الدورة التدريبية الإقليمية الثانية
في مجال نقل التقانة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل
الدوحة – دولة قطر
خلال الفترة 18-2006/6/22

الخرطوم ديسمبر (كانون أول) 2006

التقديـــــم

تقديم

يحتل قطاع ثروة النخيل أهمية خاصة ويحظى باهتمام كبير لدى الأقطار العربية انطلاقاً من أهميته الاقتصادية والاجتماعية والبيئية ولاعتماد معظم السكان الزراعيين في المنطقة على نخيل التمر بشكل أساسي كمصدر للغذاء والدخل وأسلوب الحياة.

وتعتبر حشرة النخيل الحمراء من الآفات الرئيسية لأشجار نخيل التمر في المنطقة العربية وتسبب الإصابة بهذه الآفة أضراراً بالغة في بساتين نخيل التمر ونقصاً كبيراً من المحصول كماً ونوعاً وتدهور شديد في عمر الأشجار. وتعتبر تقنيات مكافحة الآفات من العمليات الاقتصادية المهمة.

ومن الأهمية بمكان أن تحتل ثروة النخيل مساحة كبرى من خطط واستراتجيات تنمية هذه الثورة في المنطقة العربية وكذلك بالمنظمة العربية للتنمية الزراعية.واستمراراً للجهود المبذولة في مكافحة آفة سوسة النخيل الحمراء أدرجت المنظمة مشروعاً لنقل تقانة المكافحة الحيوية كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة هذه الحشرة في الشرق الأوسط. وتمثل هذه الدورة الإقليمية الحالية في مجال نقل التقانة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل أحد مكونات هذه المشروع حيث تهدف إلى تأهيل الكوادر الوطنية العاملة بالمشروع وإكسابهم الخبرة في مجال نقل وتطبيق تقانة المكافحة الحيوية في الحقل والمختبر باستخدام الحزم الحيوية لمكافحة هذه الآفة من خلال عزل الفطريات والنيماتودا الممرضة للحشرة وكيفية تحضير المعلقات الزيتية والمائية المستخدمة في المكافحة.

والمنظمة إذ تقدم مادة هذه الدورة للباحثين والدارسين العرب، تأمل أن يجدوا فيها ما يحتاجونه من المعارف التطبيقية في هذا المجال الحيوي الهام.

سائلين الله العلى القدير أن يوفقنا جميعاً إلى ما فيه الخير لأمتنا العربية.

والله ولي التوفيق

الدكتور سالم اللوزي

المدير العام

المحتويـــــات

المحتويات

الموضـــــوع	رقم الصفحة
تقديـــم	أ
المحتويات	ب
المحاضرات :	
- جهود المنظمة العربية للتنمية الزراعية في تنمية قطاع النخيل وبخاصة في مجال حمايتها من الأمراض والآفات	1
- بيولوجيا سوسة النخيل الحمراء	8
- الأسس البيئية لمكافحة الآفات	20
- النشاط الموسمي لحشرة سوسة النخيل الحمراء وعدد الأجيال الحقلية	25
- دور الفيرمونات من مكافحة المزروعات	29
- التقنيات العلمية لدراسة الفطريات الممرضة للحشرات	45
- ميكانيكية الإصابة بالفطريات الممرضة للحشرات	70
- Introduction to Entomopathogenic Nematology	84
- Basic Biology & Entompopathogenic Nematodes	96
الكلمات	
- كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية في حفل الإفتتاح	118
- كلمة نيابة عن معالي الشيخ عبدالرحمن بن خليفة بن عبدالعزيز آل ثاني وزير الشؤون البلدية والزراعة بدولة قطر	121
- كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي المدير العام للمنظمة في حفل ختام الدورة	122
- كلمة سعادة عبدالله صفر عبدالله الخنجي مدير إدارة التنمية الزراعية بوزارة الشؤون البلدية والزراعة بدولة قطر	124
كشف بأسماء المشاركين في الدورة	126

المحاضـــــــرات

جهود المنظمة العربية للتنمية الزراعية
في تنمية قطاع النخيل وبخاصة في مجال حمايته
من الأمراض والآفات في الدول العربية

تقديم

د. كوثر أحمد عوض

جهود المنظمة العربية للتنمية الزراعية
في تنمية قطاع النخيل وبخاصة في مجال حمايته من الأمراض والآفات

مقدمة :

من المعروف أن النخلة هي شجرة المنطقة العربية ، فيها نشأت وفيها مارس الإنسان معظم العمليات الزراعية الخاصة بها خلال فترة إمتدت إلى ما لا يقل عن 6000 سنة ، وقد كان للعرب فضل إنتشارها في كل المناطق الصالحة لزراعتها في العالم العربي بل ونقلها إلى ما وراء البحار إلى أقطار أخرى خارج العالم العربي حيث لا تزال الأصناف العربية هي السائدة في مناطق الزراعة الحديثة حتى يومنا هذا . فالنخلة لم تكن مجرد شجرة يُنتفع بثمارها بل كانت محور الحياة ، فقد كانت مصدراً للمأكل والمسكن والدخل المادي فبالنخلة يحيا الإنسان العربي ، وتعرف النخلة في المنطقة العربية بالشجرة المباركة حيث تعدد ذكرها في القرآن الكريم والأحاديث النبوية مما يشير إلى ما كان لها من أهمية وبخاصة في تلك الحقبة التاريخية للمنطقة العربية وفي حاضرها كذلك.

1- الأهمية الإقتصادية للتمور في الوطن العربي :

تحتل زراعة نخيل التمر في الوطن العربي مكانة اقتصادية عالية حيث يعتبر التمر من أهم المحاصيل التصديرية لمعظم الأقطار العربية ويقدر إنتاج التمور في الوطن العربي وفق الإحصاءات الزراعية العربية (الكتاب السنوي مجلد 233) بحوالي 4951.14 ألف طن تحتل فيها كل من مصر ، العراق ، السعودية والإمارات المرتبة الأولى من الإنتاج وتحتل المرتبة الثانية الجزائر ، السودان ، سلطنة عُمان ، ليبيا وتونس ثم تأتي في المرتبة الثالثة بقية الدول العربية الأخرى.

ويقدر صادر التمور في الوطن العربي بحوالي 327.85 طن بقيمة 180.46 مليون دولار.

2-آفات نخيل التمر :

يتعرض نخيل التمر للإصابة بكثير من الآفات الحشرية والاكاروسية والنيماتودية والمرضية والطيور والخفافيش والقوارض والأعشاب ، ويصل الفاقد من ثمار البلح نتيجة للإصابة بالآفات ما يزيد على 35% وتعتبر تقنيات مكافحة الآفات من العمليات الإقتصادية الهامة التي تؤثر على زراعة النخيل وإنتاج التمور. ويتجه مزارعو النخيل في إنحاء 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 في عمليات الخدمة المختلفة وإنتخاب الأصناف الجديدة بل لا بد أن يصاحبها وعي تام مع تنفيذ دقيق لعناصر مكافحة الآفات التي يتعرض لها نخيل التمر حيث تسبب الإصابة بالآفات نقصاً كبيراً من المحصول كماً ونوعاً وتدهوراً شديداً في عمر الأشجار . وتتعرض النخلة للإصابة بجميع إجزائها بالآفات وقد تم تسجيل عدد 103 آفة تصيب النخيل في العالم العربي . وقد يكون الواقع أكثر من ذلك حيث إن عمليات حصر وتسجيل آفات النخيل والتمور ما زالت مستمرة وتحتاج إلى إهتمام كافٍ. **وعلى سبيل المثال لاالحصر:**

(أ) حشرات نخيل التمر:

- سوسة النخيل الحمراء.
- الخنافس وحيدة القرن.
- حفارات الساق ذو القرون الطويلة.
- خنفساء طلع النخيل.
- خنفساء الجريد.
- دباس النخيل.
- الحشرة القشرية (البيضاء، الخضراء، المستطيلة ،الحمراء).
- البق الدقيقي(العملاق،الارضي).
- العناكب.

(ب) الأمراض الفطرية:

- خياس طلع النخيل (الخامج أو الهرس).
- التفحم الكاذب.
- البلعت.
- الدبلوديا.
- المجنونة (اللفحة السوداء).
- البيوض (الذبول الوعائي).
- البيوض الكاذب.

(ج)الأمراض الفسيولوجية

- مرض انحناء الرأس.
- مرض شذوذ القمة.

- ذبول وتساقط الثمار

3- جهود المنظمة في المكافحة المتكاملة لآفات وأمراض النخيل :

لقد إهتمت المنظمة العربية للتنمية الزراعية منذ إنشائها بتنمية وتطوير إنتاج نخيل التمر وانعكس هذا الإهتمام 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 النخيل بمختلف أنواعها الميكانيكية ، الزراعية ، الحيوية ، الكيميائية والتشريعية الخاصة بتطبيق إجراءات الحجر الزراعي الصارمة لدرء الخطر ولحماية هذه الثروة.

كما قامت المنظمة خلال السنوات السابقة بتنفيذ مجموعة كبيرة من الأنشطة التي تستهدف تحسين أوضاع الأمن الغذائي وبما يحقق زيادة الإنتاج والإنتاجية في الغذاء وتعزيز إمكانية التجارة والتسويق إضافة إلى تسيير وتنشيط حركة التجارة البينية بين الدول العربية دعماً لمقومات الأمن الغذائي العربي.

ووجهت المنظمة جهوداً مكثفة للمحافظة على هذه الشجرة المباركة وتنمية إنتاج التمور إدراكاً منها للمكانة التي تحتلها هذه الثروة وأهميتها الإقتصادية والإجتماعية والبيئية ولقد أبدت المنظمة إهتماماً بالمشروعات التنموية في مجالات المكافحة المتكاملة لآفات النخيل منذ فترة حيث نجحت في إستقطاب الإهتمام والتمويل اللازم لتنفيذ مشروعات تنموية مشتركة بالتعاون مع مؤسسات وصناديق إنمائية تمويلية وأعدت الدراسات والبحوث في هذا المجال بالإضافة إلى تأهيل عدد لا يستهان به من الكوادر الفنية البيطرية وما قدمته من إستشارات فنية نستعرض بعضاً منها:

3-1 جهود المنظمة في مجال تنفيذ المشروعات :

تضطلع إدارة المشروعات كأحد 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 (المشتركة) على المستويين القومي والإقليمي بالإضافة إلى القطري دعماً ومساندة للجهود التي تبذلها الدول الأعضاء في المجالات الأربعة وهي الخدمات الزراعية ، نقل وتوطين التقانات الحديثة ، الموارد الطبيعية وحماية البيئة ، الأمن الغذائي والإحصاء والمعلومات.

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

المشروعات الإقليمية المشتركة:

(1) المشروع الإقليمي للمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء وحفارات الساق والبذور بإستخدام النيماتودا الممرضة للحشرات وغيرها من وسائل المكافحة الحيوية الأخرى في دول التعاون الخليجي:

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

(2) المشروع الإقليمي البحثي للكشف المبكر عن مرض البيوض على النخيل وتطوير تقانات مكافحته :

يهدف المشروع إلى حماية أشجار النخيل من مرض البيوض ورفع إنتاجية التمور وتحسين دخول المزارعين ، الحد من تراجع زراعة النخيل وإيقاف الزحف الصحراوي ، المحافظة على النظم المزرعية المستدامة القائمة حول شجرة النخيل ومنع إندثار النظام البيئي للواحات العربية . يضم المشروع 15 دولة عربية وتبلغ موازنة المشروع 1199 ألف دولار.

(3) مشروع نقل تقانة المكافحة الحيوية كعنصر أساسي في الإدارة المتكاملة للآفات لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط (المرحلة الثالثة) :

يهدف المشروع لتصميم وإختيار نظام للمكافحة المتكاملة للآفات يكون ملائماً ، مستداماً بيئياً ، ناجحاً اقتصادياً ومحدداً مكانياً بالإستفادة من التقانات الحيوية الحديثة المتضمنة إصطياد الحشرات وإطلاق الكائنات الممرضة المحلية من الفطريات والنيماتودا بالإضافة إلى الإجراءات المحلية الخاصة بالنظافة والعمليات الفلاحية بطريقة متسقة ، إجراء دراسات سمية بحثية واستكمال متطلبات التسجيل للمبيدات الحيوية المطورة بالمشروع ، نقل وتوطين تقانات المكافحة الحيوية المتكاملة بالتعاون الوثيق مع جهاز الإرشاد الزراعي والمزارعين ودراسة أثر التقانات على مزارع نخيل التمر. يضم المشروع 9 دول عربية وتبلغ موازنة المشروع 2241 ألف دولار.

(4) مشروع للمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء وحفارات الساق والبذور باستخدام النيماتودا الممرضة للحشرات والفطور وغيرها من وسائل المكافحة الحيوية في جمهورية مصر العربية:

يهدف المشروع إلى استنباط ونقل وتوطين التقانات المطورة بالمشروع الاقليمي للمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء الخليجي إلى مزارع النخيل بمصر لاستخدامها في مكافحة سوسة النخيل الحمراء، ورفع مستوى تأهيل وقدرات الكوادر الفنية المصرية في مجال التقانات الحديثة للمكافحة الحيوية للحشرات ودعم الأجهزة الخاصة بتوعية وإرشاد المزارعين الوطنية وتبلغ الموازنة العامة للمشروع 651.1 ألف دولار.

(5) مشروع المكافحة المتكاملة للحشرة القشرية الخضراء على نخيل التمر بجمهورية السودان:

يهدف هذا المشروع إلى تصميم وإختيار نظام للمكافحة المتكاملة للآفات يكون ملائماً ، مستداماً بيئياً، ناجحاً إقتصادياً ومحدداً مكانياً بالإستفادة من التقانات الحيوية الحديثة المتضمنة إطلاق الأعداء الطبيعية من المفترسات والمتطفلات بالإضافة إلى استخدام كل من المكافحة الكيماوية والميكانيكية وتنفيذ قوانين الحجر الزراعي بحزم، و نقل وتوطين تقانات المكافحة الحيوية المتكاملة بالتعاون مع الأجهزة الوطنية والمزارعين على مزارع النخيل ، رفع قدرات الكوادر الفلاحية المشاركة في العمل الحقلي بالمشروع في مجال التعامل مع التقانات المعنية في الحقل ومع الفلاحين، تعزيز الصلات بين البرامج الوطنية في السودان وبين المؤسسات المتقدمة الإقليمية والدولية التي تعمل في نفس المجال وتبلغ الموازنة العامة للمشروع 2229 ألف دولار

المشاريع القطرية :

1- مشروع تطوير نخيل التمر بالإمارات.
2- مشروع تحسين وإكثار شجرة النخيل بالسودان.
3- مشروع تطوير وتحسين زراعة النخيل وإنتاج التمور بالإمارات.
4- مشروع المساهمة في بحوث بستنة النخيل بسلطنة عمان.
5- مشروع المكافحة الحيوية للآفات الزراعية بالكويت.
6- مشروع المكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء بمصر.
7- مشروع إدخال بعض التقانات الحديثة في زراعة النخيل وإنتاج التمور بالإمارات.
8- مشروع دعم الجهود القطرية في مجال إكثار النخيل بإستخدام تقانات زراعة الأنسجة بدولة قطر.

9- مشروع مكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء (الهندية) بسلطنة عُمان.
10- المشروع الرائد لمكافحة الحشرة القشرية الخضراء على نخيل التمر بالسودان.
11- مشروع الحزم التقنية للنخيل بالمملكة المغربية.

جهود المنظمة في مجال التنمية البشرية :

في إطار إستراتيجية عمل المنظمة العربية للتنمية الزراعية الإهتمام بتأهيل وتدريب ورفع القدرات التكنولوجية للكوادر الوطنية وتنظيم اللقاءات 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 :

- الدولة التدريبية القومية حول إنتاج فسائل النخيل بإستخدام تكنولوجيا زراعة الأنسجة – القاهرة 1996.
- الدورة التدريبة القومية حول زراعة الأنسجة وإنتاج فسائل النخيل السليمة والتعرف على أمراض النخيل وسبل مقاومتها بالرباط 1988.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل – الدوحة 1997.
- الدورة التدريبية القطرية حول آفات النخيل الهامة وسوسة النخيل الحمراء - الإمارات 1997.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل – السعودية 1994.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل - السعودية 1996.
- الدورة التدريبية القطرية حول المكافحة المتكاملة للآفات وأمراض النخيل – السعودية 1999.
- الدورة التدريبية القطرية حول مكافحة آفات وأمراض النخيل – سلطنة عُمان.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال أنسجة نخيل التمر – الدوحة 1997.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال تقنيات التمور بعد الجني - الإمارات 1997.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال زراعة النخيل – نواكشوط 1996.
- الدورة التدريبية القطرية في مجال وإنتاج النخيل – بغداد 1996.
- الندوة الإقليمية حول مرض البيوض في النخيل لدول المغرب العربي – تونس 1995.
- الندوة القومية حول إكثار ورعاية النخيل في الوطن العربي – العين 1988.

3-3 جهود المنظمة في مجال الأنشطة الدراسية والبحثية :

أعدت المنظمة الدراسات البحثية التالية :

- دراسة تحسين زراعة النخيل وتطوير صناعة التمور وصناعة النارجيل – سلطنة عُمان – 1997.

- دراسة تنمية وتطويل النخيل – ليبيا 1979.
- تقرير فني عن إمكانية تطوير زراعة النخيل – سوريا 1985.
- دراسة تشجيع استخدام المكافحة المتكاملة للحد من تلوث البيئة في الوطن العربي1999.
- دراسة تطوير إنتاج وتصنيع وتسويق التمور والاستفادة من مخلفاتها في الوطن العربي 2003.

4-3 الإنجازات التي حققتها المنظمة في مجال التعاون الفني :

(1) إستشارة علمية في مجال إنتاج فسائل النخيل المرستيمية بالأردن.
(2) إستشارة علمية في مجال زراعة أنسجة النخيل بالبحرين.
(3) إستشارة علمية في مجال وقاية النخيل بفلسطين.
(4) إستشارة علمية في مجال النظم الخبيرة في النخيل بالإمارات.
(5) إستشارة علمية في مجال مكافحة آفات النخيل بالسودان.
(6) إستشارة علمية في مجال إكثار النخيل بواسطة زراعة الأنسجة بالبحرين.
(7) إستشارة علمية في مجال التقانات الحديثة لزراعة الشتول النسيجية للنخيل بالبحرين.
(8) إستشارة علمية في مجال الزراعة النسيجية للنخيل بالبحرين.
(9) إستشارة علمية في مجال زراعة الأنسجة النباتية بالكويت.

محاضرات الدكتور جمال حجازي

خبير الفطريات الممرضة للحشرات – مركز القطيف

المملكة العربية السعودية

بيولوجيا سوسة النخيل الحمراء
Rhynchophorus ferrugineus Oliv

العوائل النباتية لسوسة النخيل :

كل أنواع النخيل المعروفة يحتمل أن تكون مناسبة لنمو وتطور كل أطوار سوسة النخيل الحمراء والتي تنتشر على أنواع النخيل التالية :

نخيل جوز الهند	*Cocos nucifera*
نخيل البلح	*Phoenix dactylifera*
نخيل الساجو	*Metroxylon sagu*
النخيل البري	*Phoenix sylvestris*
نخيل البالميرا	*Boassus guineenis*
نخيل الزيت الأفريقي النخيل الملوكي	*Oredoxa regia*
نخيل التالبوت	*Corypha sacharifera*
نخيل السكر	*Areng sacharifera*
نخيل السيدانج	*Livistonia cochinichinensis*
نخيل النجبونج	*Oncosperma tigillaria*

كما ورد في تقارير عديدة إن الحشرة تصيب أنواع أخرى عديدة من أشجار النخيل كما لا حظ leafmans (1920) تربية الحشرة على النفايات ومخلفات نخيل الساجو .كما سجل عام (1952) salgado وجود سوسة النخيل الحمراء على منطقة التاج المتحللة لأشجار نخيل جوز الهند في سيلان ، وتتساوى التربية على النخيل الحي مع ذلك المنزوع منه القمة النامية

التوزيع *Distribution*

تعتبر سوسة النخيل الحمراء Rhynchophorus ferrugineus من الآفات الخطيرة على معظم أنواع أشجار النخيل في العديد من بلدان العالم . فقد وصفها Gosh عام 1923 كآفة لنخيل جوز الهند وأشجار النخيل أخرى في بورما كما سجل leafmans عام (1920) وجود الحشرة في كل انحاء اندونيسيا، كما سجلت الحشرة كآفة خطيرة جداً على نخيل جوز الهند في الفلبين وقد ذكر Copeland عام 1936 أن الموطن الأصلي للحشرة هي الهند ثم انتشرت إلى الفلبين ثم غينيا الجديدة ثم إلى الشرق الأمريكي ، كما سجل Buxton عام 1918 وجود الحشرة على نخيل التمر بالعراق مسببة أضراراً خطيرة .

ونظراً لانتشار زراعة النخيل في المنطقة العربية وبصفته المحصول الرئيسي في الجزيرة العربية ومع نشاط حركة التجارة وتبادل السلع وأنواع النباتات فقد اكتشفت الحشرة لأول مرة على اشجار النخيل بدولة الإمارات العربية المتحدة عام 1985 ويعتقد ان مصدرها فسائل مصابة بالآفة واردة من باكستان أو الهند ثم ظهرت لأول مرة بأحد مشاتل فسائل النخيل بمنطقة القطيف بالمملكة العربية السعودية سنة 1987 ومنها انتشرت إلى العديد من مناطق المملكة وبقية دول الخليج ثم في الجمهورية الإسلامية الإيرانية عام 1992 كما أنها عبرت البحر الأحمر إلى شمال أفريقيا مع بعض الفسائل المصابة الواردة من دولة الإمارات حيث ظهرت لأول مرة بالمنطقة الشرقية من جمهورية مصر العربية عام 1993 ثم المملكة الأردنية عام 1998م.

