



المنظمة العربية للتنمية الزراعية

**الدورة التدريبية الإقليمية الأولى في مجال
استخدام تقانات مكافحة الحيوية الحديثة كعنصر أساسي في
الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة سوسة النخيل الحمراء
في الشرق الأوسط**

**العمانية - دولة الإمارات العربية المتحدة
خلال الفترة 2005/2/3-1/29**





**الدورة التدريبية الإقليمية في مجال
استخدام تقانات مكافحة الحيوية الحديثة كعنصر أساسي في
الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة سوسة النخيل الحمراء
في الشرق الأوسط**

الحمراية - دولة الإمارات العربية المتحدة

2005/2/3 - 1/29

تقديم

تقديم

تعد سوسة النخيل الحمراء *Rhynchophorus ferrugineus* من أشد الآفات الحشرية المدمرة لأشجار نخيل التمر في العالم وقد دخلت هذه الآفة إلى المنطقة العربية من جنوب شرق آسيا في منتصف الثمانينات وأحدثت أضراراً بالغة بالنخيل في منطقة الخليج العربي وبقية مناطق الشرق الأوسط، أدى انتشارها إلى حدوث أضراراً بالغة في بساتين نخيل التمر بالمنطقة حيث تتغذي يرقات السوسة على الأنسجة الحية في قلب النخلة وتقضي كامل مدة الطور اليرقي في الإففاق التي تصنعها داخل الجذوع المصابة، مما يشكل صعوبة في اكتشاف أعراض الإصابات الأولية وإنما تكتشف الإصابة بعد تطورها داخل النخلة وعندها يكون الضرر فادحاً.

ونتيجة لتضافر جهود المنظمة العربية للتنمية الزراعية في الحد من انتشار هذه الآفة في المنطقة العربية وتشخيص الأضرار التي تحدثها والوسائل التقنية في مكافحتها في دول الخليج العربية وللاستمرار في إجراءات المتابعة والوقاية والتدريب والإرشاد في سبيل القضاء على هذه الآفة الخطرة على النخيل في المنطقة، تقوم المنظمة بتنفيذ مشروع نقل تقنية مكافحة الحيوية كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط (المرحلة الثالثة) في تسع دول عربية هي المملكة الأردنية الهاشمية، دولة الإمارات العربية المتحدة، مملكة البحرين، المملكة العربية السعودية، سلطنة عُمان، دولة فلسطين، دولة قطر، دولة الكويت، والجمهورية اليمنية بدعم من الصندوق العربي للإنماء الاقتصادي والاجتماعي، وصندوق الأوبك للتنمية الدولية، والبنك الإسلامي للتنمية والصندوق الدولي للتنمية الزراعية (إيفاد).

وتمثل هذه الدورة الإقليمية الأولى في مجال استخدام تقانات مكافحة الحيوية الحديثة كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط.

مكونات المشروع حيث تهدف إلى مستوى تأهيل الكوادر الفنية في الدول المشمولة بالمشروع في مجال تقانات مكافحة الحيوية والمكافحة المايكروبية وطرق استخدامها في برامج مكافحة المتكاملة للآفات بالإضافة إلى طرق الإنتاج الغزير للفطريات والنيماطودا الممرضة للحشرات وتشكيل المبيدات الفطرية والنيماطودية الممرضة للحشرات والعوامل المؤثرة على فعاليتها الأمراض.

والمنظمة إذ تقدم هذه الوثيقة تأمل أن تعين كافة العاملين في مجال مكافحة سوسة النخيل الحمراء على اكتساب بعض المعرفة التطبيقية للتقانات الحديثة الخاصة بمكافحة الآفة وتحديد نشاطها في مناطق تواجدها.

والله ولي التوفيق

الدكتور سالم اللوزي

المدير العام

المحتويات

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
i	تقديم
	المحاضرات
1	جهود المنظمة العربية للتنمية الزراعية في تنمية قطاع النخيل ومكافحة آفاته المرضية والحشرية في الدول العربية (د. عمر محمد الكفاوين - مدير إدارة المشروعات - المنظمة العربية للتنمية الزراعية).
7	المكافحة الحيوية والمكافحة الميكروبية وطرق الاستخدام في برامج مكافحة المتكاملة للآفات (د. محمد عبد جعفر العزّي-المنظمة العربية للتنمية الزراعية).
24	العمليات الزراعية ودورها في برامج مكافحة آفات النخيل (د. محمد عبد جعفر العزّي - المنظمة العربية للتنمية الزراعية).
33	التربية المختبرية للفطر <i>B. bassiana</i> والعوامل المؤثرة على فعاليته الإراضية ضد سوسة النخيل الحمراء (أ.د. رفعت الصفتي - مركز المشروع بالحمرائية).
45	الإنتاج الغزير وتشكيل المبيدات الفطرية الممرضة للحشرات وطرق استخدامها في مزارع النخيل (أ.د. رفعت الصفتي - مركز المشروع بالحمرائية).
51	استخدام الفطريات في برامج مكافحة الحيوية ودورها في تحديد ديناميكية سوسة النخيل بالحقل (أ.د. رفعت الصفتي - مركز المشروع بالحمرائية).
76	استخدام النيما تودا الممرضة للحشرات كأحد عناصر مكافحة الحيوية (د. سامي العوض - مركز المشروع بالحمرائية).
82	العوامل المؤثرة على فعالية النيما تودا الممرضة للحشرات. (د. سامي العوض - مركز المشروع بالحمرائية).
84	إنتاج و تشكيل و تخزين النيما تودا الممرضة للحشرات (د. سامي العوض- مركز المشروع بالحمرائية).
	الكلمات
90	كلمة معالي الدكتور/ سالم اللوزي - المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية
93	قائمة بأسماء المشاركين

**جهود المنظمة العربية للتنمية الزراعية
في تنمية قطاع النخيل ومكافحة آفاته المرضية والحشرية
في الدول العربية**

(د. عمر محمد الكفاوين - مدير إدارة المشروعات - المنظمة العربية للتنمية الزراعية).

جهود المنظمة العربية للتنمية الزراعية في تنمية قطاع النخيل

ومكافحة آفاته المرضية والحشرية في الدول العربية

مقدمة:

يعتبر النخيل *Phoenix dactylifera L.* من أقدم أشجار الفواكه في العالم وزراعته ترجع إلى 7000 سنة قبل الميلاد وتم ذكره في القرآن الكريم (سورة مريم: 1، سورة الشعراء: 147، 148، سورة ق: 9، 10، 11، وسورة الأنعام: 99) وفي الأحاديث النبوية والكتب السماوية الأخرى. تنسب أشجار النخيل بخصومية مناخية ومواصفات تشريحية وفسولوجية تتفرد بها عن كثير من المحاصيل الزراعية مثل مقاومتها للحرارة العالية والجفاف والأملاح.. وغيرها. وقد وفرت واحات النخيل في الصحاري العربية بيئة مناسبة لمعيشة الإنسان العربي بالاحتماء بظلالها والاستفادة من القيمة الغذائية لثمارها من مصادر سكرية ومعادن وفيتامينات فضلاً عن الفوائد التصنيعية لأجزائها ومنتجاتها لسد متطلبات الحياة المنزلية من أثاث وبناء وغيرها. ويروي التاريخ القديم أيام بعثة رسولنا الكريم محمد (صلى الله عليه وسلم) أن رسولنا وصحابته عاشوا أشهراً على التمر والماء. وقد لعبت ثمار النخيل دوراً كبيراً في حماية الإنسان العربي من المجاعات مقارنةً بالتي حدثت في كثير من بلدان العالم وكان لأشجار النخيل دور مهم في الحد من ظاهرة التصحر وتحملها للظروف البيئية المحلية القاسية. انتشرت زراعة النخيل في كثير من المناطق الملائمة لإنتاجه حتى بلغ عدد النخيل المنزوع بالعالم العربي اثنين وستين (62) مليون نخلة أي ما يعادل 69% من مجموع أعداد النخيل بالعالم والذي يصل إلى (89) مليون نخلة (الكتاب السنوي لمنظمة الزراعة والأغذية 1996).

1- الأهمية الاقتصادية للتمور في الوطن العربي:

تحتل زراعة نخيل التمر في الوطن العربي مكانة اقتصادية عالية حيث يعتبر ثمارها من أهم المحاصيل التصديرية لمعظم الأقطار العربية ويقدر إنتاج التمور لسنة 2001 في الوطن العربي وفق الإحصاءات الزراعية العربية (الكتاب السنوي المجلد 22) بحوالي 4951.14 ألف طن، وتقدر صادرات التمور لسنة 2001 في الوطن العربي بحوالي 327.85 ألف طن بقيمة 180.46 مليون دولار.

2- آفات نخيل التمر:

يتعرض نخيل التمر للإصابة بكثير من الآفات الحشرية والكاروسية والمرضية والطيور والقوارض، ويصل الفاقد من الثمار نتيجة للإصابة بالآفات ما يزيد على 35% وتسبب الإصابة

بالآفات نقصاً كبيراً من المحصول كماً ونوعاً وتدهور شديد في عمر الأشجار. تعتبر تقنيات مكافحة الآفات من العمليات الاقتصادية المهمة التي تؤثر على زراعة النخيل وإنتاج التمور. ويتجه مزارعو النخيل في أنحاء كثيرة من العالم إلى زيادة الدخل الزراعي عن طريق الزيادة الرأسية في إنتاج الوحدة الزراعية. وهذه الزيادة لا تتحقق فقط عن طريق استخدام الأساليب الزراعية الحديثة من عمليات الخدمة المختلفة وانتخاب الأصناف الجديدة بل لا بد أن يصاحبها وعي تام مع تنفيذ دقيق لعناصر مكافحة الآفات التي يتعرض لها نخيل التمر. وتتعرض جميع أجزاء النخلة للإصابة بمسببات الأمراض النباتية والآفات الحشرية.

3- جهود المنظمة في مجال تطوير زراعة وإنتاج النخيل ومكافحة آفاته:

لقد اهتمت المنظمة العربية للتنمية الزراعية منذ إنشائها بتنمية وتطوير إنتاج نخيل التمر ووجهت جهوداً مكثفة للمحافظة على هذه الشجرة المباركة وتنمية إنتاجها من التمور إدراكاً منها للمكانة التي تحتلها هذه الثروة وأهميتها الاقتصادية والاجتماعية والبيئية، وانعكس هذا الاهتمام بدرجات متفاوتة في الجهود التي تبذلها الدول العربية في العناية والرعاية لهذه الشجرة المباركة من خلال زيادة المساحات المزروعة والمكافحة للآفات والأمراض التي تصيب أشجار نخيل التمر بمختلف أنواعها الميكانيكية، الزراعية، الحيوية، الكيماوية والتشريعية الخاصة بتطبيق إجراءات الحجر الزراعي الصارمة لدرء الخطر ولحماية هذه الثروة.

أبدت المنظمة اهتماماً بالمشروعات التنموية في مجالات النخيل والتمور ومكافحة آفاتهما وقد نجحت المنظمة في استقطاب الاهتمام والتمويل اللازم لتنفيذ مشروعات تنموية مشتركة بالتعاون مع مؤسسات وصناديق إنمائية تمويلية وأعدت الدراسات والبحوث في هذا المجال بالإضافة إلى تأهيل الكوادر الفنية الزراعية وتقديم الاستشارات الفنية.

تضطلع إدارة المشروعات كإحدى الإدارات المركزية للمنظمة بالأنشطة والأعمال التي تساعد على تحقيق أهداف وتنفيذ المهام المناطة بالمنظمة والمتمثلة في تنمية وتطوير القطاع الزراعي العربي والمساهمة في تحقيق التكامل والتنسيق بين الدول العربية في المجالات الزراعية، وتقوم الإدارة بتصميم وإعداد وتنفيذ المشروعات التنموية الرائدة عن المستويين القومي والإقليمي (المشتركة) بالإضافة إلى المشاريع القطرية لدعم ومساندة الجهود التي تبذلها الدول الأعضاء في المجالات التالية: الخدمات الزراعية ونقل وتطويع التقانات الحديثة، الموارد الطبيعية وحماية البيئة، الأمن الغذائي والإحصاء والمعلومات.

ومن المشاريع التي قامت المنظمة بتنفيذها في مجال تطوير زراعة وإنتاج النخيل:

1. المشروع الإقليمي لمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء وحفارات الساق والجذور باستخدام النيما تودا الممرضة للحشرات وغيرها من وسائل مكافحة الحيوية الأخرى في دول مجلس التعاون الخليجي (المرحلة الأولى والثانية 1997 - 2002):

يهدف المشروع إلى تطوير تقانات مكافحة حيوية فعالة ضد سوسة النخيل الحمراء مبنية على استخدام النيما تودا والفطريات الممرضة للحشرات وغيرها من وسائل مكافحة الحيوية الأخرى، تطوير وسائل إنتاج واستخدام عوامل مكافحة الحيوية ضد سوسة النخيل الحمراء، تقوية وسائل أجهزة البحث والإرشاد الزراعي، نقل تقنيات مكافحة الحيوية إلى المزارعين وتعزيز الروابط والتنسيق المتكامل بين البرامج الوطنية. يضم المشروع دول مجلس التعاون الخليجي وتبلغ الموازنة العامة للمشروع 3.2396 مليون دولار.

- خطورة سوسة النخيل الحمراء على أشجار النخيل بمصر وعدم جدوى استخدام المبيدات الكيماوية لمكافحتها.
- فداحة أضرار المبيدات الكيماوية على مكونات وعناصر البيئة مما يستوجب عدم استخدامها.
- جاذبية وسائل مكافحة الحيوية لمكافحة الآفة لسلامتها بيئياً وفعاليتها إيجابياً كما ثبت من نتائج مشروع مكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء الذي تنفذه المنظمة بدول مجلس التعاون لدول الخليج العربية.

2. مشروع مكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء وحفارات الساق والجذور باستخدام النيما تودا والفطريات الممرضة للحشرات والفطور وغيرها من وسائل مكافحة الحيوية في جمهورية مصر العربية (2002 ولمدة أربع سنوات):

يهدف المشروع إلى استنباط ونقل وتوطين التقانات المطورة بالمشروع الإقليمي لمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء الخليجي إلى مزارع النخيل بمصر لاستخدامها في مكافحة سوسة النخيل الحمراء، رفع مستوى تأهيل وقدرات الكوادر الفنية المصرية في مجال التقانات الحديثة لمكافحة الحيوية للحشرات، دعم الأجهزة الخاصة بتوعية وإرشاد المزارعين. وتتضمن مكونات المشروع على توفير الخبرة الفنية والخبرات الاستشارية، تأمين تجهيزات مختبرية وحقلية، التدريب المحلي والخارجي وتوفير متطلبات التشغيل. وتقوم المنظمة العربية للتنمية الزراعية بالتعاون مع وزارة الزراعة واستصلاح الأراضي بتنفيذ المشروع.

تبلغ الميزانية الإجمالية للمشروع (1.651) ألف دولار تساهم فيها الوزارة بمبلغ (1.203) ألف دولار والصندوق العربي للإنماء الاقتصادي والاجتماعي بمبلغ (448) ألف دولار.

3. مشروع نقل تقانة مكافحة الحيوية كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط (المرحلة الثالثة تبدأ في 2004 ولمدة سنتين):

يهدف المشروع لتصميم واختيار نظام مكافحة المتكاملة للآفات يكون ملائماً، مستدام بيئياً، ناجح اقتصادياً بالاستفادة من التقانات الحيوية الحديثة المتضمنة اصطياد الحشرات وإطلاق الكائنات الممرضة المحلية من الفطريات والنيماطودا بالإضافة إلى الإجراءات المحلية الخاصة بالنظافة والعمليات الفلاحية بطريقة متسقة، إجراء دراسات سمية بحثية واستكمال متطلبات التسجيل للمبيدات الحيوية المطورة بالمشروع، نقل وتطوير تقانات مكافحة الحيوية المتكاملة بالتعاون مع جهاز الإرشاد الزراعي والمزارعين ودراسة أثر التقانات على مزارع نخيل التمر. يضم المشروع 9 دول عربية وتبلغ موازنة المشروع 7.0431 مليون دولار.

4. المشروع الإقليمي البحثي للكشف المبكر عن مرض البيوض على النخيل وتطوير تقانات مكافحته (يبدأ في 2004 ولمدة ثلاث سنوات):

إن مرض البيوض (الذبول الوعائي) من الأمراض الفطرية التي تصيب أشجار النخيل في كل مراحل نموها وتظهر أعراض الإصابة على السعف مسببة موت الخوص ومن ثم موت النخلة عند وصول الفطر إلى البرعم الرئيسي. ويتم تشخيص الفطر المسبب للمرض من خلال دراسة الأعراض الخارجية والداخلية على النخلة المصابة والفحص المجهرى للفطر ودراسة خصائصه الشكلية والجينية بواسطة تقنيات التطابق الخضري والإنزيمات والبصمات الوراثية. تحرص الدول الموبوءة بالمرض على احتواء الفطر داخل البؤر المصابة ومنع انتشاره إلى المناطق السليمة بالإضافة إلى إيجاد الأصناف المقاومة والتحكم في الإكثار السريع لها باستخدام زراعة الأنسجة واستخدام تقنيات الهندسة الوراثية لنقل الجينات.

يهدف المشروع إلى حماية أشجار النخيل من مرض البيوض ورفع إنتاجية التمور وتحسين دخول المزارعين، الحد من تراجع زراعة النخيل وإيقاف زحف الصحراء، المحافظة على النظم المزرعية المستدامة القائمة حول شجرة النخيل ومنع اندثار النظام البيئي للواحات العربية. يضم المشروع 15 دولة عربية وتبلغ موازنة المشروع 5.77812 مليون دولار.

المشاريع القطرية:

1. مشروع تطوير نخيل التمر / الإمارات.
 2. مشروع تطوير وتحسين زراعة النخيل وإنتاج التمور / الإمارات.
 3. مشروع إدخال بعض التقانات الحديثة في زراعة النخيل وإنتاج التمور / الإمارات.
 4. مشروع المساهمة في بحوث بستانة النخيل / سلطنة عُمان.
 5. مشروع مكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء (الهندية) / سلطنة عُمان.
 6. مشروع مكافحة الحيوية للآفات الزراعية / الكويت.
 7. مشروع دعم الجهود القطرية في مجال إكثار النخيل باستخدام تقانات زراعة الأنسجة / دولة قطر.
 8. مشروع تحسين وإكثار شجرة النخيل / السودان.
5. جهود المنظمة في تنمية الكوادر العاملة في مجال النخيل والتمور:

في إطار استراتيجية عمل المنظمة الاهتمام بتأهيل وتدريب ورفع القدرات التكنولوجية للكوادر الوطنية وتنظيم لقاءات وأنشطة تبادل الخبرة والمشورة وتطوير قدرات العاملين ورفع مستويات تأهيلهم فقد نفذت المنظمة على سبيل المثال لا الحصر الدورات التدريبية القومية والإقليمية والقطرية والندوات التالية:

- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل - السعودية 1994.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل - سلطنة عُمان 1994.
- الندوة الإقليمية حول مرض البيوض في النخيل لدول المغرب العربي - تونس 1995.
- الدورة التدريبية القومية حول إنتاج فسائل النخيل باستخدام تكنولوجيا زراعة الأنسجة - القاهرة 1996.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل - السعودية 1996.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال زراعة النخيل - نواكشوط 1996.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال زراعة إنتاج النخيل - بغداد 1996.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل - الدوحة 1997.
- الدورة التدريبية القطرية حول آفات النخيل المهمة وسوسة النخيل الحمراء - الإمارات 1997.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال أنسجة نخيل التمر - الدوحة 1997.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال تقنيات التمور بعد الجني - الإمارات 1997.

- الدورة التدريبية القومية حول زراعة الأنسجة وإنتاج فسائل النخيل السليمة والتعرف على أمراض النخيل وسبل مقاومتها - الرباط 1988.
- الندوة القومية حول إكثار ورعاية النخيل في الوطن العربي - العين 1988.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة المتكاملة للآفات وأمراض النخيل - السعودية 1999.

6. جهود المنظمة في مجال الدراسات البحثية:

- دراسة تحسين زراعة النخيل وتطوير صناعة التمور والنارجيل - سلطنة عُمان 1977.
- دراسة تنمية وتطوير النخيل - ليبيا 1979.
- تقرير فني عن إمكانية تطوير زراعة النخيل - سوريا 1985.

7. الإنجازات التي حققتها المنظمة في مجال التعاون الفني:

- استشارة علمية في مجال إنتاج فسائل النخيل المرستيمية بالأردن.
- استشارة علمية في مجال النظم الخبيرة في النخيل بالإمارات.
- استشارة علمية في مجال زراعة أنسجة النخيل بالبحرين.
- استشارة علمية في مجال إكثار النخيل بواسطة زراعة الأنسجة بالبحرين.
- استشارة علمية في مجال التقانات الحديثة لزراعة الشتول النسيجية للنخيل بالبحرين.
- استشارة علمية في مجال الزراعة النسيجية للنخيل بالبحرين.
- استشارة علمية في مجال وقاية النخيل بفلسطين.
- استشارة علمية في مجال مكافحة آفات النخيل بالسودان.
- استشارة علمية في مجال زراعة الأنسجة النباتية بالكويت.

المكافحة الحيوية والمكافحة الميكروبية
وطرق الاستخدام في برامج مكافحة المتكاملة للآفات
(د. محمد عبد جعفر العزّي-المنظمة العربية للتنمية الزراعية).

المكافحة الحيوية والمكافحة الميكروبية

وطرق الاستخدام في برامج المكافحة المتكاملة للآفات

المكافحة البيولوجية Biological Control

تأثير الأعداء الطبيعيين للآفة مثل:

- المفترسات من مفصلية الأرجل Arthropod predators تتغذى على العائل مثل خنفساء الدعسوقة ذات السبع نقاط التي تتغذى على المن .
 - متطفلات الحشرات Insect parasitoids مثل الزنابير الصغيرة والذباب، تلقي بيضها على الحشرة العائل، وبعد الفقس تقوم الأطوار الصغيرة بالتغذية على العائل وتؤدي قتله.
 - الأحياء المجهرية الممرضة للحشرات Microbial pathogens وهذه تهاجم العائل وتتسبب بمقتل أفراد كثيرة منه.
- يؤدي الأعداء الطبيعيين إلى خفض مجتمع الآفة لمستوى أقل مما كانت عليه عند عدم وجود هذه الأعداء .

المكافحة البيولوجية ويطلق عليها (بيوكونترول) Biological control (Biocontrol)

- إستراتيجية مكافحة الآفة باستخدام الأعداء الطبيعيين الأحياء وتكون:
 - مضادة للآفة antagonists .
 - منافسة competitors وهي الأحياء التي تتنافس مع الآفة للحصول على العناصر الضرورية (الغذاء، المكان.. الخ) في المناخ الذي تعيش فيه الآفة.
 - وأخرى تتكاثر ذاتياً محافظة على كينونتها الحيوية داخل العائل وتستهمل جميعها في مكافحة الآفة.

تقسم المكافحة البيولوجية إلى قسمين:

1. المكافحة البيولوجية الطبيعية : Natural biological control

تحصل عند خفض مجتمع الآفة الطبيعي بواسطة أعداء الآفة الأصليين الطبيعيين المتواجدين بموطن الآفة native أو المتأقلمين في موطن الآفة coevolved natural enemies

2. المكافحة البيولوجية التطبيقية : Applied biological control

وهذه تحصل عند تدخل الإنسان لتعزيز مقدرة الأعداء الطبيعيين للآفة، وهذه تقسم إلى :

- المكافحة البيولوجية التقليدية : Classical biological control تحصل عند دخول أعداء للآفة من الخارج لمكافحة آفة دخيلة أو مستوطنة في المنطقة.
- المكافحة البيولوجية المضافة : Augmentative biological control أو المعززة : تحصل عند تدخل الإنسان لزيادة فعالية الأعداء الطبيعيين للآفة والمتواجدين معها في نفس البيئة conservation

أمثلة عن المكافحة البيولوجية التقليدية Classical biological control

- إن المتطفل *Scolia oryctophaga* (Cocquerel) يهاجم أنواع عديدة من خنافس sugarcane grub, rhinoceros beetles (*Oryctes* spp.) وحفار قصب السكر, *Phyllophaga smithi* (Arrow) التابع لعائلة Scarabaeidae.
- حيث تم إطلاق هذا النوع في موريشياس Mauritius وأعطى مكافحة جيدة ضد آفة سكر القصب.

(Biopesticide) Biological pesticide

- المبيدات الأحيائية Biological pesticide (يطلق عليها Biopesticide) وهو مصطلح عام يطلق على مكونات المكافحة الأحيائية، وبصورة خاصة على المسببات المرضية، والتي يتم تشكيلها واستخدامها كما تستخدم المبيدات الكيماوية، ويكون تأثيرها سريعاً في خفض مجتمع الآفة خلال مدة قصيرة من الزمن.
- إن مكونات المكافحة الأحيائية تكون عرضة لتطبيق قوانين النظافة النباتية phytosanitary regulations في مجال الفحص والبحوث أو في مجال المعاينة والاختبار.

المدى العائلي للمكون الحيوي Host range of a biological control agent

- أحادي العائل monophagous ويتخصص على عائل وإحدى أو سلالة وإحدى من العائل.
- متعدد polyphagous يصيب أعداد من العوائل تصل بمداهها مجاميع من الأحياء.

المفترسات:

- تعتبر أعداء طبيعية للآفة حيث تفترس وتتغذى على الحشرات الأصغر حجماً منها.
- غالباً ما تتغذى على فريسة وإحدى أو أكثر.
- تعتبر حشرات نشطة تبحث عن فريستها لتتغذى عليها.
- منها:

- الخنافس الأرضية ground beetles وخننافس النمر tiger beetles والخننافس مبقعة ladybird والأجنحة الاجتماعية social wasps وحيشرات شبكية الأجنحة (أسد المن وأسد النمل) lacewings وأنواع من البق نصفية الأجنحة some stinkbugs والبق القاتل assassin bugs والذباب السارق robber flies وذباب السيرفد syrphid flies وأنواع من الذباب الصغير midge flies .

أنواع من إبرة العجوز : (Forficulidae) Dermaptera earwigs

- تكون أغلب أنواع إبرة العجوز رمية المعيشة إلا أن قسماً منها له طبيعة إفتراسية.
- النوع *Chelisoche morio* (F) مفترساً على بيض ويرقات سوسة النخيل الحمراء *Rhynchophorus ferrugineus* في المنطقة التاجية لنخيل جوز الهند بمنطقة كيرالا Kerala بالهند (Abraham et al 1973).
- سجل النوع *Anisolabis maratima* يتغذى على بيض سوسة النخيل الحمراء بالخليج.
- المفترس *Xylocoris galactinus* : يهاجم بيض ويرقات حديثة الفقس وعدادى سوسة النخيل الحمراء.

المتطفلات:

- كائنات تعيش على أو داخل جسم العائل .
- تستهلك كميات كبيرة من العائل حتى تقتله .
- أغلب المتطفلات تكون من الذباب أو الزنابير .
- تكون المتطفلات حساسة لتأثير المبيدات الحشرية ومبيدات الفطريات والأدغال.
- يطلق مصطلح Parasitoid على الحشرات التي تتطفل في أطوارها غير الناضجة وتقتل العائل خلال عمليات تطورها وتكون الحشرات الكاملة حرة المعيشة .

رتبة غشائية الأجنحة : Hymenoptera

- النوع *Scolia erratica* Smith يتبع عائلة Scoliidae.
- تتغذى اليرقات كمتطفلات خارجية على يرقات الجعال Scarabaeidae وبنسبة أقل على عائلة السوس Curculionidae.
- تتغذى بالغات الزنبور على الرحيق.
- توخز يرقات الخنافس وتضع البيض على اليرقات المخدرة ومن ثم تعمل خلية حول البيض .

- لا تتوفر معلومات حياتية أكثر عن هذا النوع. بالرغم من أن الجنس *Scolia* قد استعمل بنجاح في مكافحة البيولوجية.

رتبة ثنائية الأجنحة Diptera

- النوع: *Sarcophaga fuscicauda* Bottcher (Sarcophagidae, Cyclorhapha)
- تشمل العائلة حشرات مفترسة ومنطفلة وتكاثر بوضع اليرقات larviparous على العائل .
- تتغذى يرقاتها على يرقات وكاملات الحشرة العائل.

- تهاجم بالغات سوسة النخيل الحمراء *Rhynchophorus ferrugineus*

النوع : *Paratheresia* (tachinids)

- تتطفل اليرقات داخلياً على يرقات رتبتي حرشفية وغمدية الأجنحة:

– *Paratheresia menezesi* Townsend

- متطفل تجمعي على السوسة نوع *R. palmarum* في مزارع نخيل الزيت بمنطقة باهيا Bahia

– *Paratheresia rhynchophorae* (Blanchard)

- يعيش كمتطفل على السوسة نوع *R. palmarum* ولكن لا توجد دراسات دقيقة عن طبيعة التطفل.

الفيروسات:

Baculoviruses

- مجموعة Baculoviruses كبيرة ذات شكل عصوي تحوي DNA ومنها 280 نوعاً معروفاً من NPV.

- توجد ثلاثة مجاميع شكلية هما:

– الفيروس الحبيبي (GV) granulosis viruses

– الفيروس متعدد السطوح النووي (NPV) nuclear polyhedrosis viruses

– ومجموعة صغيرة لا تمثل baculoviruses .

- تقوم مجموعة البروتين بحماية جسيمات الفيروس من تأثيرات الظروف الجوية وتساعد الفيروس على البقاء لسنوات تحت الظروف الملائمة في التربة مثلاً.

- وهي مسببات أمراض الحشرات، تتواجد بالطبيعة، ولها استخدامات هائلة كعوامل أساسية في مكافحة الميكروبية ضد الآفات الحشرية.

- تقتل العائل خلال 7 - 14 يوماً بعد هضمها من قبل العائل، وهذه الصفة غير مقبولة، لأن الحشرة الضارة تكون قد أكلت من العائل النباتي وسببت الضرر خلال تلك الفترة .
- لم تنتج هذه الفيروسات على النطاق التجاري، ولكن بعض أنواعها قد يكون موجوداً لدى المصادر الحكومية.
- أنتجت فيروسات أخرى واستعملت ضد الخنافس نوع *Oryctes* وبصورة خاصة النوع الجعالي الأبيض الذي يصيب النخيل .
- تم تشخيص فيروس متعدد السطوح الساييتوبلازمي *Cytoplasmic polyhedrosis virus* (CPV) ذاتي كفاءة عالية ضد سوسة النخيل الحمراء في مدينة كيرالا الهندية (Gopinadhan) (et al. 1990).
- يصيب الفيروس جميع أوار الحشرة، تؤدي إصابة الأوار اليرقية الأخيرة للسوسة داخل المختبر إلى ظهور بالغات مشوهة المظهر *malformed*
- من المحتمل شمول الفيروسات في برامج مكافحة الإحيائية .

