحشرات القشرية) فان الفطر يستغرق وقتا اقل للقضاء عليها وهذا يتفق مع ما وجده (17,15) من ان هنالك علاقة عكسية بين نسبة الهلاك وتقدم عمر حشرة حفار ساق الذرة الاوربي *Ostrinia nubilalis* عند المعاملة بالفطر *B. bassiana* اذ بتقدم عمر الحشرة تزداد صلابة جدار جسمها مما يؤدي الى ضعف اختراق الفطر .وهناك عامل اخر هو طبيعة معيشة الحشرة اذ ان الحشرات القشرية تتغطى بطبقة من الشمع توفروهذه الطبقة مناخ دقيق مناسب للفطر من خلال ارتفاع نسبة الرطوبة التي تعد عاملا مهما في حدوث الانبات لابواغ الفطر وبالتالي زيادة احتمال الاختراق ثم الاصابة وهذه ما اشار اليه (13،8) بان نسبة الاصابة بالفطر ترتفع بزيادة الرطوبة.

كما ان للتركيب الكيميائي لجدار الحشرة تاثير في تطفل الفطر من خلال التاثير في عملية الاختراق اذ ان الاخير يرتبط بنوع الغذاء الموجود ، اذ لاحظ (7) ان الفطر ينبت على دودة براعم الذرة *Heliothis zea* نتيجة لتواجد الاحماض الامينية الاولية .واظهرت النتائج ان هنالك تناسب طردي بين نسبة القتل وزيادة الوقت اذ بدا الفطر باظهار تاثيره بعد 3 ايام من المعاملة وازداد بعد ذلك وهذا يتفق مع الباحثين ، (5).

اختبار اوساط الاكثار :

اظهرت النتائج في (جدول 3) ان الاوساط الصلبة كانت اكثر انتاجا للابواغ من الاوساط السائلة اذ حقق وسط بذور الرز والسيسبان عددا بلغ $10x3.2^{8}$ و $10x2.6^{8}$ بوغ/غم على التوالي في حين ان اعلى تركيز وصلت له الاوساط السائلة هو $10x5^{7}$ وذلك يعود الى طبيعة الوسط اذ ان الاوساط الصلبة توفر مساحة سطحية كبيرة للفطر لينمو ويكون وحداته التكاثرية مقارنة بالوساط السائلة اذ ان الفطر ينمو على السطح العلوي للوسط فقط وبذلك فان وحداته التكاثرية تكون اقل، فظلا عن ان مكونات الوسط الصلب تبقى كما هي حين اعداد الوسط بفضل وجود البذور مما يوفر تغذية جيدة للفطر وهذا ما لا يمكن توفيره في الوسط السائل . كما ويمكن التحكم بعدد الابواغ بزيادة المساحة السطحية للوسط السائل . وبينت النتائج انه يمكن استخدام مادة الدبس المتوفرة في البلد بشكل كبير بعد تخفيفها بالماء كبديل للاوساط الاخرى اذ بلغ انتاج الابواغ فيها $10x3.9^{7}$ بوغ/مل كما ويمكن اسخدام بذور نبات السيسبان كبديل لبذور الرز في عمليات اكثار الفطر.

جدول (3): عدد ابواغ الفطر *B. bassiana* في اوساط اكثار صلبة وسائلة

وسط الاكثار	عدد الابواغ في 1 مل ، غم
بذور الرز	10×3.2^{8}
بذور السيسبان	10×2.6^{8}
البطاطا والسكر السائل	10×5^{7}
الدبس السائل 2.5%	10×2.26^{7}
الدبس السائل 5%	10×1.5^{7}
الدبس السائل 12.5%	10×3.9^{7}

المراجع:

1. الباروني ، محمد ابو مرداس وعصمت محمد حجازي . 1994 . المكافحة الحيوية – ممرضات الحشرات – الجزء الثاني – منشورات جامعة عمر المختار . ليبيا . 635.
2. حنونيك، سليم بولص،محمد سعيد الجارحي ، منصور ابراهيم منصور ، سعيد البغام ، علي شاميه ، صلاح عبدالله وسعيد العواش . (2000) استخدام الفطر الممرض للحشرات *Beauveria bassiana* كعنصر هام في الادارة المتكاملة لحشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل . مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي . 1: 37 – 44 .
3. Abbot, 1925. Method of the effectiveness of an insecticide . J.Econ Entomol. 18:265-267
4. Doberski, J.W.and H.T. tribe 1980.Isolation of entomogenous fungi from elm bark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae* .Trans.Brit.Mycol.Soc.74:95-100.
5. Ellie,G.and O. Maine, 2001. Using *Beauveria bassiana* for insect management. United State Department of Agriculture. Agricultural Research Service .94-97.
6. Evan, H.C.1982.Entomogenous fungi in tropical forest ecosystem: an appraisal .Ecol.Entomol.7:47-60.
7. Grula, E.A., S.P. Wood , and H. Russell, 1984.Studies utilizing *Beauveria bassiana* an entomopathogen in infection proccesses of fungi .(Eds.D.W.Robertsand J.R.Aist).Publs.Rockefeller.fdn.147-152.
8. Hu,M.1985. An investigation on control of *Gryllotalpa africana* by *Beauveria bassiana* and *Labidura* spp. Natural enemies of insects , China .7(2):110-112.
9. Lacey ,L.A.1997.Manual of techniques in insect pathology .Academic press. Santiago.ca.409pp.
10. Madiling ,M.F.1966.Fungal parasites insects Ann.Rev.of Entomol.11:423-448.
11. Michel ,B.1981 Recherches experimentals surla penetration des chaupi guons pathogens chezles insects. These 3e cycle . Univ.sci. Tech. Languedoc . cited from : Samson ,A.R. ,Evan,C. and Latge ,L. 1988. Atlas of entomopathgenic fungi .printed in the Netherlands , New York .187pp.
12. Michael , J. P. and R. Rogerd , 1972. Microbiology .Third edition .printed in United States of American .665-666.
13. Riba ,G. And S. Marcandier 1984. The effect of relative humidity on the virulence and viability of conidia of *Beauveria bassiana , Metarhizium anisopliae* . Agronomic .4(2):189-194.
14. Smith ,K.E., R. Wall, and M.P. French , 2000 .The use of entomopathogenic fungi for the control of parasitic mites *Psoroptes spp.*Vet. Parasitolo.92 (2) :97-105.
15. Story, G.K., W.A. Grander, and E.W. Tollner, 1989. Penetration and persistence of commercially formulated *Beauveria bassiana* conidia in soil of two tillage systems .Environ.Entomol.18:835-839.
16. Townsend , T.R., Glare and B.E. Willoughby . 1995. The fungi *Beauveria* spp. cause epizootics in grass grub population in Waikato .The New Zealand Plant Protection Society incorporated.
17. Vannien ,I., J. Tyni-Juslin, and H. Hokkanen, 2000.Persistance of augmental *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* , in Finnish agricultural soil. Biocontrol. 45(2):201-222.

EVALUATION OF TWO ISOLATES OF *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL. AGAINST SOME INSECTS AND MITES AND TESTING THE EFFICIENCY OF SOME CULTURE MEDIA

Univ.Aden J.Nat. and Appl. Sc., Vol.10, No.1 (2006)

Ibrahim J. Al-Jboory / Ismail A. Ismail / Sendab S.Al-Dahwe
University of Baghdad / College of Agriculture / Plant Protection Department, Baghdad, Iraq

Abstract :

Two isolates of *Beauveria bassiana* were isolated from long horned date palm stem borer *Jebusea hammerschmidti* (BJH)from Mahaweel (Babel) area and date palm orchard soil in Basra (Bb) .The efficacy and pathogenesity of both isolates have been tested on different insects and mites 1-10 days after spore spray . Both isolates showed 100% mortality after 5 days on cucumber aphids, termites, scale insects on citrus and olive and grape thrips. The mortality reached 100% on potato aphids, parlatoria scale insects and potato tuber moth after 7 days of spore spray and on stone fruit borers and capnodis larvae and adults after 10 days. The mortality on sunn pests was 100% after 7 days when sprayed by BJH and after 10 days for Bb however, it was 100 % after 7 days on mite for BJH and 10 days for Bb. Several solid and liquid production cultures have been tested and found that rice seed culture produced 3.2 x 10^8 spores /gm while potato sucrose broth and dates extract (Debis) cultures produced 5x10^7 and 3.9x10^7 spores/ml respectively.

Key words: *Beauveria*, *Jebusea*, pathogenesity, efficacy, pests, Iraq