طريقة التواجد و العادات:

تشير التقارير إلى أن حشرة سوسة النخيل الحمراء Rhynchophorus ferrugineus Olive في كل مناطق زراعة النخيل وفي العديد من البلدان غير متجانسة في توزيعها بسبب سلوكها حيث تميل الحشرة إلى التجمع بأعداد كبيرة في آباط السعف أو أماكن فصل الفسائل التي يتم تغطيتها وذلك بفعل تأثير فيرمون التجمع الذي تغرزه ذكور الحشرة. وعندما تطير الحشرات خارج الجذع بحثاً عن أشجار نخيل جديدة فيكون ذلك بصورة فردية وقد تشاهد أكثر من حشرة واحدة تنجذب إلى نفس شجرة النخيل. وتتكاثر الحشرة بأعداد كبيرة في زراعات نخيل جوز الهند الحديثة فقد تصيب كل الأشجار في مساحات كبيرة وتحدث أضراراً كبيرة وبشكل وبائي تعتبر منطقة التاج والجذوع والمنطقة المجاورة للتربة من أنواع النخيل هي البيئة الطبيعية لكل أطوار سوسة النخيل الحمراء بينما في الأشجار الكبيرة أو المسنة تنحصر الإصابة في منطقة التاج بينما النخيل الصغير تتركز الإصابة في المناطق السفلية من النخلة، وتوجد الأطوار المختلفة داخل جذع النخلة حيث تتكاثر وتعيد دورة حياتها مكونة عدة أجيال طالما توفر الغذاء داخل الجذع وتؤدي تغذية اليرقات إلى تجويف الجذع تماماً مما يؤدي إلى موت الأشجار.

وصف أطوار الآفة

البيض :Eggs

لونه أبيض كريمي ، بيضاوي مستطيل الشكل وعريض نسبياً من أحد الطرفين وذو سطح أملس تماماً ولامع ، متوسط الحجم ، الطول 62،2 مم ، العرض 12،1 مم (متوسط قياسات 50 بيضه) ويزيد البيض في الحجم قليلاً قبل الفقس ويمكن تمييز لون أجزاء الفم البنية في الطرف الضيق للبيضة من خلال القشرة ، و لا يمكن تمييز البيض غير المخصب من البيض المخصب خلال اليوم الأول وفي اليوم الثاني بدلاً من زيادة الحجم تبدأ البيضة في الذبول أو الضمور وفي اليوم الثالث يلاحظ التجعد على البيض غير المخصب .

اليرقة larva:

اليرقة مكتملة النمو ذات شكل مخروطي منبعجة في المنتصف ومسحوبة من كلا الطرفين واليرقة سميكة دودية عديمة الأرجل Apodous ويتكون الجسم من ثلاث عشرة حلقة، الرأس ذو لون بني خفيف منحنية لأسفل أجزاء الفم نامية جيداً ومغلظة بقوة تمكن اليرقة من الحفر في الأنسجة الخشبية الصلبة .

الصدر الأمامي كبير الحجم ويحمل زوجاً من البقع المستطيلة الشفافة والتي تكون أدكن لوناً من بقية أجزاء الجسم ، بقية الحلقات الأخرى من الجسم تكون طرية وغير مغلطة ولونها بني خفيف وتبدو اليرقة بأكلمها ذات لون كريمي لامع ، كما توجد مساحات صغيرة مستديرة ومبعثرة على الجسم لامعة وتخرج من كل منها شعيرة صغيرة . السطح العلوي للحلقة البطنية الأخيرة تكون مقعرة والحافة الخلفية عريضة ومغلطة ولها أربعة بروزات ويبرز من كل منها شوكتان أكثر طولاً وعلى كل جانب من الحافة الأمامية توجد أربعة بروزات متطاولة ذات لون بني ويحمل كل منها شعرتين .

والجلد متجعد فوق الجسم وتوجد تسعة أزواج من الثغور التنفسية تقع جانبياً . و المظهر الخارجي للسطح الظهري والبطني للجسم متشابهان تماماً ولكن تمييزها من العقلة البطنية الأخيرة . متوسط طول اليرقة الكاملة النمو 5 سم ومتوسط العرض في المنتصف حوالي 2 سم واليرقة حديثة الفقس ذات لون أبيض مصفر ولونه الفم بني فاتح ويتحول الرأس إلى اللون البني خلال ساعات و تحتاج اليرقات إلى بيئة رطبة حيث تقاوم اليرقات الغمر الكامل في الماء لأكثر من 48 ساعة.

التعذر :pupation

عندما تتجه اليرقات مكتملة النمو للتعذر تقوم اليرقات ببناء الشرنقة من الألياف حيث تكون الألياف الداخلية أكثر ارتباطاً ببعضها عن تلك الموجودة في الخارج و المرتبطة في نظام حلزوني ومقدمة الشرنقة أكثر نعومة وملتصقة بإفرازات داكنة ، و الشرنقة بيضاوية الشكل يختلف طولها من 5 سم إلى 9.5 سم وقطرها يتراوح بين 2.5- 4 سم و متوسط الطول عموماً 6 سم العرض 3سم . وتميل اليرقات المكتملة النمو إلى التعذر على جدران التجاويف التي تصنعها اليرقات نتيجة التغذية أو في قواعد الكرب خاصة في النخيل غير المكرب .

العذراء : pupa

العذراء غالباً في بدايتها ذات لون كريمي ثم تتحول مؤخراً إلى البني وسطحها لامع وشبكي ، الرأس منحنياً لأسفل تجاه ناحية البطن ويصل الخرطوم حتى ساق الزوج الأمامي من الأرجل ، قرنا الاستشعار والعيون بارزة واغماء الزوائد ملتصقة إلى الجسم والأجنحة الغمدية والأجنحة الخلفية تتدلى ناحية البطن وتمر تحت فخذ وساق الزوج الثاني من الأرجل وتتراكب مع الزوج الثالث من الأرجل وتلتصق في منتصف البطن ، على السطح الظهري للصدر يوجد أخدود طولي وعلى السطح الظهري للصدر الثاني يوجد بروز طولي يجري حتى نهاية البروز المثلث الخلفي للصدر الثالث كما توجد عدة شعيرات مبعثرة على الصدر تحمل منطقة البطن على جانب السطح الظهري سبعة أزواج من الثغور التنفسية على السبع حلقات البطنية الأولى ، الخمس أزواج الأولى من الثغور بارزة جداً وذات لون بني داكن كما يوجد زوج من الحواف الشفافة على الجوانب البطنية الظهرية لكل من حلقات البطن وعلى هذه الحواف توجد مجموعة من الأشواك المستدقة وعلى الحلقات (الاثنتين أو الثلاثة) البطنية الأخيرة فإن هذه الحواف ليست بارزة وتنتهي البطن بحافة داكنة نسبياً والتي تكون الحافة الخلفية للحلقة الثامنة وتغطي الحلقة التاسعة الصغيرة نسبياً . ومتوسط طول العذراء حوالي 3.5 سم و العرض 1.5 سم .

الحشرة الكاملة : Adult

الحشرة الكاملة لونها بني محمر والسوسة أسطوانية الشكل وذات خرطوم بارز طويل ومنحني وتختلف بدرجة كبيرة في الحجم وطولها في حدود 35مم وعرضها 12مم و الرأس والخرطوم يكونان ثلث طول الحشرة وعموماً تختلف طول السوسة من 25-45 مم . أجزاء الفم متطاولة على شكل خرطوم طويل وتحمل زوجاً صغيراً من الفكوك القارضة في النهاية وزوج من قرون الاستشعار عند قاعدته و الخرطوم بني محمر من السطح الظهري ومن السطح السفلي فهو بني مسود . في الذكور النصف الطرفي الظهري للخرطوم مغطى بفرشة من الشعر القصير المائل للبني وخرطوم الأنثى أملس وأكثر استدارة وتقوساً و أكثر طولاً ويتكون قرن الاستشعار من الذق و الشموخ والست عقل الأولى من

الشمراخ لونها بني داكن بينما العقلة الطرفية تأخذ الشكل الناقوسي و لونها برتقالي محمر العيون المركبة سوداء منفصلة على كل من جانبي قاعدة الخرطوم .

ترجة الصدر الأمامي لونها بني محمر وعليها بقعتان مستطيلتان في مركز الترجة وعلامة صغيرة على كل جانب من الأشرطة السوداء وهذة العلامات السوداء تختلف في الشكل والحجم ووضعها النسبي .

الأغماد لونها بني داكن ومخططة طولياً ولا تغطي البطن بأكملة والأجنحة بنية اللون و السوسة لها القدرة على الطيران القوي . الأرجل ذات لون بني مسود وعليها شعيرات ذات لون بني محمر من السطح الداخلي للفخذ و الساق والثلاث عقل الأولى من الرسغ . النهاية البطنية والتي يطلق عليها pygidium لونها أحمر وغالباً على حافته شعيرات بنية والتي تكون أكثر بروزاً في الإناث / آله وضع البيض حادة ومغلظة .

دورة الحيـــاة life cycle

عندما تكون الأنثى جاهزة لوضع البيض ، فإنها تختـــار المكـــان المناســـب بمســـاعدة قـــرون الاستشعار و الخرطوم وهي عبارة عن الأنسجة الغضة من جذع النخلة والتـــي تتمثـــل فـــي الشـــقوق الموجودة في القلف نتيجة تعرض الجذع إلى مياه الري المباشرة أو الأنسجة الغضة التي تتكشـــف بعـــد التكريب خاصة في أماكن الرواكيب أو الجروح الناتجة من الإصابة بحفارات الساق أو القوارض وبذلك تضمن الحشرة الكاملة توفر الرطوبة اللازمة لفقس البيض في هذة الأماكن والتي تفوح منهـــا رائحـــة الكيرمون التي تساعد في جذب سوسة النخيل إليها فأن الأنثى تحفر بواسطة الخرطـــوم ، ثـــم تســـتدير لتضع بيضة واحدة بواسطة آلة وضع البيض ، ثم تقوم الأنثى بغلق هذا التجويف بواسطة مادة شـــمعية ذات لون قرنفلي للحماية من أعدائه الطبيعية .

غالباً ما توجد بيضة واحدة بكل تجويف والتي تكون متجاورة لهذا فإن اليرقات حديثة الفقـــس لا تعاني من نقص الغذاء وقد يوضع البيض سائباً عندما تتوافر الرطوبة و المادة المتحللة في جذع نخيـــل الأشجار .

ويعتقد Corbett (1932) أن البيض المعرض يكون عرضة للافتراس بواسطة أفراد السوسة ، ولكن وجود أعداد كبيرة من البيض السائب (المعرض) حول الإناث البالغة في الأشـــجار المصـــابة لا يؤكد هذا الرأي وفي أقفاص التربية بالمعامل غالباً ما يتكرر وضع البيض ســـائباً فـــي وجـــود المـــادة المتحللة وقطع سيقان النخيل الرطبة ولا يؤكل البيض بواسطة أفراد السوسة .

وقد لوحظ وضع البيض سائباً على المواد وبقايا الغذاء المتحللة في حالة توفر الرطوبة بدرجـــة كافية أثناء تربية الحشرة بمعامل مشروع المكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء .

ومما سبق فإن السوسة عندما تضع البيض فإن ذلك يقتصر على الأجزاء الطرية مـــن النخيـــل وهناك اختلافات كبيرة في الآراء عن الأماكن التي يوضع بها البيض وتشير نتـــائج الدراســـات التـــي أجراها العديد من الباحثين إلى أن أنثى السوسة يمكنها وضع البيض على الأشجار الصحيحة و السلمية والأشجار صغيرة السن والتي يزيد عمرها عن سبع سنوات .

وقد أكدت الدراسات التي أجريت في إطار دراسات وتجارب مشروع المكافحة الحيوية لسوســـة النخيل أن الأشجار التي تتراوح أعمارها بين 6 – 10 سنوات هي الأكثر عرضة للإصـــابة وبعبـــارة أخرى هي الأعمار الأكثر جذباً لحشرة سوسة النخيل الحمراء .

فترة حضانه البيض : incubation period

تتفاوت فترة حضانه تفاوتاً كبيراً حسب درجات الحرارة والرطوبة المحيطة .

تعريف فترة الحضانة :

هي الفترة التي تمر بين وضع البيض وخروج اليرقات الحديثة من عند الفقس أوهي الفترة اللازمة لا كتمال النمو الجنيني .

وتتراوح فترة حضانة البيض لسوسة النخيل الحمراء بين 2 – 25 يوماً طبقاً لدرجات الحرارة المحيطة فقد وجد أن أطول فترة حضانه 21 – 25 يوماً على درجة حرارة 15 م و أقل فترة للحضانة كانت عند 30 – 35 يوماً مع رطوبة بين 90- 100% . وكانت درجة الحرارة المثلى لتحضين البيض بين 28 – 35 م مع رطوبة نسبة 90 – 100% .

تعريف الدرجة المثلى لتحضين البيض :

هي درجة الحرارة والرطوبة التي يفقس عندها البيض في أقل فترة زمنية وتكون عندها نسبة الفقس أعلى ما يمكن وهي ايضاً أنسب درجة حرارة للنمو الجنيني.

الحد الحرج للنمو والتطور : Threshold of development

تعريف : هي درجة الحرارة التي يتوقف عندها نمو أي طور في حالة انخفاض درجة الحرارة أو التي تبدأ عندها العمليات الحيوية داخل جسم الكائن وبالتالي النمو والتطور واذا انخفضت درجة الحرارة عن تلك الدرجة تتوقف جميع العمليات الحيوية داخل جسم الكائن الحي ويتوقف النمو .

Physiological zero / zero of development

كيف تقاوم الحشرات التأثيرات السلبية لانخفاض أو ارتفاع درجات الحرارة ؟

مما هو جدير بالذكر فإن صفر لأطوار الحشرة المختلفة (بيضة – يرقة – عذراء – حشرة كاملة) يتفاوت تفاوتاً طفيفاً للنوع الواحد . ويقدر صفر لطور البيضة في السوسة النخيل الحمراء بـ 14.8 م

الطور اليرقي : Larval stage

عندما يفقس البيض تبدأ اليرقات في التغذية في اتجاة قلب ساق النخلة ونتيجة التغذية تتحرك اليرقة ببطء من جانب إلى داخل تجويفها وفي الأنفاق التي تصنعها اليرقات فأنها لاتتغذى على الألياف الخيطية الصلبة ولكنها تأخذ المواد الطرية العصيرية إلى قناتها الهضمية وتترك المواد الليفية بالتدريج تحت الجسم وفي النهاية تسد النفق بهذة المخلفات وهذا مايجعل أو يزيد من القوة التدميرية لهذة الآفة حيث تقرض كميات كبيرة من الأنسجة لكي تحصل على ما تحتاجه من أنسجة عصيرية .

وقد توجد اليرقات في أي حزء من النخلة فقد تكون في الجذع عند منطقة التربة أو في الساق أو منطقة التاج وذلك في أشجار النخيل التي يزيد عمرها على خمس سنوات ولكن بتقدم الأشجار في

العمر فيقتصر وجود اليرقات بالقرب من القمة النامة . في الاشجار التي يزيد عمرها على 15 سنة فإن اليرقات لا تعتمد كلية في غذائها على الأنسجة السليمة لا كتمال نموها وقد لوحظ أن نمو اليرقات يكون أسرع عند تغذيتها على المواد المتحللة بالإضافة إلى الأنسجة الغضة الطازجة .

وقد ذكر leefmans (1920) أن يرقات سوسة النخيل تتطور حتى البلوغ على مخلفات صناعة نخيل الساجو .

وعند تربية الحشرة في معامل مشروع المكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء بالمملكة العربية السعودية لوحظ ارتفاع نسبة الموت بدرجة ملحوظة في كل أطوار اليرقية وذلك عند تغذية اليرقات على قطع نظيفة من خشب ونجارة النخيل بينما تنخفض نسبة الموت تنمو اليرقات اسرع بإضافة مخلفات الأشجار المصابة بسوسة النخيل إلى غذاء اليرقات داخل المعامل .

وعموماً تتفاوت فترة الطور اليرقي تفاوتاً كبيراً حسب درجات الحرارة السائدة وتوفر الغذاء ونوع الغذاء فقد يمتد الطور اليرقي إلى 188 يوماً عند تربية اليرقات على قصب السكر بينما تراوحت فترة الطور اليرقي بين 58 ، 99 يوماً عند تربية الحشرة على الأجزاء الغضة من خشب النخيل .

طور ما قبل العذراء : prepupal stage

يبدأ طور ما قبل العذراء عندما تتوقف اليرقة المكتملة النمو عن التغذية وتكمل غزل الشرنقة وينتهي بتكون الشرنقة ويتميز طور ما قبل العذراء بتغيرات اللون فتصبح صفراء شاحبة وعادة ما تكون مضطربة خاملة كلية .وعندما تكمل اليرقة تكوين الشرنقة فإنها تنكمش وتصبح خاملة وتتميز حلقات الصدر وينتج عن ذلك تغيرات واضحة ينشأ عنها ظهور ملامح العذراء كزيادة في سمك السطحين الظهري والبطني كما تنكمش الأجناب وتتشكل الحواف الجانبية . ويستغرق تكوين الشرنقة حوالي 5 أيام .

طور العذراء pupal stage

بعد اكتمال فترة ما قبل العذراء فإن جلد اليرقة ينشق ظهرياً وتسحب إلى الخلف تدريجياً حيث تتخلص منه العذراء، و العذراء غير متصلة بالشرنقة بأي طريقة وعندما تتكون العذراء في البداية يكون لونها بني فاتح و الجلد طري ولكن خلال ساعات قليلة يتغلظ جلدها وتكتسب لونها الدائم ولا تتعرض العذراء لأي ضغوط داخل الشرنقة وتكون قادرة على الحركة الدائرية وعندها تثأر فإنها تتلوى دون تغير وضعها . وفي العادة فإن العذراء نادراً ما تتحرك ، وقبل خروج الحشرة الكلملة بيوم واحد فإن العيون المركبة يتحول لونها إلى اللون البني الداكن وتتحول الغماء إلى اللون الداكن بدرجة كبيرة . وتستغرق طور العذراء ما بين 13 – 24 يوماً . تطول المدة عند ذلك بإنخفاض درجة الحرارة.

الطور البالغ Adult stage

عندما تصل الحشرة الكاملة إلى البلوغ أو النضج داخل العذراء فإن زوائد الجسم تنفصل عن الجسم وبعد ساعات قليلة تتخلص الحشرة الكاملة من جلد التعذر والحشرة حديثة الخروج تكون ذات لون بني فاتح في البداية ما عدا العيون المركبة وبعض البقع على ترجة الصدر الامامي تكون سوداء والأغماء تكون داكنة طرفياً وأثناء وجود السوسة داخل الشرنقة يأخذ الجلد صلابته ولونه الدائمين . بعد 12 ساعة من خروج الحشرة من غلاف التعذر يكتمل تكوين اللون ولكن يحتاج مدة طويلة حتى تتصلب الزوائد و الخروج من العذراء يحدث أثناء ساعات النهار .

الخروج من الشرنقة :

لكي تشق الحشرة طريقها من الشرنقة فإن السوسة فتحة بواسطة الخرطوم في الجزء الأمامي للشرنقة وتتسع هذة الفتحة تدريجياً وببطء وذلك بفك الألياف وتكتمل هذة العملية خلال أسبوع والخروج من الشرنقة عادة ما يحدث في الصباح الباكر .

التغير في اللون والتركيب بعد الخروج:

بالإضافة إلى التغير في اللون الذي يحدث داخل الشرنقة فإنه يحدث مزيد من التغيرات في اللون تدريجياً بعد خروج الحشرة الكاملة عندما تمارس الحشرة أنشتطها العادية وهذة التغيرات تؤدي إلى تكوين اللون الداكن للجلد ، والسوسة حديثة الخروج تكون حمراء اللون ثم تتحول إلى الأحمر الداكن ببطء وفي النهاية يتحول اللون المميز للحشرة ويمكن تحديد عمر الحشرة الكاملة نسبياً من التغير الذي يحدث في اللون .

الحركة : Locomotion

تظل السوسة نشطة خلال النهار والليل وتكون فترات الراحة طويلة خلال الليل ، الطيران والزحف يكونا مقصورين على ساعات النهار ويصل النشاط ذروتة من شروق الشمس حتى التاسعة صباحاً ومن الخامسة مساء حتى غروب الشمس ولا تطير السوسة إطلاقاً خلال الليل ولم يلاحظ انجذابها إلى الضوء وللسوسة القدرة على الطيران كما أن لها القدرة على الزحف وطيرانها قوي وعندما تنطلق في الهواء فإنها تطير لمسافات بعيدة في دوائر محدثة أزيراً.

وقد وجد Leafmans (1920) أن السوسة قادرة على العثور على الأماكن المقطوعة الطازجة من سيقان نخيل الساجو على بعد 900م ، وهذا دليل واضح وقوي على الاعتقاد بأن السوسة تطير إلى مسافات بعيدة أو تحمل بواسطة الرياح السائدة وقت الطيران . وقد سجلت الإصابات الحديثة على بعد

ميل واحد من النخيل المصاب وقد لوحظت الحشرة تزحف بين قواعد الأوراق الحديثة لأشجار جوز الهند بحثاً عن الأماكن أو البقع المناسبة للتغذية ووضع البيض.