بعض أنواع الفيروسات :

***Anagrapha falcifera* Nuclear Polyhedrosis Virus**

***Helicoverpa zea* Nuclear Polyhedrosis Virus**

- توجد بحشرات حرشفية وغشائية وثنائية الأجنحة.
- تتطور في نويات الأجسام الدهنية، خلايا الدم، البشرة والقصبات.
- ينقل المرض عن طريق هضمه بواسطة الفم ثم تدخل جسيمات الفيروس المرضية تجويف المعدة وتدخل خلايا المعدة الوسطى.
- تنتقل المرض عن طريق الأنثى إلى البيض.
- الاسم التجاري:

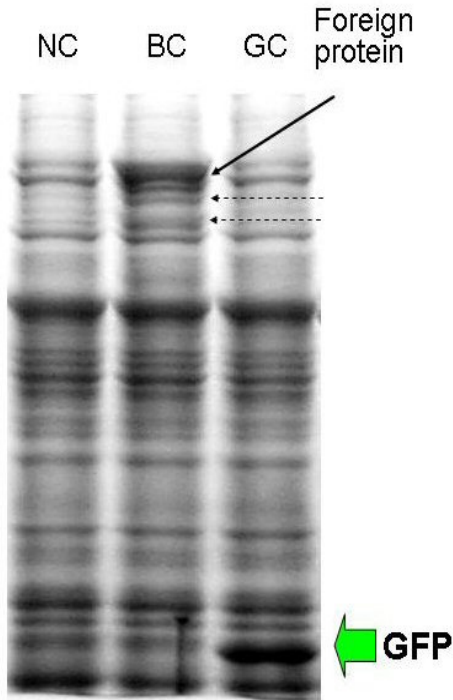
– VFN80™ ،

– Gemstar LC, Biotrol, Elcar

الميكروسبورديا *Microsporidia*

- تركزت البحوث خلال الفترة بين السبعينات والثمانينات على صفات الميكروسبورديا المتطفلة على الحشرات التي تصيب النباتات.

- يستلزم الإنتاج الكمي لهذه المتطفلات يرقات العائل الحية وتسبب تأثير غير قاتل sub lethal effects على مجتمع اليرقات.
- انتهت البحوث على المايكروبيديا بداية التسعينات سنة 1990 وقد بوشر بها حديثاً مرة أخرى.
- تهاجم أنواع النوزيما : *Nosema (Nosema locustae) and Vairimorpha* يرقات حرشفية الأجنحة وحشرات مستقيمة الأجنحة والأنواع الأخرى .
- يهاجم النوع *Nosema fumiferanae* دودة جوز القطن spruce budworm .
- ويهاجم النوع *Nosema locustae* أفراد الجراد وينتج بالأسماء التجارية التالية:
- NOLO Bait® and Grasshopper Attack® ذات تأثير فاعل عندما يتناول من قبل الحوريات في الأطوار الحورية الأولى.
- يتميز ببطء فعاليته المرضية، ويحصل الموت بعد 3 - 6 أسابيع من حدوث الإصابة. ولا تموت جميع أفراد الجراد.



NC and GC - control baculoviruses

Fig. 1. Analysis of proteins in insect cells infected with NC, GC and a recombinant baculovirus control (BC) *Spodoptera frugiperda* Sf9 cells were harvested at 60 h post infection, lysed in 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 150 mM EDTA, 0.5% NP-40, and insoluble fraction was removed by centrifugation at 30.000g for 15 min. Soluble proteins were separated in 11% SDS-PAGE and stained with Coomassie blue.

البكتريا :

Bacillus thuringiensis

- موجبة الشحنة، شكل عصوي، هوائية، وتكون سبورات، عرض الخلايا الخضريّة ميكرون وإحدى وطولها خمسة ميكرونات ولها خيوط سوطية قصيرة ، تكون موجودة في كل مكان في البيئة ويمكن استخلاصها من التربة والنباتات والماء والهواء
- استعملت على نطاق واسع في العديد من الأنظمة الزراعية.
- المشكلة التي تواجه استعمال البكتريا هي ظهور نوع من المقاومة ضد سموم البكتريا bacterial toxin من قبل بعض أنواع الحشرات.
- تنتج سبورات تحوي السموم bacterial toxin القاتلة للعديد من يرقات حرشفية الأجنحة.

Crystal protein (*cry*) genes

- تنتج البكتريا أجسام بلورية خلال عملية تكون السبورات وتكون هذه البلورات من البروتين وتم تشخيص ووصف أكثر من (14) نوعاً من جينات البلورات البروتينية (*cry*) crystal protein genes فضلاً عن إنتاجها كمبيدات حشرية .
- يتخصص الجين بعائلة المبيد البروتيني المنتج insecticidal (Cry) proteins ويمكن تقسيمها إلى أربعة مجاميع:

– جينات متخصصة على حشرات حرشفية الأجنحة (I) Lepidoptera-specific

– جينات متخصصة على حشرات ثنائية الأجنحة وحرشفية الأجنحة Lepidoptera- and Diptera-specific (II)

– جينات متخصصة على حشرات غمدية الأجنحة (III) Coleoptera-specific

– جينات متخصصة على حشرات ثنائية الأجنحة (IV) genes Diptera-specific

أنواع البكتريا الممرضة للحشرات

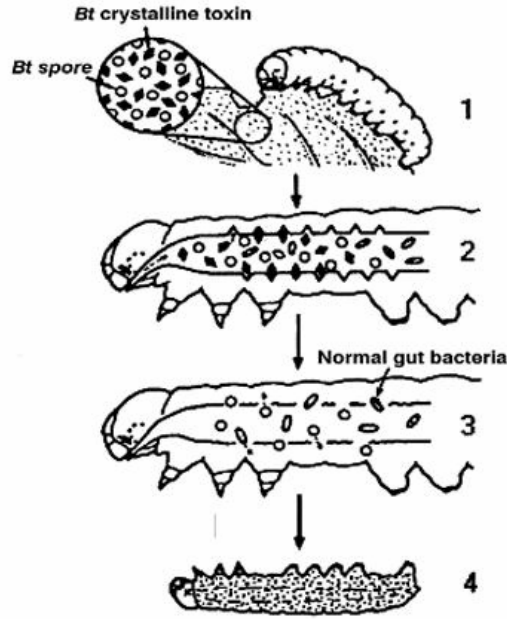
- BT/ san Diego : Colorado potato beetles
- BT/ israelensis: Mosquito larvae, black fly
- BT/ kurstake bait: European corn borers
- BT/Berliner-kurstake : Cabbage looper, cabbageworm, diamondback moth, tomato horn-worm, tomato fruit worm, grape leaf roller, & gypsy moth

Bacillus sphaericus (strain 2362)

- تعمل كسم داخلي ضد يرقات البعوض التابع للأجناس: *Culex*, *Psorophora* and *Anopholes* وقليلة التأثير على الأنواع التابعة للجنس *Aedes*
- تلتهم البكتريا الحية من قبل يرقات البعوض، تخترق البكتريا من الأمعاء الدقيقة ليرقات البعوض إلى تجويف الجسم ، تتكاثر وتم تطلق جرعات من السم القاتل ليرقات البعوض.

Bt δ -endotoxins and mode of action

- إنزيمات القناة الهضمية للحشرة تحت الحموضة العالية تؤدي إلى ذوبان بلورات بروتين السم toxin crystal ومن ثم تتفاعل معه مؤدية إلى تلف خلايا القناة الهضمية.
- أصبح السم Btk المؤثر على الحشرات ينتج على نطاق تجاري واسع.



Application Methods

- تنتج بأسماء تجارية:
- VectoLex CG (*Bacillus sphaericus* Serotype H5a5b)
- تمزج الحبيبات الحاوية على المادة الفاعلة مع الماء ومواد أخرى وترش في الهواء بواسطة الطائرات أو الرش الأرضي.
- منتجات المبيد تحوي *Bacillus sphaericus* التي تكون فاعلة لمدة أسبوع إلى أربعة أسابيع بعد الرش.

Bacillus thuringiensis var. *tenebrionis*

- يكون المستحضر Bt variety tenebrionis متخصص على حشرات غمدية الأجنحة .coleopteran
- مسجل ضد يرقات خنفساء بطاطس كولورادو Colorado potato beetle و يرقات وكاملات خنفساء ورق الدردار elm leaf beetle.
- طريقة عمله:
- كما هو الحال مع بقية أنواع البكتيريا، يبتلع من قبل اليرقات ويؤدي مفعوله.
- ينكسر بواسطة الأشعة فوق البنفسجية ولا يعيد دورته بالطبيعة.
- الاسم التجاري: Trident

Bacillus thuringiensis var. *san diego*

- مسجل ضد يرقات خنفساء بطاطس كولورادو Colorado potato beetle و يرقات وكاملات خنفساء ورق الدردار elm leaf beetle.
- طريقة عمله:

- كما هو الحال مع بقية أنواع البكتيريا، يتلغ من قبل اليرقات ويؤدي مفعوله.
- يتكسر بواسطة الأشعة فوق البنفسجية ولا يعيد دورته بالطبيعة.
- الاسم التجاري: M-One
- يصنع ويجهز من قبل Mycogen Corporation, 5501 Oberlin Drive, San Diego, CA 92121
- البكتيريا الممرضة لسوسة النخيل الحمراء
- يوجد تسجيل وإحدى للبكتيريا الممرضة لسوسة النخيل الحمراء من قبل (Banerjee & Dangar, 1995)
- تم استئصال النوع : *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula التابع لعائلة (Pseudomonadaceae) من نماذج مصابة طبيعياً في منطقة كيرالا الهندية Kerala.
- أوضح التحليل المختبري إن هذه البكتيريا مرضية للسوسة وتؤدي إلى موت اليرقات عندما تهضم البكتيريا مع الغذاء ويحصل الموت بعد ثمانية أيام بعد التلقيح بالبكتيريا.

الفطريات :

تعتبر الفطريات أكثر وأقدم عناصر مكافحة الحيوية الميكروبية استخداماً في العالم. يوجد حوالي 750 نوع من الفطريات الممرضة للحشرات واهمها الفطريات الناقصة التي تفتك بالعديد من الحشرات الاقتصادية الضارة بالنباتات ومنها:

***Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal**

- تم تسجيل الفطر *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal للسيطرة على مستقيمة الأجنحة (Thomas *et al.*, 1995)
- يخلط مع الزيت ويعامل ضد الآفة.
- يستعمل في البيئات الجافة المشابهة لأجواء الدول الخليجية للسيطرة على:
- الجراد الصحراوي *Schistocerca gregaria* (Forskål)
- ونطاق الحشائش *Zonocerus variegates* من عائلة Acrididae
- يوجد نوع آخر *M. anisopliae* يصيب حشرات غمدية الأجنحة وبصورة خاصة الحشرات التي تعيش في التربة او داخل انفاق جذوع الأشجار وقد تم عزله في مصر من سوسة النخيل الحمراء.

Beauveria bassiana

- يتبع رتبة Hyphomycetes تحت قسم Deuteromycotina
- توجد عدة سلالات من الفطر *Beauveria bassiana* في التربة في أرجاء العالم
- يشترك الجنسين *Metarhizium* and *Beauveria* بدورة الحياة البسيطة ولا يعرف الطور الجنسي وتسمى السبورات غير الجنسية بالكونيديا conidia

- يوجد نوع آخر *B. brogniarti* وينتج بكميات كبيرة في الصين وأوروبا وأمريكا.
- لوحظ أن كلا الفطرين *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin و *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin لهما تأثير كبير على أنواع السوس.

- مجال عمل الفطر: يصيب بيض ويرقات وبالغات العديد من الحشرات.
- ينمو الفطر على العائل ، يفرز أنزيمات التي تضعف الغطاء الخارجي للحشرة ثم يخترق الجدار وينمو بداخل جسم الحشرة مما يسبب موتها.

Zygomycetes: Entomophthorales

- يتبع هذه الرتبة الجنس *Entomophaga* وتوجد منه عدد من الأنواع:

Entomophaga grylli -

Entomophaga macleodii -

Entomophaga calopteni -

E. praxibuli -

- جميع هذه الأنواع تهاجم الجراد في أمريكا وكندا وأستراليا.
- لا تتوفر منتجات تجارية لهذه الأنواع.

تصيب الفطريات أنواع مختلفة من الحشرات منها:

- *Entomophthora exitialis*: Spotted alfalfa aphid
- European corn borer *Beauveria bassiana*: Colorado potato beetle,
- *Hirsutella thompsonii*: Citrus rust mites
- *Spicaria rileyi*: Corn earworm, tomato fruit worm, cotton bollworm

الفطريات المستخدمة كمبيدات

Beauveria bassiana

- يتواجد هذا الفطر بالتربة وله مدى واسع من العوائل الحشرية منها الخنافس والسوس والحشرات مستقيمة وحرشفية الأجنحة وغيرها.
- ذات مقدرة أمراضية عالية ضد أدوار سوسة النخيل الحمراء.

Nomuraea rileyi

- يتواجد في فول الصويا ويصيب حشرات حرشفية الأجنحة مثل دودة جوز القطن ويؤدي إلى موت كبير في اليرقات التي تتغذى على الأجزاء الخضرية .

: *Vericillium lecanii*

- يستعمل ضد حشرات متشابهة الأجنحة وقد استخدم في البيوت الزجاجية في بريطانيا للسيطرة على المن والذبابة البيضاء والحشرات القشرية والبق الدقيقي والثربس ، له منتج تجاري *Vertelec®* و *Mekotal*.

Lagenidium giganteum

- يعيش في الماء وذات قابلية أمراضية عالية ليرقات عدد من أجناس البعوض.

Hirsutella thompsonii

- يصيب حلم صدأ الحمضيات ومنتجه التجاري Mycar®

Paecilomyces spp

- يصيب حشرات متشابهة الأجنحة وأنواع الأكاروس ومن القمح الروسي والذباب الأبيض. له منتج تجاري وإحدى.

Aschersonia aleyrodis

- يصيب الذباب الأبيض في المناطق الإستوائية وتحت الإستوائية.

بعض الأعمال المنجزة

- « المسح المحلي للفطريات الممرضة للحشرات المرتبطة بأفة سوسة النخيل الحمراء .
- « التقويم الحيوي لمرضية العزلات المختلفة من الفطريات الممرضة لحشرة سوسة النخيل الحمراء .
- « دراسات على مدى انتشار مستحضر جراثيم الفطر المشكل في الزيت وفاعليته عند الحقن داخل جذوع النخيل.
- « تحديد فاعلية طرق المعاملة المختلفة بفطر *Beauveria bassiana* ومدة بقائه على النخيل لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء داخل الصوبة .
- « الإنتاج الكمي *Mass production* للفطر الممرض للحشرات *B.bassiana*.
- « تأثير استخدام الفطر *B.bassiana* رشاً على النخيل لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء فى الحقل .
- « تأثير إطلاق ذكور ملوثة بالفطر *B.bassiana* على خفض الكثافات العددية لحشرة سوسة النخيل الحمراء بالحقل .

تقنية إصطياد وتلويث حشرة سوسة النخيل الحمراء بالفطر الممرض *B. bassiana* ثم إطلاقها في مزارع النخيل لتلويث الإناث عند التزاوج معها والقضاء عليها ، وكذلك عن طريق رش الأشجار المصابة بسوسة النخيل الحمراء بمعلق الفطر.

النيوماتودا: تكون أنواع النيوماتودا إما ضارة للإنسان (الأسكارس والأنكلستوما) أو النبات (نيوماتودا تعقد الجذور ونيوماتودا الموالح) والحيوان (اسكارس الماشية) أو مفيدة تصيب الآفات الحشرية التي تتواجد بجزء من أدوارها في التربة ومنها الأنواع التابعة للعائلتين:

Steinernematidae and Heterorhabditidae)

تستخدم أنواع هاتين العائلتين في مكافحة البيولوجية ضد الآفات التي تعيش بالتربة.

- يتبع الجنس *Steinernema* و *Neosteinernema* عائلة Steinernematidae
- يوجد (35) نوعاً يتبع الجنس *Steinernema* (*S. feltiae*, *S. carpocapsae*) ونوع وإحدى يتبع

الجنس *Neosteinernema*

- لوحظ أن الـنيماتودا *Steinernema carpocapsae* تؤثر على يرقات دودة ثمار التفاح ولا تؤثر على كاملات الحشرة .
- ويتبع الجنس *Heterorhabditis* عائلة *Heterorhabditidae*
- توجد (10) أنواع تتبع الجنس *Heterorhabditis* (*H. megidis*, *H. indica*, *H. inquirenda* (*bacteriophora*) منها نوعان
- وجميعها تنتج تجارياً وتستعمل كعوامل للمكافحة البيولوجية ضد الحشرات المتواجدة بالتربة والحشرات التي تختفي في التربة في مناطق متعددة من العالم.
- تعيش الـنيماتودا مع البكتيريا : **Nematodes mutually associated with bacteria** تعيش هذه البكتيريا بأمعاء الـنيماتودا ولها المقدرة على إمرض الحشرات المصابة والقضاء عليها ومنها:
 - تتعايش بكتريا *Xenorhabdus* مع الـنيماتودا جنس *Steinernema* .
 - تتعايش بكتريا *Photorhabdus* مع الـنيماتودا جنس *Heterorhabditis*
 - إن معقد الـنيماتودا والبكتريا يعملان جنباً مع جنب كعوامل للمكافحة البيولوجية لقتل الحشرة العائل.
 - كلا الجنسين *Xenorhabdus* و *Photorhabdus* تكون متحركة، سلبية الشحنة، رمية المعيشة، لا تكون سبورات، عصيات غير هوائية تتبع العائلة *Enterobacteriaceae*.
 - يتبع الجنس *Xenorhabdus* خمسة أنواع لها علاقة مع *Steinernema* .
 - يتبع الجنس *Photorhabdus* ثلاثة أنواع لها علاقة مع *Heterorhabditis* ونوع وإحدى هو *P. luminescens* يقسم إلى خمسة تحت نوع:

مميزات التعايش:

- تقتل الحشرة العائل خلال مدة قصيرة (48) ساعة تخلق مناخاً ملائماً لتطورها وتنتج مضادات حيوية توقف نشاط الأحياء المنافسة لها.
- تغيير نسيج العائل إلى مصادر غذائية وتعمل كذلك كمورد غذائي.
- تحتاج البكتريا للـنيماتودا لحمايتها من المناخ الخارجي.
- وذلك بمساعدتها لاختراق تجويف العائل وتمنع بروتينات العائل المضادة للبكتريا .

الآفات الحشرية التي تصاب بالـنيماتودا:

- تصيب يرقات الحشرات التالية:
- White grub, Japanese Beetle, Northern Masked & European Chafer, Oriental Beetle, June Beetle, Billbug, Cutworms, Armyworms, Black Vine Weevils, Strawberry Root Weevils, Fungus Gnats, Mole Crickets, and Fly Maggots Carrot Weevils

الإنتاج الكمي : Mass Production

- من السهولة تربية النيماتودا الممرضة للحشرات إما في الوسط الحي أو الوسط غير الحي للأغراض المختبرية أو لأغراض الإنتاج التجاري.
- تستعمل حشرات دودة الشمع *G. mellonella* لغرض الإنتاج الكمي في الوسط الحي وتستعمل بعدد من الدول كطعم لصيد السمك أو غذاء للطيور.

طرق التطبيق : Application methods

- ترش بواسطة أجهزة رش المبيدات الكيماوية، سواء اليدوية الصغيرة أو المرشاة الأرضية، أو أجهزة تكوين الرذاذ أو الضباب ، أو بواسطة الطائرات في الرش الجوي.
- تتحمل الأطوار المرضية ضغط يصل إلى 1068 kPa وتمر من النوزلات الأعتيادية في المرشاة التي يصل قطر فتحتها إلى 100 مايكرون شرط نزع المناخل من النوزلات لتقليل الضرر على النيماتودا.
- ترش بواسطة أنظمة الري مثل drip, microjet, sprinkler and furrow irrigation .
- تكافح الحشرات النباتية بواسطة حقن معلق النيماتودا مباشرة داخل ثقب الحفارات أو غلق الفتحات بواسطة إسفنجة مشبعة بمعلق النيماتودا.

نيماتودا سوسة النخيل

- تم تشخيص النوع *Reddy Praecocilenchus ferruginophorus* Rao & من عائلة (Entaphelenchidae) من حشرات سوسة النخيل الحمراء في الهند.
- وجدت النيماتودا في القصبات التنفسية، الأمعاء والأجسام الدهنية في يرقات السوسة المصابة وكذلك في رحم وتجويف الجسم في كاملات السوسة المصابة.
- شخصت سلالات النيماتودا التالية في سوسة الخليج:

Heterorhabditis indica, H. bacteriophora -

Steinernema riboravis, S. abbasia -

وقد اثبتت مقدرة إمرضية عالية ضد الأطوار المختلفة للسوسة. وقد استخدمت النيماتودا المحلية الممرضة للحشرات في مكافحة الحشرات الكاملة لسوسة النخيل الحمراء في التربة حول قاعدة الجذع.

استعمال النيماتودا ضد سوسة العنب السوداء *Black vine beetle, Otiorhynchus sulcatus*

(F): *Curculionidae, J. Econ. Entomol. 92: 651-657*

استعملت النيماتودا نوع *Heterorhabditis marelatus* Liu & Berry

(Rhabditida : Heterorhabditidae) مباشرة على قش الشليك أو في التربة بعد إزالة القش مما

أدى لتقليل أعداد يرقات سوسة العنب السوداء وكما يلي:

- أدى تغطيس إسفنجة بمحلول النيماتودا إلى خفض عدد يرقات سوسة العنب السوداء لكل نبات شليك (معدل عدد اليرقات لكل نبات = 0.7)، نسبة إصابة النباتات (47%)
- مقارنة بالنباتات المغطات بمادة الفرميكيولاي (عدد اليرقات لكل نبات = 1.8) ونسبة النباتات المصابة 67%،
- مقارنة بالكونترول (عدد اليرقات لكل نبات = 1.9) ونسبة النباتات المصابة 75%.
- في الأسبوع الثاني:
- وجدت أعداد كثيرة من النيماتودا *Heterorhabditis marelatus* في نماذج تربة المناطق التي استعملت فيها الإسفنجة المشبعة بالنيماتودا مقارنة بالتربة التي عوملت فيها الفيرميكيولاي المحمل بالنيماتودا.
- التجربة الحقلية الثانية:
- استعملت الإسفنجة المشبعة بنيماتودا *Heterorhabditis bacteriophora* ونيماتودا *Heterorhabditis marelatus* واتضح:
- تسبب نيماتودا *H. marelatus* قلة عدد اليرقات والسوس الكامل (معدلها بالنبات 0.1) ونسبة النباتات المصابة (9%).
- بينما نيماتودا *H. bacteriophora* تكون أقل تأثيراً (عدد اليرقات للنبات = 0.45 ونسبة النباتات المصابة 34%).
- أكثر نسبة نيماتودا أعيدت نشاطها من التربة كانت *H. bacteriophora* مقارنة بالنوع *H. marelatus* خلال الأيام السبعة الأولى.
- لم تلاحظ فروقات في بقاء كلا النوعين في الرمل بالمختبر.

بعض الأعمال المنجزة:

- متابعة التقييم الحيوي لفاعلية بعض عزلات النيماتودا الممرضة لسوسة النخيل الحمراء.
 - التربية الكمية للنيماتودا الممرضة للحشرات تحت الظروف المعملية .
 - المكافحة بالنيماتودا الممرضة للحشرات البالغة لسوسة النخيل تحت سطح التربة قرب قواعد جذوع فسائل النخيل بالصوبة .
- المصايد الفرمونية:** تعتبر الفرمونات مواد كيميائية تنبعث خارجياً من أفراد الحشرة وتؤثر على سلوكية الفرد الآخر من نفس النوع .
- تعتمد فكرة المصايد الفرمونية على ما تفرزه وتطلقه السوسة من مواد كيميائية نفاذة في بيئتها.
 - الفرمون الرئيسي لحشرة سوسة النخيل الحمراء من مجموعة فيرمونات التجميع aggregation pheromone، وتعمل على جمع الذكور أو الإناث. وهو:
، Ferrugineol [(4S,5S)-4-methyl-5-nonanol]

- المصدر (Oehlschlager et al. 1995b, Perez et al. 1995a,b)

- تتكون من مجموعة الإيثانول (الكحول الأثيري) 8, 9, or 10 carbon, methyl-branched, secondary alcohols
- وهذه المواد عبارة عن لغة التخاطب والتعامل بين هذه الحشرات.
- إن العمل على الفرمونات وكيرمونات العائل لسوسة النخيل يستلزم تعاون بين مختصي الحشرات والكيمائي والفسولوجي.

الكيرمونات Kairomones مواد كيميائية تطلقها بعض الأفراد تؤدي نفعاً للكائنات المستقبلة لها ، تعتبر الروائح المنبعثة من النخيل مواد كيرمونية حيث تنبعث أثناء عمليات فصل الفسائل من الأم، عمليات تكريب النخيل أو قص السعف وعذوق النخيل وتخمر أنسجة النخلة. تؤدي هذه المواد لجذب سوسة النخيل الحمراء حول مصدر الإنبعاث من النخلة.

الأجهزة المستعملة:

- تستعمل أجهزة GC-columns and GC-temperature programs لفصل الـ semiochemicals
- وتستخدم GC-mass spectrometry (GC-MS) in both electron impact (EI; 70 eV) and chemical ionization (CI) modes وكذلك nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy يستعمل لتوضيح التركيب الكيمائي.

المصائد القاتلة **Lethal traps baited** لسوسة النخيل الحمراء *R. ferrugineus*

- تستعمل فيها فرمونات التجميع aggregation pheromones وكيرمونات النخيل العائل host palm kairomones.
- تحوي أسترات النخيل مثل ethyl acetate, ethyl propionate, ethyl butyrate, and ethyl isobutyrate (Gries et al. 1994a) (Hallett et al. 1993a,b)
- تنجذب أنواع سوس النخيل من مسافة طويلة إلى روائح التخمر من النسيج النخيل المجروح أو الروائح المختلطة مع فرمونات التجميع المنتجة من قبل الذكور.
- تقتل حشرات السوسة بالمبيدات carbaryl, carbofuran, lannate مع قصب السكر ومع محلول الصابون في قاع السطل.
- تجربة استخدام Sugarcane ، pineapple, S. palmetto, molasses مع الماء في المصائد الفرمونية لسوس النخيل.

تركيب مصيدة سوسة النخيل الحمراء ومحتوياتها:

- تتألف المصيدة الفيرمونية من الأجزاء التالية:

- سطل بلاستيكي يحوي 4 فتحات على الجدار الجانبي بالقرب من الحافة العليا.
- يلف السطل بالليف أو الخيش ليساعد الحشرة على تثبيت نفسها أثناء الهبوط على المصيدة.
- يثبت كيس الفيرمون في السطح الداخلي للغطاء البلاستيكي.
- تضاف قطع من جذع النخيل طري ومغمور بالمبيد إلى المصيدة (3-4 قطع متوسطة).
- يوضع في المصيدة ماء بحيث يغطي القطع.

أحجام المصائد:

- السطل كبير الحجم Large bucket traps ووجود مساحة سطحية كبيرة.
- توضع على الأرض أو تربط بجذع النخلة ،
- تطير بالغات السوسة حول المصيدة وتستقر إما على السعف أو جذع النخلة أو على الأرض ثم تسير نحو المصيدة.

ملاحظات حول العناية بالمصائد ووضعها:

- توضع المصائد على ارتفاع 1.5م وعلى نخلة سليمة من ناحية الظل وقد توضع بحفرة بالتربة بحيث تكون الفتحات أعلى سطح التربة ومكان وضعها بعيداً عن جذوع النخيل.
- يثبت الفيرمون أسفل الغطاء بحيث لا ينغمس في الماء داخل المصيدة.
- يبدل الغذاء (قطع جذع النخيل) داخل المصيدة كل أسبوع.
- يضاف الماء كل ثلاثة أيام (في الجو الحار) أو حسب حاجة المصيدة.
- تجمع الحشرات كل أسبوع من المصيدة الفيرمونية وتدفن بعد التأكد من موتها.

فوائد استخدام المصائد الفيرمونية في برنامج مكافحة المتكاملة:

- تحديد موعد ظهور السوسة خلال السنة في مزارع النخيل.
- تحديد الكثافة العددية لهذه الآفة الحشرية.
- تحديد أنسب أوقات المكافحة.
- تدخل في عمليات المكافحة المتكاملة لاصطيادها للحشرات الكاملة.
- تحديد مجتمع السوسة بسبب طول دورة الحياة وطول حياة البالغات، قلة الخصوبة وتناثر بالفرمونات التجميعة وكيرمونات العائل.
- تستعمل بمعدل (6) مصائد لكل هكتار مع النظافة الحقلية.
- في دراسة عن R. palmarum تم صيد 94 سوسة لكل هكتار بالشهر.

تطوير وبلورة تقانات تطبيقية حديثة للمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء:

- « تقنية المصائد الفيرمونية الكيرمونية الأرضية أثبتت تفوقها على المصائد الهوائية الفيرمونية.
- « تقنية استخلاص كيرمونات محلية من ثمار النخيل جاذبة لحشرة سوسة النخيل الحمراء.

« تقنية إصطياد وتلويف حشرة سوسة النخيل الحمراء بالفطر الممرض *B. bassiana* ثم إطلاقها في مزارع النخيل لتلويف الإناث عند التزاوج معها والقضاء عليها ، وكذلك عن طريق رش الأشجار المصابة بسوسة النخيل الحمراء بمعلق الفطر.

« تقنية استخدام النيماتودا المحلية الممرضة للحشرات في مكافحة الحشرة الكاملة لسوسة النخيل الحمراء في التربة حول قاعدة الجذع.

العمليات الزراعية ودورها في برامج مكافحة آفات النخيل
(د. محمد عبد جعفر العزّي - المنظمة العربية للتنمية الزراعية)

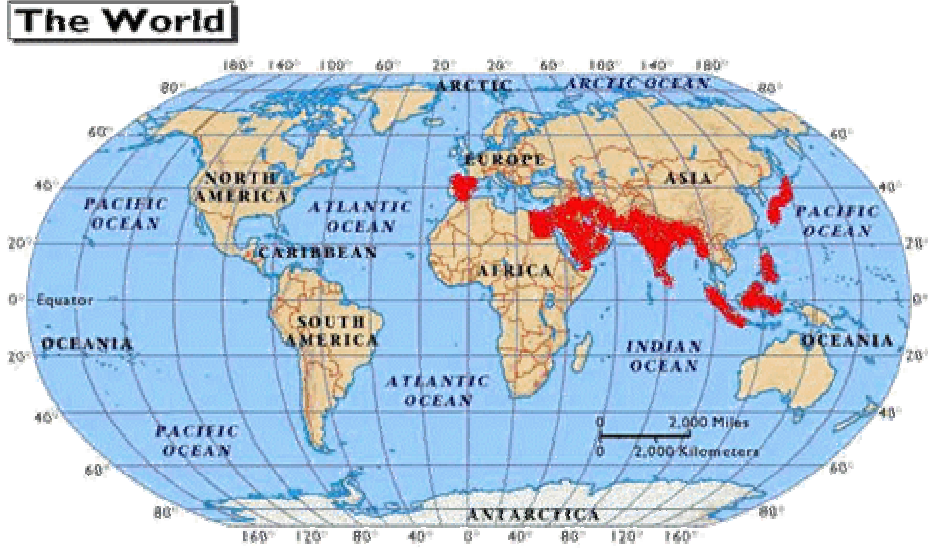
العمليات الزراعية ودورها في برامج مكافحة آفات النخيل

سوسة النخيل الحمراء:

The red palm weevil, or Indian palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* تستوطن السوسة جنوب آسيا وميلانيسيا Melanesia حيث تكون آفة فتاكة بنخيل جوز الهند.