تغذية الحشرة الكاملة:

اعتقد بعض الباحثين مثل Copeland أن سوسة النخيل الحمراء لا تتغذى في طورها الكامل وتكون أشجار جوز الهند لوضع البيض فقط ، ولكن الملاحظات التي أجراها في المعمل تشير إلى أن السوسة لا تستطيع الاستمرار في الحياة لأكثر من 6 أيام بدون تغذية وتقضي السوسة معظم أوقات الليل في التغذية ولكنها تتوقف عن التغذية في فترات قصيرة . عموماً تتغذى الحشرة على الأجزاء الطرية من شجرة النخيل والتغذية تكون بطريقة مميزة وتختار الموضوع الملائم للتغذية بمساعدة قرون الاستشعار حيث تدفع بخرطومها الطويل في هذا الموضع وتتغذى على العصارة ويمكن تمييز حفر التغذية عن تجاويف وضع البيض حيث تكون حفر التغذية عميقة ، وفي حالة الأنسجة الجافة فإن السوسة تصنع ثقوب عميقة لتصل إلى الجراء العصيرية . التغذية من التجاويف الجاهزة لم تلاحظ على وجة العموم حيث تفضل السوسة الثقب وعمل تجاويف طازجة . وعندما تكون المادة الغذائية جاهزة ومتحللة فإن السوسة تحصل على غذائها بدون صنع تجاويف .

التجمع Gregariousness

سوسة النخيل حشرة ذات سلوك متجمع فقد يشاهد 40 – 50 حشرة داخلا جذع شجرة النخيل المصابة ولكن عندما تطير هذة الحشرة خارج الشجرة بحثاً عن أشجار نخيل جديدة فتكون بحالة فردية وقد تشاهد أكثر من حشرة واحدة تنجذب إلى نفس شجرة النخيل .

التزاوج pairing or mating

يحدث التزواج في أي وقت من النهار لمشاهدة التزواج في أقفاص داخل المعمل يمكن فصل الذكورعن الأناث لفترة معينة وبعد أن تتغذى الحشرات لفترة كافية ، ثم تحرر الذكور و الأناث معاً حيث تشاهد أعضاء التناسل الخارجية تمتد إلى الخارج ولأسفل وتندفع داخل مهبل الأنثى ، والمدة الفعلية للتزاوج تختلف من 2 – 10 دقائق وقد يتكرر التزاوج عدة مرات أثناء اليوم الواحد ويستمر على امتداد حياة الأنثى حتى تتوقف عن وضع البيض ، وتكرار عملية التزاوج هذه غير ضرورية لإخصاب البيض ، حيث أن تزاوج الأنثى لمرة واحدة كافية لكي تضع الأنثى البيض بطريقة عادية ويكون معظم البيض مخصب، والإناث التي لديها الفرصة للتزاوج فأنها تضع البيض في الوقت العادي ولكن يكون البيض غير مخصب ولكن الطبيعي أن تتزاوج الإناث عندما تعثر على الذكور.

وضع البيض : Ovopostion

وتبدأ الأنثى في وضع البيض في اليوم التالي للتزاوج وقد تمتد الفترة لأكثر من أسبوع والفترة الكلية لما قبل وضع البيض (بعد الخروج من الشرنقة) تكون في حدود خمسة أيام وتتراوح هذة الفترة بين 2 – 11 يوماً، تبدأ الأنثى في وضع البيض في أشجار النخيل التي تتغذى عليها.

وعندما يكون هناك عدد قليل من أفراد السوسة فإنها تضع كل البيض داخل جذع نفس الشجرة ، بينما في حالة زيادة الأعداد بدرجة كبيرة فإن معظم الإناث تخرج من جذع النخلة للبحث عن عائل جديد وذلك للتغذية ووضع البيض منعاً للمنافسة .

عندما تضع السوسة البيض فإنه يقتصر على الأجزاء الطرية من النخيل وهناك اختلافات كبيرة في الآراء عن الأماكن التي توضع فيها البيض ونتائج التجارب التي أجريت تشير إلى أن أنثى سوسة النخيل يمكنها وضع البيض على الأشجار السليمة الصحيحة والأشجار صغيرة السن والتي يزيد عمرها على سبع سنوات . وتوجد الأمثلة العديدة للأشجار المصابة بسوسة النخيل الحمراء في مزارع نخيل جوز الهند والتي تتراوح أعمارها بين 5 – 6 سنوات في جنوب Travancore على أية حال إن البيض لا يوضع في منطقة التاج السليمة أو الجذع السليم في نخيل جوز الهند .

لكي تخترق اليرقات منطقة الجذع في الجزء العلوي النامي من النخلة لابد أن تكون الأنسجة الطرية مكشوفة ، وقد تتعرض أو تتكشف الأنسجة الطرية بواسطة الضرر الميكانيكي الذي يحدث نتيجة القطع أو العواصف أو مهاجمة خنافس أو حفارات الساق وقد تخترق اليرقات من أماكن قطع السعف أو التكريب أو فصل الفسائل و أماكن إزالة الكرب .

وهناك اعتقاد سائد أن سوسة النخيل الحمراء تهاجم فقط الأشجار التي تضررت من إصابة حفار الساق ولكن لا يوجد ما يؤكد هذا الاعتقاد حيث يتكرر إصابة أشجار النخيل بسوسة النخيل ولم يكن قد سبق أصابتها بحفارات السوق.

فترة وضع البيض : Oviposition

وتشير نتائج الدراسات إلي التباين في فترة وضع البيض فقد ذكر العديد من الباحثين أن هذه الفترة تتراوح 25 – 63 يوماً بمتوسط قدرة 45 يوماً . تضع الأنثى عدداً من البيض يتراوح بين 76 – 355 بيضة بمتوسط يومي قدرة 4 بيضات .

وتشير الدراسات التي أجريت بمعامل مشروع المكافحة الحيوية لسوسه النخيل الحمراء بالملكة العربيه السعوديه أن أقل فترة لوضع البيض .كانت 20 يوماً وأكثر فترة وصلت إلى 97 يوماً بمتوسط 51 يوماً، وتضع الأنثى خلالها عدد من البيض يتراوح بين 163،367 بيضة وكلما طالت فترة حياة الانثى كلما زاد عدد البيض الموضوع .

فترة ما بعد وضع البيض: postoviposition

دائماً تمر فترة قليله بعد الانتهاء من وضع البيض وقبل أن تموت الأنثى وهذه الفترة تتراوح بين 2ـ32 يوماً والحشره الكامله تتغذى خلال هذه الفتره عدا اليوم الأخير قبل موتها حيث تتوقف عن التغذية .

فتره حياة الحشرة الكاملة :Longevity of adult

كل من الجنسين في سوسة النخيل الحمراء تعيش حوالي 2ـ3شهور واقصى مدة عاشتها الحشرات الكاملة في أقفاص التربية كانت 76 يوماً وفي الإناث قد تصل إلى 97 يوماً ،113 يوماً للذكور.

النسبة الجنسية :Sex ratio

حددت النسبة الجنسية من خلال جمع أفراد السوسة من النخيل المصاب في الحقل وأيضاً الأفراد الناتجة من العذارى المرباة داخل أقفاص التربية وكانت النسبه الجنسية 57% للذكور مقابل 43% للإناث .

ومما يذكر فإن نتائج تقدير النسبة الجنسية عن طريق المصايد الفيرومونية كانت متفاوتة خلال شهور السنة وكانت دائماً أعلى للاناث حيث كانت أعداد الإناث الملقطة بواسطة المصايد أكبر من أعداد الذكور مما يؤكد أن استجابة الإناث إلى الفيرومونات أكبر من إستجابة الذكور.

ويمكن تقسيم حياة الحشرة الى اربع مراحل :

فترة النضج وماقبل التزاوج	Maturtion periond
فترة ماقبل وضع البيض	preoviposition period
فترة وضع البيض	
فترة ما بعد وضع البيض	postoviposition period

تعريف فترة الجيل : هي الفترة التي تمر بين وضع البيض واكتمال تطور الأفراد الناتجة من فقس هذا البيض حتى الوصول إلى الطور البالغ وبداية وضع بيض جديد .

ومتوسط إجمالي فترة الحياة من بداية وضع البيض حتى موت الأفراد الناتجة من هذا البيض هي 14 يوماً .

بينما دورة الجيل كما ذكرها Tylor (1937) هي الفترة التي تمر ما بين وضع البيض ووسط فتره وضع البيض للأفراد الناتجة وقدرها بحوالي 108 يوماً وتقدر عدد أجيال حشرة سوسة النخيل سنوياً بـ 3ـ4 أجيال .

ومقدرة الأنثى على وضع البيض في حدود 204 بيضة وتتراوح خصوبة البيض بين 79ـ98%حسب الظروف البيئيه المحيطة والنسبة الجنسية 43%للإناث ،57%للذكور كما ذكر سابقاً.

الأسس البيئية لمكافحة الآفات

Ecological Aspects of pest Management

يستهدف هذا الموضوع تقديم بعض المفاهيم البيئية الأساسية التي تستخدم في معرفة وتحليل النظم البيئية الزراعية بهدف تحديد أنسب الإجراءات التي تتخذ في مكافحة الآفات الزراعية.

مفهوم النظام البيئى The Ecosystemconcept

يتكون المجموع Population من أفراد النوع الواحد التي تعيش معاً في بيئة معينة بينما يتكون المجتمع أو المستعمرة Commuity من أفراد الأنواع المختلفة التي تعيش معاً ،وتتأثر بشكل مستمر بمكونات بيئتها الطبيعية .

ويطلق على النظام المعقد المتكون من عوامل البيئة الحية Biotic وغير الحية Abiotic اسم النظام البيئي Ecosystem فيوجد نظام بيئي تجريبي في المختبر ،كما يوجد نظام بيئي حضري ونظام بيئي زراعي ونظام بيئي طبيعي في غابة أو في بحيرة ونظام بيئي صناعي .....الخ.

وترجع فائدة تحليل النظام البيئي إلى توضيح التداخل بين العوامل المختلفة في منطقة ما بحيث يدفعنا إلى دراسة أوسع واشمل لمجالات النشاط الحيوي ، والخطأ إننا نجهل التداخل المعقد لهذه العوامل مما يجعل دراستنا تتسم بالسطحية .وينبغي أن نؤكد أن الفرد والمجتمع والعوامل الطبيعية هي الأحجار التي يبنى منها النظام البيئي ،ولكي نفهم النظام البيئي يجب أن نفهم كل مستوى من هذه المستويات.

- ❖ إن أفراد الكائنات هي المكون الرئيسي للنظام البيئي ونعتبر معرفة بيولوجيا وسلوك وفسيولوجيا والشكل الظاهري للأفراد وكذا العلاقات المتبادلة بين أفراد النوع الواحد والعلاقات بينها وبين الأنواع الأخرى من جهة وبين عوامل البيئة غير الحية من جهة أخرى من الأمور ذات الأهمية بالدراسة وتساعد دراسة الأفراد على تحليل التغيرات التي تطرأ على المجموع وبدون أن نعرف القوى التي توثر على الأفراد فإننا لن نعرف القوى التي تؤثر على المجموع.
- ❖ تتواجد مجاميع الأنواع المختلفة معاً لتكون المجتمع أو المستعمرة وفي أي مسكن بيئي يكون هناك مستوى معين للتشبع حيث إن لكل نوع قدرة على التكاثر تحددها القوى المحددة للنمو في المجتمع والتي لا يمكن تحديد دور كل منها إلا بالدراسة الكاملة للنظام البيئي ككل حيث يمثل التنافس داخل النوع Intraspecific competatian وبين النوع والأنواع الأخرى، كما يمكن مقارنة التأثيرات البيئية على الكائنات المختلفة وتأثيرها على

المنافسة بين هذه الأنواع وكذا يمكن معرفة التغيرات في تعداد الأنواع وكثافتها النسبية ـ كل هذه المفاهيم تتعلق مباشرة بمفهوم تقلبات المجاميع Population fluctuations.

- تتأثر الأفراد كما تتأثر العلاقات بين الأفراد في المجموع الواحد أو المجاميع المختلفة في مجتمع ما بالعوامل البيئية الطبعية Physical factors كالحرارة والرطوبة والتربة والماء والضوء والتضاريس والجفاف و الأشعة حيث تكون تلك العوامل في صالح بعض الأفراد في وقت ما وضد البعض الآخر والعكس صحيح .والتي تؤدى إلى اختلاف سيادة الأنواع علي بعضها خلال فترات زمنية محدودة مما ينشأ عنه تحول بعض الأنواع من حشره insect تعيش داخل نظام بيئي زراعي لا تسبب أي أضرار يذكر إلى آفة Pest داخل هذا النظام تستوجب مكافحتها.

تعريف الحشرة : Insect

تعريف الآفة :Pest

وينطبق الحديث أيضاً على الآفات الدخلية التي تنتقل من بيئاتها الأصلية إلى بيئات أخرى جديدة قد تتوفر بعض العوامل البيئية والغذائية بشكل أفضل، فضلاً عن غياب الأعداء الطبيعية في البيئات الجدية في بداية الأمر مما يودي إلى سرعة تكاثر وزيادة تعداد تلك الآفة بصورة سريعة ووبائية كما حدث في سوسة النخيل الحمراء خلال العقدين الأخيرين في منطقه الخليج العربي والدولة المحيطة .وفي هذه الحالة يطل مجتمع الآفة في حالة من عدم الاستقرار لفترة زمنية قد تطول أو تقصر وتتوقف هذه الفترة علي :

- سرعة تأقلم الآفة في بيئتها الجديدة.
- وجود أو عدم وجود أعداء طبيعية في البيئة الجديدة ومدى التأقلم بين تلك الأعداء والآفة.
- سرعه إجراء الدراسات اللازمة للتعرف على المظاهر الحياتية والبيئية والسلوكية حتى يمكن وضع إستراتيجية لمكافحة الآفة حتى يمكن وضع الاتزان العام ودون المستوى الذي لا يسبب أضرار اقتصادية ملموسة .
- وجود أعداء طبيعية للآفة في موطنها الأصلي ودور هذه الأعداء في مكافحة الحشرة .

الحد الحرج للنمو والتطور Thermal threshold of development

تعريف :هي درجة الحرارة التي يبدأ عندها النمو والتطور لأي طور من أطوار الحشرة في حالة ارتفاع درجة الحرارة أو التي يتوقف عندها النمو تماماً في حاله انخفاض درجة الحرارة. ويطلق عليها أيضاً Physiological zero، لأنها الدرجة التي يبدأ عندها النشاط الفسيولوجي للكائن الحي .

تقدير الحد الحرج للنمو والتطوير :

نظراً لأن الحشرات من الحيوانات ذات الدم البارد حيث تتغير درجة حرارة أجسامها بتغير درجة حرارة الوسط المحيط، لذلك فإن الحرارة تلعب الدور الرئيس في النشاط الحيوي للحشرات بل وتعتبر الحرارة هي العامل المحدد Limited factors لكل العمليات الحيوية .ومن المعروف أن هناك تناسباً طردياً بين معدل ارتفاع درجات الحرارة وسرعة العمليات الحيوية والذي ينعكس على سرعة نمو وتطور الكائن الحي حتى الوصول إلى الدرجة المثلى لنشاط هذا الكائن .

درجة الحرارة المثلى :

هي درجه الحرارة التي يكمل عندها معظم أفراد النوع دورة حياته في اقل فترة زمنية.

وباستمرار درجات الحرارة في الارتفاع وتجاوز الحدود المثلى يقل النشاط الحيوي وبالتالي سرعة النمو والتطور وتطول الفترة الزمنية التي يستغرقها أي طور وتطول مدة الجيل باستمرار الحرارة في الارتفاع داخل منطقه النشاط .وإذا رسمنا العلاقة بين درجة الحرارة والفترات الزمنية التي يستغرقها الطور والتي يطلق عليها Temperature Time curveوالعلاقة هنا لن تكون علاقة خطية كما في شكل (1).في ضوء ما تقدم فإنه على سبيل المثال اذا ما تم تحصين بيض سوسه النخيل الحمراء داخل حضانات المختبر على درجات حرارة مختلفة وثابتة Different constant temp ولتكن 15،20،25،30،35،40 م فإن معدل النمو سوف يزداد بارتفاع درجه الحرارة من15م وفي اتجاه درجات الحرارة الأعلى بمعنى آخر تنخفض فتره حضانة البيض بارتفاع الحرارة في اتجاه الدرجة المثلى لنشاط البيض .Optimum temp وإذا ما استمرت الحرارة في الارتفاع فسوف تزداد فترة حضانة البيض مع ارتفاع درجات الحرارة عن المعدل المطلوب للفقص .

و إذا فرض أن فترة الحضانة سوف تكون 25 ،14 ، 5 ، 3 ، 5 ، 3 ، صفر يوماً على درجات الحرارة المذكورة –برسم العلاقة بين درجة الحرارة و فترة الحضانة و التي يطلق عليها Temperature –Time curve و هي علاقة غير خطية.

بحساب معدل النمو للبيض عند درجات الحرارة المختلفة ممثلة بالنسبة المئوية $\frac{}{y}$ لمقلوب فترة النمو 1 X 100

حيث y= فترة الحضانة عند كل درجة.

Temp C	15	20	25	30	35	40
Period in day (y)	25	14	5	3	2.5	00
1/y*100	4	7.1	20	33.3	40	00

ونظرياً يكون الحد الحرج للنمو والتطور هو تقاطع الخط الممثل لمعدل النمو مع المحور الأفقي الممثل لدرجات الحرارة و الذي يطلق عليه Temperature- velocity curve وتقدر بـ 14.8م في المثال المذكور.

وهناك طريقه أخرى لتقدير الحد الحرج للنمو:

وتعتمد على تربية الحشرة موضع الدراسه علي درجتي حرارة متباعدتين ولتكن 20،35م وتطبيق المعادله التالية على النتائج المتحصل عليها معادلة Alrouechdi1986

$$a = t_1 - \frac{d_2 (t_2 - t_1)}{(d_1 - d_2)}$$

a الحد الحرج للنمو والتطوير (صغر النمو).

t_1 درجه الحرارة الصغرى التي ربيت عليها الحشرة.

t_2 درجه الحرارة العظمى التي ربيت عليها الحشرة.

d_1 الفترة الزمنية التي استغرقتها الطور على الدرجة الصغرى.

d_2 الفترة الزمنية التي استغرقتها الطور على الدرجة العظمى.

على سبيل المثال :إذا كانت الفترة التي يستغرقها الطور اليرقي في سوسة النخيل عند درجة حرارة 20 هي 140 يوماً بينما كانت تلك الفترة 40 يوماً علي درجة 35م فما هو صغر النمو للطور اليرقي .

بتطبيق المعادلة السابقة يكون صغر النمو = 14م

$$a = \frac{20_1 - 40 (35 - 20)}{140 - 40} = 14°C$$

النشاط الموسمي لحشرة سوسة النخيل الحمراء
وعدد الأجيال الحلقية
Population dynamics of the Red Palm Weevil
Rhyncgophorus Ferrugineuus

يعتبر التغير في الكثافة العددية لحشرة سوسة النخيل الحمراء علي مدار العام من واقع نتائج القراءات المتحصل عليها من المصايد الفيرومونيه حيث تظهر المصايد بان نسبة الاصطياد تزداد في شهري 3 و 4 وشهر 11 أيضاً ، وهذا يعني أن فوران الحشرة هو مرتان في السنة الواحدة في شهر 3 و4 وشهر 11 .

التأثيرات السلبية لدراجات الحرارة المرتفعة علي مجتمع سوسة النخيل الحمراء:

❖ عندما ترتفع درجه الحرارة وتصبح خارج الحدود الملائمة للنشاط فإن ذلك يؤدي إلى موت نسبة عالية من البيض الذي يوضع خلال أشهر يوليو وأغسطس (متوسط الحرارة العظمى 45، 43م علي التوالي) خاصة ما يوضع منه على الأنسجة الغرضة وهذا ما أكدته الدراسات المعملية للمشروع حيث وجد أن درجة 40م هي الدرجة المميتة لطور البيض رغم توفر الرطوبة المناسبة (90ـ100%) .

❖ عندما ربيت الحشرات الكاملة داخل حضانات على حرارة 40م مع رطوبة نسبيه 90ـ100%ماتت جميع الحشرات خلال 2ـ4 أيام ولم تضع بيضاً.

❖ عندما ربيت اليرقات (عدوى صناعية داخل جذوع فسائل عمر (6ـ8سنوات) تحت ظروف شبه حلقيه داخل أقفاص تربية وذلك خلال شهري يوليو وأغسطس ارتفعت نسبة الموت بين اليرقات إلى 85% وطالت فتره الطور البرقي ولوحظ صغر حجم اليرقات الناتجة مقارنة بتلك التي ربيت تحت نفس الظروف خلال شهور مارس ، أبريل ، ومايو .

❖ لوحظ صغر حجم الحشرات الكاملة الملتقطة بالمصايد الفيرومونيه خلال أشهر الصيف الحار (يوليو أغسطس) عن تلك التي تجمع في بقية الشهور المعتدلة ويمكن تفسير انخفاض تعداد الحشرات الكاملة لسوسة النخيل الملتقطة بالمصايد خلال أشهر الصيف ذات درجات الحرارة المرتفعة (يوليو أغسطس سبتمبر) إلى الأسباب التالية :

1. خمول الحشرات الكاملة وميلها إلى الاختباء محتمية داخل قواعد الكرب تجنباً لدرجات الحرارة وقلة فترة النشاط حيث إنه من المعروف وكما هو مذكور في المراجع العلمية أن فترة نشاط الحشرات الكاملة وطيرانها يقتصر على ساعات النهار الأولى بعد الشروق وساعات النهار

المتأخرة قبيل غروب الشمس ، وتقل ساعات الطيران إلى أقل فترة ممكنة خلال شهور الصيف الحارة.

2. انخفاض كفاءة الحشرات الكاملة في إحداث إصابات جديدة خلال شهور الصيف نتيجة قلة النشاط ،ارتفاع نسبة الموت في البيض الذي يوضع خلال الفترة المذكورة حيث تكون درجة الحرارة عالية .

3. استطالة فترة الطور اليرقى خلال شهور الصيف نتيجة لبطء النمو بفعل التأثير المثبط لدرجات الحرارة على العمليات الحيوية والتي تدفع بعض الحشرات إلى الدخول فيما يعرف بالبيات الصيفي لتلافي التأثير الضار نتيجة الحرارة المرتفعة.

4. انخفاض الكفاءة التناسلية لسوسة النخيل الحمراء نتيجة لحدوث نسبة من العقم في ذكور وإناث الحشرة بسبب الحرارة المرتفعة وهذا التأثير معروف في الكثير من الحشرات . حيث تودي الحرارة إلى حدوث العقم في العديد من الحشرات .ومما هو جدير الذكر فان الأطوار المختلفة الموجودة داخل جذوع أشجار النخيل المصابة تكون أقل تأثراً بالظروف المناخية غير الملائمة التي تسود منطقه الخليج خلال شهور يوليو ، أغسطس ، وسبتمبر حيث إن التغيرات البيئية داخل جذوع النخيل تكون غير حادة وتميل إلى الثبات نسبياً ودائماً تقل درجات الحرارة داخل جذوع النخلة بمقدار 7ـ10م تقريباً.

وعلى وجه العموم يمكن القول أن فترة الجيل خلال شهور الصيف تطول عن فترة الجيل في الربيع والخريف.

تقدير حجم التعداد الطبيعي لمجتمع الحشرة

Natural population

باستخدام طريقة

Capture Mark Release Recapture

- يتم جمع الحشرات أولاً بأي من طريقة من طرق جمع الحشرات بشرط أن تكون الحشرات حية .
- تترك الحشرات داخل المختبرات ويقدم لها الغذاء المناسب.
- يتم تقييم حيوية الحشرات وتستبعد الميتة والضعيفة وذات الأعمار الكبيرة إذا كان من الممكن تمييز عمر الحشرة.
- يتم تعليم الحشرات بعلامات مميزة باستخدام بعض المواد اللاصقة بشرط أن لا يكون هناك تأثير معوق لكل من العلامات أو المواد اللاصقة تعيق أو تقلل من قدرة الحشرات على الطيران والتزاوج أو ممارسة أي من أنشطتها العادية.
- تطلق الحشرات المعلمة في الحقل من نقطة معينة أو نقاط إطلاق معينة .
- تجمع الحشرات من الحقل بواسطة المصايد الفيرومونية (معلمة وغير معلمة) وتطبق المعادلة التالية لحساب حجم التعداد الطبيعي وقت الجمع

$$P = N X \frac{M}{R}$$

P حجم التعداد الطبيعي.

N عدد الحشرات الملتقطة (معلمة وغير معلمة)

R عدد الحشرات المعلمة الملتقطة.

M عدد الحشرات المعلمة التي يتم إطلاقها.

تقيم كفاءة بعض طرق مكافحة آفة ما تحت الظروف الحلقية

عند تطبيق طرق المكافحة المختلفة والتي قد تكون استخدام المبيدات أو مسببات الأمراض للحشرات (فطرية، بكتيرية أوفيروسية) أو استخدام أعداد المصايد بمختلف أنواعها.....الخ من وسائل المكافحة ، فغالباً ما يتطلب الأمر تقييماً لكفاءة هذه الطرق في مكافحة الآفة المستهدفة والتي تتمثل في كفاءة الطريقة على خفض مجتمع الآفة أو خفض نسبة الإصابة .....الخ ومما هو جدير بالذكر فلا بد من اتباع القواعد العلمية السليمة في تصميم التجارب وتنفيذها ومعايير التقيم الواجب أخذها في الاعتبار مع اختيار أفضل الطرق لرصد هذه المعايير في كل من المعاملات والمقارنة (الشاهد).

فعلي سبيل المثال عند تقييم فعالية فطر Beauveria bassiana في مكافحة سوسة النخيل الحمراء آخذين في الاعتبارتطور الإصابة في كل من المعاملات والشاهد .

تستخدم معادلة هندرسون وتيلتون 1955 لتقدير النسبة المئوية لخفض الإصابة أو النسبة المئوية لخفض التعداد .

خفض الإصابة % = 1 – نسبة الإصابة في الشاهد قبل الرش / نسبة الإصابة في الشاهد بعد الرش (نسبة الإصابة في المعاملة بعد الرش /نسبة الإصابة في المعاملة قبل الرش 100).

حيث تأخذ المعادلة في الاعتبار تطور الإصابة في الشاهد خلال فترة التقييم وبذلك يكون تم عمل التصحيح اللازم بحيث يكون الناتج هو النسبة المئوية لخفض الإصابة والذي يرجع إلى تأثير استخدام الفطر فقط.

مثال : إذا كان متوسط عدد الإصابات في مكررات المعاملة بالفطر 6،4،2 بعد شهر أو شهرين أو ثلاثة أشهر من الرش وكان متوسط عدد الإصابات في الشاهد 7،7،8 علماً بأن عدد الإصابات قبل الرش كانت أقل في الشاهد وقد وجد أن المكررات المعاملة بالفطر قد انخفضت بها نسبة الإصابة بعد شهر أو شهرين من عملية الرش.

دورة الفيرمونات في وقاية المزروعات

إننا جميعاً نتمنى ذلك اليوم الذي يمكن لمكافحة الآفات بطرق أو وسائل أخرى حيوية .... بعيداً عن تلك المبيدات الحشرية استخدمت في مكافحة الآفات خلال العقود السابقة والتي نسببت في العديد من المشاكل البيئية .

وهل هذا التمنى سيكون أملاً واقعياً لا خيال فيه ..... أم أننا سنظل دائماً نستخدم الكيماويات السامة لمكافحة الآفات ؟.

اليوم فإن الغالبية من المنشغلين بوقابة النبات ..... يهتمون بتقنيات أبعد مدى ، مبنية أساساً على منع أو تقليل استخدام المبيدات في مكافحة الآفات بالرغم من المكاسب الواضحة لاستخدام المبيدات.

وبعيداً عن الآثار البيئية والصحية ..... والتي يجب أن تحكمها قوانين محددة .....و استخدام ملائم ...فأنها ستظل المشكلة المزمنة التي تتسبب في عدم فعالية هذة المواد ..... وسوف تؤدي كذلك إلى نمو سلالات جديدة ذات مقاومة لهذة المبيدات وذلك على مدى أو زمن قصيرة نسبياً.

وفي ضوء هذة المشكلة فإن الثقة الكاملة والاعتماد على هذة المبيدات لحماية المحاصيل الزراعية ، ويبدو أن هذة ستكون استراتيجية ثابتة وغير مبشرة .....وستظل لفترة طويلة قادمة .

ولقد أدت هذة المصاعب إلى ظهور كثير من الدراسات البديلة والمتقدمة لحماية المحاصيل.

ومن أكثر هذة البدائل المثيرة هي مناعة العائل النباتي وكذلك وسائل التربية ..... و المقاومة البيولوجية (الحيوية) وهذه ليست جديدة إذ أنها كانت موجودة من قبل .... ولكن الأمل مازال قائماً في تطويرها وتعظيم دورها في مكافحة العديد من لآفات .

و ربما تكون المقاومة الذاتية .....والمعالجة الوراثية (الجينية) للآفات أو تثبيط عملية التزاوج بين أفرادها أو استخدام وسائل الاتصال الكيماوي (الرسائل الكيماوية) بين أفراد النوع الواحد هي فقط التي تعتبر جديدة نسبياً .... واستخدم هذه الطرق .... منفردة أو مجتمعة لمكافحة الآفات فإنها هي أيضاً ليست بالجديدة .....ولكن الفلسفة الواضحة .....هي الخطوات البينية .

الاتصال الكيميائي بين الحشرات

الترابط الكيميائي

الاتصال الكيميائي بين الحشرات يمكن وصفه بأنه لغة يتم خلالها بعض الظواهر المعقدة ويمكن أن تتم بروابط كيماوية.

وللغة مفرداتها، وتعتمد الرسائل بين الحشرات على التأكيد بأن الحشرات، تدعو.....وتستجيب وفي أوقات معينة.....بل وفي ظروف محيطة خاصة .

ولقد عرف الكيميائيون والأحيائيون المشتغلون بعلوم الحياة هذه المركبات الكيميائية التي تحفز أو تثير الاستجابة والتي هيأت وسائل وأدوات تبين درجة سلوك الحشرة وبمعنى آخر فإنه لا بد من إمكانية محاكاة الرسائل بمنطق مخادع-لتحويل السلوك الطبيعي للحشرات إلى سلوك مدمر لاستجابته الذاتية.

ولكن يبدو ذلك واضحاً .... فإن أول احتياجاتنا هو أن سلوك الحشرة يجب فهمه جيداً، ثم يجب تعريف وتحديد الرسائل الكيميائية بدرجة كافية.....للأغراض العلمية على الأقل.....وثالثاً - فإنه يجب إعداد برنامج فعال ومؤثر لمعرفة المركبات الكيميائية مع عمل دراسات وافية وواضحة.....ورابعاً- فيجب أن يكون العاملون مؤهلين وكذا المختصون مدربين تدريباً جيداً.

الإشارات الكيميائية بين الحشرات

تنقسم أنواع هذه الإشارات أو الرسائل الكيميائية إلى:

- **الإشارات الكيميائية: (تبادلية) Semiochemicals**

وهي إشارات كيميائية وتنقسم إلى نوعين من الإشارات بين فردين فقط من نفس النوع (خاص) بين الأفراد جميعاً (عام).

- **الليلوكيماوية: Allelochemics**

هي إشارات أو وسائل كيميائية داخلية بين أفراد النوع الواحد.

- **اللومونز: Allomones**

هي إشارات كيميائية داخلية بين أفراد النوع الواحد يستفيد منها المرسل.

- **كيرومونز: Kairomones**

عبارة عن إشارات كيميائية داخلية بين أفراد النوع الواحد، يستفيد منها المستقبل.

- **الفيرمونات: Pheromones**

هي إشارات كيميائية داخلية خاصة بين أفراد النوع الواحد بذاته. والتي تقوم الحشرات بإفرازها (فيرومونات طبيعية) ومنها على سبيل المثال الفيرومونات الجنسية، فيرومونات التجمع، فيرومونات التحذير، فيرومونات اقتفاء الأثر– فيرومونات حفظ النظام الطائفي– فيرومونات منع وضع البيض.....الخ.

- **محاكيات الفيرومونات: Parapheromones**

وهي مواد كيميائية.....تحاكي – أو تشابه الفيرمونات أو ما يطلق عليه الفيرومونات التخليقية أو الإصطناعية.

- **مضادات الفيرمونات: Antipheromones**

مواد كيميائية تعمل على قطع الإستجابة للإشارات أو بمعنى آخر تبطل مفعول الفيرمون الطبيعي.

الفيرمونات Pheromones

(مواد كيماوية تخليقية تعمل كجاذبات جنسية وعملها يشبه عمل الهرمونات الطبيعية).

ما هو الفرق بين الفيرمونات والهرمونات؟

الفيرومونات مركبات كيماوية تستخدم للاتصال الداخلي بين أفراد النوع الواحد خاصة، أو لتنظيم سلوك الحيوانات،، والحشرات على وجه التخصيص مثل بعض أنشطتها كالانجذاب للجنس المقابل أو فيرمون التجميع الذي يصدره عادة الذكر كما هو الحال في حشرة سوسة النخيل حيث تتجمع أفراد العشيرة الواحدة عند إصداره.

والمشتغلون بالكيمياء الحيوية يجمعونها في تعبير عام هو (إشارات كيميائية) وقد صاغ كل من كارلسون،لوشر(1959م) تعريف الفيرمون على هذه الإشارات الكيميائية الخاصة بين أفراد النوع وفي الفيرمونات عديدة المكونات(بها أكثر من مكون) فإن المركبات لها آثار معوقة ومثبطة، ولبعضها آثار تحفيزية أو مثيرة وفي بعض الأنواع من الحشرات مثلاً فإن المركبات التي تنظم كذلك السلوك العام بين سائر الأفراد ومثال ذلك أن يمنع التزاوج بين أفراد تنتمي إليها ولكنها منافسة لها، أو يمكن المفترس مثلاً من الحصول على فريسته.

والتعبير العام (Allelochemics) يطلق على العوامل المساعدة الداخلية فيما بين أفراد النوع الواحد على درجة الخصوص.

وعندما تكون الفائدة من هذه العوامل المساعدة تنمو طبيعياً في مصلحة "المرسل" (مرسل الإشارة) فإنها تسمى عندئذٍ وتعرف باسم Allomones (عوامل تساعد المرسل في إتمام إشارته ورسالته) ولكن من ناحية أخرى إذا كانت هذه العوامل المساعدة تنمو طبيعياً في جانب أو لصالح "المستقبل" عندئذٍ يطلق عليها إسم Kairomones (مساعدات المستقبل).

وقد ذكر كل من مورهاوس وآخرون (1969) أن ذكر فراشة دودة اللوز الحمراء Diparopsis cartanae قد استجاب في تجربة للتقييم الحيوي Bioassay بالعمل – استجاب لخمس مواد تم عزلها من الأنثى وأن ثلاث أجزاء Fractions أخرى قد تم فصلها باستخدام الكروماتوجرافي الغازي قد استجابت لرسالة نبضات قرون الاستشعار في الذكر عن طريق المختبر الأليكتروني لاستجابة قرون الاستشعار (Electroantemogram).

ومن الناحية النموذجية – مع بعض الاستشارات – فإن مكونات فيرمون الفراشات... كلهـا ذات سلسلة طويلة وغير مشبعة من الخلات Acetates والكحولات والالدهيـدات وأحيانـاً البيروكسـيدات، والكيتونات أوالكربوهيدرات وقد ذكر ذلك وتم رصده وتدوينه.

وأما من الناحية النظرية فإن أي من مكونات فيرمون الفراشات الأنثى الذي يصـور الاسـتجابة السلوكية لذكور نفس النوع يجب أن يكون بالإمكان استغلالها كعملية "تشويش" لمنع التزاوج بينها.

أ) مدى أو مستوى الإستجابة الظاهر عند استعمال أقل جرعة.

ب) تكلفـة إنتاج هذه المكـونات تخليقياً (Synthetically) ومـن الناحيـة الإجـرائـية أو العمليـة .....فإنه يوجد فرق شاسع بين رش مبيدات حشرية مقدرة بالكيلوجرامات على مساحة الـدونم أو الفدان أو الهكتار تقريباً وكذا سمية هذه السوائل المرشوشة ومدة بقائها والمدى المتسع لتـأثير هـذه المبيدات في قتل الحشرات الضارة أو النافعة على حد سواء فضلاً عن الأضرار البيئية الجسيمة التـي يمتد مداها سنين عديدة على كل الكائنات الحية.

فرق بين كل ذلك وبين انطلاق كميات ضئيلة دقيقة وهي مواد طبيعية حيويـة يفرزهـا النـوع الواحد من الحشرات...تتضاءل وتتآكل تدريجياً متحولة إلى هيئة أو حالة بخارية... كي تدفع بالحشـرة إلى المصيدة وتحفزها على ذلك... أو تمنع انتظام الحشرة في إيجاد فرصة التزاوج حسـب الطريقـة التي يستخدم من أجلها الفيرمون.

❖ الفيرمونات التي تمنع الأنثى من وضع البيض

Oviposition deterring pheromones (O.D.P)

بعض فراشات حرشفيات الأجنحة مثل فراشة دورة ورق الكرنب الكبرى Pieris brassicae وكذا فراشة دورة ورق القطن S.littoralis تميز البيض الذي وضعته إناث من نفس جنسها (تعرف ذاتية) وتفضل أوراق النبات النظيفة لوضع البيض، والطبيعة الكيميائية لسطح البيضة (السطح الكيميائي لها)...فيرمون مانع لوضع البيض.. وجد أنها المسئولة عن عملية الطرد أو المنع المذكور.

وقد استطاع Klijnstra (1982) أن يحصل على محاليل من هذا الفيرمون المانع لوضع البيض- من فراشات P.brassica وذلك بعد غسل بيضها بالماء أو الهكسان، وقد درس العالم المذكور سلوك إناث الفراشات أثناء عملية وضع البيض بالنسبة لتركيزات مختلفة من فيرمون منع وضع البيض- تثبيط- (O.D.P) ثم استخدامها على ورق الكرنب وكانت النتائج مشجعة.

❖ فيرمون التجمع: Aggregation pheromones

وهي مجموعة أخرى من الكيماويات تشتمل على فيرومونات التجمع وغالباً ما يطلقها فرد من أفراد العشيرة وهو الذكر.

الفيرومونات والمكافحة المتكاملة للحشرات: Pheromones and IPM

ما هي المكافحة المتكاملة للحشرات؟

المكافحة المتكاملة للآفات هي مجموع العناصر المذكورة أدناه والتي يتم تطبيقها بطريقة متناغمة بحيث يمكن تعظيم دور كل عنصر منها والحصول على أقصى استفادة..وهذه العناصر هي:

1- الاستخدام الاختباري للمبيدات (بمعنى اختيار المبيد المناسب...).

2- إجراء العمليات الزراعية بالطريقة السليمة بما يؤدي إلى تقليل تعداد الآفات التي تصيب المحصول المنزرع.

3- استنباط أصناف النباتات المقاومة للآفات (التربية لمقاومة الآفات والأمراض).

4- المقاومة الحيوية وذلك بإنتاج أو استخدام المفترسات والطفيليات والكائنات الدقيقة الممرضة.Pathogenic organisms

5- خفض الكفاءة التناسلية للآفات وتقليل أعدادها بطرق التعقيم الكيماوي Chemosterilants أو التعقيم بالإشعاع.

6- استخدام الهرمونات أو مشابهات الهرمونات.

7- استخدام الفيرومونات أو الكيماويات التي تؤثر على سلوك الحشرات.

8- المكافحة التشريعية للآفات.

9- المكافحة الميكانيكية.

10- المصايد النباتية.

وعموماً في مجال استخدام الفيرومونات أو الكيماويات التي تؤثر على سلوك الحشرات هناك استراتيجيتان أساسيتان لاستخدام الفيرومونات في مكافحة الآفات الزراعية وهما.

الأولى: وتعتمد على الإصطياد المكثف للحشرات. Mass trapping

والثانية: تعتمد على منع عملية المقابلة بين الذكور والإناث وإتمام عملة التزاوج ويطلق عليها Mating disruption، Male confusion، communication disruption وغالباً .... فإن الطريقتين يتضادان وتعاكس إحداهما الأخرى.

فإن عملة الاصطياد المكثف للحشراتMass trapping تشمل استخدام الفيرومون كخطوة لدفع ونمو الإستجابة الطبيعية لذكور الحشرات إلا أن هذه الإستجابة تستخدم بطريقة تنهي بها حياة الحشرة إلى المصيدة في نهاية المطاف. أما الاستراتيجية الأخرى Communication disruption فتشمل قطع سلوك الإتصال الكيميائي الطبيعي بين الذكور والإناث وفي هذه الحالة فإن ذكور الفراشات تصبح عديمة القدرة على تحديد مصدر الفيرومون الطبيعي المنبعث من أفراد النوع وتظل الإناث بدون تزاوج Unmated وبالتالي تضع بيضاً غير مخصب أو تموت بدون وضع البيض.

المصايد: Traps

إن تصميم المصيدة الفعالة والمؤثر يجب أن يكون ملائماً تماماً حيث يمكن صيد الحشرة ودخولها المصيدة وهي تمارس سلوكها الطبيعي وأما التنوع والتباين والتغير في هذه المصايد فإنه عادة يكون في الحجم، اللون والشكل وكذا نوع الفتحات التي ستدخل منها الحشرات إلى داخل المصيدة وكذلك ارتفاع المصيدة عن الأرض، الغطاء النباتي الذي تستخدم فيه المصيده، وتركيزات ونسب مكونات الفيرمون المنبعث أو الخارج من المصيدة أو بعض المواد المساعدة الأخرى التي ترفع من كفاءة المصيدة.

أما عن ارتفاع المصيدة عن الأرض، فإنه أحد المتغيرات الهامة ولذا فإنه يمكن اصطياد الحشرات المستجيبة بأقصى عدد منها فقط عندما تكون المصيدة على ارتفاع مناسب أو الإرتفاع الأمثل.

وفي الكثير من أنواع الفراشات تحدث استجابة الذكور عندما تكون المصيدة معلقة قريباً من قمة الغطاء النباتي. وعلى أية حال...فإنه يجب تحديد الإرتفاع الأمثل وذلك بتحليل سلوك كل نوع من

الحشرات. ويمكن أن يختلف هذا الإرتفاع المعين بالنسبة لنوع معين من الحشرات وذلك باختلاف بعض العوامل البئية مثل تغير سرعة الرياح من الأدنى إلى الأعلى وقد ترتبط بعض الأنواع من الحشرات بدرجة عالية بالوسط النباتي الذي تعيش فيه (بيئتها النباتية ومكان معيشتها الطبيعية) وتصبح معيشتها مقصورة على هذا الوسط. فذكر حشرة دودة اللوز القرنفلية Pink bollworm (Pectinophora gossypiella) مثلاً من النادر أن يتم اصطيادها في مصايد فيرمونات تكون موضوعة بعيداً عن محصول القطن وقد ينطبق هذا الكلام على كل الحشرات وحيدة العائل حيث دائماً تكون موجودة على العائل الخاص بها.

استخدامات مصايد الفيرمونات الجاذبة:

لهذه المصايد استعمالان مؤثران في مجال المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية هما ما يلي:

1- التنبؤ بانتشار أو ظهور أو سيادة الآفة (وفرتها وسيادتها العددية على مدار العام).

2- المكافحة المباشرة وذلك باستبعاد الحشرات التي يتم اصطيادها والتخلص منها. وعند استخدام... أو اتباع المكافحة المباشرة، فإن طريقة الصيد يجب أن تستبعد الأعداد الكبيرة والكافية من الآفة لكي يحدث اختزال أو تقليل أفراد الجيل التالي، وتعتمد نسب أعداد الأفراد المستبعدة على الكثافة الصحيحة والملائمة للمصايد (تعتمد على العدد الملائم الكافي من المصايد) كما تعتمد كذلك على النوع الذي يتم صيده بما في ذلك بيولوجية هذا النوع (دراسة حياته)

❖ وفي الأنواع التي تنجذب الإناث البكر Virgin (في حالة الجاذبات الجنسية) فإن النقص أو الإنخفاض الناتج في الجيل التالي يمكن أن يرتبط مباشرة بنسبة عدد الأفراد المستبعدة من هذا المجتمع.