- انتقلت لعدد من الدول بالشرق الأوسط وأوروبا منها:
- الإمارات العربية المتحدة 1985.
- المملكة العربية السعودية 1987.
- إيران 1990.
- جمهورية مصر العربية 1992.
- أسبانيا 1994.
- المملكة الأردنية الهاشمية ودولة فلسطين وإسرائيل 1999 .

ساهم الإنسان في الإنتشار السريع لهذه الآفة وذلك بنقل فسائل النخيل المصابة أو أجزاء النخيل المصاب من المناطق المصابة إلى المناطق السليمة الخالية من الآفة.



- دولة الإمارات العربية المتحدة، المملكة الأردنية الهاشمية، مملكة البحرين ، المملكة العربية السعودية، سلطنة عمان ، جمهورية مصر العربية، دولة قطر، دولة الكويت، جمهورية إيران

الإسلامية، إندونيسيا، سري لانكا، باكستان، تايلاند، الهند، بورما، الفلبين، اليابان، أسبانيا ودول أخرى.

• الأنواع الأخرى من حشرات السوس :

Rhynchophorus bilineatus •

R. cruentatus. •

R. palmarum •

R. papuanus •

R. phoenicis •

R. schach •

R. vulneratus •

تضع الأنثى البيض بشكل فردي في :

• الثقوب والإنفاق والجروح الحديثة.

• أماكن التقليل وبخاصة منطقة نشاط النمو الخضري .

• أماكن خروج الفسائل (الخلفات) على الساق والشماريخ الزهرية في القمة النامية " الجمارة " .

• مناطق مهاجمة حفار ساق النخيل ذي القرون الطويلة والعنق .

دورة الحياة:

• يفقس البيض بعد 2-5 أيام تبعاً للظروف الجوية إلى يرقات صغيرة عديمة الأرجل والتي تمثل طور الضار حيث تتغذى بشراهة بأجزاء فمها القوية القارضة على الأنسجة الوعائية الحية داخل الساق.

• تمر اليرقة بأربعة إنسلاخات ولها خمسة أعمار (وبعض المراجع ذكر أن لها ستة إنسلاخات وسبعة أعمار).

• يكتمل نمو اليرقة بعد (36-78) يوماً وفي المتوسط (55) يوماً.

• تتحول اليرقة إلى عذراء تكون حولها شرنقة ليفية بيضاوية الشكل يصل طولها من (5 - 5.5) سم وعرضها من (2.5 - 3) سم .

• تستمر العذراء مدة (12-20) يوماً وفي المتوسط أسبوعين تخرج منها حشرة كاملة تعيش لمدة (2.5 - 3.5) شهر.

• تتزاوج الأنثى أكثر من مرة ثم تضع البيض وتعيش الحشرة من (2-3) أشهر.

النباتات العوائل للسوسة:

• نخيل التمر Date palm .

- نخيل جوز الهند Coconut palm .
- نخيل الزيت Oil palm .
- النخيل الشرقي Ornamental palm .
- نخيل السكر Sugar palm .
- نخيل ساجو Sago palm .
- النخيل الملكي Royal palm .
- نخيل التمر البري Wild date (toddy) palm .
- نخيل بالميرا Palmyra palm .
- نخيل Nigbong palm .
- نخيل Sedang palm .
- نخيل Talipot palm .

أعراض الإصابة وكيفية التعرف على النخلة المصابة :

- وجود ثقوب وأنفاق في جسم النخلة ووجود إحدى أو كل أطوار الحشرة.
- وجود سائل صمغي كريمي بني اللون ذي رائحة كريهة على جذع النخلة المصابة وكذلك وجود نشارة خشبية رطبة متعفنة في منطقة الإصابة على الجذع أو في منطقة التاج(الجمارة) .
- تهتك وإهتراء قواعد الكرب وأجزاء من الساق.
- موت الرأس أو الجمارة في حالة إصابة القمة النامية وموت الفسائل (الخلفات) حول جذع النخلة الأم أو الروايب الهوائية على الساق.
- في حالة الإصابة الشديدة تنكسر النخلة عند موضع الإصابة في الساق أو تموت منطقة الرأس أو الجمارة وتصبح النخلة غير مثمرة عديمة الفائدة يجب التخلص منها حتى لا تنتشر الإصابة على الأشجار السليمة.
- عند إصابة النخلة من أعلى يموت الجريد وقد ينحني الرأس.
- سماع صوت قرص اليرقات داخل النخلة وحركة الحشرة الكاملة في قمتها.

وسائل انتشار الإصابة بسوسة النخيل الحمراء :

- نقل فسائل نخيل مصاب بالسوسة من المناطق المصابة بالحشرة إلى المناطق الخالية منها.
- قلة النظافة المزرعية .
- للحجر الزراعي دور مهم في تحديد انتشار الإصابة إلى المناطق الخالية منها.

أماكن حدوث الإصابة: تكثر الإصابة في الفسائل والنخيل الحديث (عمر 3 - 10 سنوات) وبمستوى من سطح التربة لحد ارتفاع 3 أمتار. وتلاحظ الإصابة بالمناطق التالية من النخلة:

- منطقة خروج الروايب والفسائل.
- أماكن قطع الكرب والجروح الحديثة.
- أماكن خروج العذوق.
- الثقوب والأنفاق التي تحدثها الحفارات والقوارض.
- آباط الكرب على ساق النخيل.
- الجذور الهوائية العارية في منطقة قاعدة الجذع.
- منطقة الجمارة.
- قواعد الكرب في قمة النخلة.

تربية السوسة : Oligidic Diets For Culture of Rhynchophorus

- ربيت سوسة النخيل الحمراء *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) سابقاً (Rananavare et al. 1975) على قطع من نسيج ساق جوز الهند coconut palms.
- أشار (Rahalkar et al. 1972) بأن سكر القصب sugarcane يستعمل كبديل عن جوز الهند في تربية السوسة وذلك بمزج قصب السكر مع مادة الأجر التغذوي nutrient agar لتغذية صغار يرقات السوسة.
- تستعمل القطع الكاملة لسكر القصب لتغذية اليرقات الأكبر حجماً.
- كذلك أشار (Rahalkar et al. 1978, 1985) بإمكانية تربية اليرقات على وسط غذائي صناعي يحوي نفل (ألياف) قصب السكر sugarcane bagasse (fiber) وكتل من مسحوق جوز الهند وخميرة والسكرز والمعادن والفيتامينات ومواد حافظة.
- يستعمل خليط من مسحوق الذرة، ألياف قصب السكر، الشوفان، السكر، زيت جوز الهند وحامض البروبيونك propionic
- لتربية اليرقات. تجمع عذارى السوسة وتوضع بأكواب حجم 100 سنتيمتر مكعب مع قطعة قماش رطبة وتحفظ على درجة حرارة 29°C درجة مئوية لغرض تطورها إلى كاملات
- تعزل أنثى وذكر في حاويات حجم 500 سنتيمتر مكعب مع قطعة قماش مبللة ومعها قطع من النقاح التي تبذل كل ثلاثة أيام لغرض وضع البيض.
- ينقل البيض إلى صحن مع ورق رطب ويخزن تحت درجة حرارة 29°C درجة مئوية لغرض الفقس والحصول على اليرقات.

تحضير الميديا Diet Preparation:

- يتكون الوسط الغذائي من: 50 غراماً من الأجر البكتيري (Difco bacto-agar (Laboratories, Detroit, MI), 1892 سنتمتر ماء.
- حبوب فيتامينات وزنها 1.4 غرام تحوي:
vitamins A (5000 I.U.), E (30 I.U.), C (60 mg), B1 (1.5 mg), B2 (1.7 mg), B6 (2 mg), B12 (6 µg), D (400 I.U.), and K1 (25 µg), folic acid (400 µg), niacinamide (20 mg), biotin (30 µg), pantothenic acid (10 mg), calcium (162 mg), phosphorus (125 mg), iodine (150 µg), iron (18 mg), magnesium (100 mg), copper (2 mg), zinc (15 mg), manganese (2.5 mg), potassium (40 mg), chloride (36.3 mg), chromium (25 µg), molybdenum (25 µg), selenium (25 µg), nickel (5 µg), tin (10 µg), silicon (10 µg), and vanadium (10 µg).
- بالإضافة إلى المواد الحافظة preservatives مثل :
m-para-hydroxybenzoate [14% solution in 95% ethyl alcohol (25 ml)], sorbic acid [12.5% solution in 95% ethyl alcohol (37.5 ml) in preliminary tests or 6.28 g sorbic acid potassium salt in refined diets],
• ومحلول هيدروكسيد البوتاسيوم 4M potassium hydroxide

تحضير الوسط الغذائي لليرقات :

- تخلط كافة المواد باستثناء كبسولات الفيتامينات مع 500 سنتمتر مكعب ماء بواسطة خلاط لمدة دقيقتين، تصب المواد بعد خلطها في قدر من السنتيل حجمه 5.7 لتر. يعقم الخليط autoclaved لمدة 20 دقيقة وعلى درجة 120 درجة مئوية.
- عندما يبرد الخليط تمزج معه حبوب الفيتامينات المجروشة مع التحريك.
- يصب الوسط وهو حار في أكواب خاصة بالوسط الغذائي.
- عندما يبرد الوسط الغذائي تعمل حفرة صغيرة داخل الوسط وتثقل برفقة وإحدى بواسطة فرشاة لكل كوب.
- تغطي الأكواب بواسطة الأغشية التي فيها عدد من الثقوب للتهوية.
- بعد 24 ساعة تفحص الأوساط الغذائية وتعزل اليرقات الميتة وتبدل بيرقات حية.
- تحضن الأوساط الغذائية مع اليرقات داخل حاضنة على رجة حرارة 29 درجة مئوية و فترة ضوئية بمقدار 13 ساعة ضوء إلى 11 ساعة ظلام (L:D). photoperiod of 13:11

جميع الأوساط الغذائية تحوي على :

- 50 غراماً آجر بكتيري.
- 12.5 غراماً كبسولات فيتامينات مجروشة.

- 25 سنتمتر مكعب من 14% محلول النيباجين m-para-hydroxy benzoate .
- 37.5 سنتمتر مكعب محلول حامض السوربيك.
- 7.5 سنتمتر مكعب محلول هيدروكسيد البوتاسيوم.
- 1892 سنتمتر مكعب ماء.
- تكون 100 غراماً وسط غذائي داخل كوب سعة 100 سنتمتر مكعب
- المصدر : Rahalkar et al. (1978, 1985) for culture of R. ferrugineus .

القياسات الحياتية :

- نسبة بقاء اليرقات 100%، مقدار الوسط المستهلك خلال خمسة أسابيع (3.13) غراماً.
- أعلى نسبة لبزوغ الحشرات الكاملة (70%).
- تتراوح مدة تطور اليرقة وخروج الحشرات الكاملة 48.5 – 65 يوماً.

المكافحة الزراعية : Cultural Control

- عدد من أعمال خدمة الحاصل الحقلية ممكن أن تساعد في خفض ضرر الآفة مثل:
- الحراثة : **Tillage** وذلك بطمر بقايا الحاصل التي تحوي الحشرات ، الأمراض وبذور الأدغال لغرض تمزيق المجموع الجذري للأدغال الدائمة.
- تغطية الأرض : **Mulching** بواسطة طبقة من البلاستيك أو التبن للسيطرة على الأدغال.
- حرق بقايا الحاصل **Burning** لغرض التخلص من متبقيات الحشرات والأدغال.
- الأصناف المقاومة **Resistant varieties** تحمل صفات تحافظ على الحاصل من مسببات الأمراض أو الحشرات.
- الأصناف المتحملة : **Tolerant varieties** لها القابلية على إنتاج الحاصل بغض النظر عن مهاجمة الحشرات أو الأمراض.
- الدورة الزراعية : **Crop rotation** وتعني زراعة محاصيل مختلفة بالتوالي لتعطي أفضل طريقة لمكافحة الأدغال والحشرات وخفض ضرر الأمراض (بصورة خاصة التي تعيش على بقايا الحاصل).
- تعاقب الإنبات أو تاريخ الحصاد : **Altering planting or harvest dates** بإمكانها خفض ضرر الآفات .
- الأعمال الزراعية التي تساعد على النمو الجيد للنبات وخفض ضرر وزيادة الحاصل مع وجود الآفة.

النباتات المقاومة للحشرات Host plant resistance to insects

- يحمل النبات عدداً من الوسائل الميكانيكية للدفاع عن نفسه ضد الحشرات:

- تحوي أوراق النبات على مواد كيميائية ذات تأثير مضاد للحشرات المتغذية عليها.
- الأوراق الحاوية على الشعر أو الزوائد أو الأوراق الثخينة والأوراق شمعية الكيوتكل تسبب إعاقة عند تغذية الحشرات عليها.
- تتحمل بعض النباتات تغذية الحشرات عليها وتحمل وجودها دون حصول ضرر حاد على الحاصل أو الإنتاج.
- بعض النباتات أكثر عرضة لمشاكل الحشرات عن غيرها.
- تعتبر جميع هذه الفقرات عوامل مقاومة النباتات للحشرات

استعمال المبيدات في الوقاية والمكافحة:

- تتظف النخلة جيداً ويزال الليف والكرب من منطقة الإصابة.
- رش النخيل مرة كل شهرين بإحدى المبيدات الحشرية.
- تعفير النخيل بإحدى مبيدات التعفير الحشرية المناسبة بعد إزالة الكرب وفي منطقة الجمارة وأماكن فصل الفسائل والجروح.
- وضع مبيد على الجزء المجروح عند إزالة السعف أو الرواكيب من النخلة وسد مكان الإزالة بالأسمنت والجبس أو الطين في أضعف الحالات.
- يحقن النخيل المصاب بالمبيدات وبارتفاع (10سم) عن موضع الإصابة وذلك بنتيبت مواسير معدنية بطول 20 - 30 سنتمتراً حول منطقة الإصابة لغرض حقن المبيد (تركيز 10%) .
- غمر الفسائل لمدة (5-10) دقائق بإحدى المبيدات الحشرية لقتل أذوار الحشرة إن وجدت داخلها.
- تقلب التربة لعمق (5-8سم) وتروى الفسيلة بمحلول المبيد لقتل اليرقات المختبئة في التربة أو داخل جذع الفسيلة.
- توضع أقراص فوسفيد الألمنيوم (فوستوكسين) بمعدل 2-3 في فجوات النباتات المصابة وتسد بالليف أو الكرب ثم يحكم غلقها بالأسمنت والجبس أو بالتربة الثقيلة.
- إزالة النخيل المصاب وحرقه للتخلص من الآفة مع مراعاة عدم إزالة النخيل أو الفسائل ورميها بجانب المزرعة حتى لا تكون مصدراً للعدوى.

مكافحة الخنفساء اليابانية

- مكافحة البيولوجية : Biological Control وتشمل:
 - المسبب المرضي Milky spore disease
 - الديدان الطفلة على الحشرات insect-parasitic nematodes
 - الفطريات المرضية : fungal pathogens مثل : *Beauveria bassiana* و *Metarrhizium*

- المصليد الفرمونية: Phermone Traps وتستعمل لصيد كميات كبيرة من الخنافس لخفض مجتمعا السكاني ومن ثم خفض المرض الذي تنقله وهو مرض الحلقة الحمراء red ring disease وكذلك مراقبة سلوكية الحشرة لغرض اتخاذ القرار بوضع برنامج مكافحة الآفة ومن ثم العمل بهذا النظام في مناطق دخول الآفة.
- المكافحة الكيماوية: وذلك باستعمال المبيدات لمعاملة التربة للحصول على مكافحة جيدة ضد الخنافس. وتكون بالآتي :
- 1. المكافحة العلاجية curative control ذات تأثير متبقي قصير وتجري بعد وضع البيض وفقسه وقبل أن يحصل الضرر الفعلي على النبات، ويكون ذلك في وسط شهر أغسطس باستعمال السفن، الديازينون، الترايكلورفان.
- 2. المكافحة الوقائية preventative controls وتستعمل في برامج مكافحة الآفة باستعمال مبيدات imidacloprid, and thiamethoxam. ويتم ذلك بغمر النخلة من القمة (قواعد السعف والليف) للأسفل بمحلول المبيد، أن هذه العملية تساعد على عدم حصول إصابات جديدة.

نظام برمجة مكافحة آفة سوسة النخيل الحمراء بالخليج Integrated Pest Management for date palm in the Gulf States

- البحث والتطوير لنظام برمجة مكافحة آفات نخيل التمر:
- يحتاج العمل إلى لجنة علمية إقليمية تقوم بما يلي:
1. إعطاء وصف لآفات النخيل الحشرية ووبائيتها بالمنطقة.
 2. القيام بمسح إقليمي شامل عن انتشار الآفات وأهميتها الاقتصادية.
 3. وضع إستراتيجية جديدة للمكافحة البيولوجية للآفات في المنطقة وإنشاء مركز دولي للأعداء الطبيعيين للآفات.
 4. تدعيم عناصر المكافحة البيولوجية وذلك بتربية الحشرات وتعقيمها جنسياً حسب تقنية الحشرات العقيمة.
 5. تدعيم ونشر الحشرات التي لها دور بتلقيح النخيل.
 6. تشريع قانون حماية الأعداء الطبيعيين للحشرات واعتماد نظام المكافحة البيولوجية.

إنشاء نظام الأعمال الحقلية والذي يتضمن :

- 1- نظافة الحقل field sanitation .
- 2- اعتماد إنتاج الفرمونات ، المواد الطاردة، الكيرمونات، المبيدات الحيوية، والمبيدات الحشرية
- 3- دراسة الجدوى الفنية والاقتصادية لوسائل المكافحة البيولوجية.

اعتماد برامج مكافحة المتكاملة في مكافحة آفات النخيل والتمور عن طريق:

تطوير نظام الحجر الزراعي لمنع دخول الآفات لمنطقة الخليج ودول الشرق الأوسط.

- 1- عمل قائمة بالآفات الزراعية الخاضعة للحجر الزراعي وبصورة خاصة آفات النخيل وفق المقاسات الدولية الخاصة بالنظافة النباتية.
- 2- إنشاء لجنة إقليمية أو دولية لتنظيم استخدام المبيدات (التسجيل ، الاختبار والتوزيع وتحديد المبيدات العاطلة) والمستخدمه لمكافحة آفات نخيل التمر.
- 3- اعتماد أنظمة التأهيل والتدريب والإرشاد الخاصة بوقاية النباتات ويشمل ذلك التشخيص السريع للآفات وطرق مكافحتها .
- 4- اعتماد مدارس المزارعين الحقلية Farmer Field School لغرض اعتماد الأعمال من قبل المزارعين.

إنشاء شبكة دولية لبرامج مكافحة المتكاملة لآفات النخيل:

تقوم المنظمات الدولية بمساعدة دول الخليج في الآتي:

- 1- إنشاء شبكة دولية لتبادل المعلومات في مجال برامج مكافحة المتكاملة لآفات النخيل .
- 2- عمل قائمة بالمختصين في برامج مكافحة المتكاملة لآفات النخيل والتمور.
- 3- تحديث المعلومات الدولية عن برامج مكافحة المتكاملة لآفات النخيل والتمور.
- 4- عقد المؤتمرات الإقليمية والزيارات الحقلية .
- 5- إيجاد التمويل اللازم لتنفيذ هذه التوصيات .

Beauveria bassiana التريبية المختبرية للفطر

والعوامل المؤثرة على فعاليتته الإراضية ضد سوسة النخيل الحمراء

إعداد: أ.د. رفعت الصفتي

خبير الفطريات - مركز المشروع بالحرانية

التربية المختبرية للفطر *Beauveria bassiana*

والعوامل المؤثرة على فعاليته الإراضية ضد سوسة النخيل الحمراء

تعتبر الفطريات الممرضة للحشرات أول مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة الممرضة للحشرات التي تم استخدامها في مكافحة الآفات الحشرية بهدف قتلها وتقليل أعدادها وذلك بسبب قدرة الإنسان على الحصول على جراثيمها بوسائل تمكنه من إطلاقها في الحقل بوسائل بسيطة وفعالة فالكثير من أنواع الفطريات تنمو بجراثيم حية على بيئات صناعية متعددة ورخيصة كما يمكن بسهولة إعداد مستحضر منها صالح للمعاملات الحقلية.

يتطلب استخدام الفطريات في مكافحة التطبيقية يقظة ومعرفة جيدة بنوع الفطر والحشرة المستهدفة والظروف البيئية السائدة في وسط الحشرة المستهدفة والوسائل الممكن توفرها لانتشار وحدات الإصابة، وكذلك مستوى الكثافة العددية وتجمعات أفراد العشرة الحشرية ومناطق تواجدها وطريقة انتشارها، وتعتبر طريقة المعاملة ووقت المعاملة عوامل محددة لنجاح مكافحة.

الفطر بوفيريا باسينا *Beauveria bassiana* :

أخذت الفطريات الممرضة للحشرات بعداً اقتصادياً لأول مرة في النصف الثاني للقرن التاسع عشر عندما سبب الفطر *B. bassiana* مرضاً وبائياً قاتلاً لديدان الحرير *Bombyx mori* في مزارع تربيتها المنتشرة في إيطاليا وفرنسا وبلدان وسط أوروبا في ذلك الوقت وكان يعتقد أن سبب المرض خلل في طرق التربية أو عدم مناسبة العوامل المناخية وسمي المرض *Mascardino* في إيطاليا و *Muscardin* في فرنسا إلى أن جاء العالم *Agostino bassi* وأجرى دراسته القيمة في سنتي 1835 - 1836 وقرر أن المرض تسببه إحدى الفطريات وكان هذه أول تسجيل علمي لإحدى الكائنات الحية الدقيقة الذي يسبب مرضاً في الحشرات بل في الحيوان وبعد ذلك بسنوات قليلة قام العالم *Balsamo* في سنة 1839 بدراسة الفطر وسماه *Botrytis Bassiana* وظل الوضع هكذا إلى أن قام العالمان *Beauverie* و *Vuillemin* بدراسة بيولوجية وتصنيفية في سنتي 1910 - 1911 وسمياه *Beauveria bassiana* و صنفاه في الفطريات الديتيرية أو الناقصة *Fungi imperfecti* ويلاحظ أن الإسم العلمي الكامل للفطر وهو *Beauveria bassiana* (*Balsamo*) *Vuillemin* يشتمل على أسماء العلماء الذين شاركوا في اكتشافه ودراسته وتعريفه.

الفطر عالمي الانتشار يتميز بقدرته العالية على إمرض وقتل الحشرات ويسبب مرض الماسكردين الأبيض في يرقات رتبة حرشفية الأجنحة، ويصيب ويقتل عدد كبير من أنواع الحشرات في أطوارها الكاملة واليرقية، كما يستطيع إصابة طوري العذراء والبيضة في العديد من أنواع الحشرات، وله سلالات متعددة في المناطق الجغرافية المختلفة متأقلمة مع الظروف الايكولوجية

ويرجع ذلك إلى أوسع احتياجاته من درجات الحرارة والرطوبة، وتتواجد عوائل للفطر في جميع الرتب الحشرية تقريباً وبصفة رئيسية في رتب حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة ونصفية الأجنحة وغشائية الأجنحة ومستقيمة الأجنحة وذات الجناحين، ولقد تم حصر حوالي 200 عائل حشري لهذا الفطر، ويعمل عدو حيوي فعال تحت الظروف الطبيعية ضد الكثير من أنواع الحشرات الاقتصادية الضارة، وأهم عوائله الرئيسية ذات الحساسية العالية للإصابة : دودة الشمع الكبير *Galleria pomonella* ، حفار ساق الذرة الأوروبي *Ostrinia nubilalis* ، حفار ثمار التفاح *Carpocapsa pomonella* ، دودة الكرنب الكبيرة *Pieris brassicae*، خنفساء البطاطس (ألكورادو) *Leptinotarsa decemlineata* ، الخنفساء اليابانية *Popilia japonica*، بقعة النجيليات *Blissus leucopterus* ، سوسة النخيل الحمراء *Rhynchophorus ferrugineus*، وخنفساء *Diaprepes abbreviatus* ، ويسبب نسب موت عالية عند استخدامه ضد بعض الآفات الحشرية مثل دودة القصب الكبيرة *Sesamia cretiaca*، فراشة بنجر السكر *Scropibapalpa ocellatella*، حفار ساق التفاح *Zeuzera pyrina*، صانعة أنفاق أوراق الفول *Liriomyza congesta*، فراشة التين *Ephestia cautella*، وهو عدو حيوي فعال يقي على أعداد كبيرة من الحشرات تحت الظروف الطبيعية مثل يرقات فراشة النبق *Gelechia hippophaelle* في مناطق نمو الأشجار في روسيا ويرقات جنس *Lymantria* في وسط أوروبا والكثير من أنواع نطاطات الأوراق في الولايات المتحدة، كذلك أثناء البيات الشتوي لأنواع متعددة من الحشرات كما في الأطوار الكاملة لسوسة أوراق البرسيم *Hypera brunneipennis* والحشرات الكاملة والحوريات المتقدمة في العمر لبقعة بذرة القطن *Oxycarenus hyalinipennis* في دلتا مصر ، وهو ذو قدرة عالية على إصابة اليرقات الصغيرة لحشرات تابعة لأجناس *Agroti* و *Spodoptera* و *Heliothis* و *phthorimaea* و *Pectinophora* ، وله سلالات لها قدرة عالية على إصابة بعض الأنواع مثل تلك التي عزلها Perezet et al, 1999، من الخوخ الأخضر *Myzus persicae* في كوبا وأدت إلى إصابة وقتل كل الحشرات التي تم إختبارها في المعمل، كما تم عزل سلالة من التربة في المكسيك تصيب وتقتل يرقات قاطعة الأوراق *Spodoptera frugiperda* إحدى الآفات الخطيرة على الذرة (Lezama-Gutierrez et al., 2001).

تنتشر كونيديات الفطر بكثرة في التربة ولها قدرة على البقاء فيها لفترة طويلة كما تتواجد على النباتات الكثيفة النمو كالحشائش القريبة من المجاري والمسطحات المائية وفي قواعد أوراق النباتات وتحت القلف وفي الشقوق وعلى جذوع الأشجار وهي سهلة الانتشار بالهواء وتنتقل إلى مسافات بعيدة بالرياح ومياه الري والمطر وتنتقل أيضاً عن طريق الأدوات الزراعية والحشرات والحيوان والإنسان والنباتات وهي سهلة وسريعة الإنبات عند ملامستها لعائلها الحشري في مجال متسع من درجات الحرارة والرطوبة، ويعتبر هذا الفطر صديق للبيئة فانتشاره واستخدامه آمن للإنسان والحيوان والنبات والتربة وهو مسجل رسمياً كمبيد حيوي في الولايات المتحدة الأمريكية وروسيا وكندا والمملكة المتحدة وألمنا

وفرنسا وهولاندا والنمسا واليابان والصين ومصر والإمارات العربية المتحدة والبرازيل وكولومبيا والعديد من الدول الأخرى ، ولكن هناك بعض التقارير عن سلالات ذات صفات سلبية حيث أشارا Bing & Lewis، 1992 إلى أن إحدى سلالات الفطر استطاعت النمو على بعض نباتات الذرة أثناء استخدامها في مكافحة حفارة ساق الذرة الأوروبي كما وجدنا Middaugh & Genthner، 1994 سلالة من الفطر أصابت وأدت إلى موت أجنة سمك المنيديا *Minidia beryllina*.

يصيب الفطر عوائله الحشرية بصفة أساسية عن طريق الكيوتيكل ولقد سجلت إصابات عن طريق القناة الهضمية في بعض أنواع النمل والنمل الأبيض. عند ملامسة الكونيديا لسطح الكيوتيكل مع توفر الظروف المناسبة تنبت بتكوين أنبوبة إنبات Germ tube تنمو قليلاً على سطح الكيوتيكل ثم تخترقه لتصل إلى طبقة الأندوكيوتيكل اللينة ويحدث الاختراق لطبقات الكيوتيكل بتأثير كيميائي بمساعدة الأنزيمات وميكانيكي بممارسة الهيفات ضغطاً على موقع الاختراق، وفي المناطق الصلبة لا تستطيع الهيفات الفردية الاختراق وإنما تحدث الإصابة عندما تهاجم الهيفات سطح الكيوتيكل في مجموعات مما ينتج عنه ضغط ميكانيكي كافٍ لتحطيم وسرعة تحلل موقع الدخول، وفي المناطق اللينة من الكيوتيكل كما هو الحال في يرقات حرشفية الأجنحة لا تتجه الهيفات مباشرة إلى تجويف الجسم وإنما تصيب طبقة الأندوكيوتيكل حيث تنمو في الحجم وتنقسم حتى تزداد عدداً ثم تهاجم تجويف الجسم في مجموعات كما تدخل أعداد منها إلى خلايا طبقة الأبيديرمس Epidermis المسؤولة عن تكوين الكيوتيكل الجديد أثناء الانسلاخ وتتغذى عليها وتحطمها قبل أن تدخل تجويف الجسم، وفي معظم العوائل بما فيها الحشرات الكاملة من رتبتي غمدية الأجنحة ونصفية الأجنحة تستطيع الهيفات الداخلة الوصول إلى تجويف الجسم والظهور في الهيموليمف في فترة تتراوح بين 1 - 3 أيام ومن أهم أعراض الإصابة الهستولوجية في هذه المرحلة تحطم طبقتي الأبيكيوتيكل والأندوكيوتيكل وتحلل وتلاشي مكونات طبقة الأندوكيوتيكل في مواقع دخول وتواجد الهيفات وبالقرب منها، وتستجيب الحشرة المصابة من اليرقات بترسيب مادة الميلانين ذات اللون الأسود في أماكن الأختراق على سطح الكيوتيكل وقد يمتد الترسيب داخل طبقات الكيوتيكل مما يؤدي إلى ظهور بقع بنية أو سوداء على سطح جسم الحشرة والتي يمكن رؤيتها بالعين المجردة أو بواسطة عدسة يدوية.

عند وصول الهيفات الداخلة إلى تجويف الجسم تنمو إلى أجسام هيفية تكبر في الحجم وتنقسم إلى أخرى التي تنمو بدورها وتتفرع جانبياً ويتكون على أطرافها الجراثيم البلاستية Blastospores التي تنتشر مع تيار الهيموليمف في جميع أجزاء تجويف الجسم، ونتيجة لنمو الهيفات وكثرة عددها وتغذيتها وإفرازها لسموم الفطر يحدث تغير في الصفات الفيزيائية والكيميائية للهيموليمف يؤدي إلى خلل في وظائفه ونقل سيولته شيئاً فشيئاً، وفي هذه المرحلة تهاجم الهيفات الأجسام الدهنية والعضلات الرئيسية فتقل حركة الحشرة وتصاب بالشلل فتصبح غير قادرة على الإستجابة للمؤثرات الخارجية وتقل تغذيتها

أو تمتنع تماماً عن الغذاء ثم تتوقف تماماً عن الحركة وتموت. بعد الموت مباشرة تهاجم الأجسام الهيفية والجراثيم البلاستية جميع الأنسجة المكونة لأعضاء وأجهزة الجسم الداخلية وتنمو داخلها إلى هيفات كبيرة أو ميسيليوم خيطي كثيف فينكمش جسم اليرقات ويتكرمش ويتصلب ويصبح داكناً ويتحول إلى مومياء Mummification ويبقى الفطر ساكناً داخل الجثة الجافة ويطلق عليها Cadaver لفترة قد تطول إلى أشهر حتى تتوفر ظروف مناسبة لاستئناف دورة حياة الفطر.

عند دخول الهيفات إلى تجويف الجسم تقابل الهيفات بمقاومة من جهاز المناعة تتمثل في تجمع الكرات الهيمولمفية حول الهيفات الداخلة والجراثيم البلاستية المتكونة في محاولة لوقف تطور الفطر وذلك بابتلاعها Phagocytosis أو حبسها وعزلها Encapsulation أو حوصلتها Nodulation وغالباً تبوء المحاولات بالفشل في وقف سريان وتطور المرض، وفي الحشرات الكاملة مثل تلك التابعة لرتبة غمدية الأجنحة لا تظهر بقع سوداء أو داكنة على سطح جسم الحشرات المصابة كما أن جثة الحشرة لا تتكمش لأن الكيوتيكل داكن اللون وصلب ويحيط بالحشرة في هيكل خارجي قوي ولكن تتميز الحشرات الكاملة العائلة للفطر بتمدد الأرجل حول الجسم في زاوية مائلة إلى الخارج وقد تبرز الأجنحة الخلفية الفشائية بشدة إلى الخلف وقليلاً إلى الجانبين ويحتفظ الجسم بوزنه وإذا تم تشريح الحشرة نجد محتوياتها الداخلية متصلبة أو لينة ولكنها متماسكة دون وجود رائحة كريهة أو نفاذة.

يبقى الفطر ساكناً داخل جثة الحشرة إلى أن تتوفر نسبة رطوبة عالية أو تتعرض للماء مباشرة فتتشط الأجسام الهيفية والهيفات والجراثيم البلاستية الموجودة في أنسجة الحشرة وتنمو إلى ثالوث ميسيلي خيطي متفرع أبيض اللون يخترق جدار جسم الحشرة في العديد من المناطق إلى الخارج غالباً إلى أعلى وعلى الجانبين ليغطي الجثة كلياً أو جزئياً ما عدا المناطق شديدة الصلابة، وتتسأ على الميسيل حوامل كونيديية هوائية تتكون عليها الكونيدييات بكثافة والكونيدييات عديمة اللون Hyaline تحاط بفيلم من الماء عند بداية تكونها ثم تتكاثف في تجمعات وتتحول إلى اللون الأبيض الكريمي عند جفافها، ويمكن الاحتفاظ بجثث الحشرات المصابة المحتوية على الفطر ساكناً داخلها في طبق بتري معقم وجاف على درجة حرارة الحجر لفترة قد تصل إلى 15 يوماً دون أن يتأثر الفطر والأفضل الاحتفاظ بها في وعاء زجاجي جاف ومعقم على درجة حرارة 3 - 8م.

يتميز الفطر بقدرته على النمو وإكمال دورة الحياة على العديد من البيئات الصناعية السائلة والنصف صلبة والصلبة، ومعملياً يمكن تربيته بهدف البحث والدراسة على بيئة بسيطة تحتوي على الجلوكوز أو الديكستروز كمصدر للكربون والبيبتون كمصدر للنيتروجين، أفضل هذه البيئات سابوراد ديكستروز Sabourad dextrose agar المضاف إليها 0.2% مستخلص الخميرة وعند استخدام سلالات جيدة يحتاج الفطر إلى 2 - 3 أسابيع على درجة حرارة 25م مع توفر نسب رطوبة مناسبة لاستكمال فترة النمو والجراثيم، وللتعرف على الفطر أثناء نموه على البيئة الصناعية يفضل تحضير فيلم

من البيئة سمكه حوالي ملليمتر وإحدى على شرائح زجاجية في أطباق بتري وتلقيحها بمعلق ذات تركيز منخفض من الكونيديات (3000/مل) وتحضينها على 20 - 25م ثم فحص الشرائح على فترات متوالية والأفضل كل 12 ساعة حيث يتميز نمو الفطر الكثيف وتكوين الجسم الميسيلي ، ثم مرحلة تكوين الحوامل الكونيدية والكونيديات. ففي فترة ما قبل الإنبات تنتفخ الجراثيم الكونيدية ويزداد قطرهما إلى حوالي الضعف ويظهر محتوى الكونيديا كثيفاً عاكساً لإضاءة الميكروسكوب وتستمر هذه المرحلة من 1 - 4 ساعات ثم تنبت الكونيديا بهيئة نابطة عرض قاعدتها مساوياً لقطر الجرثومة وقمتها مستدقة وتنمو مستقيمة على سطح البيئة وهذه هي الهيفا الأولية Primary hypha وأثناء نمو هذه غالباً تخرج من نفس الكونيديا هيفا ثانوية Secondary hypha على الناحية الأخرى غالباً في خط مستقيم على امتداد الهيفا الأولية وفي السلالات الجيدة ينبت حوالي 95% من الكونيديات خلال 20 ساعة ومن المفترض أن تنبت كل الجراثيم بعد 24 ساعة، وفي الـ 24 ساعة التالية تنمو على الهيفات الأولية والثانوية هيفات جانبية Lateral hyphae في وضع متبادل وقد تتكون على أطراف الهيفات الجانبية جراثيم بلاستية تنمو إلى هيفات وقد يتأخر ظهور الجراثيم البلاستية إلى اليوم الثالث وفي كل الأحوال يدخل الفطر في مرحلة نمو نشط لتكوين جسم ميسيلي كثيف ومتشابك يتجه إلى أعلى ويظهر على سطح البيئة بلون أبيض ناصع ومتمائل وتستمر هذه المرحلة حوالي أسبوع وفي المرحلة التالية تتكون الحوامل الكونيدية والكونيديات والأخيرة تظهر في كتل بيضاء ناصعة يتخللها قطرات دقيقة من الماء، وتستمر مرحلة التجرثم حوالي أسبوع يبدأ بعده النمو الميسيلي في التراجع والإنكماش وتخفي قطرت الماء ويظهر النمو الفطري دقيق المظهر ويتحول لون الكونيديات إلى الأبيض الكريمي وهو ما يدل على نضج الجراثيم الكونيدية ويجب ملاحظة أن مراحل النمو وفترتها تتأثر كثيراً بدرجات الحرارة والرطوبة النسبية السائدة.

التربية وبيئات الزرع الصناعية:

هناك الكثير من بيئات الزرع الصناعية Artificial culture media الصالحة لحفظ وتربية عزلات وسلالات الكثير من أنواع الفطريات الممرضة للحشرات وعلى الأخص تلك التابعة للفطريات الناقصة ويتم تحضيرها على هيئة نصف سائلة Semisolid لزرع السطحي Surface culture بهدف نمو وتجرثم هوائي لسهولة المراقبة والفحص والتقييم في الاختبارات الحيوية كما يمكن استخدامها على مستوى المعمل في إنتاج كميات كبيرة من الكونيديات للاختبارات الحقلية وشبه الحقلية، كما تستخدم طريقة الزرع بالغمر Submerged culture على مستوى المعمل للحصول على لقاح من الجراثيم البلاستية Blastospores والكونيديات غير الهوائية Submerged conidia لتلقيح البيئة نصف الصلبة لتوفير الوقت والمجهود، ويجب اختيار البيئة المناسبة لنوع الفطر، وبصفة عامة يستخدم الماء المقطر المرشح كمادة حاملة لمكونات البيئة فضلاً عن أهميته للنمو وتكون الجراثيم، ويستخدم الدكستروز Dextrose كمصدر أساسي للكربون وفي حالة تعذر الحصول على الدكستروز يمكن

استخدام الجلوكوز Glucose أو المالتوز Maltose أو أي مادة كربوهيدراتية مناسبة أخرى، ويستخدم البتون Peptone كمصدر أساسي للنيتروجين والمستحضر التجاري منه مسحوق جاف يتم تحضيره من اللحم الخالي من الدهون بواسطة إنزيم البسين وقد يتم تحضيره من مصادر أخرى للبروتين وبطرق أخرى، ويستخدم الآجار Agar كمادة تعطي صلابة مناسبة (Solidified agent) وهو مادة كربوهيدراتية يتم تحضيرها من بعض أنواع الطحالب المائية والمستحضر التجاري منه مسحوق يذوب في الماء على درجة 95 – 100م ويضاف بنسبة لا تزيد على 3% وهو بهذا التركيز لا يسيل قبل أن تصل درجة حرارته أثناء إعداد البيئة إلى 98م كما لا يتأثر بارتفاع درجة الحرارة أثناء التعقيم كما يمكن تبريده إلى 48م دون أن يتصلب وهو يجعل البيئة تتصلب عندما تنخفض درجة حرارتها إلى 42 – 45م، وقد استخدم قديماً الجيلاتين Gelatin ولم يعد يستعمل الآن لاحتياجاته الخاصة أثناء التعقيم والحضانة وقد تستخدم سيليكاجيل Silica gel في بعض البيئات ذات المكونات غير العضوية، وقد تضاف مصادر أخرى للنيتروجين أو يستبدل البتون بمواد أخرى مثل اللبن المجفف أو صفار البيض أو مسحوق الكيتين لتناسب نمو وتجرثم بعض أنواع الفطريات التابعة لعائلة Entomophthoraceae.

بيئة البطاطس والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) : وهي إحدى البيئات نصف الصلبة ويوجد منها مستحضر تجاري في الأسواق مبين على عبواته مكوناتها وطريقة الاستعمال وتستخدم بنسبة 39 جم لكل لتر من الماء، كما يمكن إعدادها عملياً وتتكون من 200 جم بطاطس، 20 جم دكستروز، 20 جم آجار لكل لتر ماء.

بيئة سابوراد دكستروز آجار Sabouraud dextrose agar : ويرمز لها في المراجع (SDA+ Y) أو (SDAY). لأنها تستخدم دائماً مضافاً إليها 0.2% مستخلص الخميرة Yeast extract، وتعتبر أفضل البيئات لزراعة وتربية الكثير من أنواع الفطريات وتتكون من 40 جم ديكستروز، 10 جم بيتون، 2 جم مستخلص الخميرة، 15 جم آجار لكل لتر ماء. من أهم مميزات أن احتمال تلوثها بالبكتريا ضئيل حيث إنها غير مناسبة لنموها وتستخدم غالباً على مستوى المعمل لإنتاج كميات كبيرة من الكونيديات لاستعمالها في التجارب بما فيها الحقلية.

بيئة الجلوكوز بيتون Glucos peptone agar : وتتكون من 20 جم جلوكوز، 10 جم بيتون، 2 جم مستخلص الخميرة، 15 جم آجار لكل لتر ماء، وهي من أفضل البيئات لزراعة وتربية القطر *B.bassiana*.

بيئة ملت بيتون آجار Malt peptone agar : من أقدم البيئات التي تم استخدامها لتربية الفطريات الخيطية وما زالت تستخدم وتتكون من 15% ملت (مستخلص مستنبت الشعير Malt extract وبياع تجارياً) 2 – 3% بيتون 2 – 3% آجار لكل لتر ماء.

تعتبر بيئة PDA إحدى البيئات الجيدة واستخدمها الكثير من الباحثين لحفظ وتربية الفطر *B. bassiana* والفطر *Paecilomyces farinosus* وغيرها من الأنواع، والمستحضر التجاري منها سهل وسريع الاستخدام وقد يضاف إليه مستخلص الخميرة بنسبة جرام وإحدى/لتر لتحسين صفات البيئة، أم أكثر البيئات استخداماً لمعظم أنواع الفطريات الخيطية Hyphomycetes فهي بيئة (SDA+Y) ويمكن استخدامها في العزل والحفظ والتربية للحصول على كميات كبيرة من الكونيديات (Goettel & Inglis، 1997).

وعلى سبيل المثال تحضر بيئة سابوراد (SDA+Y) بوزن مكونات كل لتر وإحدى كل على حدة في حاوية مستقلة وتفضل أطباق بتري مع تعريف كل مكون بكتابته على غطاء الطبق حيث تتشابه المكونات من ناحية الشكل للبعض من المشتغلين وتوضع مكونات كل لتر فوق بعضها ، ويتم تسخين لتر من الماء المقطر المرشح في كأس Beaker سعة 2 لتر مع مقلب ممغنط Stir bar على سخان ذات دوار مغناطيسي Magnetic stirring heater وتضبط سرعة الدوران بحيث لا تتكون فقاعات هوائية كما تضبط درجة الحرارة بحيث لا يحدث غليان في أي مرحلة من مراحل الإعداد، والأفضل البدء بإضافة الدكستروز ثم البيتون ثم مستخلص الخميرة ثم الآجار، وتضاف المواد إلى الماء بكميات صغيرة بحيث تستوعبها سرعة التقليب دون أن تتكون كتل أو حبيبات والبيئة جيدة التحضير هي التي تكون متجانسة وشفافة بعد إضافة جميع المواد. وتنتقل البيئة الساخنة إلى دوارق معيارية Flasks سعة 500 مل بعدل حوالي 300 مل لكل دورق وتغطي الدوارق بسدادات من القطن تضغط إلى منتصف طول الرقبة مع بروز جزء كبير من فوش وكاف لنزعه بسهولة ومن الأفضل استخدام دوارق معيارية ذات أغطية تتحمل درجات الحرارة العالية ويجب عدم إحكام قفل الأغطية وإنما تقفل بالدوران إلى منتصف سعتها فقط وفي كل الأحوال يجب ألا يزيد حجم البيئة عن ثلثي حجم الدورق ولا يسمح بانخفاض درجة حرارتها عن 50م قبل أن توضع في الأوتوكلاف، بعد التعقيم تترك البيئة لتبرد جزئياً داخل الأوتوكلاف ثم على سطح تم تطهيره ويبدأ صب البيئة في أطباق بتري عندما تنخفض درجة حرارتها إلى حوالي 50م بحيث يتم الانتهاء من الكمية قبل أن تنخفض درجة حرارتها عن 45م وإذا حدث تأخير يتم معاملة الدورق بلهب بنزن العلوي مع تدوير البيئة ببطء لرفع درجة حرارتها، كما يجب تجنب صب البيئة وهي على درجة حرارة عالية حيث يؤدي ذلك إلى تبخر جزء كبير من محتواها من الماء وتكثفه على السطح الداخلي لأغطية الأطباق مما يسبب مشاكل كثيرة عند استخدامها، ويفضل استخدام أطباق بتري من البلاستيك قطر 9 سم ويتم الحصول عليها جاهزة التعقيم في أكياس من الشركات المختصة وهي للاستخدام مرة وإحدى وتوفر الكثير من الوقت والجهد، وتصب البيئة في الطبق بسمك ثلث إرتفاعه إلا في الاستخدامات الخاصة ويتم تحريك الأطباق ورصها فوق بعضها بحزر وهي ساخنة ولا يسمح بتحريكها بعد بدء التصلب حتى نحصل على سطح مستوى

ومتجانس وتترك الأطباق لمدة 24 ساعة قبل الاستعمال كما يمكن تخزينها لفترة قصيرة غالباً لا تزيد على أسبوع على درجة حرارة 8م.

البيئة السائلة Liquid medium : وتتكون من نفس مكونات البيئات النصف صلبة دون إضافة الآجار حيث تبقى سائلة بعد التعقيم وقد يضاف بعض المواد الأخرى كمادة مساعدة لنمو بعض أنواع الفطريات، وعلى مستوى المعمل تستخدم للحصول على جراثيم بلاستية Blastospores وكونيديات غير هوائية Submerged conidia تستعمل كلقاح Inoculum للبيئات نصف الصلبة مما يؤدي إلى اختصار فترة نمو الفطر وتكوين الكونيديات.

العوامل المؤثرة على الفعالية :

تعتبر الفطريات أكثر مسببات أمراض الحشرات تأثراً بكل ما يحيط بها في وسط انتشارها نظراً لأنها تصيب عوائلها بصفة أساسية عن طريق تلوث أجسامها بالجراثيم كما أن دورة المرض ونموها وإثمارها يستغرق غالباً فترة طويلة وتؤثر عوامل البيئة على فعالية الفطريات الممرضة للحشرات وتكشف أعراضها في عدة اتجاهات :

1. استمرار تواجد الفطر حياً.
2. تكوين الجراثيم الكونيدية ودرجة انتشارها في البيئة.
3. نجاح الإصابة واستمرار دورة المرض.
4. توفر العائل (غير مباشر).
5. التأثير على العائل (غير مباشر).
6. الحالات الوبائية.

يتميز الفطر *B. bassiana* بأنه ذو قدرة عالية على إمرض وقتل الحشرات وعلى الأخص الحشرات الكاملة لرتبة عمدية الأجنحة بما فيها أنواع من عائلة السوس Fam. Curculionidae ومنها سوسة النخيل الحمراء، وله سلالات متعددة ذات فعالية عالية في المناطق الجغرافية المختلفة، ويلعب وسط انتشار الفطر دوراً حاسماً في قدرته على الإصابة والقتل ويتأثر نشاطه بالعوامل التالية :

أولاً - الحرارة :

معظم أنواع الفطريات يقع مجال نشاطها بين 20 - 30م ويستمر نشاطها بصورة أقل حتى 8م كحد أدنى و 35م كحد أقصى وفي الفطر *B. bassiana* يتسع مجال عمله من 6 إلى 44م والدرجات المثلى تقع بين 24 - 30م

ثانياً - الرطوبة :

يختلف تأثير الرطوبة النسبية كثيراً تبعاً لمرحل نمو الفطر على العائل أو على البيئة الصناعية وتحتاج كل الأنواع بما فيها الفطر *B. bassiana* لرطوبة نسبية أعلى من 90% في مرحلة وإحدى فقط هي فترة نمو الميليسيوم من داخل الحشرة وتكوين الحوامل والجراثيم الكونيدية على سطح جثث الحشرات المصابة، ويعتقد الكثير أن الفطريات الممرضة للحشرات تحتاج لنسب رطوبة عالية جداً لكي تحدث إصابة ناجحة وهذا ليس صحيحاً حيث تستطيع الكثير من أنواع الفطريات الخيطية أن تحدث الإصابة وتقتل عائلها الحشري دون ضرورة لتوفر نسب عالية من الرطوبة، ولقد أشار Ferron 1975 إلى أن مجرد تلاقي جراثيم الفطر مع كيو تيكل العائل الحساس للإصابة قد يؤدي إلى إنبات عدد كافٍ من الجراثيم لحدوث إصابة ناجحة دون توفر نسب رطوبة عالية، ولقد سجلت الكثير من البحوث قدرة الفطر *B. bassiana* على إصابة عائله بنجاح على درجات من الرطوبة النسبية تقع بين 50 - 70% وبصفة عامة تزداد نسب إنبات الجراثيم وإصابة العائل بارتفاع نسب الرطوبة النسبية، ولكن توفرها بشكل دائم ليس ضرورياً للحصول على نسب موت عالية، فلقد وجد Cermakova 1960 أن الفطر *B. bassiana* يصيب ويقتل العمل الثالث ليرقات خنفساء البطاطس *Leptinotarsa decemlineata* على رطوبة نسبية 50%، ووجد Dunn & 1963 Mechalas أن نفس الفطر يصيب ويقتل حشرة *Lygus hesperus* على الفطر أن يصيب ويقتل الحشرات الكاملة لسوسة أوراق البرسيم بنسب موت تراوحت بين 80 - 100% على درجات رطوبة 75% و 88% و 100% وانخفضت نسبة الموت إلى 65% على 60% رطوبة نسبية (El-Sufty & Bourai, 1987).

ثالثاً - الضوء :

تأثير الضوء بمفرده على الفطريات الممرضة للحشرات غير معروف على وجه الدقة نظراً لتداخل تأثيره مع عوامل أخرى وبالذات الرطوبة والحرارة وبصفة عامة تؤثر الشمس الساطعة وكذلك ضوء الشمس المباشر لفترة طويلة سلبياً على نشاط الفطريات وتعمل على قتل جراثيمها وتؤدي إلى رفع درجة الحرارة وانخفاض الرطوبة مما لا يناسب مع انتشار وازدهار الفطريات، ولقد أدى تعريض جراثيم الفطر *B. bassiana* إلى أشعة الشمس المباشرة لمدة 3 ساعات إلى قتلها (Muller - Kogler, 1965).

يختلف تأثير الأشعة فوق البنفسجية على جراثيم الفطريات تبعاً لفترة التعرض، فالتعرض لفترات طويلة يؤدي إلى قتل الجراثيم وتثبيط نمو الميليسيوم وعدم تكوين الجراثيم على جثث الحشرات العائلة (Macleod et al, 1966; Krieg et al, 1981)، وتوجد بعض الأنواع والسلالات تتحمل التأثير لفترة قصيرة فلقد وجد لفترة 60 دقيقة، وقد يقل اللون الداكن للجراثيم من التأثير السالب

للأشعة فوق البنفسجية فلقد أشار Cantwell, 1974 إلى دراسة على سلالتين من الفطر *Cochliobolus* أوضحت أن السلالة ذات الجراثيم الداكنة أكثر مقاومة لهذه الأشعة عن السلالة ذات الجراثيم البيضاء، كما يستطيع الفطر *Hirsutella thompsonii* تحمل التعرض للأشعة فوق البنفسجية لفترة طويلة نتيجة قدرته على تثبيط فعلها (Tuveson & McCoy,1982).

يختلف تأثير ضوء الشمس (غير المباشر والضوء الصناعي) كثيراً تبعاً لأنواع الفطريات وسلالتها، فالفطر *B. bassiana* تبعاً لرأي Muller – Kogler,1965 لا يتأثر نموه أو إنبات جراثيمه بالضوء بينما أشار Teng,1962 أن تعريض مزارع نفس الفطر إلى فترة إضاءة 4 - 5 ساعات أدى إلى زيادة إنتاج الجراثيم، ومن ملاحظاتي وخبراتي في تربية الفطر *B. bassiana* أنه يحتاج إلى فترة إضاءة تقريباً يومية لكي تتكون كميات كبيرة من الجراثيم.

رابعاً- المناخ :

يتأثر نشاط الفطريات الممرضة للحشرات كثيراً بالمناخ السائد في منطقة التواجد، والأنواع كما السلالات المتوطنة تستطيع دائماً التواجد تحت ظروف المناخ المتغير على مدار العام حتى تحت الظروف غير المواتية لها بتكوين أشكال فطرية ساكنة على العائل أو داخله أو في البيئة، وتنشط عندما يتواجد عائلها وتزدهر عندما يسود مناخ مناسب لها، ومعظم الأنواع تنشط وتنتشر وتزدهر عندما يسود مناخ رطب أو مطير ذي درجات حرارة معتدلة.

وفي المناطق الحارة قد تتواجد سلالات من الفطريات تستطيع أن تتحمل ظروف المناخ المتغير طوال العام وتنشك على عوائل خاصة بها من الحشرات في فترات معينة، وهي تحتاج إلى رعاية ومساعدة ويمكن إستخدامها بوسائل مناسبة ضد بعض أنواع الحشرات الضارة المتوطنة، وهذه الأنواع تعتمد على الرطوبة النسبية العالية ودرجات الحرارة المعتدلة التي تسود في فترات ليست قصيرة على مدار العام، ففي إمارة رأس الخيمة بدولة الإمارات العربية المتحدة وكذلك في منطقة القطيف بالمملكة العربية السعودية تم عزل ثماني عزلات للفطر *B. bassiana* من مزارع النخيل على الحشرات الكاملة وعدادى سوسة النخيل الحمراء ومن التربة وتم دراسة عزلات الفطر وتعريفه وتسجيله بدولة الإمارات العربية المتحدة كسلالة جغرافية للفطر، وتم استخدامها بنجاح ضد سوسة النخيل الحمراء (التقارير السنوية لمشروع مكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء في دول مجلس التعاون الخليجي لسنتي 2000 - 2002، المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الخرطوم)، ومن خبرتي الشخصية وواقع تقارير محطات الإرصاء الجوي في منطقتي رأس الخيمة والشارقة بدولة الإمارات العربية المتحدة تتوفر درجات من الرطوبة النسبية العالية تصل إلى 100% غالباً يومياً لفترة من الوقت وعلى الأخص من أكتوبر إلى أبريل، كما تسود خلال هذه الفترة درجات

حرارة أقل من 35م أثناء النهار تنخفض إلى أقل من ذلك أثناء الليل، مثل هذه الفترات كافية للسلاطات الجغرافية المتوطنة لكي تحافظ على تواجدها في البيئة.

العائل الحشري وكثافته العددية :

يعج وسط انتشار الفطر المسبب للمرض بالكثير من أنواع الحشرات، ورغم ذلك قد لا نلاحظ أي نشاط له وذلك لغياب الحشرة العائل الرئيسي أو الحشرة البديل المناسب، ولذلك فإن تواجد العائل المناسب القابل للإصابة هو العامل المحدد لنشاط الفطر، كما أن تواجد العائل المناسب في وسط الانتشار على هيئة أفراد مبعثرة يعمل بالكاد على تمكن الفطر من التواجد في البيئة، وفي الحالة النموذجية يمارس الفطر نشاطه على مجموعات من عشيرة عائلة وليس على أفراد متفرقة، ولذلك فإن شدة نشاط هذه الفطريات يتوقف أساساً على الكثافة العددية للحشرة العائل، وكقاعدة عامة تعمل الفطريات كعامل حيوي مرتبط بالكثافة العددية، فكلما زادت الكثافة العددية للعائل يزداد نشاط الفطر والعكس صحيح، وفي هذا المجال يجب توضيح الفرق بين الفطريات الممرضة للحشرات والعوامل الحيوية الأخرى المرتبطة بكثافة عائلها مثل الطفيليات والمفترسات. هذا الفرق يقع بصفة رئيسية في قوة الاستجابة على ارتفاع أو انخفاض الكثافة العددية للعائل عنها في الطفيليات والمفترسات بسبب غياب وسائل الحركة. لأن غياب وسائل الحركة تجعلها لا تنتفع إيجابياً من جمهور الحشرة المتاح في وسط الانتشار بالسرعة التي تتمتع بها الطفيليات والمفترسات ويتم تعويض ذلك بالأعداد الهائلة من وحدات الإصابة التي ينتجها الفطر عن إصابة فرد وإحدى من العائل والوسائل المتعددة المتوفرة لانتشار هذه الوحدات مما يرفع باستمرار من احتمال التقابل بين الفطر والعائل، ورغم عدم توفر نماذج رياضية إيكولوجية للتفاعلات بين الفطريات وأعداد عائلها إلا أن القاعدة الإيكولوجية التي تقضي بأن كل فرد من العائل يموت بإصابة ناجحة من الفطر يضيف إلى وسط الانتشار بلايين من وحدات الإصابة الممثلة للفطر تبقي فاعلة بالإضافة إلى القدرة الطبيعية لأنواع من وحدات الإصابة على البقاء حية لمدد طويلة، ولذلك فكلما ارتفعت الكثافة العددية للعائل تحدث الاستجابة بارتفاع فرص تلوث الأفراد وإصابتها وموتها وتزداد فرص نقل وحدات الإصابة أفقياً من الأفراد إلى التجمعات الصغيرة ثم التجمعات الكبيرة ويصل الفطر إلى قمة نشاطه بحدوث الحالة الوبائية، ورغم أن الحالة الوبائية التي تحدثها الفطريات في عائلها تتوقف كثيراً على توفر ظروف مناسبة لنمو الفطر وتكاثره إلا أن ارتفاع الكثافة العددية للعائل الحشري عامل مهم وأساسي لحدوثها، وفي ذلك تتفوق الفطريات وبعض مسببات الأمراض الأخرى كأعداء حيوية عن غيرها من المفترسات والطفيليات، وفي الحالات الوبائية للفطريات يعطي العائل الحشري الحافز البيولوجي والإيكولوجي للفطر، لأن يحدث فيها حالة الوباء، حيث يستفيد الفطر ليس فقط من كثرة الأعداد وتزاحمها وتنافسها على الغذاء وأماكن وضع البيض والمسكن ولكنه

يستفيد أيضاً من الخلل الفسيولوجي الذي يحدث في العشيرة نتيجة النقص الحادث في الغذاء كما
ونوعاً، كما يستفيد من تزامم العائل بنقله لوحداث الإصابة إلى أماكن التجمعات الكبيرة والمخابيء
التي تتواجد فيها معظم أفراد العشيرة.

الإنتاج الغزير وتشكيل المبيدات الفطرية الممرضة للحشرات

وطرق استخدامها في مزارع النخيل

إعداد: أ.د. رفعت الصفتي

خبير الفطريات - مركز المشروع بالحمراية

الإنتاج الغزير وتشكيل المبيدات الفطرية الممرضة للحشرات وطرق استخدامها في مزارع النخيل

التربية على حشرات حية:

تستخدم غالباً للحصول على جراثيم الفطريات التي لا يمكن تربيتها على بيئة صناعية ولكن تستخدم أيضاً للحصول على كمية كبيرة من كونيديات الفطريات الخيطية مثل الفطر *B. bassiana* والفطر *M. anisopliae* وعلى الأخص عندما تكون إمكانيات التربية على بيئة صناعية محدودة نتيجة ضعف أو قصور المعدات المعملية اللازمة لإعداد البيئات الصناعية وتعقيمها وأهم ما يميز هذه الطريقة الحصول على جراثيم ذات قدرة عالية على الإصابة والقتل، وعلى سبيل المثال فقد تمكن Mansour 1999 من إنتاج كمية كبيرة من كونيديات *B. bassiana* على اليرقات كاملة النمو لدودة الشمع الكبيرة *Galleria mellonella* تم تربيتها بالآلاف داخل حاويات زجاجية سعة 10 لترات على شمع نحل قديم معقم بالهواء الساخن على درجة 45 م° لمدة يومين للتخلص من جميع الأطوار الحية لديدان الشمع، وتم الاحتفاظ بالحاويات الملقحة ببيض الحشرة في حجرة دافئة (29-31 م°) حتى اكتمال نمو اليرقات ثم نقلها إلى حجرة أخرى مظلمة على درجة حرارة (24 - 26 م°) على أرفف مزودة بصوانٍ مكشوفة بها ماء، وتم تلقيح الحاويات بالفطر بوضع قطع من الشاش سبق نقعه في معلق مائي يحتوي على 1% Tween 80 و 5 X 10 X 7 كونيديا / مل لمدة دقيقة وإحدى، وبعد ثلاثة أسابيع من اللقاح يتم فتح الحاوية وجمع جثث اليرقات الميتة الصلبة *Cadavers* اللاصقة على جدر الحاوية وقطع الشاش، وكان متوسط إنتاج الحاوية الواحدة 678 جثة صلبة صالحة لإنتاج الفطر، وللحصول على الكونيديات تم تحضين اليرقات على ورق قابل للبلل بالماء داخل صوانٍ زجاجية معقمة بالهواء الساخن صنعت بطريقة رخيصة الثمن بأبعاد 20 X 30 X 5 سم بدون سقف وقابلة لوضع الواحدة فوق الأخرى بمعدل 100 جثة / صينية، وتم الحفاظ بالرطوبة العالية داخل كل صينية عن طريق قطعة من القطن المجدول المتصلة بقاعدة الصينية من ناحية ومدلاة إلى الخارج من الناحية الأخرى حيث أمكن التحكم في نسبة الرطوبة عالية داخل الصواني حتى تكوين الكونيديات (7-10 أيام)، وبعد نضج الجراثيم وجفافها تم جمعها بطريقة النخل، وكان متوسط إنتاج الحاوية الواحدة 34ر5 جرام من الكونيديات (متوسط 10 حاويات تستخدم لتربية ولقاح اليرقات)، وفي شمال ولاية كارولينا يتم تربية الفطر *Nomuraea rileyi* على يرقات دودة كيزان الذرة *Heliothis zea* على نطاق واسع لإطلاقه في الحقل لتعزيز فعالية نفس الفطر ضد الحشرة.