وإذا تم انجذاب الإناث إلى المصايد بعد التزاوج (تزاوجت أولاً ثم تم صيدها) وأيضاً بعد وضع بعض البيض، فإن كفاءة هذه الوسيلة المستخدمة تقل وأما إذا تم اصطياد الذكور فإن نسبة كبيرة منها يجب أن يتم صيدها قبل أي انخفاض أو نقص ملحوظ في أعداد أفراد الجيل التالي للحشرة وهذه حقيقة في عدد من أنواع الحشرات التي يكون فيها كل من الذكور والإناث قادراً على التزاوج مرات كثيرة.

وفي مثل هذه الحالة فإنه إذا تم اصطياد 90% من الذكور فإن نسبة ال10% الباقية يجب أن تصبح كافية لتلقيح معظم إناث الفراشات. وأما الخطوة المنظورة والمنشودة في عملية اصطياد الحشرات بالمصايد المزودة بالجاذب الجنسي للإناث هي التي يطلق عليها التدمير الكلي للذكور أو الإختزال المدمر للذكر Male- annihilation (بمعنى خفض تعداد الذكور بدرجة مدمرة).

فقد بينت النتائج أن لهذه الطريقة بعض الفوائد وذلك بالإبقاء على آفات حرشفية الأجنحة ومنعها من الزيادة أكانت أعدادها أصلاً عند مستوى منخفض من البداية عند تطبيق هذه الطريقة، كما أظهرت بعض النجاح عندما كانت الإصابات أصلاً في البداية عند مستوى الضرر.

❖ فيما يتعلق بتركيز الفيرومون الذي ينبعث (ينتشر) من المصيدة فإنه أمر حرج وحساس.

وفي الغالب فإن أعداد الذكور التي تم اصطيادها يزيد بزيادة تركيز الفيرومون إلى حد أعلى معين، ثم يقل بعد عدد الحشرات المصادة فيها بل وأبعد من ذلك... فإن التركيزات التي تسبب اصطياد أكبر عدد من الذكور قد تختلف اعتماداً على مواصفات تصميم المصيدة.

بينما في حالة الجاذب المجمع لحشرة سوسة النخيل الحمراء فالأمر يختلف تماماً حيث إن هذه الحشرة تتميز بتكرار عملية التزاوج رغم أن هناك بعض التقارير تفيد بأن تزاوج الأنثى ولو لمرة واحدة يكون كافياً لأن تضع بيضاً مخصباً طول حياتها... ولو أن هذا غير مؤكد حيث تحتاج هذه النقطة إلى بعض الدراسات المستفيضة حيث تعيش الأنثى لمدة قد تصل إلى 100 يوم على أية حال فإن استخدام الجاذب المجمع لسوسة النخيل يعتبر مفتاحاً هاماً في مكافحة هذه الآفة المدمرة سواء باستخدامه في الالتقاط المكثف كوسيلة مباشرة لمكافحة الحشرة أو استخدام الفيرمون في رصد نشاط الحشرة الموسمي والذي يفيد في رسم استراتيجية مكافحة هذه الآفة . على العموم فإن جمع الحشرة سواء الذكور أو الاناث الملقحة أو غير الملقحة ذو فائدة كبيرة في خفض تعداد الحشرة وتوفير الوقاية للأشجار خاصة التي في عمر الإصابة بسوسة النخيل.

ويحتاج الأمر إلى تكامل العديد من عناصر المكافحة للسيطرة على انتشار هذه الآفة الخطيرة.

❖ **قطع أو منع التزاوج: Mating disruption**

والمقصود به عدم إتمام عملية التزاوج فاستخدام الفيرمون لهذا الغرض يقصد به المجال السهل أو الوسيلة السهلة الممكنة للإستخدام ولتخليص الروائح التي تطلقها الأنثى لجذب الذكر (أي استخدام الجاذبات المخلقة) . وذكر أي نوع من الحشرات لا يستطيع التفريق بين الرائحة المخلقة Synthesized والرائحة الحقيقية.... أي إشارة الإستدعاء الحقيقي الذي تطلقه الأنثى.... وعلى ذلك فإن التزواج أو المقابلة الجنسية تتقطع وغالباً بصورة كلية وبناءً على ذلك فإن عدد الحصة الناتجة سوف تنخفض أنخفاضاً معنوياً في الأجيال التالية ولذا فإنه يطلق عليها عملية منع أو عملية استبعادية.

ولكي نستخدم معنوياً في الأجيال التالية ولذا فإنه يطلق عليها عملية منع أو عملية استبعادية.

قد يكون هناك ثمة تشابه بين فعل الجاذب الجنسي والجاذب المجمع لسوسة النخيل مع بعض الاختلافات السلوكية...فالجاذب الجنسي هو وسيلة التعارف التي يلتقي بها الذكر والأنثى لإتمام عملية

التزاوج بينما الجاذب المجمع لسوسة النخيل هو الإشارة الكيميائية التي تطلقها الذكور لإستدعاء كل أفراد النوع للتجمع في مكان ما لممارسة أنشطتها الحياتية المختلفة مثل التغذية ، التزاوج ...الخ)

ومما هو جدير بالذكر فإن فرصة إلتقاء الذكور بالإناث للتزاوج تكون منخفضة خاصة عندما يكون التعداد منخفض ولذلك فإن فيرمون التجمع في سوسة النخيل هو نوع من توجه السلوك نحو التجمع وبذلك تكون فرصة التقاء الذكور بالإناث للتزاوج مرتفعة.

لذلك فإن العمل على استخدام هذه الظاهرة أو الخاصية في توجيه السلوك بإشارات مخادعة (الفيرمون التخليص) لتجميع أفراد النوع داخل المصايد والتخلص منها سوف يكون عظيم الأثر في خفض تعداد الآفة سواء بالالتقاط المكثف أو تشويش أفراد النوع بإعاقة التجمع مم يقلل فرص التقاء الذكور بالإناث وإتمام عملية التزواج وهذا ما ترجوه مستقبلاً حيث إن استخدام الفيرمونات في قطع الإتصال يكون أقل تكلفة وأقل مجهوداً في عمليات المكافحة.

أساسيات فكرة قطع الاتصال: Communication disruption

أ- يجب أولاً فهم سلوك النوع الذي يعنينا من الحشرات (المستهدف التعامل معها) فهماً جيداً حتى تستطيع استخدام الفيرمون المخلق (صناعياً) في وقت ومكان يسمحان بإظهار أقصى أثر وفعالية له.

ب- أدوات تبخير الفيرمون (التي يتبخر منها) يجب أن تكون على أساس هندسي كما يجب تطور وسائل وضعها في الحقل، بما يسمح بانسياب أغلب المادة الكيماوية الفعالة في الهواء خاصة في وقت نشاط الحشرة.

ت- المسافة المثلى بين أدوات تبخير الفيرمون أي كثافة توزيعها وكذلك المعدل الأمثل لانطلاق الفيرمون فيها يجب معرفته وتصنيفه.

ث- بالنسبة للمواد المضافة: Additives مثل كيماويات أخرى غير الفيرمونات فهذه يجب تقييمها...مما يساعد على حدوث الأثر الفعال في قطع الاتصال أو التجميع.... أي يؤدي إلى أكبر أثر فعال.

هـ. كمية المادة الفعالة (الكيماوية) المنطلقة للهواء في وحدة الزمن على سطح مساحة معينة من حيز المحصول أو البستان و يمكن قياسها وهذا القياس يدل على مدى كفاءتها في قطع الاتصال أو التجميع.

❖ كيفية تقييم كفاءة الفيرومون في إعاقة الإتصال أوالتجميع أو بمعنى آخر تقييم فعالية استخدام الفيرمون في مكافحة الحشرات بكل من طريقتي الالتقاط المكثف أو قطع الاتصال أو إرباك الذكور.

العوامل المؤثرة على فعالية الفيرومونات:

إن فشل الفيرومونات في خفض تعداد الآفات (مجتمع الآفات) والحد من انتشارها يمكن أن يعزى إلى العوامل الآتية:

1- الفهم غير السليم لسلوك الحشرة.

2- ارتفاع كثافة الحشرة (انفجار التعداد) أو الظروف البيئة غير المواتية.

3- استعمال مخلوطات (تكوينات) فيرومون غير ملائمة.

4- غزو المنطقة أو الإغارة عليها من منطقة خارجة عنها أي وجود مصادر إصابة محيطة لا تكافح فيها الحشرة.

5- سوء اختيار التوقيت المناسب للمعاملة.

6- عدم مواءمة المسافات أثناء المعاملة بخاصة في طريقة الإلتقاط المكثف.

7- زيادة سرعة الرياح بخاصة في فترات نشاط الحشرة واستجابتها للفيرمون.

الاستنتاج العام (كصورة لمحاولات دراسة واستخدام الفيرمونات):

1. المصايد المستعملة في عمليات المسح والتنبؤ يتزايد استخدامها وهذا مؤشر ناجح للدلالة على التجمعات الحشرية.
2. الكشف عن الإصابات بخاصة في المزارع الحديثة.
3. التقليل الكبير في استخدام المبيدات المتفق عليها قد أمكن تحقيقه باستخدام معلومات التنبؤ، وذلك باختبار التوقيت المناسب لاستخدام المبيدات الحشرية والحصول على أكبر استفادة بأقل عدد من الرشات بالمبيدات.
4. خفض تعداد الآفة باستخدام المصايد (الاصطياد المكثف mass trapping) والتي أثبتت نجاحها في حالات عديدة لخفض كثافة المجتمع الحشري.
5. سوف تتزايد أهمية استخدام الفيرمونات كأحد مكونات المكافحة المتكاملة للآفات... ولكن انتقال تكنولوجيا استخدام هذه المواد تعتبر بطيئة نسبياً.

الإستراتيجية التطبيقية لمكافحة الآفات

وتعني كل الخطط والتقنيات التي تستخدم لمنع أو تقليل الضرر الناتج من الإصابة بالآفات على المحاصيل الزراعية في منظومة متكاملة حتى نحافظ على تعداد الآفة تحت المستوى الذي لا يؤدي إلى حدوث أضرار اقتصادية مع المحافظة على سلامة البيئة.

وعلى العموم فإن استراتيجية المكافحة الواجب اتباعها لمكافحة آفة معينة تعتمد بالدرجة الأولى على الإقتصادية، بمعنى القيمة الاقتصادية للمحصول ومقدار الفاقد منه نتيجة الإصابات الحشرية وتكاليف عمليات المكافحة ومقدار الفاقد في المحصول يحدده الوضع العام للآفة ونضرب مثالاً لذلك وهو :

1. عندما يكون تعداد الآفة تحت مستوى الحد الحرج للإصابة.

شكل (1) الآفة غير اقتصادية Economic threshold (ET)

تعريف الحد الحرج للإصابة:

هو أكبر عدد من أفراد الآفة يمكن أن يتحمله العائل النباتي بدون حدوث فقد معنوي في المحصول ولهذا الحد تحدده عوامل متعددة.

وعندما يكون تعداد الآفة في حالة استقرار وهو ما يطلق عليه وضع الاتزان العام Equilibrium position (GEP)General دون مستوى الحد الحرج للإصابة (إنذار خطر) في هذه الحالة لا توجد ضرورة لاستخدام أي من طرق المكافحة وفي هذه الحالة تكون عوامل المقاومة الحيوية تتعادل مع عوامل الاقتدار البقائي للآفة وكل ما يجب عمله هو مراقبة تعداد الآفة بأي طريقة رصد مناسبة.

كيفية حساب وضع الاتزان العام للآفة.....؟

2- الحالة الثانية عندما يكون وضع الإتزان العام للآفة (GEP) تحت مستوى الحد الاقتصادي

للضرر عدا الأجيال التي تزيد أعدادها وفي ظروف خاصة بحيث تتخطى المستوى الإقتصادي للضرر وهنا لا بد من التدخل بوسائل المكافحة لوقت الضرر.

3. **الحالة الثالثة: عندما تكون قمم الأجيال .peaks(انفجار المجتمع الحشري للنوع)فوق مستوى الحد الاقتصادي للضرر** (EIL) وهو ما يطلق عليه الآفة المستديمة perennial pest وهنا لابد من وضع استراتيجية ثابتة للمكافحة لوقف الضرر .

4. **الحالة الرابعة: عندما يكون وضع الاتزان العام للآفة (GEP) دائماً فوق مستوى الحدود الاقتصادية للضرر** EIL والتي يطلق عليها الآفة الخطيرة .Severe Pest

يعرف الحد الاقتصادي للضرر Economic Injury Level بأنه:

هو أقل عدد من الحشرات التي توجد على النبات و تسبب أضراراً اقتصادية معنوية تفوق قيمتها تكاليف عملية المكافحة.

وفي هذه الحالة لا بد من وضع برنامج لخفض تعداد الآفة بحيث يصبح وضع الاتزان العام تحت مستوى الحدود الاقتصادية للضرر.

ولابد أن تشمل هذا البرنامج

- خفض السعة الاستيعابية للبيئة .
- خفض الكفاءة التناسلية أو القدرة البقائية للآفة.
- مناقشة الوضع العام لسوسة النخيل الحمراء في ضوء المفاهيم السابقة
- حساب وضع الاتزان للآفة؟
- كيفية تقدير الحد الحرج للإصابة و الحدود الاقتصادية للضرر.

التقنات التطبيقية الحديثة التي يوصي بها

مشروع المكافحة الحيوية لحشرة سوسة النخيل الحمراء

استخدام المصايد الفرومونية / الكيرومونية الأرضية الجديدة لاصطياد أكبر عدد ممكن من الحشرات الكاملة لسوسة النخيل الحمراء .

المبدأ العلمي:

- أن الاصطياد المكثف لأعداد كبيرة من حشرة سوسة النخيل الحمراء يخفض كثافة مجتمعها و بالتالي يقلل الأضرار التي تسببها في مزارع النخيل المصابة.
- إن الكشف المبكر لحشرة سوسة النخيل الحمراء فور ظهورها في المصايد يتيح الفرصة للمزارع لاتخاذ التدابير الوقائية السريعة لمكافحتها قبل تمكنها من إحداث إصابات جديدة في المزارع السليمة.

وصف المصيدة :

سطل (جردل) بلاستيكي مقاوم الأشعة فوق البنفسجية سعة 10 لترات ، في غطائه ثلاث نوافذ دائرية قطرها 3 سم ، وسعته نوافذ أخرى دائرية قطرها 3 سم أيضاً قرب الحافة العليا لجدار السطح الجانبي .

محتويات المصيدة :

المادة الغذائية:

500غ من ثمار النخيل +ملعقة صغيرة من خميرة الخبز + 6 لترات من الماء (يضاف 500غ من الخشب أيضاً رغبةً في الحصول على حشرات حية).

الفيرومون:

كيس فيرومونى تجمعي يحتوي على 9 أجزاء من المركب.

4- ميثايل- 5 - نونانول 9 اجزاء من المركب.

4- ميثايل - 5 - نونانون جزء واحد من المركب ، وزن 700 مغ يكفي لمدة شهر واحد. وسطياً و حسب الظروف المناخية السائدة.

الكيرومون :

قارورة صغيرة سعة 20مل غامقة اللون في غطائها ثقب صغير قطر 1مم يسمح بانطلاق الكيرومونات . تحتوي القارورة على 20مل من مزيج كيرومونى جاذب للحشرات مستخلص محلياً بالمشروع من ثمار النخيل وهذه الكمية تكفي لمدة شهر واحد تقريباً بحسب الظروف المناخية السائدة.

طريقة توزيع المصايد في المزرعة :

في المزارع المصابة :

توزع المصايد على كامل مساحة المزرعة على مسافة 50م بين المصيدة و الأخرى بهدف التقاط أكبر عدد ممكن من الحشرات ومنعها من الطيران إلى مزارع أخرى .و تحتاج هذه النقطة إلى مزيد من الدراسات لتحديد أنسب المسافات بين المصايد للحصول على أعلى كفاءة في جمع الحشرات.

في المزارع الحديثة السليمة :

توزع المصايد فقد على محيط المزرعة على مسافة 100متر بين مصيدة و الأخرى بهدف الكشف المبكر لظهور الحشرات القادمة من المزارع المصابة المجاورة وينصح بعدم تركيب المصايد الفيرومونية / الكيرومونية في وسط المزارع الحديثة السليمة .

طريقة تركيب المصايد في المزرعة :

توضع المصيدة في حفرة بالأرض ويردم حولها التراب بحيث تصبح نوافذها الجانبية مع مستوى سطح الأرض تماماً.

موعد استخدام المصايد :

تستخدم المصايد على مدار السنة سواء بغرض رصد نشاط الحشرة أو اكتشاف وجود الحشرات في المزارع الحديثة أو الالتقاط المكثف للحشرة كوسيلة مكافحة مباشرة .

العناية بالمصايد :

العناية بالمصيدة عملية هامة جداً للمحافظة على أدائها العالي في التقاط الحشرات وكما يلي:

- يغير غذاء المصيدة أسبوعياً .

- يغير الكيس الفيروموني مرة واحدة شهرياً وحسب الظروف المناخية .
- يضاف الكيرومون مرة واحدة شهرياً وحسب الظروف المناخية .

ملاحظة:

للحصول على حشرات حية يضاف إلى المصيدة مقدار 500غ أيضاً من قطع خشب النخيل لمساعدتها على عدم الغرق و الاختناق بالماء على أن يبقى حوالي 25% من الخشب فوق سطح الماء في المصيدة. كما ينصح بجمع الحشرات بمعدل مرتين في الأسبوع.

التقنيات العلمية لدراسة الفطريات الممرضة للحشرات

أدت الجهود الكبيرة في مجال المكافحة الحيوية التي بذلت خلال الخمسين عاماً الأخيرة إلى اكتشاف و تطوير أنواع و سلالات جديدة للممرضات الآفات الضارة بعضها كان مصادفة ، ولكن الغالبية كانت نتيجة للدراسات المكثفة . على الرغم من النجاح الذي تحقق إلا أننا نحتاج إلى أن نكتشف ونطور ممرضات جديدة للآفات لمواجهة احتياجات المستقبل من زيادة الغذاء والألياف مصاحباً بانخفاض في استخدام مبيدات الآفات الكيميائية ، ويقول Goettel ، Lacey عام 1995 أن تدعيم الزراعة في القرن الواحد و العشرين سوف يعتمد بشكل كبير على المكافحة الحيوية و البدائل الأخرى الصديقة للبيئة .

تعد الفطريات من أكثر مسببات الأمراض المؤثرة على حشرة سوسة النخيل الحمراء حتى الآن ولقد أصبح مؤكداً الدور الذي يلعبه فطر Beauveria bassiana في القضاء على الحشرة ، كما أن فطر ميتاريزيم Metarhizium anisopliae قد أعطى بعض النتائج وتنتمي هذه الفطريات إلى تحت قسم ديتيروميسيتس Deuteromycetes (الفطريات الناقصة Fungi Imperfestii) صف هيفو مايسيتس hyphomycetes من الفطريات الخيطية filamentous . تتكاثر هذه الفطريات بواسطة الكونيديا التي عادة ما تكون هوائية ومحمولة على حوامل كونيدية تنشأ من طبقة الأساس (substarate) . الأجناس ذات صفات فورفولوجية مميزة وصفات حياتية وتتمثل في تراكيب تحمل الجراثيم (Conidiphore) وتتميز الأنواع باختلاف حجم وشكل الجراثيم (الكونيديات) ، فمثلاً تنشأ الكونيديات في فطر بوفيرا باسيانا كنهايات منتفخة لخلايا تنمو كاذبة المحور كما أنها تنتفخ عند القاعدة وهذه إحدى مميزات الجنس. الكونيديات صغيرة وذات قطر يصل إلى 3 ملليميكرونات ، عديمة اللون وكروية ، أما الكونيديات في فطر الميتاريزيم تنشأ من خلايا خاصة منتجة للجراثيم يطلق عليها فياليدات (Phialides) وهذه تنشأ على حوامل كونيدية أكثر تفريعاً . والجراثيم في هذه الحالة تكون مطاولة وخضراء اللون .

عادة ماتتم العدوى بجراثيم هذه الفطريات من خلال الجدار الخارجي لجسم العائل ، ونادراً ما تتم العدوى عن طريق الجهاز الهضمي . تلتصق الكونيديات بالكيوتيكل حيث تنبت وتخترق جدار جسم العائل. وحينما تصل إلى الهيمولف فأنها تنتشر وتتوزع مكونة أجسام هيفية تشبه الخميرة ويطلق عليها البلاستوسبور (blastospores) . ويموت العائل غالباً نتيجة تداخل الفعل المسي والفيزيائي ، وبعد الموت تخرج الهيفات خارج جسم العائل تحت الظروف

المفضلة من الحرارة والرطوبة وتنشر الجراثيم بعد ذلك (راجع ميكانيكية الاختراق والتطور في هذا الجزء). هناك كثير من العوامل تساعد على انتشار المرض الفطري :

1- تؤدي ظاهرة التجمع في حشرة سوسة النخيل الحمراء إلى سرعة انتشار الجراثيم.

2- يؤدي التلقيح المتكرر بين ذكور وإناث الحشرة إلى زيادة فرص الأفراد الملوثة في التقابل مع الإناث غير الملوثة وبالتالي تنتشر الإصابة.

3- تعلب الحشرات الأخرى الموجودة في البيئة وكذلك المفترسات والطفيليات الحشرية دوراً هاماً في نشر جراثيم الفطر.

4- تنتشر جراثيم هذه الفطريات الممرضة عن طريق الرياح ، مما يجعلها موجودة في بيئات كثيرة تتواجد فيها الحشرات.

5- تعتبر جميع الأطوار الحشرية قابلة للإصابة بالفطريات الممرضة، وتجري الآن بعض الدراسات للتأكد من انتقال الفطر الممرض من طور حشري إلى طور آخر.

تعتبر غالبية الفطريات التابعة لصف hyphomycetes فطريات اختيارية من السهل إنمائها على بيئات صناعية . كما أن فطريات هذه المجموعة ذات مدى واسع لعديد من الحشرات.

هناك عوامل كثيرة تؤثر على حساسية العائل للإصابة ، وهذه تشمل سلالة الفطر، وحالة العائل الفسيولوجية ، الغذاء ، الميكانيكية الدفاعية للحشرة، تراكيب فوق الكيوتيكل و الكيوتيكل ، هذا بالإضافة إلى عوامل كثيرة متنوعة مثل العوامل البيئية .

يعتمد التنبؤ بكفاءة الفطر على التقدير الحيوي له داخل المختبر، لكن نتائج هذه التقديرات ليست كافية حيث إنه في كثير من الحالات تظهر الحشرات حساسية كبيرة في المختبر أو الأقفاص، لكنها لا تظهر نفس النتائج حينما يكون التطبيق حقلياً وذلك نتيجة العوامل الايكولوجية. ومن الأفضل للحصول على نتائج مشابهة في كل من الحقل والمختبر فلا بد من تقارب ظروف الحقل مع ظروف المختبر.

أولاً : جمع الحشرات المريضة والممرضة

Collection of diseased insects and entomopathogens

تتواجد الحشرات المريضة الحية والميتة في كل الأنظمة البيئية للحشرة وكذلك في مختبرات التربية، وعموماً فأن الباحثين والتقنيين في مجال مقاومة حشرة سوسة النخيل هم أكثر الناس ملاحظة بالتغيرات المورفولوجية والفسيولوجية والسلوكية لهذه الحشرة ، فمثلاً عند مشاهدة موطن وجود

الحشرة وملاحظة أن الحشرة أو أكثر تبدو مختلفة عن باقي حشرات نفس المجموعة سواء في الشكل أو المظهر أو النشاط ، تلك هي الخطوة الأولى لجمع الحشرات المريضة ، وعلى الرغم من أن بعض الأمراض توجد بمستوى منخفض في مجتمع الحشرات مثل أمراض العشيرة Enzotic) (diseaseوهي أمراض ذات انتشار قليل وتوجد بصفة دائمة في العشيرة ، لكن هذه الأمراض يصبح من السهل اكتشافها حينما يتحول المرض إلى مرض وبائي وحينما يكون هناك أعداد كبيرة من الحشرات المريضة ويعتبر جمع أعداد كبيرة من حشرة سوسة النخيل بالمصايد أو الالتقاط اليدوي من على الأشجار أو جمع اليرقات والعذارى من الأشجار المصابة ودراستها هو أحد التقنيات الهامة للحصول على حشرات مريضة ، كذلك فأن مراعاة العوامل البيئية من حرارة ورطوبة تجعلنا نتوقع في أي المواسم يمكن أن نلاحظ الأمراض الفطرية على أجسام الحشرات.

التعرف على الحشرات المرضية:

تظهر بعض الأعراض على الحشرات المريضة تجعلها تبدو مختلفة في المظهر عن الحشرات السليمة مثل ، تغير اللون بمعنى ظهور نموات الممرض على السطح الخارجي ، كذلك يعتبر سلوك الامتناع عن التغذية أو التهيج العصبي هو أحد المظاهر المرضية و أيضاً الصلابة أو الهشاشة في الكيوتيكل أو الشكل المومياني وسوف نحاول بإيجاز إيضاح بعض الصفات التي تنطبق على سوسة النخيل المصابة بالمرض الفطري.

أ) التغير في اللون:

يعتبر تغير اللون في الحشرات المريضة هو أول الأعراض التي يمكن ملاحظتها والذي يضعها في جانب مختلف عن الأفراد السليمة الأخرى ، وفي الحقيقة أن يرقات سوسة النخيل الحمراء الحية والتي اصيبت بالمرض يظهر عليها بعض الندب ذات اللون البني نتيجة احتراق أنابيب الإنبات للفطر هذه المواقع في جلد الحشرة، ويأتي التغير في اللون نتيجة رد فعل الحشرة وتكوين الميلانين وهو نمط من التغير الكيميائي الخلوي.

ب) الإشارات الفسيولوجية للمرض:

غالباً ما يظهر المسبب الممرض لسوسة النخيل مباشرة مع الحشرة بعد موتها ، فمثلاً ينتج فطر بوفيرا نموات ذات لون أبيض على سطح يرقات وعذارى وحشرات سوسة النخيل.

ج) التغير في السلوك:

وهذه تتضمن الامتناع عن التغذية بشكل طبيعي. بعض الفطريات على حشرات أخرى تؤدي إلى تسلف الحشرات إلى أعلى نقطة للأشجار وتصبح ملتصقة بالنبات قبل أن تموت . ولقد لوحظ أن بعض حشرات سوسة النخيل الحمراء المصابة بالفطر تترك أشجار النخيل وتموت على الأرض.

د) التغير في الشكل العام:

كثير من التغيرات الفيزيائية تحدث في الحشرات المريضة عادة بعد الموت وفي حالة سوسة النخيل الحمراء فأن اليرقات وكذلك الحشرات الكاملة تأخذ الشكل المحنط (مومياء) (شكل 2) .

هـ) التغيرات النسيجية:

تحدث العدوى بالفطريات الممرضة للحشرات تغيرات هيستوباثولوجية ناتجة عن رد الفعل الدفاعي للحشرة ، وهذه يمكن دراستها بواسطة الميكروسكوب الضوئي و الالكتروني كما يمكن دراستها أيضاً بدراسة الكيمياء النسيجية ، وقد تشمل هذه تغيرات في تركيب خلايا الدم وعددها ومعدل الانقسام الميتوزي . كذلك تظهر بعض التغيرات على خلايا جدار الجسم وظهور الخلايا الأكولة Phagocytes وقد تنمو كبسولات كيثينية ، كذلك يزداد تكون صبغة الميلانين.

التعامل الأولي مع الحشرات المريضة

أ) الجمع المباشر:

يتم جمع الحشرات بشكل مباشر من المصايد الفرمونية الكرمونية المنشورة في الحقول و تأخذ الحشرات المريضة من البيئة الموجودة فيها بواسطة ملقط وتحفظ فردياً بقدر الإمكان في عبوات نظيفة وجافة ، إذا كانت الحشرة المصابة مرتبطة بجزء من العائل النباتي فيفضل عدم إحداث ضرر بجسم الحشرة وذلك بقطع ذلك الجزء من العائل النباتي ، يجب أن يكون الوعاء ذا غطاء يسمح بتبادل الغازات كما يمنع التزاحم وزيادة الرطوبة ، ويعتبر إضافة مواد تساعد على الجفاف مثل السيلكاجيل للوعاء المحتوي على الحشرة المريضة من العوامل التي تقلل أو تمنع إنبات الفطر كذلك بمنع نمو الفطريات المترممة على الحشرات الحية فينبغي أن تحفظ في نفس البيئة التي وجدت بها . تنقل العينات بسرعة داخل مبرد إلى المختبر ، وتساعد الحرارة المنخفضة على خفض التأثير على الفطر كما تؤخر نمو الميكروبات غير المطلوبة حتى وقت الاختبار . ينبغي جمع بعض الحشرات السليمة للمقارنة وهذه الحشرات تجمع منفصلة عن تلك المريضة وتحفظ تحت الظروف المناسبة لحين وصولها إلى المختبر في حالة جيدة.

حينما تكون أفراد الحشرات المريضة قليلة أو نادرة أو أن العدوى ليست واضحة فإنه من المفيد أن يتم جمع عدد كبير من الحشرات التي تبدو سليمة ويتم تربيتها وملاحظتها في المختبر ، حيث ربما تكون التربية تحت الظروف غير المناسبة (ضغط حشري) من العوامل التي تشجع على حضانة وتطور الفطر الذي يوجد بمستوى منخفض . من جهة أخرى يرى كل من Briggs و Weiser عام 1971 أن التزاحم وزيادة الغذاء ربما ينتج عنه اختناق أو يشجع نمو البكتريا المترممة كما أنه في حالة سوسة النخيل يصبح لديها ميل أكثر إلى الافتراس الذاتي (Cannibalism).

ب)جمع الممرض من بيئة الحشرة:

من الممكن جمع الممرض الفطري من نفس بيئة الحشرة دون أن يكون هناك مرض بالعائل الحشري ، ويمكن في هذه الحالة استخدام يرقات دودة الشمع الكبيرة كطعم لاصطياد الممرض ، وتتلخص الطريقة في أن توضع عينات من البيئة التي تعيش فيها الحشرة أو من منطقة التربة حول جذور النخيل في عبوات بعد ترطيبها بالماء . تضاف يرقات دودة الشمع الكبيرة Galleria mellonella إلى العبوات، ويتحدد عدد اليرقات بكمية التربة المستخدمة، وقد يتراوح عددها من 5 إلى 15 يرقة. تحضن العبوات المحتوية على بيئة الحشرة ويرقات دودة الشمع لمدة حوالي 14 يوماً على درجات الحرارة المثلى لنمو الفطر المراد عزلة . ويجب ملاحظة أن يتم تحريك التربة أو قلب العبوات

المحتوية على التربة حتى تتعرض اليرقات لأكبر قدر من البيئة أو التربة المحيطة بها. تجمع اليرقات على فترات ويتم عزل الفطر منها بطرق العزل الآتية فيما بعد.

ج) جمع النتائج المرتبطة بجمع العينة:

عند وقت جمع العينات من الحقل فأن المعلومات التفصيلية يجب أن تدون مع أخذ التالي في الاعتبار:

1- الحشرة، النوع، العمر، الممرض المحتمل، السلوك الظاهر، المكان البيئي.
2- العائل النباتي أو البيئي (تربة، نبات، ماء).
3- حالة المرض (وبائي – فردي).
4- الظروف الجوية.
5- أي معلومات إضافية.

ثانيا – تعقيم السطح الخارجي:

عند إحضار حشرات مصابة أو ملوثة بالفطر الممرض وقبل ظهور الجراثيم خارج جسم الحشرة لابد من تعقيم السطح الخارجي للحشرة حتى نضمن خروج الهيفات من داخل جسم الحشرة بصورة نقية ، كما أنه يقضي على الملوثات الخارجية لما فيها الفطريات المترممة وتتخلص طريقة التعقيم على النحو التالي:

1. توضع الحشرة في 70% كحول لمدة ثوانٍ.
2. تغسل العينة بعد ذلك في الماء المقطر.
3. توضع العينة في محلول هيبوكلوريت الصوديوم 5، إلى 1،0% (Na CIo) لمدة دقيقة (يباع هذا السائل بشكل تجاري تحت اسم كلوراكس بتركيز 5% وهذا يمكن تخفيفه إلى التركيز المطلوب).
4. تغسل العينة بعد ذلك من 2 إلى 3 مرات في ماء مقطر.
5. تجفف العينة على ورقة ترشيح معقم.

ثالثاً – تحفيز النمو الخارجي للفطر الممرض على جسم الحشرة :

قد يكون من الضروري لتحفيز النمو الخارجي للفطر الممرض أن توضع الحشرات في بيئة تحتوي على رطوبة نسبية عالية نسبياً ويتم ذلك كما في (الشكل 5)

1- توضع الحشرة في طبق بتري صغير أو زجاجة ساعة.
2- يجهز طبق بتري كبير.

3- يوضع الطبق البتري الصغير في منتصف الطبق البتري الكبير.
4- توضع مناديل ورقية مشبعة بالرطوبة داخل الطبق الكبير وتحيط بالطبق الصغير.
5- يغطى الطبق البتري الكبير بغطائه ويحكم الغلق بواسطة بارا فيلم .
6- يحضن الطبق على درجة حرارة 25م.

في خلال أسبوع يظهر النمو الخضري أو التجرثم على سطح الجلد الخارجي حيث يبدأ العزل.

رابعاً - عزل المسبب الممرض:

يمكن عزل الفطر الممرض للحشرات من الحشرة المصابة أو البيئة الطبيعية لها.

1- العزل من الحشرة:

أ- يمكن عزل المسبب الممرض من الفطريات من الحشرة بشكل مباشر وذلك في حالة ظهوره على السطح الخارجي لجدار الجسم.

ب- إذا لم يكن النمو أو التجرثم فيمكن استخدام طريقة سحق الحشرات أو اليرقات ونثرها على بيئة الأجار المفضلة للفطر الذي يراد عزلة.

ج- قد يفتح جسم الحشرة في طبق معقم، ثم ينقل جزء صغير من نسيجها المصاب بالفطر إلى طبق بتري معقم أيضاً وبه مستنبت الدكستروز أجار المخلوط بمستخلص الخميرة . تدفع هذه البيئة بالنمو السريع لعديد من الفطريات الممرضة للحشرات، كما تثبط حموضتها (عند الأس الايدروجيني 5.6) نمو البكتيريا المترممة. ومن الأفضل عزل جراثيم الفطر والميسليوم من خارج أجسام الحشرات المصابة وعدم تشريحها.

في حالة معرفة الفطر المسبب يفضل أن تستخدم بيئة متخصصة لعزل وإكثار هذا الفطر. وبشكل عام فأن بيئة أو مستنبت مستخلص الدكستروز مع الأجار (SDAY) يستخدم في حالة عدم وجود بيئة متخصصة أو في حالة عدم معرفة الفطر النامي وكذلك الفطريات الاختيارية. يمكن أيضاً قطع جزء من جسم الحشرة النامي عليه الفطر وتثبيته على السطح الداخلي لغطاء الطبقة البتري المحتوي على مستنبت الدكستروز أجار وتركه على درجة الحرارة المناسبة. في هذه الحالة تنطلق جراثيم الفطر الممرض وتسقط على المستنبت وبذلك ينمو الفطر بصورة نقية.

*** تركيب مستنبت الدكستروز أجار + مستخلص الخميرة**

10مم	ببتون
40مم	دكستزور
2مم	مستخلص الخميرة
15 مم	أجار
1 لتر	ماء

يضاف إليها

ستربتومايسين	0.8 %
بنسلين	03، %

2- البيئات المتخصصة:

أ- مشاكل التربية على البيئات :

تستخدم البيئات المتخصصة عادة لعزل الفطريات التابعة لصف Hyphomycetes وفيها ينمو الفطر بشكل أفضل حينما تكون درجة الحموضة منخفضة (ph5>). وعادة فأن بكتريا Actinomycetesتثبط أيضاً حينما تكون درجة الحموضة منخفضة. في هذه البيئات يمكن أيضاً تثبيط البكتريا بواسطة إضافة مضادات البكتريا، وهناك عديد من المواد المضادة لنمو البكتريا مثل كلورا ميفيتكيول (Chloramphenciol) وتيترا سيكلين (Tetracycline) وكذلك ستربتومايسين (Streptomycin). هذه المواد قد تستخدم منفردة أو مخلوطة مع مواد أخرى أكثر تخصصاً مثل البنسلين و نوفو ميسين.

وتعتبر الفطريات المثبطة لفعل الفطريات الممرضة من أكثر المشاكل حدة حيث تسبب صعوبة حسن عزل الفطريات الممرضة من صف hyphomycetes من التربة. فمثلاً ينمو كل من Trichoderma،Mucor، Rhizopus بشكل أسرع من نمو الفطر الممرض وتكون مستعمرات تغطي على نمو فطريات صف الهيفومايستيس ، كذلك أيضاً فأن البنسليوم والاسبرجلس والمبيدات الفطرية قد تسبب مشاكل لنمو الفطريات الممرضة للحشرات.

ب - بيئة فطري البوفيرا والميتاريزيم المتخصصة:

أوضحت الدراسات أن استخدام بيئة الشوفان والدودين يعطي نتائج جيدة لعزل كل من فطري بوفيرا والميتاريزيم ، فمثلاً استخدام مستنبت أجار الشوفان (Oatmeal) مع 650 ميكرو جرام / ملم دودين تثبط نمو البنسليوم و التريكوديرما و الميكورالس ولكنها تشجع نمو فطري بوفيرا وباسيانا والميتاريزيم. ولقد أوضح Chase et al عام 1986 أن بيئة أجار الشوفان مع 600 ميكرو جرام

..... تعتبر بيئة جيدة لعزل فطر البوفيرا و أن إضافة صبغة كريستال البنفسجية (Violet crystal) تشجع على ظهور الاختلاف في المستعمرات الفطرية وتتركب هذه البيئة من:-

20 مم	منقوع الشوفان
20 مم	أجار
550ميكروجرامات / مل	دودين
5 ميكروجرامات / مل	كلورتتراسيكلين
10 ميكروجرامات / مل	صبغة كريستال البنفسجي

ولقد اوضحت التجارب انه اذا انخفض تركيز دودين عن 500 ميكروجرام / مل فانه يعتبر مثبطاً لنمو فطر الميتاريزيم.

خامسا- التنقية purification:

بعد أن يتم عزل الفطر الممرض يصبح من الضروري التأكد من أن عزلة الفطر خالية من التلوث (عدا الفيروسات) ، وبذلك يتم الحصول على عزلة متجانسة وراثياً genotype، تنتج غالبيته ممرضات الحشرات الفطرية في صف hyphomycetes، كميات كبيرة من الجراثيم على بيئات صناعية بعد اضافة مواد مثبط لنمو البكتيريا يمكن جميعها أن تكون وحدات يطلق عليها (cfu) colony forming unit وليس من الضروري أن تكون هذه المستعمرات نقية تماماً ، لذلك يصبح من المفضل عمل خطوات اضافية حتى يمكن الحصول على مستعمرة فطر وحيد البنية الوراثية هو عزل كونيديا واحدة أو عزل قمة هيفية ، بشكل عام تعتبر طريقة عزل هيفية أسهل من الحصول على جرثومة واحدة ، ولكن في كثير من الحالات يكون من الصعب أيضاً عزل هيفا واحدة ، و يمكن وضع اليسليوم أو معلق الكونيديا في مستنبت الأجار ، ومن أجل تجنب تداخل نمو الهيفات بعضها ببعض ، يجب أن تكون مكونات المستنبت ضعيفة المحتوى الغذائي الحيوي الخاص بالفطر . تنقل بعد ذلك إلي بيئة أجار جديدة.

سادسا - التعريف identification:

يعتمد التعرف على الفطريات وبخاصة تلك التابعة لصف هيفا مايستر على تكوين الجراثيم (conidiogenesis) ولذلك يتوقف نجاح التعرف على هذه الفطريات على ملاحظات دقيقة.

لأ شكال الكونيديا وحواملها هناك عدة طرق لإعداد هذه الفطريات للفحص الميكروسكوبي يمكن انجازها فيما يلي :

أ) طريقة التحميل الكلي للعينة

هي طريقة سهلة وسريعة و مفيدة في التعرف السريع التابعة لصف الهيفومايسيتس ، يعتبر التحميل الكلي طريقة جيدة لمعرفة الأجزاء الثمرية في كل قطر اسبرجلس والبنسليوم غير ان هذه الطريقة قد تسبب تمزيقاً للخلايا المسئولة عن تكوين الكونيديا .

ب) طريقة مزرعة الشريحة الميكروسكوبي slide culture preparation:

يتم تحضير كتلة من بيئة الأجار حوالي 1 سم وتوضع على غطاء شريحة معقم (22 * 30 مم) وهذه توضح على 2% أجار مائي في طبق بتري بعد أن يتم عدوى بيئة الأجار بالفطر يحضر غطاء شريحة معقم ويوضع على قمة كتلة الأجار . يغطي الطبق البتري بالغطاء ثم يحضن على درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر . قد تظهر النموات الخضرية على سطح غطاء الشريحة بعد بضعة أيام قليلة . يجب أن يستمر التحضين لفترة كافية حتى يسمح بتكون الجراثيم و ملاحظتها بواسطة ميكروسكوب التشريح . ينزع غطاء شريحة زجاجية كتلة مستنبت الأجار و كذلك غطاء القاع و تجهيز للتحميل وذلك بوضع الغطاء على شريحة زجاجية . ينصح بعمل أكثر من مكرر ذلك لأنه قد يتم نزع غطاء الشريحة قبل حدوث التجريم .

سابعا – الإكثار و التخزين propagation and storage

تحتاج الدراسات التفصيلية مثل الشراسة و الفسيولوجي و تطور المكافحة البيولوجية للفطريات الممرضة طرق للإكثار و التخزين و غالبية الفطريات الممرضة يمكن إكثارها على بيئات صناعية تحتوي على النيتروجين المناسب و كذا الكربون و السكروز و تخزن غالبية الكونيديات بالتبريد ، كذلك يمكن حفظ الميسليوم و البلاستوسبور بالتبريد أو نزع الماء منها بعد المعاملة بدراجات الحرارة المنخفضة .

تستخدم طريقة المزرعة المغمورة لإنتاج الميسليوم و البلاستوسبور . بعض الأنواع من الفطريات التابعة لصف هيفو مايسيتس تنتج كونيديا تحت ظروف مزرعة المغمورة . لكن هذه الكونيديات عادة ما تكون ذات عمر قصير ، وغالباً ما تنتج كونيديات هذا الصف هوائياً لذلك تستخدم المزرعة المغموره لإنتاج الميسلوم ثم يلقح هذا الميسلوم الي بيئة اخرى لانتاج الكويندیا هوائياً ، وعموماً تعتمد الطرق على نوعية الاكثار المرغوب. ويجب التاكيد على الاكثار المتكرر لفطر ما على المستنبت بغير من التركيب الوراثي كما يقلل من شراسته ، لذلك يجب أن يتم تمرير الفطر مرة أو عدة مرات على العائل الحشري.

أ - الإكثار على البيئات الصلبة.