التربية السطحية على بيئة نصف صلبة:

يقصد بالتربية السطحية Surface culture زرع الفطر على سطح مستوى لبيئة صناعية مغذية ذات رطوبة عالية ، وتستخدم أنواع متعددة من البيئات الصناعية Artificial media (انظر الباب السادس) ، ونظراً لتقارب معظم الفطريات الخيطية في احتياجاتها الغذائية يستخدم الماء كمادة حاملة لباقي المواد المغذية ، وعلاوة على ضرورته لنمو الجسم الميسيلي وتكوين الجراثيم فهو يوفر الرطوبة الكافية في البيئة، ويفضل استخدام الماء المقطر لثبات تركيبه الكيميائي وخلوه من الكميات الكبيرة لأملاح الكالسيوم والمغنسيوم التي إذا وجدت فإنها تتفاعل مع مركبات الفوسفات الموجودة في المركبات الأخرى وتتكون فوسفات الكالسيوم أو المغنسيوم غير الذائبة غير المفيدة لنمو الفطر ، وغالباً يستخدم الببتون peptone مصدراً رئيسياً للنيتروجين لاحتوائه على الأحماض الأمينية وثنائي وعديد الببتيد الصالحة لاستخدام الكثير من أنواع الفطريات، كما يتميز الببتون بعمله كمادة منظمة لتفاعل مكونات البيئة لاحتوائه على أحماض أمينية لكونها مركبات أمفوتيرية Amphoteric compounds ويضاف الببتون بنسبة 1-2% ، ويستخدم الدكستروز Dextrose أو الجلوكوز Glucose كمصدر للكربون، ويفضل الدكستروز لرخص ثمنه ويضاف بنسبة 2-4% أما الجلوكوز فيضاف بنسبة 2-3%، وقد تضاف مواد أخرى في البيئة مثل مستخلص الخميرة Yeast extract كمصدر للفيتامينات وفوسفات البوتاسيوم وفوسفات المغنسيوم كمواد مساعدة للحصول على صلابة مناسبة يضاف إلى المكونات الغذائية مواد تعمل تسبب صلابة Solidified agents تعطي البيئة صلابة مناسبة عندما تنخفض درجة حرارتها بعد التعقيم ونهياً سطحاً مستوياً لزرع الفطر ونموه، وقد استخدم قديماً الجيلاتين Gellatin ولم يعد يستعمل الآن لاحتياجه لمعاملات خاصة في التعقيم والتحضين وغالباً يستخدم الآجار Agar agar والمستحضر التجاري منه يباع على هيئة مسحوق ويضاف بنسبة 1 و 5 و 3% وهو بهذا التركيز يجعل البيئة تتصلب على درجة حرارة إلى 42 - 45°م ، وتصب البيئة في أطباق بتري معقمة ويتم تلقيحها بمعلق من الجراثيم البلاستية المعدة سابقاً بطريقة التخمر بالغمر ويتم التحضين غالباً على درجة حرارة 25 - 26°م لمرحلة النمو الميسيلي وتكوين الكونيديات ثم على 27 - 29°م ورطوبة نسبية 50 - 60% حتى اكتمال مرحلة التجزئ ثم تخفض الرطوبة النسبية إلى 30 - 40% لجفاف الكونيديات ، ويمكن جمع الكونيديات بمساعدة فرشاة ألوان داخل أكياس من البلاستيك أو بطريق الإزاحة بالماء ، وفي وجود اثنين من العمال المدربين أمكنني إنتاج 500 - 600 جم أسبوعياً من الكونيديات الجافة للفطر *B. bassiana* على بيئة سابوراد ديكستروز آجار Dextrose agar Sabouraud . وفي تشيكوسلوفاكيا قامت بعض الشركات بتربية الفطر *B. bassiana* سطحياً على بيئة سائلة بهدف تجاري وذلك في حاويات بلاستيكية ضحلة ولكنها متسعة داخل حجرات يتم التحكم في درجات حرارتها والرطوبة النسبية أوتوماتيكياً ، وبعد التجزئ يتم صرف المتبقي من البيئة وتجفيف الميسيليوم بما عليه من كونيديات وطحنه، ولقد أعطت

هذه الطريقة محصولاً يتراوح بين 10 X 10¹² إلى 10 X 10¹⁵ كونيديا لكل متر مربع من سطح البيئة (Kybal & Vilcek, 1976) .

التربية على بيئة صلبة:

أمكن تربية الكثير من أنواع الفطريات الخيطية وعلى الأخص الفطرين *B. bassiana* و *M. anisopliae* على الكثير من المواد الكربوهيدراتية الصلبة وعلى الأخص حبوب الأرز ونخاله القمح لاستغلال سطح المادة الخاضعة *Substrate* لتوسعة سطح النمو وغازة تكوين الكونيديات وهي إحدى الطرق الشائعة للحصول على كميات كبيرة من الجراثيم بتكاليف منخفضة، ولقد قامت شركات كثيرة باستخدام هذه الطريقة في الإنتاج التجاري إلى أن الصعوبات التكنولوجية الخاصة بتهوية الجزء الأكبر من المادة الخاضعة وفصل الكونيديات عن المادة المغذية أدى إلى انخفاض الإنتاج بما لا يتفق مع التكاليف الاقتصادية للحصول على منتج تجاري متميز، ورغم وجود تحورات كثيرة في طريقة التنفيذ على أن الطريقة تعتمد على تعقيم حبوب الأرز المنقوع لفترة قصيرة في أكياس من البلاستيك الحراري أو عبوات من ورق الألمومونيوم ذات الفوهات الواسعة ثم التبريد إلى حوالي 25م° ثم تلقح الحبوب بكميات مناسبة من جراثيم بلاستية من معلق سبق اعداده بالتربية في بيئة سائلة مع ضبط نسبة الرطوبة الكلية بإضافة الماء المقطر لتكون 35-40% وتحضين العبوات على درجات حرارة مناسبة لمراحل نمو الفطر وتجرثمه مع تجفيف الكونيديات قبل الحصاد لمدة 24 على الأقل في حجرة أو مكان محكم خالٍ من الرطوبة، ومن الأفضل جمع الكونيديات بطريقة النخل أو الإزاحة بالماء ثم الطرد المركزي، ولقد اشارا Jenkins & prior, 1993 Mendonca, 1992 إلى أفضلية هذه الطريقة في الإنتاج الكمي لكونيديات الفطرين *M. anisopliae* و *M. flavoviride* .

مازال الكثير من الباحثين والهيئات العلمية تحصل على كميات كبيرة من كونيديات الفطريات بهذه الطريقة، وقد استخدمتها الشركات الروسية في الثمانينات ولفترة طويلة في إنتاجها التجاري لفطر *B. bassiana*، وتم استخدامها منذ ذلك الزمن أيضاً وما زال يستخدم في الصين لإنتاج مبيدات حيوية تجارية لنفس الفطر تحت مسميات مختلفة بلغت حوالي الألف وذلك حين انتشر استخدام الفطر لمكافحة الكثير من الآفات الحشرية كبديل عن المبيدات الكيميائية (Academy of Science, 1977, National Hussey & Tinsley, 1981) وتم استخدام حبوب الأرز وجميع الأشكال الناتجة منه وكذلك نخالة القمح كمادة خاضعة، وفي الحالة النموذجية يستخدم المنتجون عبوات جاهزة (تم توفيرها عن طريق معامل مركزية) سعة 500 مل لكونيديات الفطر على بيئة بادئة كلقاح لـ 5 كجم من حبوب الأرز بعد تعقيمها بالمعاملة ببخار الماء، وبعد الحضانة لمدة ثلاث أيام يتم خلطها بـ 50 كجم من نخالة القمح المعاملة ببخار الماء واستمرار الحضانة لأربعة أيام أخرى وبعد تكون الجراثيم الكونيدية يتم تجفيف المخلوط وطحنه وتجهيزه في عبوات مناسبة للتسويق وكان معدل تكون الجراثيم 8-11 X

10 7 كونيديا / حجم . وفي البرازيل وكولومبيا تستخدم طريقة التربية على حبوب الأرز أو نخالة القمح في الإنتاج التجاري للفطر *M. anisopliae* بطريقة تعقيم المادة الخاضعة في أكياس من البلاستيك ولقاحها بجراثيم بلاستية بطريقة الزرع في بيئة سائلة وتتم عملية التجريم تحت ظروف موجهة وبعد تكون الجراثيم يتم التجفيف والطحن والتجهيز (Marques et al, 1981).

التربية بالزرع في بيئة سائلة:

أدى اهتمام الكثير من أوائل الباحثين بالجراثيم البلاستية *Blastospores* التي تكونها الكثير من الفطريات الخيطية في هيمولف الحشرات المصابة وعلى سطح البيئة نصف الصلبة وقدرتها العالية على إحدىاث إصابة ناجحة للكثير من يرقات حرشفية الأجنحة على محاولة إنتاجها بكميات كبيرة واستخدامها في مكافحة التطبيقية، وكان أول من أشار إلى ذلك *Samsinakova* في المؤتمر السادس لكونجرس علوم الحشرات الذي انعقد في فيينا سنة 1960 حين أشار في محاضراته القيمة إلى أن الفطر *B. bassiana* يكون جراثيم بلاستية شبيهة بتلك التي يكونها في الحشرات المصابة عند زراعته بالغمر *Submerged culture* في بيئة سائلة *Liquid medium* واستطاع في سنة 1964 أن يحصل على كميات كبيرة منها بتربية الفطر في بيئة سائلة تتكون من الماء ونشا البطاطس (5% و 2% منقوع جريش الذرة (5% و 2%) وإضافة 5% كلوريد صوديوم و 2% كلوريد كالمسيوم مع ضبط الـ PH على 5 ، ومنذ ذلك التاريخ بذلت الجهود للحصول على بيئات سائلة لتربية الفطريات بهدف إنتاجها تجارياً إلا أن ذلك لم ينجح إلا في حالات محدودة نظراً لعدم تحمل الجراثيم البلاستية لظروف التخزين لفترات طويلة وتلف جزء كبير منها بطرق الإطلاق في الحقل.

تشكيل المبيدات الحيوية وطرق استخدامها:

عند التطبيق الحقل لآبد من تحضير أو تشكيل الجراثيم الكونيدية للفطر في مستحضر مناسب للاستخدام في الحقل وأهم صور هذه المستحضرات هي المستحضرات الزيتية، حيث يتم تشكيل الفطر في زيوت ذات مواصفات معينة غالباً تختلف تبعاً لشركات المنتجة للمستحضر الحيوي الفطري وهناك مستحضرات على هيئة مساحيق قابلة للخلط مع الماء وأخرى حاملة للجراثيم لتعفير النباتات ، وكذلك توجد مستحضرات على هيئة محبيبات للبلعمة ومعاملات التربة ، والمستحضرات الزيتية هي الأكثر شيوعاً في الاستخدام ورغم تميزها بسهولة الاستعمال وطول فترة التخزين إلا أن معظم الزيوت المستخدمة في تصنيع المستحضرات ذات أثر سلبي على طرق توطين الفطر نظراً لأنها تعوق نمو الفطر وتطوره وتكوين الجراثيم على جنث الحشرات الميتة مما يتنافى مع هدف توطين الفطر ونشره في مجتمع الحشرة المستهدفة.

عند الاستخدام الحقلي على نطاق واسع لا بد من شراء مستحضر حيوي فطري ذات تشكيل يتناسب مع الهدف من الاستخدام وعندما يكون الهدف توطين سلالة محلية أو تعزيز أو تنشيط أنواع من الفطريات تتواجد في البيئة يمكن إرسال السلالة إلى الشركة المنتجة وطلب تشكيلها في المستحضر المطلوب ، أما في التجارب المعملية وشبه الحقلية والحقلية فيمكن الحصول على كميات كبيرة من كونيديات الكثير من أنواع الفطريات مثل الفطر *B. bassiana* بالتربية الغزيرة وتشكيلها على هيئة مستحضر داخل المعمل ، وغالباً يتم تحضيرها في صورة مستحضر سائل أو على هيئة مسحوق، وفي التحضيرات السائلة يجب أن تكون الجراثيم معلقاً متجانساً ذات قدرة على الثبات والالتصاق بالسطوح ، ويستخدم الماء المقطر مضافاً إليه مادة Tween 20 أو Tween 80 بنسبة وإحدى / الألف واستخدام العديد من الباحثين الكازين بنسبة 2 - 3 / الألف وكذلك بعض المركبات الكيميائية مثل Alconox و Triton بنسب 5 إلى 10 / ألف، والمستحضر المائي يجب استخدامه على الفور ويمكن تخزينه لعدة ساعات فقط على درجة حرارة 10 0 م ، وفي بعض أنواع الفطريات يمكن تجهيز الكونيديات في مستحضر مائي صالح للتخزين على درجة حرارة 4 - 8 ° م لفترات قد تصل إلى 15 يوماً باستخدام بعض المركبات البارافينية القابلة للخلط الجيد والمتجانس مع الماء مثل Leaf shield ، ويمكن استخدام الزيوت وتوجد أنواع منها تتوافق تماماً مع الفطريات ولا تؤثر عليها وهي غالية الثمن ولكنها تعمل على حفظ المستحضر لفترات طويلة وتتميز بسهولة التداول والاستعمال ويتم الحصول عليها من بعض الشركات المتخصصة ، ويلجأ بعض الباحثين إلى استخدام بعض أنواع الزيوت النباتية الشائعة ، وهذه قد تصلح لحفظ جراثيم الفطر لفترات ولكنها غير صالحة لإعداد مستحضرات قابلة للخلط مع الماء نظراً لأنه عند الخلط والتقليب تتكون قطرات دقيقة من الزيت تحبس الكونيديات على حوافها الخارجية وتعوق توزيعها المتجانس ، وفي حالة إعداد مستحضر على هيئة مسحوق يمكن استخدام الكثير من المواد بشرط جفافها الشديد مثل بكرة التلك ودقيق القمح.

يجب توحيد تركيز الجراثيم في المستحضر الذي يستخدم في التجارب شبه الحقلية والحقلية أو يتم توزيعه على المناطق لتنفيذ الإطلاق والهدف من ذلك سهولة التنفيذ وضمان ضبط التخفيف وتجنب إجراء حساب خطأ من غير المختصين ، وعند طلب مستحضر من الشركات يفضل التركيز العالي لسهولة النقل وتقليل التكلفة وغالباً يطلب تركيز 5 X 10 9 كونيديا / مل وفي حالة المسحوق يفضل تركيز 10 10 كونيديا / جم ، أما عند إعداد مستحضر في المعمل يكون التركيز أقل لضمان دقة التحضير ويفضل في المستحضرات السائلة 5 X 10 8 كونيديا / مل وفي المسحوق 10 9 كونيديا / جم ، وتتم المعايرة بتعيين عدد الكونيديات في جرام وإحدى من الجراثيم في كل مرة يتم التحضير وخلطها مع الكمية المناسبة من المادة الحاملة حجماً للمادة السائلة ووزناً للمادة الصلبة ، ويجب أن تكون الجراثيم عالية الجفاف ويتم وزنها في عبوات بلاستيك صغيرة أو متوسطة الحجم معايرة على ميزان مغلق مع تفادي الرطوبة العالية وأن تكون جميع الأدوات المستخدمة معقمة وجافة تماماً مع غلق

جميع عبوات الفطر لا تفتح إلا لفترة قصيرة ، ويتم الخلط في السوائل في دوارق معيارية سعة لتر أو نصف لتر معقمة وعلى مقلب أوتوماتيكي بإضافة الجراثيم تدريجياً أثناء تقليب متوسط السرعة بحيث يتم اختفاء الجراثيم بانتظام دون تكوين فقائيع هوائية ، وفي حالة الخلط مع الزيوت من الأفضل استخدام دوارق سعة نصف لتر والحظر الشديد في سرعة التقليل لتفادي تكوين فقائيع هوائية، ويحتاج إعداد المسحوق على جهاز تقليب خاص يمكن طلبه من بعض الشركات لضمان تماثل توزيع الجراثيم وعدم ضررها ميكانيكياً. وبعد إعداد المستحضر يجب حفظه في أوانٍ معقمة مناسبة داكنة اللون لحين الاستخدام ، ومن الأفضل مراجعة التركيز بتعيين عدد الجراثيم في عينات عشوائية تؤخذ من المستحضر قبل الاستخدام .

استخدام الفطريات في برامج مكافحة الحيوية
ودورها في تحديد ديناميكية سوسة النخيل بالحقل

إعداد: أ.د. رفعت الصفطي

خبير الفطريات - مركز المشروع بالحرانية

استخدام الفطريات في برامج مكافحة الحيوية ودورها في تحديد ديناميكية سوسة النخيل بالحقل

استخدام الأنواع والسلالات الأجنبية:

يعتبر استخدام الأعداء الحيوية الأجنبية باستيرادها واستخدامها مباشرة أو توطئتها من الطرق المعروفة في مجال مكافحة الحيوية، ويستند هذا الاستخدام على أساسين الأول هو هجرة الحشرة الآفة إلى البيئة المحلية وانتشارها وازدهارها لعدم وجود أعدائها الحيوية الأصلية وعلى ذلك يتم البحث عن هذه الأعداء وجلبها وتوطئتها أو استخدامها لمكافحة الحشرة المستهدفة ، أما الثاني فهو فقر البيئة المحلية في الأعداء لحشرة متوطنة ولذلك يتم البحث عن أعداء حيوية فاعلة ضدها في بيئات جغرافية أخرى مشابهة وجلبها وتوطئتها للحد من ضرر الحشرة المستهدفة.

نظراً لأن الفطريات الممرضة للحشرات تصيب وتقتل أعدائها الحشرية بصفة أساسية عن طريق لقائها مع جسم الحشرة بالملامسة واختراقها لجداره الخارجي فإن نجاح استخدام الفطر يتوقف كثيراً على توافقه بيولوجياً وإيكولوجياً مع الحشرة المستهدفة وعلى الظروف المناخية السائدة محلياً في وسط انتشارها ، ولذلك فإن استيراد واستخدام الأنواع والسلالات الأجنبية للفطريات الممرضة للحشرات من الأمور الصعبة قليلة النجاح التي تحتاج إلى دراسات عديدة وخبرة وإمكانيات كثيرة ، وقد ينجح استخدام المستحضرات الحيوية المستوردة لبعض النواع ذات العوائل الحشرية المتعددة في الحد من أعداد الحشرة المستهدفة بطريقة مشابهة لاستخدام المبيدات الحشرية ولذلك يطلق على هذه المستحضرات المبيدات الميكروبية.

تختلف المستحضرات الحيوية الفطرية عن المبيدات الحشرية ومثلتها من المستحضرات الحيوية الأخرى في أنها سريعة التعرض لانخفاض فعاليتها عند التأخر في تخزينها واستعمالها وقد تتعرض لتلف كلي ، وفي الدول النامية حيث لا يوجد نظام جيد لتسويق وتجارة المبيدات بما فيها المبيدات الميكروبية التي تعتبر حديثة التداول ، وتزداد الصعوبات خلال الفترة من وصول المبيد الفطري للمطارات إلى زمن استخدامه في الحقل، ولذلك فمعظم المبيدات الميكروبية الفطرية المستوردة التي تباع في الأسواق ذات فعالية منخفضة ويجب الحذر عند استخدامها ، وفي برامج مكافحة الحيوية المنفذة عن طريق الهيئات العلمية ومراكز البحوث يمكن الاتصال بالشركة المنتجة واختيار السلالة المرغوبة ومواصفات المستحضر والاتفاق على مواعيد الشحن وتاريخ وصول الشحنات ، وعند وصول المبيد الفطري إلى ميناء الوصول يجب إنهاء الإجراءات الإدارية بسرعة ونقل الشحنة إلى حيث تخزينها تحت درجات حرارة مناسبة تبعاً لتعليمات الشركة المنتجة ، ومعظم المستحضرات الحيوية الفطرية يمكن تخزينها لفترات قصيرة على درجة 10°م ولفترات طويلة على درجة أقل من -5°م .

معظم المبيدات الميكروبية الفطرية غالية الثمن حيث تبلغ تكلفة إيجاد وتطوير المبيد الحيوي الفطري وتسجيله مبالغ كبيرة ويعتبر عامل التكلفة إحدى العوامل المحددة لاستخدام هذه المستحضرات ، وفي سنة 2002 تراوح سعر اللتر الواحد من المستحضر الزيتي للفطر *B. bassiana* المستورد بين 20-25 دولاراً أمريكياً، كما تختلف المستحضرات الفطرية تبعاً للسلاسل المستخدمة ومدى فعاليتها عند استخدام التركيز الموصى به من قبل الشركة المنتجة، وكذلك تختلف في المواد الحاملة والإضافة التي قد تكون ذات تأثير على فعالية الجراثيم وعمل الفطر في الحقل مما ينعكس على النتائج النهائية للاستخدام ، وفي كل الأحوال يجب إجراء مجموعة من الاختبارات بمجرد وصول المستحضرات الفطرية المستوردة أهمها:

1. اختبار حيوية الجراثيم وذلك بقياس نسبة إنباتها بعد 24 ساعة على إحدى البيئات الصناعية ويجب ألا تقل نسبة الإنبات عن 95% قبل الاستخدام الحقلية.
2. تحديد قدرة المستحضر على الإصابة والقتل *Virulence* على الطور أو الأطوار الحساسة من الحشرة أو الحشرات المستهدفة وذلك بعمل الاختبارات الحيوية إما لتحديد الجرعة التي تسبب موت 50% أو تحديد الجرعة اللازمة لقتل 70 أو 90% من الحشرات المستهدفة.
3. بعض الشركات تستخدم زيوت أو مواد حاملة ذات سمية للحشرة لزيادة فعالية المستحضر ، ورغم التأثير المميت الناتج عن استخدامها فهي تضر ضرراً شديداً بفاعلية الفطر حيث لا تسمح لفطر بعدوى الحشرة وقتلها وقضاء دورة حياته عليها وإنتاج جيل آخر من الجراثيم ذي فعالية لقمع أعداد الحشرات في أجيالها التالية ، ولذلك فمن الأفضل اختبار سمية الزيت الحامل للجراثيم وذلك بعاملة الشجرات المستهدفة أو حشرة اختبار مثل اليرقات كاملة النمو لدودة الشمع الكبيرة بالزيت الحامل للجراثيم بعد ترك المستحضر داخل العبوة لمدة 24 ساعة ساكناً ثم تؤخذ عينة من الزيت أعلى العبوة ، ويتم تغطية الحشرات لمدة ثلاث ثوان ثم تراقب تحت ظروف المعمل أو الحقل لاختبار نسب الموت، وفي المساحيق الحاملة يمكن استخدام عينة من المستحضر الأصلي بالتركيز الموصى به ومعاملة الحشرات به بتركها للزحف عليه أو بتلويث جسمها به ومراقبتها حتى الموت ثم تعريض جثث الحشرات الميتة لاختبار نمو الفطر وفي حالة المستحضر الجيد يجب أن ينمو الفطر على عدد كبير من جثث الحشرات خلال فترة قصيرة بعد الموت.

استخدام الأنواع والسلاسل المحلية :

يعتبر استخدام أنواع الفطريات المحلية وسلاسلها المتواجدة في وسط انتشار الحشرة المستهدفة أحسن الطرق وأحداها لضمان مستوى مرتفع للمكافحة وفعالية طويلة المدى للفطر لتعويض التكلفة العالية لاستخدام ، ومن أهم مميزات الفطريات انتشار أنواعها في البيئات الجغرافية المختلفة في سلاسل مرتبطة بعائلها الحشري ارتباطاً بيولوجياً وأيكولوجياً يكاد يضمن فعاليتها في مجال المكافحة

التطبيقية إذا بذلنا الجهد الكافي لعزلها ودراستها وتطويرها واستخدامها بطرق صحيحة ، وغالباً ما يمكن الفرق في جدوى استخدام المستحضرات الحيوية الفطرية في الدول المتقدمة (المصدرة) وتلك المتخلفة (المستوردة) في أن المبيد الحيوي الفطري المنتج في كل دولة أو حتى منطقة منها يحتوي على سلالة فطرية محلية خاصة بهذه الدولة أو المنطقة مما يجعل المبيد عالي الفعالية حيث ينتج ومنخفض الفعالية حيث يستورد ويستخدم ، ويمكن للقائمين على تصميم وتنفيذ استخدام الفطريات في برامج مكافحة إعطاء اهتمام أكثر لعزل السلالات المحلية المتواجدة في البيئة وعلى الأخص تلك الخاصة بأنواع الفطريات عالمية الانتشار مثل فطر *B. bassiana* والفطر *M. anisopliae*. وعمل الاختبارات الكافية للتأكد من فعاليتها على الحشرة أو الحشرات المستهدفة ، وبعد ذلك يمكن أن ترسل للشركات المنتجة لتحضير المبيد الحيوي منها بالمواصفات المطلوبة مما يقلل الجهد والتكاليف وضمان حد أدنى من النجاح. ومن مميزات الأنواع والسلالات المحلية سهولة التعامل معها واستخدامها في مكافحة الحشرات بطرق سهلة ورخيصة في المساحات الصغيرة من قبل المزارعين بمساعدة قطاع من رجال الإرشاد الزراعي بعد تدريبهم .

مكافحة سوسة النخيل الحمراء بالفطر *Beauveria bassiana* :

تم استخدام الفطر *B. bassiana* كإحدى الطرق الرئيسية لمكافحة سوسة النخيل الحمراء ضمن طرق فعالة وغير تقليدية من خلال إحدى المشاريع الدولية العملاقة التي تبنته ونفذته المنظمة العربية للتنمية الزراعية التابعة لجامعة الدول العربية في دول مجلس التعاون الخليجي بتمويل رئيسي من البنك الإسلامي وبعض الهيئات الدولية في الفترة من يوليو 1997 حتى يوليو 2002 وهدف المشروع إلى إيجاد وتطوير طرق بيولوجية وبيوتكنولوجية فعالة لمكافحة سوسة النخيل الحمراء والسيطرة عليها والتي تعتبر الآن وفي المستقبل القريب الآفة الحشرية الرئيسية على النخيل في أكثر من عشر دول عربية ، ومضافاً إلى هدف حماية إحدى المحاصيل الزراعية الهامة فقد حمل المشروع في طياته تعميق الفكر والإبداع العلمي العربي وتقوية قاعدة البحوث العلمية التطبيقية المتقدمة وتعليم وتدريب الكوادر المتخصصة في مجال نحن في أشد الحاجة إليه . لقد توصل المشروع إلى نتائج قيمة في المجال الأكاديمي والتطبيقي تؤكد إمكانية مكافحة هذه الآفة والسيطرة عليها بعدة طرق بيولوجية وبتكنولوجية فعالة ومتكاملة في مناطق انتشارها. أعرض في هذا المقام بعض النشاط البحثي الأكاديمي والتطبيقي فيما يتصل باستخدام الفطر كمثال لنجاح استخدامه ضد إحدى الحشرات شديدة الخطورة التي لم يثبت قبل هذا المشروع فعالية أي طرق لمكافحتها مستنداً إلى التقارير العلمية السنوية للمشروع.

في دول مجلس التعاون الخليجي تعتبر أشجار النخيل ومزارعه من المعالم الزراعية الرئيسية فهي تغطي الجزء الأكبر من المساحة الخضراء المنتجة وتلعب دوراً رئيسياً في وقف التصحر، ويمثل محصول التمر غذاء مفضل لدي المواطنين يرتبط بالتقاليد والأعراف العريقة للمجتمع ، كما يمثل غذاء

رئيسي لملايين العاملين الوافدين ، حديثاً أقيمت صناعات كبيرة في معظم هذه الدول لتجهيز التمور الفاخرة وتصديرها .

سوسة النخيل الحمراء *Rhynchophorus ferrugineus* من عائلة Curculionidae التابعة لرتبة غمدية الأجنحة Coleoptera آفة حشرية خطيرة معروفة تصيب أنواع متعددة من أشجار النخيل في العديد من الدول وتنتشر في جنوب شرق آسيا ودول مجلس التعاون الخليجي وإيران والعراق وبعض دول الشرق الوسط وأسبانيا وبعض دول أمريكا الوسطى والجنوبية وأفريقيا ، ويعتقد أن موطنها الأصلي الهند أو باكستان وانتقلت إلى دولة الإمارات العربية المتحدة في 1985 وإلى المملكة العربية السعودية في 1987 وإلى مصر في 1993 ثم إلى الدول الأخرى ، وفي دول مجلس التعاون الخليجي بذلت وزارات الزراعة والأجهزة المختصة جهوداً كبيرة للسيطرة على الحشرة ولكنها انتشرت بسرعة وسببت خسائر فادحة في المحصول وأدت إلى تدمير الكثير من الأشجار والمزارع .

لقد دلت الدراسات والتجارب الأساسية التي تمت في المشروع والمعلومات التي تم جمعها من المراجع العلمية بالإضافة على البيانات والمشاهدات الحقلية إلى الحقائق التالية :

الحشرة المستهدفة: سوسة كبيرة الحجم ذات قابلية عالية على التناسل تصيب نخيل التمر ونقتله وقد تصبح الإصابة في حالة وبائية على الفسائل والأشجار حديثة السن في بعض المناطق، الطور الضار هو اليرقة في جميع أعمارها وهي مستترة تصنع أنفاقاً ودهاليز وتجاويف متشعبة داخل جرع النخلة ، ونظراً لصعوبة اكتشاف الإصابة مبكراً تستمر اليرقات الشرهة في التغذية فتفرغ الجذع من محتوياته وتسلبه صلابته ويمتلئ قلب النخلة بخليط كريه الرائحة من الأنسجة المتحللة ومخلفات الحشرة فتموت النخلة وينكسر جزعها مما يتطلب اقتلاع الأشجار المصابة الميتة وحرقتها الأمر الذي يتكلف الكثير ويعمل على نشر الإصابة نتيجة طيران الحشرات الكاملة من داخل النخلة بفعل الحرارة وهروبها وانتشارها على أشجار أخرى سليمة ، ولقد فشلت طرق مكافحة التقليدية بما فيها استخدام المبيدات الحشرية في مكافحة هذه الحشرة والسيطرة على أعدادها والحد من انتشارها، وعلى ذلك يجب ومواصل البحث وتطوير الطرق لوقف خطرها والسيطرة عليها.

الحشرة الكاملة سوسة يتراوح طولها بين 2.5 – 3.5 سم لونها بني محمر ويصير لونها أدكن بتقدمها في السن ويكون الرأس مع الخرطوم حوالي ثلث طول الجسم وتتميز الذكور عن الإناث بوجود شعيرات قصيرة على طول النصف الأمامي الظهرى من الخرطوم ، تميل الحشرات إلى التواجد في تجمعات نتيجة لإفرازها لفيرومون التجمع ، كما تميل إلى التواجد بأعداد كبيرة في الأماكن الرطوبة وعلى الأخص في أباط السعف ومنطقة اتصال النخلة بالفسائل وفي التربة حول جذع النخلة وتتجول كثيراً في هذه المنطقة وتدفن نفسها في التربة قريباً من الجذور على أعماق قليلة، وهي قوية الطيران تطير فرادى لمسافات طويلة قد تصل إلى كيلو متر لتصيب أشجاراً جديدة ولذلك فإن توزيعها في

مناطق انتشارها غير متجانس. تضع الأنثى البيض غالباً فردياً على الأنسجة الغضة المعرضة والشقوق التي تحدث بفعل عوامل ميكانيكية والجروح الناتجة عن عمليات التقليم والتكريب غير الجيدة وتتجذب إلى هذه الأماكن بفعل الكيرومون ينبعث منها. تفقس البيضة إلى يرقة بعد فترة تختلف تبعاً لدرجات الحرارة والرطوبة ، لليرقات 12 عمراً تتقضي جميعاً داخل النخلة، وعندما يكتمل نموها تتحول إلى ما قبل عذراء ثم عذراء داخل شرنقة تصنعها من قطع ألياف النخيل المخلوطة بإفراز اللعاب ثم تتحول إلى حشرة كاملة تتقب الشرنقة وتخرج لتعيد دورة الحياة. وتستطيع الحشرات قضاء أكثر من جيل داخل النخلة وعند تشريح نخلة شديدة الإصابة توجد جميع أطوار الحشرة بأعداد كبيرة داخلها . الحشرة نشطة طوال العام وتعطي أعلى كثافة لها في فوران وإحدى خلال شهر أبريل في دولة الإمارات العربية المتحدة ويختلف حجم عشيرتها من منطقة إلى أخرى، وتبعاً لسلوك الحشرة تم تحديد الطور المستهدف لمكافحته وهو الحشرة الكاملة.

الفطر المستخدم : بوفيريا باسيانا *Beauveria bassiana* إحدى الفطريات عالمية الانتشار يعمل على مدى واسع من درجات الحرارة والرطوبة وهو آمن للإنسان والحيوان والنبات وليس له أي تأثير سلبي جانبي على عناصر البيئة، وعندما تم حصر الأعداء الحيوية للحشرة بدولة الإمارات العربية المتحدة والمملكة العربية السعودية تم العثور على عزلات متعددة لهذا الفطر تصيب وتقتل الحشرات الكاملة لسوسة النخيل الحمراء وبعض أطوارها الأخرى تحت الظروف الطبيعية في مزارع النخيل.

النظام البيئي لوسط انتشار الحشرة: يتسم النظام البيئي الزراعي Agricultural ecosystem لوسط انتشار الحشرة المستهدفة في دولة الإمارات العربية المتحدة (كمثال) بالاستقرار والتوازن ، حيث أن سوسة النخيل الحمراء وحيدة العائل Monophagous تنتشر على نوع وإحدى من النباتات المعمرة طويلاً هو نخيل التمر الذي يتواجد بأعداد كبيرة في مزارع غالباً ذات مساحات واسعة ومتفرقة، مثل هذا النظام البيئي يتميز بانخفاض التشعب بأنواع العوامل الحيوية بما فيها الطفيليات المفترسات وكان هذا إحدى الأسباب الرئيسية لإنتشار الحشرة السريع، كما يتميز بأن قوى تغيير الاستقرار ضعيفة وقليلة فلا توجد دورة زراعية وليس هناك فرص لإضافة أنواع جديدة من النباتات وجميع العمليات الزراعية متتالية روتينية ، أما عناصر النظام الفيزيائية كدرجة الحرارة والرطوبة النسبية والضوء والماء والمطر والتربة وغيرها فهي الغطاء الطبيعي للتوازن والاستقرار وتستجيب لتأثيراتها العوامل الحية المتواجدة بالنشاط المتزايد أو المنخفض أو السكون تبعاً لنتائج التفاعل الكلي في المكان والزمان . إن العناصر الحية المشاركة في هذا النظام البيئي بما فيها الحشرة المستهدفة والفطر تعمل في خلايا بيئية تتوفر فيها جميع المقومات اللازمة للحياة والتكاثر ولذلك فإن الفطر صالح للاستخدام كعنصر من عناصر المكافحة ويحتاج لإيجاد وتطوير طرق مناسبة لتمكينه من العمل والانتشار .

يتأثر نشاط وعمل الفطريات كثيراً بدرجة الحرارة والرطوبة ويختلف مدى التأثير تبعاً لنوع الفطر (راجع الباب الرابع) ويعمل الفطر *B. bassiana* في مدى واسع من درجات الحرارة والرطوبة، ولكن يظل نشاطه وفعالته العالية مرتبطان بالطقس السائد في منطقة انتشار الحشرة، وفي المنطقة الزراعية الشمالية بدولة الإمارات حيث أجريت التجارب والتطبيق الحقلية كنت أتعجب كثيراً لاحتياجي لإزالة بخار الماء الكثيف على نظرتي عندما أتجول مساءً أو في الصباح الباكر في معظم أيام السنة، وتدل بيانات محطة الأرصاد الجوية لوزارة الزراعة والثروة المكية بالمنطقة الشمالية توفر رطوبة نسبية قدرها 100% يومياً لفترة من الوقت على مدار السنة تتخفف قليلاً في بعض الأيام كما يتميز الطقس بالمنطقة الزراعية الشرقية أيضاً بارتفاع الرطوبة النسبية طوال العام ، أما درجات الحرارة السائدة فهي شديدة الارتفاع في يونيو ويوليو وأغسطس لعدة ساعات من اليوم في المناطق المكشوفة لكنها لا تصل أبداً في مخابئ الفطر في مزارع النخيل إلى درجة تحول دون بقاء الفطر حياً أما في باقي شهور السنة فتسود درجات حرارة مناسبة لعمل الفطر ونشاطه (شكل...).

في دولة الإمارات العربية المتحدة حيث يوجد مركز دراسات الفطر أجريت مجموعة رئيسية من الدراسات والتجارب والتطبيقات الحقلية أهمها:

عزل الفطر وتعريف السلالة

عند حصر الأعداء الحيوية في منطقة انتشار الحشرة تم العثور على ثلاث عزلات للفطر *B. bassiana* الأولى على إحدى يرقات دودة الشمع الكبيرة التي وضعت في التربة كمصايد للأعداء الحيوية الميكروبية والثانية على عذراء لسوسة النخيل داخل شرنقة والثالثة على حشرة كاملة لسوسة النخيل، وعزلة وإحدى للفطر *Aspergillus flavus* على حشرة كاملة لسوسة النخيل ، أجريت مجموعة من الاختبارات الحيوية على الفطر *A. flavus* وتم استبعاده نظراً لعدم الأمان الكامل لاستخدامه وانخفاض كفاءته في إصابة وقتل الحشرات الكاملة لسوسة النخيل الحمراء رغم أنه يسبب موتاً طبيعياً يتراوح بين 5 و 3% من مجموع الحشرات الكاملة التي تم فحصها شهرياً خلال عام 2000 ، وخضعت العزلات الثلاث للفطر *B. bassiana* لمجموعة من المعاملات والاختبارات حيث تم تمرير كل منها لجيل وإحدى في حشرات كاملة لسوسة النخيل ثم في بيئة سابوراد ديكستروز آجار *Sabouraud dextroseagar* لجيل وإحدى ثم استخدمت الكونيديات الناتجة في الاختبارات الحيوية للمقارنة بين العزلات على ثلاثة مستويات:

1. حيوية الجراثيم : بقياس نسب إنبات الكونيديات ميكروسكوبياً بعد 24 ساعة في أربع مكررات كل مكررة من 100 جرثومة تختار عشوائياً على فيلم من البيئة على شريحة ميكروسكوبية.

القدرة على الإصابة والقتل : بمعاملة حشرات كاملة سليمة متجانسة في العمر والحجم بفطر كل عزلة وذلك بستة تركيزات متتالية لمعلق مائي للكونيديات يحتوي على 1% Tween 80

بتغطيس الحشرات فرادى لمدة خمس ثوانٍ في 20 مل من المعلق بمعدل 25 حشرة لكل تركيز بالإضافة إلى 25 حشرة أخرى للمقارنة عوملت بمحلول مائي يحتوي على التويين، أثناء ذلك يتم فحص الحشرات يومياً وفصل الأفراد الميتة وتسجيلها وتزويد الحشرات بالغذاء وتدوين علامات وأعراض الإصابة والمشاهدات والملاحظات على سلوك الحشرات المريضة وكل المعلومات التي تفيد في التعامل مع الفطر والحشرة.

2- القدرة على النمو والتجثم على جثث الحشرات: تم رصد ووصف مراحل نمو وتطور الفطر على 108 من جثث الحشرات الكاملة سبق إصابتها بمعلق للفطر يحتوي على 5×10^7 كونيديا/مل بنشر الجثث في مجموعات على ورق ترشيح مشبع بالماء على صوانٍ مغطاة حفظت على درجة حرارة الحجر مع المحافظة على درجة رطوبة عالية داخل الصواني، وتم تقدير متوسط عدد الكونيديات الناتجة على 10 جثث أخذت عشوائياً، وتم فصل ما تحمله من جراثيم في 50 مل من الماء المحتوي على 0.1% تويين.

بمقارنة النتائج المتحصل عليها للعزلات الثلاث تم إختيار العزلة الثانية وتم تحسينها وتعميق علاقتها البيولوجية بالطور المستهدف من خلال التمرير والإنتخاب في حشرات كاملة سليمة وقوية لثلاث أجيال متتالية تحت ظروف الحقل داخل أقفاص صغيرة خلال سبتمبر وأكتوبر ونوفمبر، وأرسلت عينات منها على حشرات وعلى بيئة صناعية للتعريف والتسجيل إلى الهيئات المختصة حيث سجلت كسلالة محلية للفطر *B. bassiana* تحت مسمى السلالة الإماراتية (2) "UAE-B2" وتم إستخدامها مع المحافظة على صفاتها الحيوية في جميع التجارب والتطبيقات الحقلية.

قدرة الفطر على إصابة وقتل اليرقات: ليرقات سوسة النخيل الحمراء 12 عمراً تختلف كثيراً في الحجم والحيوية وتحتاج يرقات العمرين الأول والثاني إلى عناية شديدة تحت ظروف المعمل ولذلك قسمت اليرقات إلى ثلاث مجموعات: (مجموعة A ليرقات العمر 3 و4 و5) و(مجموعة B ليرقات العمر 6 و7 و8) و(مجموعة C ليرقات العمر 9 و10 و11 و12) وعوملت يرقات كل مجموعة بتركيزات متتالية من كونيديات الفطر بالتغطيس فرادى في 20 مل لمدة ثلاث ثوانٍ بمعدل 25 يرقة لكل تركيز واستخدمت معاملتان للمقارنة أحدهما لمجموعات من يرقات سوسة النخيل التصحيح نسب الموت والأخرى لمجموعات من اليرقات كاملة النمو لدودة الشمع الكبيرة لمقارنة درجة حساسية اليرقات للإصابة.

المعاملة بالرش:

لأن المعاملة بالرش في التطبيق الحقلية في المساحات الواسعة تحتاج إلى كميات كبيرة من مادة اللقاح والتأكد من فعالية المستحضر وحساب التكلفة الإقتصادية فقد تم الإتصال بمجموعة من الشركات للحصول على عروض تشمل على أجود المواصفات للمستحضر وأسعارها، وأرسلت كونيديات السلالة

إلى أحدهما لتصنيع كمية محدودة من مستحضر زيتي لاستخدامه في تجارب الرش وحساب التكلفة الاقتصادية. ونظراً لأن شجرة النخيل الكبيرة تحتاج إلى 10-15 لتر من محلول الرش لتغطيتها كلها مما يجعل رش الأشجار بتركيز مناسب من جراثيم الفطر غير اقتصادي رغم فعاليته فقد قام الفريق المختص بالدراسات البيولوجية والايكولوجية بعدة تجارب لتحديد التوزيع الرأسي لمواقع إصابة الحشرات الكاملة لسوسة النخيل الحمراء على الشجرة وأسفرت النتائج عن أن 97% من الإصابات تتواجد على جزع النخلة بارتفاع لا يزيد على متر بما فيها المنطقة المقابلة لسطح التربة وأسفلها، مما يمكن معه توجيه الرش لتغطية هذه المناطق واستخدام كمية قليلة من المستحضر الفطري تقع في النطاق الاقتصادي للمعاملة، ولقد أجريت عدة تجارب أولية تحت ظروف شبه حقلية لتصميم تجربة رئيسية لتحديد أقل جرعة تعطي نسب موت مرضية، وأجريت التجربة الرئيسية في النصف الثاني من شهر سبتمبر وتم تكرارها مرة أخرى في شهر نوفمبر وذلك في إحدى المزارع على أشجار عمر 3-5 سنوات خالية تماماً من الإصابة تحت أقفاص سلكية وتم إطلاق 15 حشرة كاملة على كل شجرة وبعد 24 ساعة تمت المعاملة برشاشة ظهرية بمعدل 2 لتر لكل شجرة من مستحضر زيتي بعد حساب التركيزات المناسبة وهي كمية كافية لتغطية الشجرة بأكملها. تم إختيار ثلاثة تركيبات أستخدم لكل تركيز أربع شجرات واعتبرت الشجرة الواحدة مكررة واستعملت أربع شجرات للمقارنة لكل تركيز تم معاملتها بنفس المستحضر الخالي من الكونيديات وأدت المعاملة بتركيز $2.5 \times 10 \times 8$ كونيديا/ مل إلى قتل 80.7% وبتركيز $5 \times 10 \times 8$ كونيديا/ مل إلى قتل 87.1% دون فروق معنوية. أجريت تجربة أخرى في إحدى المزارع في أوائل شهر أبريل عند بداية ارتفاع الكثافة العددية للحشرة الكاملة تمت فيها معاملة الأشجار المصابة فقط بمعدل 2 لتر/ شجرة بالرش الموجه على جزع الشجرة بارتفاع متر وحوله بقطر متر مع تغطية كل الفسائل باستخدام موتور رش على عربة متحركة، وأدت المعاملة إلى انخفاض حجم عشيرة الحشرة خلال 15 يوماً بعد المعاملة عنه قبل المعاملة بمقدار 36%، وفي تجربة حقلية لمعرفة فترة بقاء جراثيم الفطر حية بعد المعاملة تم رش أشجار عمر 3-5 سنوات بمعدل 2 لتر/ شجرة، وبعد 24 ساعة تم إطلاق مجموعات من الحشرات ذات علامة مميزة لكل إطلاق ويفصل بين كل إطلاق والتالي له ثلاثة أيام، وتم تقدير نسب موت الحشرات لكل إطلاق مقارنة بأشجار أخرى عوملت بنفس الطريقة وبمستحضر خالٍ من كونيديات الفطر، ودلت النتائج على فعالية الفطر بنسب قتل معنوية حتى اليوم الثاني عشر بعد المعاملة.

توطين الفطر وتعزيزه بإطلاق ذكور ملوثة:

تعتبر طريقة إطلاق الذكور الملوثة بجراثيم الفطر Releasing of contaminated males من أهم الطرق الحديثة والرخيصة والفعالة لتوطين الفطر وتعزيزه في جمهور سوسة النخيل الحمراء وتتاسب هذه الطريقة إطلاق الفطر ونشره في الحقل ضد الحشرة للأسباب التالية:

1. ميل الحشرات الكاملة بقوة إلى التجمع والإختلاط والإحتكاك.
2. ميل الحشرة إلى التواجد في الأماكن الرطبة مثل آباط الأوراق وفي الليف ومناطق التحام الفسائل بالنخلة وفي التربة ملاصقة لجزع الشجرة وحوله.
3. إفراز الحشرات لفيرومون التجمع وتأثرها الشديد بكيرومون يصدر من شجرة النخيل أمكن تحضيره بطريقة سهلة ورخيصة في مراكز بحوث المشروع.
4. كبر حجم الحشرة مما يمكن معه تحميل الذكر بكمية كبيرة من كونيديات الفطر.
5. إستخدام سلالة محلية متأقلمة مع البيئة.
6. سهولة فصل الذكور عن الإناث.

ولقد دلت التجارب التي أجريت على هذه الطريقة على ما يلي:

عدد الكونيديات التي يحملها الذكر: بتغطيس الذكور بحد أقصى 50 ذكراً فرادى لفترة 15-30 ثانية في 50 مل من مستحضر تركيزه 10 9 كونيديا/مل وهي كمية تحتوي 30 بليون جرثومة كونيديية يتم تحميل الذكر بكونيديات يتراوح عددها بين 50 إلى 83 مليوناً، مع بقاء الذكور حية لفترة تتراوح بين 3 إلى 9 أيام بمتوسط قدره 6 أيام.

نسب الإناث تحت الظروف شبه الحقلية: بإطلاق ذكور ملوثة على إناث موجودة في أجزاء من مخلفات النخيل وضعت على تربة في أقفاص سلكية حفظت خارج المعمل وكذلك على إناث تصيب أشجار نخيل عمر 3-5 سنوات تحت أقفاص سلكية في إحدى المزارع، تم تلويث الذكور وإطلاقها بمعدل 2 ذكر لكل قفص يحتوي على 10 إناث. كانت نسب الموت المعدلة بنتائج المقارنة (Control) 55.1 و 67.3% للإناث في المعاملة الأولى والثانية على التوالي.

التأثير على نسل الإناث: أجريت تجربة تحت ظروف الحجر بإطلاق ذكور ملوثة بكونيديات الفطر على إناث سليمة وتم عزل كل أنثى في علبة تربية منفردة مقارنة بإناث سليمة وتم تتبع عدد البيض لكل أنثى حتى موت الإناث المعاملة وحساب فترة الحضانة ونسبة الفقس ونمو الفطر على البيض الذي لم يفقس وتمت تربية اليرقات فرادى في أطباق بتري ورصد نسب موتها ونمو الفطر على اليرقات الميتة حتى العمر الثالث، وبينت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين حشرات المعاملة والمقارنة في عدد البيض/ أنثى أو في فترة حضانة البيض بينما بينت فروق معنوية في نسبة الفقس وتأثيراً للفطر في قتل عدد من البيض واليرقات.

التطبيق الحقلية:

1. تم إستغلال ذكور الحشرات التي تصاد من المزارع بالمصايد الفرمونية التي تم نشرها كإحدى الوسائل الفعالة لمكافحة الحشرة في برنامج المشروع وذلك بجلب محصول المصايد إلى المعمل

وفصل الذكور عن الإناث وبعد تدوين البيانات يتم إعدام الإناث والإحتفاظ بالذكور في حجرة خاصة بها داخل أواني تربية بها قطع من أخشاب النخيل الغضة ومراقبتها لفترة لا تقل عن 10 أيام حيث يتم إستبعاد الذكور الضعيفة والمريضة والمضرورة وعزل الذكور النشطة القوية لاستخدامها في الإطلاق.

2. يتم تلوين الذكور بتغطيسها في مجموعات كل من 5 ذكور في 50 مل من مستحضر فطري تركيز 10×1 9 كونيديا/مل في كأس سعة 100 مل، وبعد المعاملة توضع الذكور في حاويات بلاستيك ذات أغطية تقوب للتهوية بها قطع طازجة من خشب النخيل للتغذية وتنقل في صناديق مبردة فوراً إلى مناطق الإطلاق.

3. تطلق الذكور في مزارع نخيل مركزية ودوريا بوضع قطع الخشب بما عليها من الذكور في أباط الأوراق على الجزء السفلي من جزع الأشجار.

بإطلاق أسبوعي لذكور ملوثة وذات علامات في أربعة مزارع مركزية بالمنطقة الزراعية الشمالية في فترة عام بدأت من فبراير 2001 وتقييم فعالية الإطلاق بأخذ عينات أسبوعية من مزارع الإطلاق وبعض المزارع الأخرى بواسطة مصائد فرمونية كيرمونية وتعريض الحشرات الميتة لإختبار تواجد الفطر Mycosis test مع إستبعاد الذكور المعلمة التي قد تتواجد وحساب نسبة الموت على الفطر، دلت النتائج على انتشار الفطر تدريجياً في جمهور الحشرة داخل المزارع في مناطق الإطلاق وبعد فترة في مناطق بعيدة عنها.

إرشادات وتطبيقات مخبرية

التطهير والتعقيم

إن نظافة المختبر من الأمور الهامة والأساسية لتنفيذ العمل، ويجب الأخذ في الاعتبار أن المختبر يستقبل العديد من العينات الحقلية وهي ملوثة بالبكتيريا والفطريات الرمية وأنواع أخرى من الكائنات الحية الدقيقة هذه الكائنات يمكنها الانتشار بسهولة على العينات موضع العمل وعلى البيئات المعدة مما يؤدي إلى إفسادها أو تلوثها وقد يؤدي التلوث بها إلى نتائج مضللة أو إصابة العاملين بأمراض أو تدمير السلالات الفطرية المرابة ، ولذلك فإن المحافظة على نظافة المختبر ومحتوياته إحدى أساسيات نجاح العمل وضمان استمراره ، ويجب التخلص باستمرار من العينات الفاسدة والحشرات الميتة والبيئات الملوثة في حاويات بها مادة ذات تركيز عالي ولها أغطية محكمة وإجراء عمليات تطهير دورية وتعقيم وقتية تبعاً لما تتطلبه ظروف العمل .

علاوة على إجراء عمليات النظافة المنتظمة للمختبر تتم عمليات تطهير وتعقيم إما دورية أو عند الحاجة، ويقصد بعمليات التطهير Disinfection إزالة وقتل الكائنات الحية الدقيقة الغريبة التي تكون

انتشرت أو تراكمت على الأرضيات ومناضد العمل والأجهزة ودواليب التخزين والحوائط وغيرها مما قد يؤدي إلى انتشار هذه الكائنات وحدوث تلوث داخل المختبر، والتطهير يفضي على الكائنات الحية الدقيقة سطحياً فقط وليس له تأثير على تلك المتواجدة بداخل الشيء، أما التعقيم Sterilization فيهدف إلى قتل الكائنات الحية الدقيقة وغيرها المتواجدة أصلاً على السطح الخارجي أو داخل الشيء موضع التعقيم، ولذلك يجب إجرائها بدقة وتتم على البيئات والأواني الزجاجية التي تستخدم في إعدادها، كذلك على الأدوات والمعدات التي تستعمل لعمليات العزل والزرع وتلقيح البيئات وتربية السلالات ونشريح العينات الحشرية والاختبارات الحيوية.

المواد المستخدمة في التطهير :

تسمى المواد الكيميائية المستخدمة في التطهير Disinfectants و Antiseptic وتطلق لوصف المواد الكيميائية التي تعمل على منع وتثبيط نمو وتكاثر الكائنات الدقيقة وهي تعمل بفعل عدة وسائل منها الأكسدة أو تثبيط وفساد الإنزيمات أو تغيير نمط البروتينات أو تغيير سلبى في نشاط الأغشية الخلوية، وتوجد منها مستحضرات تجارية جاهزة ويمكن طلبها من الشركات المتخصصة، ويؤخذ في الاعتبار أن هذه المواد سامة أو ضارة للإنسان وتحتاج إلى تدريب في استخدامها، وفيما يلي المطهرات التي يمكن استخدامها :

كحول الايثانول Ethyl alcohol :

ويسمى إيثانول Ethanol ويستخدم بتركيز 50-70% لتطهير الأيدي وأجزاء الجسم وأسطح المناضد التي تستخدم في العزل وصب البيئات وتلقيحها Inoculation ويرجع تأثيره على قدرته على تجفيف Dehydration الخلايا وتخثير Coagulation البروتين الخلوي مما يؤدي إلى قتل الخلايا البكتيرية والفطرية التي تتعرض لها ولكنه لا يؤثر على الجراثيم، ويتم تحضيره بوضع 50 أو 70 مليمتراً من كحول تركيز 96% في مخبر مدرج سعة 100مل وتكملة الكمية بالماء المقطر إلى 96 مل وفي حالة مضاعفة الكمية المطلوب تحضيرها تتم مضاعفة الكميات بنفس النسب، ويلاحظ أن كحول الايثانول سريع التطاير فيجب إحكام إغلاق أو أواني الحفظ وإلا إنخفض التركيز وأصبح غير مؤثر وأنه سريع وشديد الاشتعال ويمكن أن يؤدي إلى حريق إذا لم يستخدم بحذر شديد أثناء اشتعال مصباح بنزين عند إجراء عمليات تلقيح البيئات.

هيبوكلوريت الصوديوم Sodium Hypochlorite :

أكثر وأرخص المواد المؤكسدة المستخدمة في التطهير، ويستعمل بتركيز 1-5% تبعاً للهدف من التطهير ويستخدم في تطهير موائد وأماكن العمل ومواقع فحص العينات، كما يستخدم لتطهير عينات الحشرات الحية وجثث الحشرات الميتة عن إصابة والتي تجمع من الحقل والحشرات الميتة التي يتم

تعريضها لإختبار تواجد الفطر Mycosis test، ويرجع تأثيره إلى تحطيم الإنزيمات في خلايا الكائنات الحية الدقيقة ومن مميزاته أنه غير ضار بالإنسان في التركيز المستخدم وقابل للتخزين لفترة طويلة ومن عيوبه تأثيره الضار على المناضد الخشبية لتأكلها على المدى البعيد ويباع على هيئة سائل تجاري تركيز 5.20% .

الديتول Dettol :

أكثر المواد المستخدمة في تطهير الأرضيات وموائد وأماكن العمل ويضاف إلى مياه غسل الأرضيات ويستعمل في تطهير علب وأواني تربية وحفظ الحشرات والأدوات التي تستخدم في الحقل.

كلوريد الزئبقيك Mercuric chloride :

يستخدم بتركيز 0.1% في التطهير السطحي وتخزين الأدوات مع ملاحظة أن هذه المادة سامة جداً للإنسان، ويمكن تحضير محلول أساسي بإذابة جزء وإحدى من كلوريد الزئبقيك في 2.5 جزء من حمض الهيدروكلوريك وحفظه في زجاجة وتعنون " سام " وعند الاستخدام يحضر محلول التطهير بإضافة 2.5 مل منه إلى لتر وإحدى من الماء، ولقد قل استخدام هذه المادة نظراً لسمها الشديد ويجب الحذر أثناء استخدامها.

الفورمالين Formalin :

ويسمى أيضاً فورمل Formol وهي أسماء تجارية لمحلول غاز الفورمالدهيد Formaldehyde في الماء والتركيزات منه لأغراض حفظ الحيوانات تتراوح بين 30 و37% وهو ذات تأثير قوي ويستخدم لتطهير أرضيات ومداخل المختبر وأواني وعلب التربية وحفظ العينات الواردة من الحقل ويمكن استخدامه بتركيز 2-3% لتطهير الأرضية وتركيز 1% لتطهير المعدات والأدوات، ويفضل استخدامه في التطهير الدوري لأرضيات المختبر وحوائطه وموائد العمل بالتركيز المذكور كل 2 - 3 أسبوع وفي حالات التلوث الشديدة على أن يتم ذلك قبل أيام الأجازات حيث تنبعث منه رائحة نفاذة، كما يوصي بتحضير سطل أو جردل ذات غطاء محكم يملأ إلى المنتصف بمحلول الفورمالين تركيز 4% توضع فيه الأواني والأدوات الزجاجية والبلاستيكية شديدة التلوث أو الوسخ لمدة 24 ساعة على أن يتم غسلها جيداً بعد ذلك بالماء وإحدى المنظفات، ويلاحظ تصاعد غاز الفورمالدهيد من الفورمالين أياً كان تركيزه وهو ضار بالصحة ولذلك يجب إحكام غلق العبوات والأواني والحزر عند التعامل.

طرق التخفيف :

تتواجد الكثير من المواد الكيميائية أو تباع تجارياً في تركيبات محددة نحتاج عند استخدامها لتخفيفها في تركيبات غالباً أقل أي إلى تخفيفها Delusino وغالباً يستخدم الماء في التخفيف إلا إذا كانت هناك

توصية باستخدام مواد أخرى، وفي المواد الكيميائية يفضل استخدام الماء المقطر وأحياناً يستدعي الأمر استخدام الماء المقطر المغلي أي الخالي من ثاني أكسيد الكربون والقاعدة السريعة للتخفيف هي : إذا كان لدينا تركيز (أ%) ونريد تحضير تركيز (ب%) فعلياً أن نأخذ جزء مقدره (ب) من تركيز (أ%) ونضيف إليه (أ - ب) جزء من الماء.

مثال (1) : إذا كان لدينا فورمالين تركيز 37% ونريد تحضير محلول تركيز 3% فعلياً أن نأخذ 3 مل من فورمول تركيز 37% ونضيف إليه (37 - 3) 34 مل ماء فنحصل على 37 مل من محلول تركيزه 3%، وعلى ذلك يمكن كقاعدة أن نأخذ كمية مساوية للتركيز المطلوب تحضيره من المحلول ثم تكملة الحجم بالماء إلى مستوى التركيز الأعلى.

مثال (2) : لدينا كحول تركيزه 80% ونريد تحضير كحول تركيزه 60%، علياً أن نأخذ 60 مل من 80% وتكملة الكمية بالماء إلى 80 مل.

طرق التعقيم :

الهدف من التعقيم معاملة الشيء بطريقة تؤدي إلى قتل جميع الكائنات الحية الدقيقة العالقة به أو المتواجدة داخله، وليس للتعقيم قيمة عندما يعرض الشيء المعقم إلى الهواء إلى ما يؤدي إلى تلوثه مرة أخرى قبل الاستخدام ولذلك يجب حفظ وعزل الأشياء التي تم تعقيمها عن أي مصدر للتلوث ويتم ذلك بتغليف الأدوات والزجاجيات بورق الألمونيوم Aluminium foil وحفظها بعد التعقيم إلى حين الاستخدام، أما الأواني المحتوية على محاليل أو بيئات فيجب أن تكون ذات أغطية أو تغلق بواسطة سدادات من القطن ولا تفتح بعد التعقيم إلا عند الاستعمال.