تستخدم هذه الطريقة بشكل روتيني للحفاظ على العزلات ولإنتاج الكونيديا ، ومن أهم البيئات التي تستخدم لإكثار الفطريات الممرضة هي مستنبت الدكستروز أجار SDAYsabourauds dextrose agar

هناك بيئات أخرى مثل مستنبت البطاطس دكستروز أجار وأيضاً مستنبت الذرة مالتوز أجار، ويقترح بعض الباحثين مستنباتاً أكثر تعقيداً مثل مخلوط الحبوب مع الأجار حيث يعتقد أن هذا المستنبت لا يفقد حيويته بسهوله ، ومن ناحية أخرى لم يقبل هذا المستنبت بسهوله للمشتغلين في مجال الفطريات الممرضة للحشرات على الرغم أن goettellعام 1984 أشار إلي أن غالبية الفطريات الممرضة من صف hyphmycetes وهذة تشمل كلاً من فطر بوفيرا وميتارزيم تنمو وتتجر ثم بشكل جيد على هذا المستنبت ، و تتركب هذه البيئة على النحو التالي :

خليط من مطحون الحبوب	25 مم
أجار	5 مم
ماء مقطر	250 مم

وفيه تخلط المكونات و تغلى في وعاء مقفل و تترك لتبرد ثم تعقم في الاتوكلاف (التعقيم يتم بكميات صغيرة في أوعية كبيرة حيث إن هذة المكونات تتسكب للخارج بسهولة) .

طريقة الاكثار الروتينية على مستوى المعمل باستخدام هذه المستنبتات الصلبة تستخدم فيها الأوعية الزجاجية أو الأطباق و فيها يلقح سطح المستنبت تحت ظروف التعقيم بمعلق الكونيديا أو البلاستوسبور و عادة ما يكون النمو أسرع في حالة استخدام البلاستوسبور ، ويتم التحضين على درجة حرارة مابين 25 إلي 27 م تحت ظروف ضوئية مختلفة . للحفاظ على عدم جفاف البيئة في الأطباق يتم اغلاقها بواسطة البارافيلم . خلال 7 إلي 10 أيام تنمو المزرعة و تتكون الجراثيم .

يتم استخلاص الجراثيم بعد ذلك بواسطة فراشاة معقمة وبواسطة غسيل سطح البيئة بماء المقطر على ترشيح حيث تستقبل الجراثيم على سطح ورقة الترشيح.

أ) البيئة الصلبة للإنتاج الغزير:

تستخدم في حالة الإنتاج الغزير مواد غذائية رخيصة مثل الأرز أو النخالة ويتم الإنتاج على النحو التالي :

1- الانتاج الغزير على الأرز:

- ينقع مقدار 500 جم من الأرز في 200 مل من الماء المعقم لمدة ساعة في بيكر سعة 2 لتر .
- يعقم بعد ذلك الأرز الموجود داخل الكيس على درجة 121م لمدة 30 – 40 ق .
- يبرد الأوتو كليف ببطء ثم تنتقل الأكياس و تترك حتى تصل درجة حرارتها إلي 20 – 25 م.
- تلقح الأكياس بالميسليوم النامي في المزرعة السائلة (راجع البيئة المغمورة) و يحرك الكيس ليتجانس توزيع الميسليوم داخل الأرز 5 – 9 سم ، 4 سم ، 4 مل .
- تحضن الأكياس الملقحة على درجة 25م لمدة 3 أيام و لامانع من تحريك الأكياس بحذر في اليوم التالي لمزيد من التجانس.
- تفرغ محتويات الأكياس في صوانٍ رقيقة و يفرش الأرز بشكل رقيق لايزيد سمكه عن 3 سم.
- تغطى الصواني بإدخالها في أكياس بلاستيكية و تغلق جيداً للمحافظة على الرطوبة و تشجيع النمو .
- تحضن الصواني بهذا الشكل لمدة 12 – 15 يوماً على درجة 25 م لتشجيع تكون الكونيديات.
- ينزع الغطاء البلاستيكي وتحفظ الصواني مكشوفة في ثلاجة على درجة حرارة 3 م .
- تفصل الأبواغ عن الأرز .

عادة يتنج من 100 كجم أرز 0- 3 كجم من الأبواغ.

هذا ويمكن إضافة بعض المواد التالية على المستنبت

سكروز	%1
ببتون	%2
فوسفات بوتاسيوم	%0.05
فوسفات المغنيسيوم	%0.01

2. الإنتاج على النخالة

منقوع نخالة القمح	100 جم نخالة /لتر ماء
سكروز	10جم
فوسفات البوتاسيوم (KH4PO4)	0.5جم
سلفات المغنسيوم (MgSO4)	0.1جم
أجار	30 جم

في هذه الطريقة يتم نقع 100جم من النخالى في لتر من الماء لمدة 24 ساعة، يرشح المحلول ثم تضاف المكونات السابقة مع منقوع النخالة وتكمل إلى لتر و تعقم في الأوتوكلف.تصب المحتويات في أطباق معقمة و تترك حتى تبرد و تجمد.يصب معلق الميسليوم و البلاستوسيور في الأطباق – تحضن الأطباق على درجة حرارة 25م لمدة 7 أيام إلى 12 يوماً. بعد نمو الكونيديا نفتح الأطباق و تترك لتجف(يفضل التغطية بورق ترشيح أو كلينكس حتى لا تتطاير الكونيديات).يحصد الفطر أما بفرشاة معقمة أو بتار ماء مقطر.

الإكثار في البيئة المغمورة Submerged culture

تستخدم المزرعة المغمورة لإنتاج الميسليوم و البلاستوسبور وأحياناً الكونيديا. و يمكن التحكم في طبيعة المنتج المراد الحصول عليه (مسليوم أو بلاستوسبور أو كونيديا). ويتوقف هذا على السلالات الفطرية أو على المزارع البيئية). يتم تنفيذ عملية الإنتاج تلك داخل المختبر على النمو التالي.

10 جم	دكستروز
10ج	مستخلص خميرة
2جم	ببتون
100جم/ لتر ماء	نقيع نخالة القمح

أ) تحضير البيئة السائلة من:

- ينقع 100جم نخالة قمح في لتر ماء لمدة 24 ساعة ثم يصفي تضاف المواد إلى منقوع النخالة يكمل المكون إلى لتر و تصب في دوارق ثم يعقم في الاوتوكلاف.
- يضاف كمية كافية من مستنبت الفطر على البيئة الصلبة على دوارق البيئة السائلة تحت طروف التعقيم.
- توضع الدوارق في الجهاو الهزاز المائي (shaker) تضبط درجة الحرارة إلى 25م، كما يتم ضبط الجهاز على عدد 100 تردد/دقيقة لمدة 48ساعة.
- خلال تلك الفترة تنتج البلاستوسبور يتم صبها على الأطباق الصلبة المجهزة للإنتاج الغزير تحت ظروف التعقيم (راجع انتاج البيئة الصلبة على النخالة).
- تحضن الأطباق على درجة 25م لمدة (7 أيام –14 يوماً).
- ترفع أغطية الأطباق و تترك لتجف لمدة 24 ساعةثم يحصد الفطر.

تنتج غالبية الفطريات الممرضة التابعة لصف هيفومايسيتس بلاسبوسبور في المزارع المغمورة. ويحتاج إلى ظروف خاصة لكل سلالة حتى يتم الإنتاج بشكل قياسي فمثلاً وجد Zinmermann وKleesples عام 1992 أن كل سلالة من فطر ميتاريزيم تختلف في نظام نموها وفسيولوجيتها طبقاً لوسط البيئة المستخدمة،بعض العزلات تنتج مسليوم غير مترابط وقليل من البلاستوسبور في حين أن بعض العزلات الأخرى ينمو الميسليوم و تتكون البلاستوسبور بأعداد كبيرة ويمكن تحسين إنتاج البلاستوسبور بإضافة 5% بولي ثيلين 200 أو 1.2%توين(80 Tween) وأيضاً بواسطة ضبط مصدر الكربون والنيتروجين ودرجة الحموضة ولقد حصل Bidochka et al. عام 1987 على أعلى محصول من البلاستوسبور لفطر البوفيرا في بيئة تحتوي على ببتون (1%) جلوكوز (2%).

تحت الظروف المفضلة فإن أنواع أو سلالات كثيرة تنتج الكونيديا في المزارع المغمورة و من ناحية أخرى وجد أنه بعد اختبار 14 عزلة من فطر Hirsutella thomsonii تمكنت عزلة واحدة فقط من إنتاج الكونيديا. كذلك وجد أنه يمكن الحصول على عدد 1.7 810X كونيديا /مل لأحد عزلات بوفيرا باسيانا في المزرعة المغمورة حينما كانت البيئة تحتوي على 2% سكروز 0.5% مستخلص خميرة و أملاح قاعدية في حين أن عدد 7.4 X810بلاستوسبور/مل أمكن الحصول عليها في بيئة تحتوي على 2.5%سكروز 2.5%مستخلص الخميرة.

ثامناً:تخزين المنتج Propagule storage

تحتاج كل الأبحاث التي تستخدم الكائنات الحية إلى امداد مستمر لها في حاجة ماسة من الحيوية كما يحتاج العمل بالفطريات الممرضة للحشرات أن تكون هناك طرق لحفظها وتنميتها وقت الحاجة إليها بصرف النظر عن لماذا أو كيف يمكن الاحتفاظ بالبيئات فإن كل تقنيات الحفظ التي من شأنها أن تزيد من القدرة على الحفظ من عدة أسابيع إلى عدة أشهر مع أقل فقد في حيوية هذه الفطريات تصبح مطلوبة تبعاً للفترة التي يستخدم من أجلها الحفظ. فضلاً عن أن وجود طريقة ناجحة للحفظ الفطريات بكميات صغيرة يمكن انمائها وقت الحاجة إليها يعمل على توفير كثير من الجهد والمساحة والمال.

بمجرد الحصول على المنتج الفطري ينبغي أن يخزن ما لم يتم استخدامه وهناك طرق عديدة لحفظ وتخزين قصير أو طويل الأجل للفطريات الممرضة ويمكن حفظ الكونيديا والبلاستوسبور والميسليوم على درجة 4م لعدة أسابيع أو حتى أشهر ويعتمد ذلك بدرجة كبيرة على أنواع الفطريات والسلالات كذلك تحتفظ الكونيديا بحيويتها بشكل جيد لو أنها حفظت تحت ظروف التبريد الجاف يلعب المحتوى الرطوبي أيضاً دوراً حاسماً فمثلاً وجد أنHedgecockعام 1995 حيوية كونيديا فطر Mflavaviride يمثل انخفاضاً تدريجياً في وجود 5% محتوى رطوبي وذلك بعد أربعة أشهر من التخزين على درجة 38م في حين كان هناك فقد سريع في الحيوية حينما كان المحتوى الرطوبي 15%

ومن ناحية أخرى وجد Daoust،Roberts عام 1983 أن كونيديا فطر Manisopliae تبقى حية بشكل أفضل حينما كانت الرطوبة النسبية 97% و درجة الحرارة 19-27م أو حينما تكون الرطوبة منخفضة صفر% و على درجة حرارة منخفضة 4م. و في حالة التخزين تحت الظروف الجافة يفضل أن يتم حصر الأبواغ (الجراثيم) بعد تعرضها للهواء الجاف لعدة أيام و في كابينة تحتوي على بلورات السيلكاجيل.

تدل الدراسات إلى إمكانية حفظ البلاستوسبور رطب أو جاف على درجة 4م كما استطاع بعض الباحثين تخزين بلاستوسبور فطر T.cylindrosporum في ماء مقطر لمدة 5أشهر على درجة حرارة 4م دون انخفاض كبير في الحيوية.

كذلك استطاع Blachere et al عام 1973 تطوير طريقة لتجفيف و حفظ بلاستوسبور فطر Beauveria brongniartii وذلك بطرد البلاستوسبور مركزياً مع خليط كالتالي:

1كجم	بلاستوسبور (22% محتوى رطوبي)
1كجم	بودرة سليكا
250مل	من (20جم سكر + 5 جم جلوتما الصوديوم في
250مل	بارفين سائل يحتوي على 10% Polyoxethylene glycerol oleate

يتم التجفيف بعد ذلك على درجة 4م. هذا و لم يوجد فقد في حيوية الفطر بعد ثمانية أشهر من الحفظ في أكياس مغلقة و مفرغة من الهواء على درجة حرارة 4م لكن المعلومات الأساسية لهذه الطريقة مازالت مفتقرة .

وهناك عدة طرق لحفظ الفطريات يمكن ايجاز البعض منها على النحو التالي :

1. الحفظ على درجة حرارة أعلى من درجة التجميد:

يحتاج حفظ الفطر على درجة حرارة الجو المحيط به إلى إمكانات أقل كثيراً من تلك التي تستخدم في الحفظ تحت درجة التجمد هناك كثير من التقنيات مثل إعادة تنمية المزرعة على نحو مسلسل أو التخزين تحت الزيت المعدني أو الماء المعقم. و من الجدير بالذكر القول أن ثبات التجانس الوراثي للبيئة سوف يتأثر باختيار طريقة التحضير المستخدمة و أيضاً بثبات الحرارة خلال فترة التخزين.

أ) التنمية على نحو مسلسل:

تعتبر هذه الطريقة من أكثر الطرق وضوحاً لتخزين البيئة لفترات قصيرة (عدة أسابيع أو عدة شهور) و ربما عدة سنوات لعدد قليل من المزارع في هذه الطريقة يتم نقل المزرعة الفطرية

من بيئة إلى بيئة جديدة و هكذا و من ناحية أخرى قد تؤدي هذه الطريقة إلى تغيرات جوهرية للفطر الممرض مثل انخفاض أو حتى فقد الحيوية و الشراسة أو الخواص الحيوية و على هذا لابد أن تفحص مزارع الفطريات الممرضة بعناية و بتتابع لملاحظة أي تغيرات تطرأ على الخواص الباثولوجية.

ب) الزيت المعدني:

يعتبر تخزين المزرعة الفطرية في أنبوب الاختبار تحت الزيت المعدني واحد من أقدم الطرق المعروفة أو هي الطريقة الأكثر بساطة و الأقل تكلفة للحفظ لفترات طويلة و مازالت هذه الطريقة متبعة بشكل واسع و خاصة للفطريات التي لا تقاوم نظام الحفظ تحت ظروف التجميد الجاف أو التبريد عالي التكلفة. يعمل الحفظ تحت الزيت المعدني على منع الجفاف كما يقلل من تبادل الغازات و بالتالي يقلل من التمثيل الايضي للفطر إلى أقل مستوى و يحذر Onions عام 1971 من استخدام الزجاجات أو العبوات ذات الغطاء ذي الحشية المطاطية حيث إن مكونات الزيت مع الحشية المطاطية قد تكون سامة للفطر.

إن حفظ الفطر تحت الزيت المعدني قد يبقى محتفظاً بحيويته لعدة عقود و لقد وجد أن القدرة الإمراضية للفطريات قد لا تتأثر لعدة شهور من التخزين ، غير أن انخفاض القدرة الإمراضية و الشراسة قد تنخفض بعد عدة سنوات من التخزين تحت الزيت المعدني تبقى غير مؤكدة .

1- خطوات الحفظ :

- استخدام مزرعة ذات النموات القوية في أنابيب المزرعة المائلة.
- يعقم الزيت المعدني و يعاد التعقيم بعد 24 إلى 48 ساعة لقتل أي نموات بكتيرية قد يكون تم تنشيطها بعد التعقيم الأول.
- تغطي مزرعة الفطر في الأنبوب بالزيت المعدني بعمق 1 سم.
- تغطي الأنابيب بغطاء محكم ثم بغطاء مزدوج من البارافيلم لمنع التبخر.
- تحفظ الأنابيب معتدلة قد تبقى حيوية الفطر لفترة أطول لو تم الحفظ في الثلاجة من الحفظ على درجة حرارة الغرفة.

2- إعادة استخدام الفطر الممرض (استخلاص الفطر)

- يتم أخذ عينة من الفطر في الأنبوبة بواسطة إبرة تطعيم معقمة.
- يتم التخلص من الزيت الزائد و توضع عينة الفطر في بيئة حديثة .

- إعادة غلق الأنبوب و يتم الحفظ.
- تراقب حيوية و تلوث المزرعة الجديدة.

ج) التخزين في الماء:

تستخدم طريقة تخزين الفطريات في الماء خاصة تلك الفطريات التي لا تستطيع أن تتحمل ظروف التجميد الجاف (استخدمت هذه الطريقة بنجاح على مدى واسع من الفطريات مثل الفطريات الممرضة للانسان و النبات) ، هذا و قد ثبت أن هناك بعض الفطريات لم تفقد حيويتها لمدة تزيد على 20 عاماً على الرغم من أن العديد من الفطريات تفقد حيويتها بشكل سريع جداً إلا أنه لا يوجد دراسات متخصصة تصف استخدام هذه التقنية مع الفطريات الممرضة و لكنها تستخدم مع الفطريات التابعة (entomophthorales) و يمكن القول بشكل عام أن الماء يستخدم لحفظ كل الفطريات الممرضة تقريباً في اللافقاريات.

تحتاج هذه التقنية إلى أنابيب ذات أغطية محكمة (Screw cap) و ماء معقم و من السهل التغلب على أكثر الصعوبات في هذه الطريقة فمثلاً زيادة اللقاح بالنسبة لحجم الوعاء يمثل خطراً كبيراً حيث يضعف من قابلية الفطر للتخزين لفترة طويلة و هذه يمكن التغلب عليها باستخدام كمية من الماء تعادل 40 مرة أكثر من مكعب اللقاح والفاقد عن طريق التبخر نتيجة عدم إحكام غلق غطاء الأنبوب يمكن التغلب عليه عن طريق إضافة الماء المعقم كلما دعت الحاجة.

1. **خطوات الحفظ**

- تستخدم نموات نشطة صغيرة نسبياً من الفطر.
- يعقم الماء و كذلك الأنابيب.
- تلقح الأنابيب بكميات صغيرة (1 مم) من مكعبات المزرعة و / أو معلق الجراثيم ينبغي أن يكون حجم الماء المعقم المستخدم 40 مرة أكثر من الحجم الكلي لمزرعة اللقاح المنغمسة في الماء.
- يتم تغطية الأنابيب بغطاء محكم ولزيادة التأكد يعمل غطاء من البارافيلم فوق الغطاء الأول أو تغمس قمة الأنبوب في شمع برافين منصهر.
- تخزن الأنابيب معتدلة في درجة حرارة الغرفة أو الثلاجة.

2. **اعادة استخدام الفطر:**

- يستخلص مكعب مزرعة الفطر بواسطة إبرة معقمة وتوضع على بيئة جديدة بحيث يلامس الفطر سطح البيئة الجديدة.

- تراقب الحيوية والتلوث في المزرعة الجديدة.
- تقفل الأنبوبة وتعاد لظروف التخزين مرة أخرى.

2. الحفظ بواسطة التجميد الجاف yophilization:

تعتبر طريقة التبريد الجاف من أكثر الطرق المتقدمة التي تستخدم على نطاق واسع لحفظ الفطريات النقية (germ plasm) وكذلك تستخدم للتخزين لفترة قصيرة نسبياً حينما يتم إرسال الفطر إلى مكان آخر.

يعتبر التخزين بهذه الطريقة من الطرق الناجحة لكل أنواع الكونيديا تقريباً hyphomycetes.coelomycetes و أيضاً الفطريات الأسلكية والبازيدية من ناحية أخرى لا تعتبر هذة الطريقة مفيدة في حفظ الفطريات من نوع Oomycetes وentomophthorales

يستخدم في هذة الطريقة عدد واسع من الأمبولات أو العبوات مثل الأمبولات الصغيرة والأمبولات التجارية ، كما يستخدم الحفظ في زجاجات السيرم الجاف على أرفف غرف مفرغة الهواء في حالة الحفظ على المستوى التجاري.

1. خطوات الحفظ :

- تستخدم مزرعة متجرثمة من الفطر (تحفظ الجراثيم بحيويتها بشكل أفضل من الهيفات ولكن البيئة غير المتجرثمة يمكن أن تجمد بالتخفيف).
- تعقيم وتجفيف الأمبولات.
- تغطي مزرعة الجراثيم بمحلول من اللبن المتروع الدسم والمعقم أو أي حامل غذائي معقد آخر واجعل جراثيم الكونيديا في صورة معلق. انقل كمية صغيرة من المعلق في أمبول معقم وضع المحتوى في الثلاجة لعدة ساعات (لو تم وضع معلق اللبن متروع الدسم في الثلاجة طوال الليل، فأن بعض الفطريات مثل الميتاريزيم انيسوبلا سوف يعمل على ترويق المحلول ، غير أن ذلك لا يؤثر على حيوية الفطر.
- يتم عمل تجميد سريع للتحضير في مخلوط الثلج الجاف مع أي من الايثانول أو بروبلين جليكول أو وضع الأمبول في الثلاجة عالية التجميد أو النيتروجين السائل.
- أدخل الأمبول المجمد إلى مفرغ الهواء . وينبغي أن يبقى التحضير مجمد خلال المراحل الأولى للتجفيف بتفريغ الهواء. بعد التجفيف يقفل الأمبول بواسطة اللهب أثناء بقائه تحت التفريغ.

- تخزن الأمبولات على درجة حرارة 4 م ويمكن حفظها على درجة الحرارة المحيطة غير أن الحيوية قد تنخفض بشكل أسرع مما لو كانت في الثلاجة.

2. إعادة استخدام الفطر.

- أقطع عنق الأمبولات بواسطة قلم قاطع.
- عقم سطح الأمبولات بواسطة 70 % ايثانول أو محلول هيبوكلوريت الصوديوم (1:1 محلول تجاري) . غلف الأمبولات بواسطة ورق معقم مرطب (ليس مشبع) بالإيثانول وأكسر الأنبوب.
- يكتب نوع وكمية المحلول بواسطة مرسل العينة ..
- اترك البيئة في مكان معقم حتى تصبح رطبة وينقل الفطر إلى البيئة الجديدة ..
- راقب حيوية وتلوث البيئة الجديدة.

3- الحفظ في الحالة المتجمدة.