توجد عدة طرق للتعقيم أهمها في مجال الفطريات الممرضة للحشرات التعقيم بالحرارة العالية، فمن المعروف أن سرعة العمليات الفسيولوجية في الكائنات الدقيقة تزداد بزيادة درجة الحرارة ولكن إلى حد معين، وعندما تزداد درجة الحرارة بعد ذلك تؤدي إلى فساد الإنزيمات والبروتينات مما يؤدي إلى القتل ورغم ذلك هناك مجموعة كبيرة من هذه الكائنات وعلى الأخص البكتيريا تقاوم درجات الحرارة العالية حيث يحدث الموت على طول فترة زمنية، ولذلك يعتمد التعقيم الحراري ضد الكائن الحي الدقيق على درجة الحرارة المميتة Thermal death point وهي أقل درجة حرارة يهلك عندها الكائن الحي الدقيق ووقت التعريض المميت Thermal death time وهو أقصر وقت لازم لموت الكائن عند تعريضه لدرجة حرارة معينة، ويتأثر هذان العاملان غالباً بشدة التلوث وأنواع الكائنات الملوثة ولذلك يجب أخذ هذين العاملين في الاعتبار عند اختيار طرق التعقيم.

التعقيم بالحرارة الرطبة Moist heat sterilization : تستخدم فيها الحرارة الرطبة أي التسخين الشديد في وجود بخار الماء تحت ضغط مرتفع لفترة زمنية مناسبة، ويتم ذلك في جهاز

الأوتوكلاف Autoclave وهو جهاز ذو جدار مزدوج له غطاء أو باب يمكن قفله بإحكام شديد والتحكم في درجة الحرارة وضغط بخار الماء وفترة التعقيم حيث يمكن معاملة الأشياء المراد تعقيمها بدرجة حرارة أعلى من تلك التي توفرها درجة غليان الماء، وتؤدي المعاملة إلى قتل الخلايا الحية الخضرية والمتجرثمة نتيجة فساد الطبيعة الغروية لبروتوبلازم الخلية وتخثره ويتم التعقيم غالباً لمدة 15 دقيقة على 121م وضغط 15 رطلاً على البوصة المربعة (15 Ib/in) للبيئات والمحاليل بكميات صغيرة (2 - 3 لتر) والأدوات الزجاجية والمعدنية وتزداد فترة التعقيم إلى 20 دقيقة للبيئات والماء والمحاليل في حالة الكميات الكبيرة وقد يتم التعقيم لمدة 20 - 25 دقيقة على درجة 126م في بعض الحالات التي تستدعي معاملات خاصة، وهناك بعض المواد لا يمكن ضمان تعقيمها جيداً في الأوتوكلاف مثل الزيوت والمواد الدهنية ويجب إتباع طرق أخرى لتعقيمها، تلاحظ العناية والحظر الشديد عند استخدام الأوتوكلاف فبالرغم من تجهيزات الأمان في الأوتوكلافات الحديثة يجب أن يدرب العاملين على استخدامها مع مراعاة ما يلي عند التعقيم بهذه الطريقة :

- من الأهمية وصول بخار الماء إلى داخل الأواني والبيئات والمحاليل لذلك يجب عدم إحكام قفل الأغطية أو استخدام سدادات مسامية مثل السدادات القطنية، وبعد انتهاء التعقيم يجب إحكام قفل الأغطية.
- في حالة تعقيم البيئات والماء والمحاليل توضع الكمية منها مساوية تقريباً لنصف حجم الإناء أو على الأكثر لنثلي الحجم في حالة الضرورة.
- بعد انتهاء التعقيم لا يتم فتح الأوتوكلاف إلا إذا وصل ضغط بخار الماء إلى العلامة صفر ويفتح الباب ببطء وجزئياً حتى تنخفض درجة حرارتها إلى 40 - 50م ثم يتم إخراجها وتخزينها حتى الاستخدام.

التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat sterilization : تتحمل جراثيم الكثير من الكائنات الحية الدقيقة درجات الحرارة العالية الجافة عنها تحت ظروف تواجد الرطوبة داخل فرن Oven أو Sterilizer ويتم التعقيم غالباً على درجة من 160 - 180م لمدة 2 - 3 ساعات حيث تقتل جميع الكائنات الحية الدقيقة نتيجة جفاف وأكسدة محتويات الخلية، وتصلح هذه الطريقة لتعقيم الأدوات المعدنية والزجاجية وأطباق بتري التي تستخدم تحت ظروف الجفاف، والأفضل وضع الأدوات مثل الماصات وأنابيب الاختبار التي بدون أغطية وأدوات التشريح داخل أوعية معدنية معدة لذلك أو يتم تغليفها في أوراق الألمونيوم، ويجب عدم إخراج الأدوات وعلى الأخص الزجاجية منها بعد انتهاء فترة التعقيم إلى خارج الفرن وإنما تترك داخله حتى تنخفض درجة حرارتها ثم يتم حفظها بعيدة عن التلوث إلى حين استخدامها.

التعقيم بالتسخين الشديد Red heat sterilization : وهو تعقيم وقتي وسريع ويستخدم أثناء بعض الأعمال مثل العزل أو تلقيح البيئات أو تشريح العينات ويتم ذلك على أطراف إبر التلقيح والملاقط وأدوات التشريح المعدنية بتعريضها مباشرة إلى لهب بنزن إلى درجة الاحمرار أو بتغطيس أطرافها في كحول الايثانول ثم تعريضها إلى لهب بنزن لفترة قصيرة Flaming ويجب الحذر عند العمل بالكحول ولهب بنزن حيث أن الكحول شديد القابلية للاشتعال.

التعقيم بالإشعاع Radiation sterilization : وفيه تستخدم بعض أنواع الأشعة في تعقيم غرف التلقيح والأدوات والأواني البلاستيكية التي لا تتحمل معاملتها بالحرارة العالية، وغالباً تستعمل الأشعة فوق البنفسجية Ultra violet rays التي يتراوح طول موجاتها من 260 إلى 270 ملليمكرون وهو المدى القاتل للكائنات الحية الدقيقة والتي يمكن توفيرها من لمبات خاصة يتم الحصول عليها من الشركات المتخصصة، ويلاحظ عدم استخدام هذه الأشعة أثناء العمل حيث إن لها تأثير سلبي على الفطريات وبخاصة الجراثيم الكونيدجية كما أنها ذات تأثير سطحي ولها قدرة ضعيفة على التغلغل داخل الأشياء ويلاحظ أن الزجاج يحجز نسبة عالية من هذه الأشعة.

التعقيم بالترشيح Filtration sterilization : يستخدم الترشيح لتعقيم المحاليل التي بها مركبات كيميائية حيوية تتأثر بدرجات الحرارة العالية مثل الإنزيمات والبروتينات والسموم التي تفرزها الفطريات في البيئات، وفيه تمرر هذه المحاليل في مرشحات خاصة ذات ثقوب دقيقة لا تسمح بمرور الكائنات الحية الدقيقة، وتصنع للمرشحات من الاسبستس Asbestos والزجاج المسامي Sintered glass والخزف Porcelain والسليولوز Cellulose وتختلف تبعاً لسعة الثقوب، ويتم الترشيح تحت تفريغ الهواء في أواني استقبال خاصة تلحق بها مضخة تفريغ هواء مائية أو هوائية.

قياس التركيز وضبطه

شريحة العد :

استخدام شريحة عد الجراثيم Haemocytometer هي أفضل وأدق طرق تعيين التركيز على مستوى المعمل وذلك لسرعة وسهولة ودقة القياس ولكبر جميع أنواع جراثيم الفطريات الممرضة للحشرات وسهولة ودقة الحساب، وهي مخصصة أصلاً لتعيين عدد كرات الدم في وحدة الحجم في الأغراض الطبية، وتوجد أنواع أفضلها وأكثرها انتشاراً النوع الألماني (Neubauer) وهي مصممة من Zeiss وتتميز بالبساطة ووضوح الخلايا والمربعات وعدم ازدواج الخطوط، ومكتوب على يسار الشريحة أبعاد وحدة القياس وهي عبارة عن مربع صغير Reference square بعرض 0.1 ملليمتر (0.1 mm) ومساحة 400/1 ملم² (1/400 mm) ويوجد في مركز الشريحة تماماً مساحتان متطابقتان للقياس (علياً وسفلياً) يوجد في وسط كل منها 25 خلية Reference cell كل خلية بها 16 مربعاً صغيراً وعلى جانبيها مجريان عرضيان يقطعها مجرى وسطي عرضي لتصبح هذه المجاري

على هيئة حرف H ينساب من خلالها المعلق، ومركز الشريحة عبارة عن منطقة مناسبة تماماً لغطاء Cover زجاجي خاص يوضع على السطح بحيث إذا سكب المعلق من ماصة دقيقة ببطء في منتصف أعلى تلاقي الشريحة مع الغطاء ينساب ليملاً جميع الخلايا والمربعات.

حجم المربع الصغير 4000/1 من المليمتر المكعب فإذا تم ملّ هذا المربع بمعلق الفطر وكان به 4 جراثيم يكون عدد الجراثيم في مل وإحدى (أي سم3) من المعلق $4 \times 1000 \times 4000 = 16 \times 610$ ، وتوجد المربعات الصغيرة في خلايا كل خلية من 16 مربعاً صغيراً وأبعاد الخليفة الواحدة 0.02 سم 0.02×0.01 سم ، فإذا تم ملّ الخلية بالمعلق وكان عدد الجراثيم داخل الخلية الواحدة 64 يكون عدد الجراثيم في مل وإحدى من المعلق (أي سم3) $0.02 \times 0.02 \times 0.01 \times 64 = 4/1000000$ ، وللاختصار إذا تم العد في المربعات الصغيرة يضرب متوسط عدد الجراثيم في المربع الصغير في 4×610 ، وإذا تم العد في الخلايا يضرب متوسط عدد الجراثيم في الخلية الواحدة في 2.5×510 .

لقياس عدد الكونيديات في معلق تم تخفيفه مرتين متتاليتين كل منها 1 : 9 (أي تم تخفيفه 100 مرة) يتم وضع الشريحة على مسرح الميكروسكوب في الوسط تماماً ويوضع غطاء الشريحة في مكانه ويتم وضع نقطة رقيقة أو أكثر من المعلق عند منتصف الحد الأعلى لتلاصق الشريحة من الغطاء فترى بالعين المجردة سريان المعلق بين الشريحة والغطاء حيث يملأ جميع الفراغات مع عدم تكون أي فقاعات هوائية وعندئذ يتم ضبط منتصف الشريحة تحت العدسة الشيئية 10 ويتم تحريك مسرح الميكروسكوب حتى نرى خطوط التقاطع ثم نغير العدسة إلى القوة 40 ويتم الضبط بالضابط الصغير حتى نرى الكونيديات داخل الخلايا ثم نترك الشريحة على الميكروسكوب دون إضاءة لمدة 3 - 5 دقائق حتى تستقر الكونيديات تماماً وإذا تم العد في مستحلب زيتي نترك الشريحة لمدة نصف ساعة على الأقل وفي كل الأحوال لا يسمح بأن تجف العينة على الشريحة، ويتم عد الكونيديات المتواجدة داخل المربعات الصغيرة بحيث تكون كل 16 مربعاً داخل خلية وإحدى وغالباً يتم اختيار 5 خلايا عشوائياً من المساحة العليا والسفلي ولتجنب تكرار العد يتم عد الجراثيم الموجودة داخل أضلاع المربع وتلك الموجودة على الضلعين الأعلى والأيسر، وتكتب الأرقام في صف وإحدى لكل خلية (16 مربعاً صغيراً مع فواصل بينها) كالآتي :

عدد الكونيديا لكل مربع صغير

- 38 = 1-3-4-1-1-4-5-6-1-4-2 (1) خلية رقم (1) صفر
- 38 = 1-3-2-1-4-5-1-2-1-2-4-3-3 (2) خلية رقم (2) صفر
- 31 = 4-2-2-1-4-3-4-1-2-3-3 (3) خلية رقم (3) صفر - صفر - صفر
- 36 = 3-1-1-4-2-3-4-1-1-2-4-3-4-1-1-1 (4) خلية رقم (4)
- 34 = 3-1-1-4-3-1-1-4-3-4 - صفر - صفر - صفر (5) خلية رقم (5)

مجموع عدد الجراثيم في 5 خلايا أي 80 مربعاً صغيراً = 38+31+36+38 = 177 = عدد الجراثيم في مل وإحدى من المعلق الأصلي :

إذا استخدمنا عدد الجراثيم في المربعات الصغيرة = $80/177$ (للحصول على متوسط عدد الكونيديا في المربع الواحد) $\times 4 \times 610$ (معامل المليلتر الواحد) $\times 100$ معامل التخفيف = $885000000 = 810 \times 8.85$ كونيديا/مل.

إذا استخدمنا عدد الجراثيم في الخلايا = $5/177$ (للحصول على متوسط عدد الكونيديا في الخلية الواحدة) $\times 2.5 \times 510$ (معامل المليلتر الواحد) $\times 100$ (معامل التخفيف) = $885000000 = 810 \times 8.85$ كونيديا/مل .

بعد انتهاء العد يتم تنظيف الشريحة والغطاء بكحول إيثايل 70% وتجفيفها وحفظها في محفظتها وإذا تم جفاف المعلق على الشريحة لأي سبب يتم غسلها في هيدروكسيد الصوديوم تركيز 1% ثم بالماء المقطر ثم في كحول إيثايل 70%.

تحضير معلق تركيزه 2×810 كونيديا/مل : يتم وزن حوالي 0.1 جم من الكونيديا ويتم تحضير المعلق الاساسي (س) وتخفيفه مرتان كل منها 1 : 9 ثم عد الكونيديا في عينة من التخفيف الأخير، فإذا كان مجموع عدد الكونيديا في 80 مربعاً هو 166 يكون العدد الموجودة في مل وإحدى من المعلق الأساسي (س) = $(80/166) \times 4 \times 610 \times 100 = 810 \times 8.3$. التركيز المطلوب 2×810 لكل مل، إذا تقسم 8.3×10 على $2 \times 810 = 4.15$ ولذلك للحصول على التركيز المطلوب يضاف إلى كل مل من المعلق الأساسي 3.15 مل من الماء.

تعيين عدد الكونيديا في جرام وإحدى من فطر B. bassiana : (يجرى التعيين في خمس مكررات على الأقل) يتم وزن 0.2 بالضبط من الكونيديا ويتم تحضيرها في معلق بإضافة 20 مل ماء (س) ويتم التخفيف مرتين، وبفرض أن متوسط عدد الكونيديا في المربع الواحد من المخفف الثاني 1.5، يكون عدد الجراثيم في مل وإحدى من المعلق (س) هو $1.5 \times 4 \times 10^6 \times 100 = 6 \times 10^8$ ،

ولأن كمية الكونديا التي تم وزنها موجودة في 20 مل يكون عدد الكونديا في 0.2 جم هو 6×10^8
 $20 \times 1.2 \times 10^{10} = 2.4 \times 10^{11}$. وعلى ذلك يكون عدد الجراثيم في الجرام الواحد هو $1.2 \times 10^{10} = 6 \times 10^8$

بروتوكول (1)

إذا طلب منك تأسيس مختبر صغير للفطريات الممرضة للحشرات ما هي أهم الأجهزة التي يجب أن تتوفر فيه؟

الاستخدام	الجهاز
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

بروتوكول (2)

اكتب ثلاث من المواد المطهرة المتوفرة في مختبر الفطريات، والتركيز المستخدم وأهم أعراض الاستخدام.

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

كيف تقوم بتحضير كحول إيثانيل تركيز 70% من كحول إيثانيل 96%.

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

أذكر أهم طرق التعقيم ومثال وإحدى للمواد المستهدفة في التعقيم لكل طريقة.

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

بروتوكول (3)

اختبار كشف تواجد الفطر Mycosis test

يهدف إلى تأكيد موت الحشرات بسبب الفطر أو لأسباب أخرى ...

- أمامك عينة من الحشرات الكاملة لسوسة النخيل الحمراء المينة التي تم جمعها من إحدى مزارع النخيل بالمصايد الفيرومونية الكيرومونية - سجل عدد الحشرات في العينة التي جاءت من الحقل.
- استبعد أي حشرة تكون ملوثة أو مضررة أو متعفنة.
- أغسل الحشرات لمدة دقيقة واحدة في محلول هيبوكلوريد الصوديوم تركيز 2% ثم أغسل جيداً بالماء المقطر مرتين على الأقل.
- حضر طبق بتري (الأفضل قطر 14 سم) وضع فيه ورق نسيجي وشبعه بالماء.
- ضع الحشرات على سطحها البطني داخل الطبق وأتركه على درجة حرارة الحجرة مع المحافظة على الرطوبة النسبية عالية (90-100%).
- راقب الحشرات التي يظهر عليها نمو مسيلبي منتظم لامع لونه أبيض (فطر *B.bassiana*) ثم راقب مراحل نمو الفطر حتى تكوين الكونيدات.
- احسب النسبة المئوية للحشرات التي نما عليها الفطر كآلاتي:

عدد الحشرات التي نما عليها الفطر x 100

على عدد حشرات العينة

بروتوكول (4)

العزل من جثث الحشرات

- اختار إحدى الحشرات التي عليها نمو جيد للفطر . (الأفضل أن تكون حاملة لكونيديات حديثة)
- حضر حوالي 5 مل من الماء المقطر المعقم في زجاجة.
- حضر بيئة مائلة (سابوراد) في أنابيب وأخرى مستوية في أطباق بتري.
- انقل بإبرة تلقيح كمية من الكونيديات إلى الماء وإلى البيئة المائلة وإلى البيئة المستوية مع تغيير إبرة التلقيح في كل مرة.
- أنقل اللقاح في الزجاجة إلى بيئة في أطباق.
- حضن العزلة على درجة 25° م أو على درجة حرارة الحجره.
- راقب نمو العزلة وتأكد من وجود نمو فطري متجانس الشكل واللون أو متواصل في مستعمرات.
- عند تكوين العديد من المستعمرات يتم إعادة العزل عدة مرات متتالية حتى نحصل على عزلة نقيه من الفطر المستهدف.

بروتوكول (5)

بيئات الزرع والإنتاج الغزير

قم بتحضير المقادير الآتية لإعداد البيئات الغزيرة :

أولاً - البيئة نصف الصلبة :

• بيئة سابوراد + مستخلص الخميرة :

لتر ماء ، 40 جم دكستروز ، 10 جم بيتون ، 12 جم آجار ، 2 جم مستخلص خيرة .

• بيئة الدكستروز والبطاطس :

لتر ماء + 39.5 بيئة جاهزة التحضير .

ثانياً - البيئة السائلة :

• 250 مل ، 10 جم دكستروز ، 2.5 جم بيتون ، ½ جم مستخلص الخميرة.

ثالثاً - البيئة الصلبة (الأرز) :

• 600 مل ماء ، 1000 جم أرز ، 10 جم بيتون ، 2 جم مستخلص الخميرة.

إعداد البيئة نصف الصلبة :

1- حضر البيئة بوضع كمية الماء في كأس ذات سعة مضاعفة لحجم الماء (مثال لإعداد لتر تستخدم سعة 2 لتر).

2- سخن مع التقليب المستمر حتى تصل درجة الحرارة إلى 70-80 °م .

3- أضف المواد المغذية بالترتيب : الدكستروز ثم البيتون ثم مستخلص الخميرة ثم الأجار وتكون بالإضافة بكميات صغيرة بحيث لا تتكون أي كتل في البيئة وحتى تصبح البيئة متجانسة تماماً .

4- صب البيئة وهي ساخنة في دوارق معيارية بحث لا يزيد حجمها في الدورق عن نصف حجم الدورق نفسه.

5- عقم في الاوتوتوكلاف.

6- بعد إنتهاء دورة التعقيم أترك البيئة لتبرد حتى حوالي 50 °م.

7- صب في أطباق بتري تحت ظروف التعقيم .

8- اترك البيئة ساكنة لمدة 24 ساعة.

إعداد البيئة السائلة :

- 1- قم بنفس الخطوات السابقة للبيئة نصف الصلبة (من 1-5) ثم اترك البيئة لترد تماماً حتى تصل درجة حرارتها إلى درجة حرارة الحجرة.
إعداد البيئة الصلبة (الأرز) :
- 1- قم بنفس الخطوات السابقة للبيئة نصف الصلبة (من 1-3) ثم وضع البيئة في إناء طبخ مع التسخين الهادئ ثم أضف الأرز بعد غسله بالماء وقلب باستمرار حتى يتشرب الأرز بالكمية كاملة.
- 2- ضع الأرز في أكياس فرن (مقاومة الحرارة) بمعدل 4 أكياس لكل كجم واحد اجعل الأكياس ذات فتحة ضيقة .
- 3- عقم الأوتوكلاف .
- 4- بعد انتهاء دورة التعقيم اترك الأرز ليبرد حتى تصل درجة حرارته إلى درجة حرارة الحجرة .

معاملة البيئة بالفطر Inoculation

- 1- قم بمعاملة البيئة نصف الصلبة " الأطباق " بمعلق مخفف من كونيديات الفطر تركيز حوالي 10×10^7 كونيديا/مل أو بمعلق من الجراثيم البلاستية أو الهيفات ا.
- 2- حضن الأطباق على درجة حرارة الحجرة- لاحظ في النماذج المتوفرة المراحل المختلفة لنمو الفطر (مرحلة الإنبات، مرحلة نمو الميليسيوم ، مرحلة تكوين الكونيديات).
- 3- قم بمعاملة البيئة السائلة بمعلق من كونيديات الفطر تركيز حوالي 5×10^8 كونيديا/مل بمعدل 10 مل لكل 100 مل بيئة.
- 4- حضن الدوارق المعيارية المحتوية على البيئة السائلة في حضن هزاز على درجة 26-28° م و 120 حركة/دقيقة لفترة يومين.
- 5- افحص ميكروسكوبياً لتتبين إنبات ونمو الهيفات.
- 6- قم بمعاملة أكياس الأرز بمعلق من الجراثيم البلاستية أو الهيفات الأولية بمعدل 25 مل لكل كيس.
- 7- قم بخلط الأرز جيداً بالفطر مع الحذر حتى لا تتلف الكيس .
- 8- حضن أكياس الأرز على درجة الحجرة لمدة 2-3 أيام حتى تتغطى الحبوب بميسيليوم أبيض خفيف .
- 9- أنقل الأرز على صوانٍ وحشن على درجة حرارة الحجرة.

بروتوكول (6)

التربية على الحشرات الحية

- 1- حضر 50 ورقة كاملة النمو من دودة الشمع الكبيرة Galleria mellon ella وضع كل 10 في طبق بتري (رقم من 1-5) .
- 2- عامل اليرقات بمعلق من كونيديات الفطر تركيز 10+1⁷ كونيديا (تقريباً). بالتعطيس لمد 3 ثوانٍ.
- 3- حضن اليرقات على درجة حرارة الحجرة.
- 4- لاحظ أعراض الإصابة يومياً وقم بتدوينها .
- 5- سجل عدد الحشرات الميتة يومياً لكل مجموعة داخل الطبق وأنقلها إلى طبق بتري نظيف وجاف.
- 6- أترك جثث اليرقات الميتة Cadavers حتى تتصلب تماماً .
- 7- ضع الجثث الصلبة على ورقة ترشيح مشبعة بماء مقطر داخل طبق بتري وحافظ على نسبة الرطوبة عالية (90-100%) مع التحصين على درجة حرارة الحجرة .
- 8- لاحظ مراحل نمو الفطر حتى تكوين الكونيديات .
- 9- احسب نسب الموت المئوية ليرقات دودة الشمع والنسبة المئوية لعدد الحشرات التي أثمر الفطر عليها بكونيديات.

**Use of Entomopathogenic Nematodes as one of the
Biological Control Components**

استخدام الـنيماتودا الممرضة للحشرات كأحد عناصر المكافحة الحيوية

إعداد د. سامي العوض

خبير الفطريات - مركز المشروع بالحمراية

Use of Entomopathogenic Nematodes as one of the Biological Control Components

استخدام الـنيماتودا الممرضة للحشرات كإحدى عناصر مكافحة الحيوية

The life cycle of *Steinernema* starts with an egg, four juvenile stages, males and females. The third stage infective juvenile (IJ) of the life cycle is adapted physiologically and morphologically to live outside of the body of the host. The IJ is always enclosed inside the cuticle of the second stage juvenile, it has a non-functional mouth, anus and a much reduced alimentary canal but well developed head papillae and amphids which assist it in locating its host. The IJs are attracted to chemical cues such as CO₂ and insect excretory products, which are emitted from hosts. Once the IJs come in contact with a potential host they enter through the natural openings, the mouth, anus or spiracles. In case of *S. carpocapsae* the preferred route is via the spiracles, mouth and anus in case of *S. glaseri*, mouth and spiracles in case of *S. scapteriscae*. However IJs of *Heterorhabditis* can enter directly through the cuticle using the dorsal tooth located in the head region.

Entomopathogenic nematodes can be divided into two groups according to the way by which they become attracted to their host:

1. **Ambushers** The IJs of these nematodes wait for their host to move close before they enter: these nematodes are more or less "lazy". The ambusher nematodes show a characteristic nictating behaviour in which the IJs stand upright by lifting 2/3 of their bodies into the air and using the caudal region as a foot. Examples of nematodes, which show this behaviour, are *S. carpocapsae* and *S. scapteriscae*.

2. **Cruisers** These are the nematodes which respond positively to chemical cues emitted from their hosts and they move actively to their hosts. Example of this group is *S. glaseri*.

Once the IJs enter the host they move to the haemocoel where they open their mouth and anus and release the symbiotic bacteria which they carry within their guts. The bacteria start to proliferate and reproduce inside the host. As a result of the bacterial development septicemic death of the host occurs. The bacteria have also been shown to produce a series of other chemicals, mainly indol derivatives which inhibit the development of other microflora within the insect body. The bacteria also suppress the immune system of the insect host. The nematode feeds on the bacterial cells as well the decomposed parts of the insect body to develop into the fourth stage juveniles and adults. The nematodes complete several generations inside the host body until the contents of the cadaver are completely consumed by the developing nematodes, when development ceases and the third

stage juveniles start leaving the cadaver of the insect (see Fig 1 & 2).

One of the major differences between *Steinernema* and *Heterorhabditis* is that the Us of *Heterorhabditis* develop only in the first generation to adult hermaphrodite females and in the second generation develop to amphimictic adults (Le. separate males and females). In the case of *Steinernema* Us of all generations develop into amphimictic adults. Members of the first generation adults in both genera are larger than the second

generation ones. The size of the host influences the number of generations of nematodes as well as the size of the developing nematodes.

After mating inside the host, female nematode lay eggs through the vulva to hatch within the insect host body to the subsequent stages. However due to nutritional signals nematode eggs may hatch inside the body of the female and destroy, this phenomenon is known as *Endotokia mardicidia*. Depending on the species of nematode, size of the host and other environmental conditions, the number of generations produced in the host will be determined. When the body of the host is depleted of nutrient, the third stage IJs leave. the insect cadaver to search for new hosts.

Fig. 1: Course of life cycle of the Genus *Steinernema*

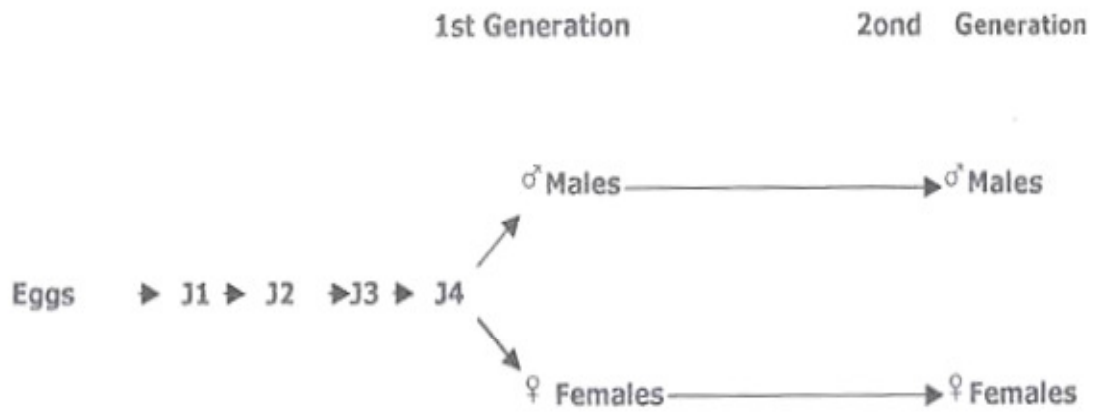
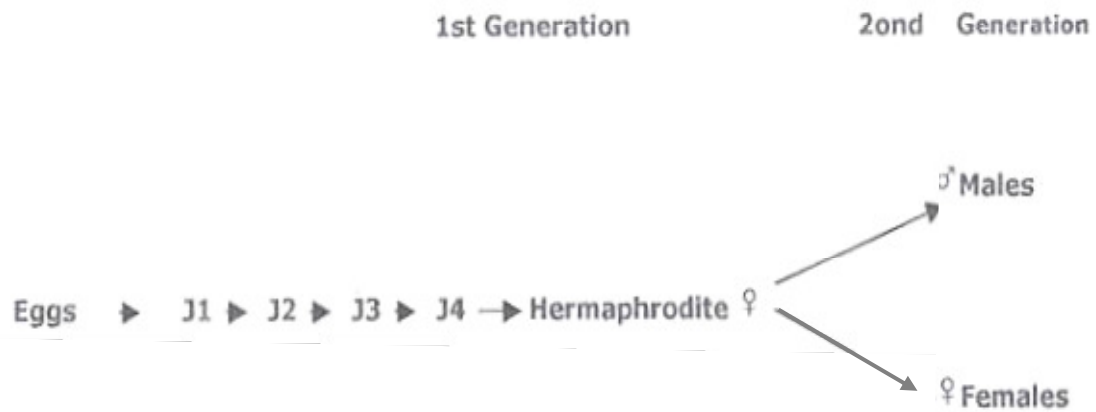


Fig. 2: Course of life Cycle of the Genus *Heterorhabditis*



The Symbiotic Bacteria

Steinernema spp are symbiotically associated with specific bacteria which are always carried monoxenically within the intervesticular gland of the nematode gut. This bacterium was first noticed by Bovien, in 1937 during his studies in the description of *S. bibionis* (= *S. feltiae*). The bacterium associated with entomopathogenic nematode was originally identified as *Achromobacter nematophilus*. Later more research studies conducted by several scientists have explained the relation of the symbiosis between the nematode and the bacteria. The genus *Steinernema* is associated with *Xenorhabdus* spp, while *Heterorhabditis* is associated with closely related species *Photorhabdus luminescens*. (see table 1 for different bacterial symbiotic associations between different nematode species). *Photorhabdus* bacterium differs from *Xenorhabdus* bacterium in several phenotypic as well as biochemical characters such as positive bioluminescence and catalase activity. Also, poor DNA relatedness has been found to exist between the two genera. And detailed comparisons of 16S rRNA sequences for the two genera did not distinguish them, other biological differences between the two genera such as the production bacteriocin but in different ways in terms of ultrastructure and physiological events. Also, the difference between the two genera was demonstrated by their interaction with nematodes; *P. luminescens* does not support the development of any *Steinernema* species in vitro but may support cultures of non-host *Heterorhabditis* spp. Similarly *Xenorhabdus* spp do not support the development of any *Heterorhabditis* spp in vitro but may support cultures of non-*Steinernema* spp.

The relation between the nematode and the bacteria is mutualistic and symbiotic. The IJs carry the bacteria within their gut, the function of the symbiotic bacteria is to provide a good environment and food for the nematodes to reproduce and develop. Both genera of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* were placed in the family Enterobacteriaceae. Also both *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* are gram-negative rods, non-sporulating, oxidase negative with both respiratory and fermentative metabolism.

Phase shift of bacteria is a well described phenomena in microbiology however, the definition of phase variation in both *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*, states that the existence of primary and secondary form variants with morphological and functional dimorphism. Several methods are used to distinguish between phase one and phase two for example both phases have distinctly different colony morphologies however both variants do not show any difference in pathogenicity to the host *G. mellonella*.

Other differences between the two bacterial phases can be summarized as the follows:

(1) Phase one produces ranges of antibiotics while the secondary form does not produce antibiotics.

(2) Phase one adsorbs certain dyes and develops large intracellular inclusions, whereas phase two does not adsorb dyes, and forms insufficient intracellular inclusions.

(3) Phase one is supposed to be superior to phase two in its ability to support nematode propagation in vitro.

The Pathogenicity of the Symbiotic Bacteria

Death of the insect after infection with the nematode and the release of the symbiont is due to the ability of the symbiont to tolerate the hormonal antimicrobial system of the insect. It is also due to the ability of the bacteria to multiply within the haemolymph resulting in an increase in the haemocytes which release the toxic lipopolysaccharides (LPS) causing what is known as septicaemia to the insect. The bacteria also produce antibiotics capable of inhibiting the growth of many different bacteria and fungi which helps to maintain an environment more favourable to the multiplication of the bacteria and nematode.

Table 1: Symbiotic Bacteria associated with different species of .EPNS:

Species	Bacterial symbiont
<i>Stelnerinema kraussei</i>	<i>Xenorhabdus bovienii</i>
<i>S. glaseri</i>	<i>X. polnarii</i>
<i>S. feltiae</i>	<i>X. bovienii</i>
<i>S. affinis</i>	<i>X. bovienii</i>
<i>S. carpocapsae</i>	<i>X. nematophilus</i>
<i>S. anomali</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. intermedia</i>	<i>X. bovienii</i>
<i>S. rara</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. kushldai</i>	<i>Xenorhabdus japonicus</i>
<i>S. scapterisci</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. ritteri</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. neocurtillae</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. rlobravae</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. longicaudum</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. serratum</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. cubana</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>S. bicornutum</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>H. zealandica</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. megidis</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. indicus</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. brevicaudis</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. argentinensis</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. hawaiiensis</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. hepialus</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. marelatus</i>	<i>P. luminescens</i>

Factors Affecting the Efficacy of Entomopathogenic Nematodes

العوامل المؤثرة على فعالية الـنيماتودا الممرضة للحشرات

إعداد د. سامي العوض

خبير الفطريات - مركز المشروع بالحمراية

Factors Affecting the Efficacy of Entomopathogenic Nematodes

العوامل المؤثرة على فعالية الـنيماتودا الممرضة للحشرات

(a) Behaviour: In spite of the fact that entomopathogenic nematodes can parasitize a wide range of hosts in the laboratory, certain nematode species or isolates will control specific insect in the field better than others. The behavioural differences of different species can affect efficacy, for example some nematodes that actively move vertically in the soil such as *S. glaseri* are usually more effective against the larvae of scarabaeid insects probably because they are better able to reach their hosts. The mole cricket *Scapteriscus* spp are more susceptible to *S. carpocapsae* because *S. carpocapsae* juveniles do not migrate from the site of application where they were applied while the mole crickets tend to remain nearer to the surface of turfgrass.

(b) Host susceptibility: Host susceptibility is mainly determined by the ability of the nematode to penetrate the insect host. Entomopathogenic nematodes are considered to have a range of host insect. Some species of *Steinernema* e.g. *S. carpocapsae* juveniles infect 250 insect species from over 75 families in 11 orders.

The most susceptible hosts to nematodes are the ones that can easily be penetrated by them. However the occurrence of a variety of species of entomopathogenic nematodes even in one location implies an evolutionary development resulting in distinct character of every species including the development of specific nematode-host associations. The susceptibility of different insects to *Xenorhabdus* depends on the ability of the host defence mechanism to limit the bacterial proliferation within the host. The LD₅₀ values for the bacteria range between 50 - 500 cells.

(c) Moisture: Moisture is the most important abiotic factor limiting the survival and the movement of the nematodes in the soil. The survival of steinernematid nematodes is considered to be higher in relatively dry soil provided the rate of drying is slow. Rapid desiccation is fatal to many steinernematids and heterorhabditids. Nematode activity and efficacy are severely restricted when moisture levels are insufficient for nematode movement and persistence and excessive moisture levels can also inhibit nematode infectivity by immobilising the nematode due to the forces of surface tension. Also, high soil moisture can remove the oxygen from the soil and may influence the survival of IJs.

(d) Soil type: Several factors, which affect the nematode in soils, are porosity, aeration, water content, temperature and chemistry of the soil. Soil texture and pore size determined by the size of the soil particles, which can greatly affect nematode movement, host finding strategy and ability to survive. Horizontal and vertical nematode dispersal, pathogenicity and survival decrease as the overall proportion of silt and clay increases. The ability of *S. glaseri* and *S. carpocapsae* to infect hosts decreased as the

content of clay increased. Nematode survival in most soils is not affected by pH in the range 4-8 although survival and pathogenicity of *S. glaseri* and *S. carpocapsae* were greatly decreased at pH 10 and high concentrations of ammonia.

e) Temperature: Temperature has a profound effect on all aspects of the biology of entomopathogenic nematodes, such as development, respiration, survival, dispersal and host finding ability. Climatic conditions and the geographic origin of the nematode affect survival if adequate water is available. *S. carpocapsae*, a temperate species of entomopathogenic nematode, can survive better in sandy loam soil and at a range of temperature between 5-15°C than at 35°C, whereas *S. glaseri*

a subtropical nematode can survive better at 35°C. .. The survival of entomopathogenic nematodes seems to be affected by the degree of activity and the amount of the stored food reserves within the nematode body. Some species of *Heterorhabditis* and *S. feltiae* survive better at lower temperatures and this may be due to the fact that these nematodes are less active at lower temperatures and a longer period is needed for them to deplete their food reserves. Studies have shown that nematodes applied when soil temperatures were less than 16°C were less effective against white grubs than when similar applications were made to soils at 21-30°C. Application of the nematodes to fields at temperatures lower than 12-14°C will always fail to control insects, the failure in control may be due to the effect of the temperature on the nematodes themselves or on the symbiotic bacteria or due to both factors.

f. Ultraviolet light: The entomopathogenic nematodes are extremely vulnerable to ultraviolet radiation because they are very sensitive to direct sunlight. Due to this, application of nematodes should be done in late afternoon or early in the evenings, The severity of the effect of the ultra violet light may vary according to nematode species, for example the IJs of some species of entomopathogenic nematodes are extremely sensitive and they become inactivated by exposure levels that do not affect *S. carpocapsae*.

Production, formulation and storage of Entomopathogenic Nematodes:

إنتاج وتشكيل وتخزين الـنيماتودا الممرضة للحشرات

إعداد د. سامي العوض

خبير الفطريات - مركز المشروع بالحمرانية

Production, formulation and storage of Entomopathogenic Nematodes:

إنتاج وتشكيل وتخزين الـنيماتودا الممرضة للحشرات

Entomopathogenic nematodes have been produced for 68 years by a variety of means; e.g. insect infection or on artificial media by axenic or monoxenic culture, in solid and liquid phase fermentation. For small-scale production and for laboratory uses, IJs are commonly cultured using *G. mellonella*, but this method is too expensive for mass production.

For small-scale production, the method of choice in the USA, Europe and China is still solid phase culture, developed by Bedding in the early. The original patent involved soaking an inert carrier (shredded foam) in a protein-rich medium (e.g., soy peptone, yeast extract, or offal). This substrate was then put into plastic bags, autoclaved, and inoculated with the symbiont bacteria. After a few days, the nematodes were inoculated. When nematode multiplication ceased, the IJs were washed out of the foam, and stored in air-bubbled water. This method has since been modified by many of the commercial manufacturers. Solid phase culturing has the advantage that it can be used to culture most nematode species. Furthermore, the capital costs are low and the technique is not technically demanding. However, liquid culture is preferred for large-scale production. The production outputs can be as high as 100,000 IJs/ml from 15,000-80,000 litre fermenters. Currently, five *Steinernema* species (*S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. scapterisci*, *S. riobrae* and *S. glaseri*) and two *Heterorhabditis* species (*H. bacteriophora* and *H. megidis*) are produced commercially. However, the mass production of heterorhabditid species has not been successful in the USA, and as a consequence steinernematid species have dominated on the commercial market. In contrast, the liquid culture of heterorhabditid species in Europe has not been a problem, although formulation and storage methods are still not ideal. The reason for this odd occurrence is likely to reside in the culturing technique used in.. the USA and Europe, but since production methods are commercial secrets further inferences are not possible.

Nematode processing for formulation is necessary for two reasons: to extend shelf life and to allow transport, delivery and application. The average shelf life of steinernematid nematodes is 3-6 months, which compared with 2 years for chemical pesticides makes marketing nematodes difficult. The problem lies in the fact that the quality of IJs produced on artificial media is compromised; for example, lipid contents are lower compared with insect-reared nematodes. Furthermore, the Us can utilize their lipid energy reserves rapidly.. Infective juveniles have been formulated with a number of different materials, including clay, gel-forming polyacrylamides, polyether-polyurethane sponge, vermiculite and peat. Most of the above formulations were designed to restrict the movement of the Us and hopefully their utilization of energy reserves, they also required

cold storage to keep the nematodes viable. However, restricting movement was not sufficient to reduce the utilization. The breakthrough came with the development of a water-dispersible granular formulation. This formulation allowed the Us to enter into a partial anhydrobiotic state extending nematode survival and shelf life for up to 6 months. The added advantage was that this could be achieved at room temperature, eliminating the need for cold storage.

Commercialisation of Entomopathogenic Nematodes:

Large-scale commercial yields of entomopathogenic nematodes require economies of scale in other words decreasing costs with an increasing scale of operation. Without economies of scale, commercial production of entomopathogenic nematodes will remain a cottage industry. The mass production of entomopathogenic nematodes has evolved from the first large scale in vitro liquid fermentation production method. Bioinsecticide companies produce entomopathogenic nematodes monoxenically using the solid-bed process developed by Robin Bedding in 1981, or by liquid fermentation method adopted by many companies. In the solid bed process high labour costs limit the economies of scale, whereas in liquid fermentation highly efficient production of many steinernematids species has been achieved. However there are some hiccups in production of heterorhabditids due to the instability of *Photorhabdus* bacteria in the fermenters.

Formulation of entomopathogenic nematodes plays an important role in the process of the commercialising these nematodes. Firstly they have to be immobilised to prevent loss of glycogen and lipid reserves. Immobilisation can be accomplished by maintaining the nematodes in aqueous suspension at low temperatures (between 5-15°C), but this approach is not commercially desirable.

Nematode immobilisation can be achieved by storing them in polyacrylimide and alginate gels or by partial desiccation in clay. Shelf storage of formulated steinernematids such as *S. carpocapsae* can be achieved for up to 5 months at room temperature or up to 12 months under refrigeration. Heterorhabditids, whether formulated or not do not have a long shelf life and always suffer high mortality during storage. Entomopathogenic nematodes unlike other insect pathogens have been exempted from registration in the USA by the environmental protection agency.

Effect of Entomopathogenic Nematodes on Non-target Organisms:

Data about the impact on the impact of EPNS on non-target insects have been obtained from research of laboratory bioassays and at optimal conditions they may be considered lethal to any insects they encounter in soil especially when applied at high concentrations in the field. However under field conditions many non target insects escape nematode infection, however the effect of entomopathogenic nematodes on predatory insects was that adult stages of most predators is minimum and these adults are less susceptible than immature stages.

Also *S. carpocapsae* was found not to infect earthworms but these nematodes were able to develop in damaged bodies of earthworms. Terrestrial isopods were found to be susceptible to entomopathogenic nematodes. It is generally regarded that in nature, entomopathogenic nematodes have a restricted host range, and behave as opportunistic organisms rather than broad-spectrum bio-insecticides.

Essential Laboratory Protocols Needed For Practical Work with Entomopathogenic Nematodes

1. Culture of The Wax Moth *Galleria mellonella*:

Late instar larvae of *G. mellonella* are used wide to for production and maintenance of cultures of EPNS as they are highly susceptible to nematode infection and also they can be reared easily in the lab. The artificial diet on which *G. mellonella* larvae are reared consists of the following ingredients:

- (a) 200 gm of oat meal
- (b) 50 gm of Brewers yeast.
- (c) 80 ml of pure honey.
- (d) 70 ml of glycerol.

Mix all ingredients thoroughly and introduce the formed paste to a glass container with fine perforations in the lid. Introduce about 20-30 g of freshly laid eggs of *G. mellonella* to the container and covered with the food paste. Keep the containers at $28 \pm 2^\circ\text{C}$ (70% RH) and for 5-6 weeks. Pick late instar larvae by hand and use

for EPNS research experiments. For egg production keep about 15 last instar larvae inside one of the containers to pupate and develop into adults. The adult moths always lay their eggs on the top of the plastic boxes or on the edges of the lid. Collect the egg carefully and avoid squashing the eggs.

2. Invitro production of Entomopathogenic Nematodes in semi-soild medium:

Prepare the following Ingredients modified from Bedding Method for each genus as follows:

Genus *Steinernema*

Kidney of beef	70g
Beef fat	10g
Nutrient Agar	5g
Water	20ml

Genus Heterorhabditis

Kidney of beef	60g
Beef fat	20g
Nutrient Agar	5g
Water	20ml

Blend all ingredients in blender till homogeneous mixture is achieved. Pour 10 - 20 ml of the mixture into flat autoclavable glass trays. Autoclave the trays and leave to cool for room temp. Add 2ml of 1 day old culture of symbiotic bacteria conc. = 107/ml and incubate for day at 28°C. Inoculate each tray with 1000 surface sterilised IJ. Incubate at 28°C for 1-2 weeks. Harvest the emerging IJs from the

media using washing and decanting.

3. Mass production of Entomopathogenic Nematodes in Liquid Culture:

a. Media constituents (For 500 litre fermenter add the following:

- 6.25Kg of 1.25% w/v Spray-dried egg yolk
- 12.5 kg 2.30% w/v Yeast extract
- 1.15 gm 0.23% w/v sodium chloride (plain noniodized)
- 30litre of 6.0% v/v Corn oil

First Mix Yolk dried powder to the oil together. Then mix yeast extract and the salt in the water and add this mix to the oil yolk powder mix. Autoclave the mixture at 121°C for 30 min.

Let the mixture cool down to 25°C.

b. Bacterial inoculation: Bacteria should be isolated from the haemolymph of *Galleria mellonella* larvae infected with Specific nematode isolate and smeared on NBTA agar plate. Prepare starter culture of 10 ml in sterile Falcon tube and use the starter culture to inoculate 1000 ml flask of Nutrient Broth. Incubate at 28°C in a shaking incubator (at 150rpm).

Check the purity of the bacteria by:

1. Smear on N BT A plates
2. Microscopic examinations.

Once that is done transfer the bacterial inoculums to fermenter through the inoculum's port.

Leave to grow in the media within the fermenter for 2 days.

Check the bacterial growth and bacterial phase and the intensity of the growth after 2 days. It is always better to determine the nematode viability at this stage.

Inoculate 20 litre off Bacterial culture conc 3×10^7 cells to 500 litre fermenter.

c. Nematode inoculation: Surface-sterilised infective juvenile in sterile water and 1% formalin solution for 1 hr, wash with sterile water and let the nematode settle overnight in the sterile water overnight under the laminar air flow cabinet.

Temperature at time of nematode inoculation should be 26-28°C.

The volume of the nematode inoculum should be in the range of 5-10% of the culture volume.

e.g for 500 litre culture add 25 litre of Juveniles concentration of 2X10⁶.

Nematode are also pumped through the inoculum port.

d. Culturing Conditions within the fermenter: Initial pH 6.9-9.0, pH rise during the fermentation process.

Keep the air flow between 300litre /min

Keep Temperature between 25-28°C.

e. Nematode Harvesting: Centrifuge at 3000 for 3-5 min.

3. Isolation of the Symbiotic Bacteria:

Symbiotic bacteria will be isolated from the haemolymph of *Galleria mellonella* larvae infected with Specific nematode 24hr earlier by smearing on NBTA agar plate.

Pick one colony to be used in preparing 10 ml starter culture of in sterile Falcon tube and use the starter culture to inoculate 1000 ml flask of Nutrient Broth. Incubate at 28°C in a shaking incubator (at 150rpm).

Check the purity of the bacteria by:

1. Examining the colony morphology
2. Smearing on NBTA plates
3. Microscopic examinations

4. Preparation of NBTA (Nutrient Bromothymol Agar) Plates:

37g of Nutrient Agar

1000ml of H₂O

25mg of Bromothymol Blue Powder

4 ml of filtrated 1% Triphenyl-tetrazolium Chloride solution

Autoclave at 121°C for 30 min allow to cool to 60°C then pour inside sterile plastic

Petri-plates (Laminar Air flow Cabinet).

5. Preparation of Nutrient Broth:

30 g of Nutrient Broth Powder

1000 ml of distilled water

Autoclave at 121°C for 30 min allow to cool to room temperature before inoculation with symbiotic bacteria.

Dr Sami A. Elawad

Alhamrania UAE

December 2004

كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي
المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية

كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي
المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية
في حفل افتتاح

الدورة التدريبية الإقليمية في مجال استخدام تقانات مكافحة الحيوية الحديثة كعنصر أساسي في
الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط)
مركز المشروع بالحرانية - دولة الإمارات العربية المتحدة
1/21 - 2005/2/10 والتي أقيمت نيابة عن معاليه

معالي الأستاذ سعيد بن محمد الرقباني المحترم

وزير الزراعة والثروة السمكية بدولة الإمارات العربية المتحدة

الأخوات والإخوة المشاركون في الدورة

السيدات والسادة الحضور

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته،

يسعدني أن أرحب بكم أصالة عن نفسي ونيابة عن معالي الدكتور سالم اللوزي المدير العام
للمنظمة العربية للتنمية الزراعية في حفل افتتاح " الدورة التدريبية الإقليمية في مجال استخدام تقانات
المكافحة الحيوية الحديثة كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة سوسة النخيل الحمراء
في الشرق الأوسط) " والتي تنفذها المنظمة العربية للتنمية الزراعية بالتعاون مع وزارة الزراعة
والثروة السمكية بمقر المشروع بالحرانية بدولة الإمارات العربية المتحدة.

تعتبر هذه الدورة هي الأولى في نطاق مشروع نقل تقانة مكافحة الحيوية كعنصر أساسي في
الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط (المرحلة الثالثة)
والذي تنفذه المنظمة العربية للتنمية الزراعية بدعم من الصندوق العربي للإنماء الاقتصادي
والاجتماعي، صندوق الأوبك للتنمية الدولية، البنك الإسلامي للتنمية، الهيئة العربية للاستثمار والإنماء
الزراعي والصندوق الدولي للتنمية الزراعية (إيفاد)، في الدول التسع المشمولة بالمشروع وهي دولة
الإمارات العربية المتحدة، سلطنة عُمان، دولة قطر، المملكة العربية السعودية، مملكة البحرين، دولة
الكويت، المملكة الأردنية الهاشمية، دولة فلسطين والجمهورية اليمنية.

مع بداية عصر العولمة والمحاولات العالمية الجديدة لتطبيق الاتفاقيات الدولية بوقاية النباتات،
كان لا بد من التنسيق والتعاون بين الدول العربية لمحاولة تلافي الآثار السلبية التي قد تنجم عن استيراد
نباتات أو أجزاء نباتية من دول أخرى وخاصة ما يتعلق منها بانتشار الآفات الحشرية والأمراض
النباتية وانتقالها عبر الحدود. ومن الأمثلة عن دخول آفات غريبة إلى المنطقة العربية هي سوسة النخيل
الحمراء التي دخلت دولة الإمارات العربية المتحدة من جنوب شرق آسيا في منتصف الثمانينات

وإحدى ثت أضراراً بالغة بالنخيل سواء في الإمارات أو في دول خليجية أخرى وامتدت لتصل إلى دولة فلسطين والمملكة الأردنية الهاشمية وجمهورية مصر العربية وما زالت بعض هذه الدول تعاني من الآثار المدمرة لهذه الآفة. ونتيجة لسهولة انسياب المواد الزراعية وسرعة التنقلات بين الدول فقد زاد تواجد هذه الآفة تعقيداً وأصبحت تهدد دول أخرى في الشرق الأوسط وبعض الدول الأوروبية، وأصبح من الصعب على دولة وإحدى القيام ببرنامج وقائي بمعزل عن الدول المجاورة، لذا كان لا بد من تضافر كافة الجهود العربية لمنع دخول هذه الآفات إلى المنطقة العربية.

تمثل شجرة النخيل مورداً اقتصادياً مهماً في معظم الدول العربية كما أن لها بالغ الأثر في الحفاظ على البيئة من مخاطر التصحر. وكما تعلمون تواجه هذه الشجرة المباركة مخاطر عدة في المغرب والشرق العربي. وتشكل سوسة النخيل الحمراء في المشرق العربي أهم المخاطر التي يواجهها النخيل في الدول العربية المنتجة للتمور لسهولة انتشارها وقابليتها العالية لإصابة كافة أصناف النخيل في المنطقة. وبالرغم من الجهود المبذولة على الساحة العربية لمكافحة هذه الآفة والتي أسفرت عن نتائج إيجابية في معرفة المسبب المرضي وخصائصه والتربة الملائمة لنموه والأصناف المقاومة وإجراءات المتابعة والوقاية، فمازالت الحاجة ملحة إلى الأبحاث حول تقانات المقاومة والتحصن المبكر عن تواجد الآفة في الدول المنتجة للنخيل من غير دول الخليج العربية.

وفي نطاق حرص المنظمة العربية للتنمية الزراعية على مكافحة هذه الآفة التي تهدد واحات النخيل بالشرق الأوسط، فقد قامت المنظمة بتنفيذ المشروع الإقليمي للمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء وحفارات الساق والجذور باستخدام النيما تودا الممرضة للحشرات وغيرها من وسائل مكافحة الحيوية الأخرى في دول مجلس التعاون لدول الخليج العربية وبمرحلتيه الأولى والثانية خلال الفترة 1997 - 2002. وحالياً تنفذ المنظمة المرحلة الثالثة للمشروع ولمدة عامين تحت عنوان مشروع نقل تقانة مكافحة الحيوية كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط (المرحلة الثالثة). وكذلك قامت المنظمة ومنذ عام 2002 بتنفيذ مشروع آخر في جمهورية مصر العربية وتحت عنوان مشروع مكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء وحفارات الساق والجذور بجمهورية مصر العربية إضافة لحشرة سوسة النخيل الحمراء فإن المنظمة قد باشرت هذا العام بتنفيذ المشروع الإقليمي البحثي للكشف المبكر عن مرض البيوض على النخيل وتطوير تقانات مكافحته في البلدان المصابة ومنع إنتشاره إلى الدول الأخرى.

وكما تبدو الحاجة ملحة لتدريب الكوادر الفنية العاملة بالمشروع على عمليات رصد وتشخيص ومكافحة سوسة النخيل الحمراء والوقاية منها بعوامل مكافحة البيولوجية، تمت برمجة دورات تدريبية إقليمية وقطرية ضمن مكونات المشروع. وتمثل هذه الدورة التي نفتتح على بركة الله، فعاليتها اليوم الدورة الإقليمية الأولى في نطاق المرحلة الثالثة للمشروع.

معالي الوزير،

السيدات والسادة،

يسرني بدايةً أن أتقدم بوافر الشكر وعظيم التقدير إلى دولة الإمارات العربية المتحدة قياداً وحكومةً وشعباً لاستضافتها الدورة وبالشكر الجزيل للصندوق العربي للإنماء الاقتصادي والاجتماعي على تمويل المرحلة الحالية للمشروع كما حصل في المراحل السابقة، متمنين من الجميع دعم هذه المرحلة ليرى هذا المشروع النور.

وأسمح لي أن أتقدم نيابة عن الدكتور سالم اللوزي المدير العام بجزيل الشكر والتقدير لمعالي أخي الأستاذ سعيد بن محمد الرقباني وزير لزراعة والثروة السمكية بدولة الإمارات العربية المتحدة على تكريمه برعاية هذه الدورة وتشريفه للجلسة الافتتاحية وتسهيل عدها في دولة الإمارات، ونحن نقدر لمعاليه اهتمامه بالمنظمة ودعمه لها وتشجيعه المستمر. ويسعدني أن اعبر كذلك عن خالص مشاعر الامتنان والتقدير لمعالي الأستاذ عبد اللطيف يوسف الحمد رئيس مجلس الإدارة والمدير العام للصندوق العربي للإنماء الاقتصادي والاجتماعي على دعمه المقدر للمشروع وعلى مساندته المتواصلة لمشاريع المنظمة التنموية في الوطن العربي.

والشكر موصول إلى معالي وزراء الزراعة العرب على استجابتهم لإشراك وزاراتهم الموقرة في هذه الدورة وإلى المنسق الإقليمي للمشروع وخبراء المشروع والمحاضرين على مشاركتهم في التنظيم وتأمين المادة التدريبية لهذه الدورة. كما أتقدم بالثناء والشكر لكل القائمين على تنفيذ هذه الدورة ولمركز المشروع بالحرمانية على احتضانه لها.

كما يسعدني أن أرحب بالأخوات والإخوة المشاركين من الدول العربية متمنياً لهم طيب الإقامة في بلدهم الثاني الإمارات العربية المتحدة والتوفيق والنجاح في أعمالهم .

كما تعلمون فإن هذه الدورة تهدف إلى تأهيل الكوادر الفنية وإكساب المشرفين على وقاية النخيل من الأمراض والآفات في الدول العربية المستفيدة من المشروع، وتشمل مهارات في مجال تقانات مكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء والوقاية منها، كما ستمكن المشاركين، ونحن في دولة الإمارات العربية الشقيقة، من نشر التجربة الخليجية وبالأخص الإماراتية على مستوى المختبر والميدان في دراسة السوسة ومكافحتها.

نأمل أن تكون مشاركتكم فاعلة وأن تحصل الاستفادة حتى تتمكنوا من المشاركة في تنفيذ مكونات المشروع بالتنسيق مع المنسقين القطريين للمشروع في بلدانكم الشقيقة.

وفي الختام أجدد الشكر والتقدير لدولة الإمارات العربية المتحدة على استضافتها لهذه الدورة وإلى معالي الأستاذ وزير الزراعة والثروة السمكية على حسن الاستقبال والتنظيم وأتمنى للمشاركين كل التوفيق والنجاح في أعمال الدورة والخروج بنتائج تدعم وضع النخيل في واحاتنا العربية الجميلة. والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته.

قائمة بأسماء المشاركين

أسماء المشاركين بالدورة التدريبية الإقليمية الأولى في مجال استخدام تقانات مكافحة الحيوية الحديثة كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط بمركز المشروع بالبحرانية - دولة الإمارات العربية المتحدة خلال الفترة

2005/2/3 - 1/29

الهاتف / الفاكس	عنوان العمل	الاسم
هاتف 0096265686151 فاكس 0096265650920	وزارة الزراعة - مديرية وقاية النبات. بالمملكة الأردنية الهاشمية.	1. م. فداء علي الروابدة / المنسق الوطني للمشروع
هاتف 0096264726201 فاكس 0096265650920		2. م. خليل "محمد سلامة" عمرو / مختبر وقاية النبات.
هاتف 0096279363297 فاكس 0096265650920		3. م. عماد "محمد عيد" العوض / مختبر سوسة النخيل الحمراء
هاتف 0097022322425 فاكس 0097022321280	وزارة الزراعة - أريحا / دولة فلسطين	4. م. إبراهيم حمدان عبد المجيد 5. م. جعفر عبد الكريم داود صلاحيات
هاتف 009745849895 فاكس 009744676148	وزارة شؤون البلديات والزراعة / دولة قطر	6. السيد محمد سالم البكري - إدارة التممية الزراعية.
هاتف 009745000605 فاكس 009744676148		7. السيد عبد الله بوشايح - إدارة التممية الزراعية بدولة قطر.
هاتف 0096638361214	المنطقة الشرقية / القطيف - وزارة الزراعة / المملكة العربية السعودية	8. عمر عيسى آل مهنا 9. طارق سعد الجميعة
هاتف 00977691251	وزارة شؤون البلديات والزراعة / مملكة البحرين	10. السيد/ عبد الله إبراهيم أحمد (فني زراعي). 11. السيد عدنان مجيد كاظم (مرشد

الهاتف / الفاكس	عنوان العمل	الاسم
		زراعي).
هاتف 0096755055 فاكس 00967403187	محطة بحوث شؤون الزراعة / حضرموت / الجمهورية اليمنية	12.م. خالد أحمد الحبشي / المنسق الوطني للمشروع.
هاتف 009677386721	الهيئة العامة للبحوث والإرشاد الزراعي/ تهامة/ الجمهورية اليمنية	13.م. إبراهيم المقبح / إختصاصي حشرات محطة بحوث تهامة.
هاتف 0096771910215	الهيئة العامة للبحوث الزراعية/ الحديدة/ الجمهورية اليمنية	14.م. شائف علي عبدة / إختصاصي حشرات محطة بحوث تهامة.
هاتف 00968999436779 فاكس 00968507430437	وزارة الزراعة والثروة السمكية / سلطنة عمان	15.المهندس/ عبد الحميد بن مولى بخش بن مياه الزدجالي (مهندس إرشاد).
هاتف 00968993568945 فاكس 00968893096		16.الفاضل/ أنور بن يوسف بن مبارك اليوسعيدي (فني بحوث زراعية).
هاتف 00965946709	قسم البحوث والمشائل / الهيئة العامة للزراعة / دولة الكويت	17.جاسم سيد محمد القلاف
هاتف 009656222421 فاكس 009653625873		18.بسام محمد علي الحربي
هاتف 009714844351 فاكس 0097172436119	وزارة الزراعة والثروة السمكية/ دولة الإمارات العربية المتحدة	19.المهندس علي شمبية شهاد - فني المصايد الحقلية والدراسات التطبيقية.
هاتف 0097172436116 فاكس 0097172436119		20.المهندس صلاح عبد الله موسى - فني نيماتودا ممرضة
هاتف 00971504892233 فاكس 0097172436119		21.المهندس سعيد علي العواش - فني نيماتودا ممرضة
هاتف 00971505809696 فاكس 0097172436119		22.المهندس علي حارب البثرة - فني إكتار فطريات ممرضة