يعتبر الحفظ على درجة الحرارة المتجمدة – 20 م من طرق الحفظ الجيدة والاقتصادية على الرغم أن مثل هذه الطريقة غير موصى بها، إلا أن بعض الباحثين استطاعوا الاحتفاظ بنجاح في مزارع بيتون مع مستخلص الخميرة بمجموعة كبيرة من الفطريات على درجة حرارة –20م ، وفي الحقيقة يجب أن نشير إلى أن حفظ الفطر يحتاج إلى درجات حرارة أكثر انخفاضاً حيث إنه كلما انخفضت درجة الحرارة كلما احتفظ الفطر أكثر بحيويته.

الحفظ في السيلكاجيل:

يخزن الفطر على بلورات سيلكاجيل لا مائي معقم على درجة حرارة –20م . ومن الممكن حفظ الفطر الفطر على السيكاجيل على درجة حرارة الغرفة لو أن الفريزر غير متاح، ولكن ذلك يقلل من حيوية الفطر بسرعة، ولقد أوضح Windels et al عام 1993م أنه يمكن حفظ الفطر بحيوية على السيلكاجيل لمدة أكثر من 10 سنوات . تعتبر هذه الطريقة اقتصادية وبسيطة لكثير من الفطريات ومن ناحية أخرى فأن استخدام بلورات السيكاجيل المائية كحامل للنموات التكاثرية محدودة في حالة البكتيريا والفطر الهوائي الذي يعيش على بيئة صلبة والفطريات التي تحتوي على كثير من الفجوات داخل السيتوبلازم مثل فطريات entomphthorales و Oomycetes والفيرس والميكروسبوريديا . بالرغم من توافر السيلكاجيل بشكل تجاري ، إلا أن بعضها يقتل الفطر إذا حفظ عليه ، ويجب أن تكون البلورات كبيرة وغير ملونة ، فمثلاً أنواع السيلكاجيل ذات اللون الأزرق التى تتحول إلى القرنفلي حينما تمتص الماء تعتبر سامة للفطريات . وينبغي أن يدرك أن امتصاص السيلكاجيل للماء يعمل على رفع

درجة الحرارة ، لذلك ينبغي أن توضع الأنابيب المحتوية عليه في حمام ثلجي أو براد أو في المجمد على درجة -20م لخفض درجة الحرارة أثناء إضافة اللقاح.

1- خطوات الحفظ:

- استخدام مزرعة متجرثمة.
- املأ 3/1 أنبوبة 25 × 200 ملم زجاجية ذات غطاء محكم د 6- 12 شبكة 40 ، بلورات سليكاجيل لا مائية وغير ملونة.
- عقم الأنبوبة ولسليكاجيل في فرن على درجة 160-180م لمدة 1 الى 6 ساعات للتأكد من تعقيم السليكا وعدم احتوائها على الماء.
- انشر 1 مل المعلق بالتنقيط على بلورات السيلكا الباردة.
- اضغط الأنبوبة على درجة حرارة الغرفة لعدة أيام مع الرج حتى يتم امتصاص الماء وتنفصل البورات .
- أحفظ في – 20 م
- راقب الحيوية والتعقيم وللتحضير بعد حوالي 1 - 2 أسبوع .

2- إعادة استخدام الفطر:

- انشر قليل من حبيبات السيلكا جيل الملقحة من الأنوبة إلى بيئة حديثة .
- يعاد قفل الأنبوبة بأحكام وتعاد للتخزين.

تاسعاً: التقييم الحيوي للفطريات الممرضة:

أ) طريقة عد الجراثيم :

من الضروري عادة حصر الجراثيم الممرضة للفطريات سواء في المختبر أو التجار الحقلية من أجل عمل التقييم الحيوي أو التطبيق الحقلي وهناك طريقتان يمكن إيجازهما فيما يلي

1. طريقة العد المباشر:

أ- اللقاح

العد بواسطة شريحة العد (الهيموسيتوميتر):

عادة ما تحمل الجراثيم ذات الجدر المحبة للماء كمعلق فية مثل فطـر Verticillium lecanii ولكن لا تنطبق هذة الحالة على الفطريات ذات الجدر الكارهة للماء مثل فطـر B. bassiana وفطـر M. anisopliae ولا بد من كسر هذة الكراهية أو استخدام طرق عمل معلق الفطر ميكانيكيـا وهـذه الطريقة تمدنا بمعلق جيد لكلا الفطرين البوافيرا والميتاريزيم في الماء دون أن يسـبب ذلـك تكسـيراً للخلايا . وعلى الرغم أن إضافة المواد الناشرة تسهل تكوين المعلق ، لكنـه لـيس مـن الضـروري إضافتها حيث إنها تؤثر على قدرة الكونيديا على الالتصاق بالعائل .

للحصـــول على معلق فطر من الفطريات الكارهة للمـــــاء . توضع الكونيديا فـي أنبوبـه صغيرة 1.5 (أنبوبـة جهـاز الطـرد المركـزي) مع 5 ، مل ماء فقط يدخل (يد هـاون صغـيرة) في الأنبوبـة.

وتحرك إلى أعلى وأسفل ومن إلى آخر دون تعرض الكونيديا للهواء المباشر . ولقـد أثبيتـت (Inglis el al 1996) أن استخدام الزيت يعطي نجاحاً أكثر من الماء في عمل المعلق .

ب) العد بواسطة شريحة العد (الهيوسستوميتر)

يستخدم الهيمو سيتوميتر بشكل واسع لعد وحدات الكونيديا (شـكل 8) . و الطريقـة هـي أن يسكب المعلق على كلا جانبي شريحة الهيمو سيتو ميتر ولا بد أن يسمح لجراثيم الفطر أن تستقر علـى سطح الشريحة قبل بداية العد . في حالة استخدام الماء كحامل للكونيديا فأن هذا الوقت لا يتعدى الخمس دقائق أما إذا استخدم الزيت في عمل المعلق فأن الفترة اللازمة لاستقرار الكونيديا على شريحة العد قـد تصل إلى ما يزيد على الساعة . ويجب أن تتخذ الاحتياطات ألا تتبخر نقطة الماء على شـريحة العـد عندما يكون الماء هو الذي يستخدم لعمل المعلق وأن يتم العد فور ثبات الكونيديا على شـريحة العـد . ويمكن تتبع الخطوات على النحو التالي :

1- في هذة الطريقة يختار نوع من أنواع الخلايا الموجودة في الهيموسيتوميتر A أو B أو C والتي تحتوي على كثافة معقولة من الكونيديا و قابلة للعد (10 – 50 جرثومة / مربع) .

2- يجري العد في خمسة مربعات على الأقل ، 4 في كل جانب والخامس في المنتصف يجـب ملاحظة أنه إذا زاد تكتل الكونيديا بقدر يزيد على 10% من الجراثيم فأنـه ينبغـي إعـادة التحضر مرة أخرى بحيث يحدث تفريق لمجموعات الكونيديات .

3- يحسب عدد الكونيديات (الجراثيم) في 1 مل معلق على النحو التالي:

متوسط عدد الجراثيم / خلية = مجموع عدد الجراثيم في 10 مربعات

عدد الكرات = 10.

إذا كان قد تم العد في مربع A

عدد الجاثيم في 1 مل من المعلق الأساسي = متوسط عدد الجراثيم / خلية * 1.6 * 10

العد في مربع B

عدد الجاثيم في 1 مل من المعلق الأساسي = متوسط عدد الجراثيم / خلية * 2 * 10

العد مربع C

عدد الجاثيم في 1 مل من المعلق الأساسي = متوسط عدد الجراثيم / خلية * 2.5 * 10

ج) الحيويه

من المعروف ان الهيموسيتوميتر كاحدى طرق عد الجراثيم وبالتالى يمكن معاملـه الحشـرات باعداد مختلفه من الجراثيم لمعرفه تاثير الجرعات المختلفه .لكن هذه الطريقه لانستطيع بهـا ان تفـرق بين الجراثيم الحيه وغير الحيه .من هنا فانه يلزم تقدير نسبه الجراثيم ذات الحيويـه ،وبالتـالى يمكـن حساب الجرعه الصحيحه .

من الممكن تقدير حيويه الجراثيم عن طريق تقنيه الانبات ، فمثلاً لتقدير حيويه الجراثيم لوحـده الحجم يتم ضرب العدد الكلى المقدر بواسطه الهيمو ستيوميتر × نسبة الانبات مثال :لـو ان الحيويـه (عباره عن نسبة الجراثيم التى تم انباتها على بيئه SDAY تقدر بـــــ 75%) ، وان القيمه المقدره لعدد الجراثيم بواسطه الهيوستيومتر كانت 2×10×75، =5 ،1× 10 جرثومه / مل .

د) الإنبات

غالبا مايتم تقدير حيويه جراثيم الفطر بواسطه الانبات على الأجار مثل بيئـه دكسـتروز اجـار +خميره اوالبطاطس دكستروز اجار . والطريقه الشائعه هى أن يجهز معلق الجراثيم في الماء وينشـر المعلق على سطح البيئه بكثافه عاليه ليسمح بملاحظه سريعه قبل أن تغطى الهييفات البيئه ،ولقد وجـد ان الكثافه التى تعطى أفضل النتائج في مثل هذه الحاله هى 10 جرثومات/100 ميكرولتر على أطباق البيئه ذات قطر 8،5 سم تحضن الأطباق بعد ذلك تحت ظروف الأظلام على درجه الحراره المفضـله لنمو الجراثيم وتقدر هذه الفتره من 18ـ24 ساعه . وتثبت المساحه المـراد فحصـها بواسـطه مـاده لاكتوفينول . وتعتبر نقطتان فقط من هذا المثبت كافيه للمنطقة المراد فحصها ،ثم يوضع غطاء شريحة زجاجيه فوق المنطقه .يتم الفحص المكروسكوبي تحت ظروف الاضاءة الشديدة فلا بد مـن اسـتخدام صبغه لاكتو- فوكسين التي تتركب من :

1 جم	فوكسين حمضي	Acid fuchsin
100 مل	حمض لاكتيك	Lactic acid

يمكن تقدير حيويه الكونيديا في المعلق الزيتى بنفس الطريقه السابقه ،غير أنـه توجـد بعـض المشاكل حينما يتم نمو الكونيدبات خاصة المستديرة منها مثل كونيديا فطر بوفيريا B.bassiana

وذلك لان الزيت يكون طبقه سميكه على سطح مزرعه الأجار وهذه تجعل من الصـعب تمييـز الكونيديا غير المنبته ،لذلك يفصل الصبغ بمادة لاكتوفوكسين قبل وضع غطاء الشريحه .

العد على سطح الكيوتيكل

تم بنجاح تقدير العد المباشر للنموات التكاثرية (Propagules) على سطح جدار جسم الحشـره وذلك باستخدم الميكروسكوب الالكتروني الماسح لهذ الغرض، ولكنها تظل عمل عملـى متخصـص . كذلك يعطى صبغ الانسخه قدرات عاليه جدا للعد المباشر ولقد وجد أن كونيـديا فطـر V. lecanni المصبوغه بمادة (uvitex) يمكن عدها على جليد الحشرة باستخدام الميكروسكوب الفلورسيني .

2. طريقه العد غير المباشر :

تعتبر تقنية العد المباشر الافضل لانهـا تمـدنا بمعلومـات عـن توزيـع النمـوات التكاثريـة (Propagules) ، غير ان هذه الطريقه تحتاج الى مجهود اكثر من تلك التى تستخدم في طريقـه العـد غير المباشر الى استخلاص النموات التكاثريه ،وتختلف طـرق الاسـخلاص تبعـا لمـاده الأسـاس substrate التي توجد عليها النموات التكاثريه .وتوضح الخطوات التاليه طرق الإعـداد للعـد غيـر المباشر

الاستخلاص:

ينبغي اولا اجراء عمليه استخلاص قتل الحشرات اما بواسطه الجرح الميكانيكي أو التعرض لغاز Co2 أو التجميد ويجب أن تكون الطريقه المختاره للقتل لا تؤثر على الفطر .

تتم عملية الاستخلاص اما عن طريق غسل النموات التكاثرية من على جدار جسم الحشرة أو عن طريق التقطيع المتجانس لها .

الغسيل:

على الرغم أن النموات التكاثرية للفطريات الممرضة للحشرات ربما تكـون ملتصـقة بقـوة بالحشرة لذا يجب أن تهز بقوه في الماء أو محلول منظم (bufier) مضافاً إليه إحـدي الناشـرات مثل مادة التوين (Tween 8) بتركيز 01،% ويجب أن يراعى الحذر حيث أن بعض الناشرات قد تكون سامة للفطريات . و عادة ما يستخدم جهاز الرج Shaker بعدد لفات عالية أكثر من 200/ تردد في الدقيقة لمدة 1 إلى 2 ساعة . ولقد أوضحت الدراسات أن حجم و شكل أوعية الاسـتخلاص تـؤثر

على كفاءته ، حيث وجد أن حجم محلول غسيل يزيد عن 5 مل في وعاء واسع نسبيا قد أعطى نتائج ناجحة و ذلك لإثارة محلول الغسيل . و يقترح Inglis et al أ قفل مقدمة القناة الهضمية بواسطة شمع البرافين المنصهرر قبل عملة الغسيل يعتبر ضروريا في حالة الحشرات التي تتقيئ الغذاء . يعيب هذه الطريقة أن بعض النموات قد لا تستخلص من جدار جسم الحشرة .

التقطيع المتجانس Homogenisation

ربما تكون طريقة التقطيع المتجانس أكثر كفاءة من الطريقة السابقة و خاصة في حالة النموات التكاثرية الملتصقة بشدة على جدار الجسم أو تلك الموجودة في أماكن يتعذر الوصول إليها (ثنيات الكيوتيكل) ، كما أن التقطيع المتجانس في كمية صغيرة من الماء يجعل هذه الطريقة أكثر حساسية من تلك التي تستخلص فيها النموات التكاثرية بواسطة الغسيل و التي تحتاج إلى كميات كبيرة من الماء .

يتم إجراء التقطيع أو سحق الحشرة إما بواسطة (يد هاون صغيرة) أو بالخلاط الميكانيكي ، ويجب أن نلاحظ أن هذه الطريقة تؤدي إلى رفع درجة الحرارة لذلك لابد أن يكون الماء أو المحلول المنظم المستخدم باردا و أن تتم هذه العملية بسرعة يقدر الإمكان .

تكمن عيوب هذه الطريقة في أن التقطيع المتجانس للحشرة لا يفرق بين النموات التكاثرية الموجودة على جدار جسم الحشرة أو التي ربما تكون موجودة في الجهاز الهضمي أو الهيموليمف ، كما أنها تجعل من الصعب التمييز بين الأشكال المختلفة للنموات التكاثرية مثل الكونيديا و البلاستوسبور أو شظايا الهيفات الناتجة عن عملية التقطيع .

الأوراق النباتية ومصايد الجراثيم

غالبا ما نحتاج معرفة التقدير العددي لكثافة النموات التكاثرية في وحدة المساحة في التجارب المعملية أو الحقلية و خاصة بعد تطبيق عمليات الرش .

وهذه الطريقة يتم استخلاص النموات التكاثرية من مادة الأساس و هناك مثالان يستخدم لقياس كثافة نمو النموات أغطية الشرائح الزجاجية و أوراق النبات .

1. أغطية الشرائح الزجاجية

يستخدم غطاء شريحة زجاجية مستدير بقطر 10 إلى 15 ملم . ويمكن و ضع غطاء واحد أو عدة أغطية على غطاء طبقة بتري و تثبت هذه الأغطية بواسطة مادة لاصقة أو أشرطة لاصقة على جانبي غطاء الشريحة و يمكن وضع غطاء الطبق البتري هذا في قاعة جهاز Tower لإجراء الاختبار معملي أو على سطح التربة في حالة الاختبارات الحقلية كما يمكن أن يوضع على إرتفاعات مختلفة

تنقل هذه الأغطية مباشرة بعد عملية الرش و تخزن على درجة حـرارة منخفضـة 5م حتـى إجـراء العمليات التالية .

يتم استخلاص النموات التكاثرية في أغطية الشرائح بواسطة الغسيل (كل غطاء شريحة علـى حدة) . يرش محاول الغسيل بعد إجراء التخفيفات المطلوبة على بيئـة الأجـار . يـتم عـد وحـدات المستعمرات المكونة CFU (colony forming unit) ويتم الحساب

n × معامل التخفيف / مساحة

حيث n = عدد الوحدات التكاثرية في التخفيف المطلوب

2. أوراق النبات

يمكن الحصول على تقدير كثافة النموات التكاثرية لوحدة المساحة من أعلى أوراق النبات وذلـك بجمع مجموعة من أوراق النبات عشوائيا من اتجاهات مختلفة بعد عملية الرش و تخزن علـى درجـة حرارة منخفضة ، تأخذ قطع محددة من هذه الأوراق أو يعمل ديسكات ذات أقطار متسـاوية . يحصـل على النموات التكاثرية من الأوراق بغسيلها بالماء بواسطة تمزيق الأوراق في الخلاط الميكانيكي . بعد ذلك تجرى التخفيفات المطلوبة ثم ترش على البيئة المفضلة و يتم حساب كثافة النموات بالوحدة .

طريقة حصر النموات التكاثرية.

أ) طريقة التخفيف

من أكثر الطرق الشائعة لعد لقاح الفطريات الممرضة على أو في العائـل الحشـري أو التربـة تعتمد على تقنية التخفيف بعد نزع النموات من أنسجة الحشرات أو جزيئات التربة .

يخفف المعلق عادة إلى 10 تخفيفات متتابعة (شكل 9)

ب)طريقة توزيع الجراثيم .

يتم رش حوالي 100 إلى 200 ميكروليتر على البيئة و عـادة مـا تسـتخدم بيئـة دكسـتروز إجار(SDAY). ويجب ملاحظة أن يتم امتصاص المعلق في البيئةقبل التحضين علـى درجـة 20-25م ،كما يجب أن يحضر أكثر من طبق بتري لتستخدم كمكررات . تحضن الأطباق لفترة ما بين 3 إلى 7 يوم تبعا لنوع البيئة المستخدمة . و يفضل أن تبقى الأطباق في الإظلام حيث ثبت أن الضـوء يؤدي إلى تثبيط المستعمرات الفطرية (Chase et al . عام 1986)

بعد انقضاء فترة التحضين يتم عد المستعمرات الفطرية ، وعادة ما يستخدم جهاز ستريوسـكوب بقوة تكبير 2 أو 3 × وتقدر كثافة cfu/ جرام / حشرة .

ميكانيكية الإصابة بالفطريات الممرضة للحشرات

مكان العدوى Site of action

أوضحت التجارب المعملية أن أكثر الأماكن الحساسة للعدوى في يرقات حشرة Melolontha melolontha بواسطة فطر Beauveria brogniartii هو الفم و الشرج. وتوضح الدراسات على اليرقات التي جمعت من نفس النوع من الطبيعة أن أعراض الإصابة بالفطر تظهر على الأغشية الموجودة بين الرأس والصدر و الغشاء البين حلقي و الزوائد، وربما يرجع هذا الاختلاف بين كل من الأعراض في المعمل و الحقل إلى طبيعة الحشرة من حيث أنها تحفر في التربة و هذا ربما يزيل لقاح الفطر من على جسم الحشرة المعرض في حين تكون الأغشية البين حلقية بعيدة عن هذا التأثير الميكانيكي . و تعتبر الحشرة الكاملة في الجراد الصحراوي.

Hylyobius pales Schisstocerca gregaria ذات احساسية عالية للإصابة عن طريق الفم بالفطر ميتاريزيم M.anisoplica مما دعا إلى اقتراب إمكانية استخدام هذا الفطر مخلوطاً مع الغذاء كطعوم سامة . كذلك استخدام فطر B.bassiana على سوسة النخيل الحمراء Rhynchophorus ferrugineus و أوضحت المشاهدات أن أكثر الأماكن الحساسة قي قرون الاستشعار و الغشاء بين الحلقي.

يعتبر إنبات الفطر على سطح جدار الجسم من المسائل وثيقة الصلة بوسط تواجد الحشرة و خاصة فيما يتعلق بدرجات الحرارة و الرطوبة ، و توضح التجارب أن النمو الامثل له يكون على درجات تتراوح بين 23 إلى 25 درجة مئوية لفطر Beauveria و يكون 27 إلى 28 درجة الفطر Metarhizium لذلك يظهر فطر المسكردين الأبيض بغزارة في الطبيعة في فترات انخفاض الحراة في البلاد العربية و في أثناء الصيف في أوروبا كذلك يظهر الفطر مبكراً في الحشرات الهوائية عن الحشرات تحت التربة.

على الرغم أن الكونيديا تحتاج إلى رطوبة نسبية تقدر بحوالي 92% للإنبات إلا أن العدوى بفطر B.bassiana للحشرة الكاملة لسوسة الحبوب Acanthoscelides obtectus تتم بصرف النظر عن الرطوبة النسبية، هذا و لا يمكن اعتبار هذه الظاهرة قاعدة عامة لكنة على ما يبدو أن الإصابة تتوقف على وسط وصلابة الكيو تكل في جسم الحشرة .

ويمكن تقسيم إنبات الفطر على العائل إلى عدد من الديناميكيات:

أولاً _ عمليات ما قبل تخلل الممرض إلى كيوتيكل الحشرة
Events before the penetration process

أ) الالتصاق Adhesion

تتم العدوى في الفطريات الناقصة عن طريق الكونيديا و هذه تتلامس مع الحشرات بمساعدة بعض العوامل مثل الرياح و الماء و يجب على الكونيديا أن تظل ملتصقة بسطح جدار جسم الحشرة فترة كافية حتى تتم عملية الإنبات و بالتالي يحدث التخلل. و تعتبر القوى الكارهه للماء غير المتخصصة ذات أهمية أولية لالتصاق الكونيديات غير اللاصقة (الجافة) كما في فطر Verticillium spp في حين أن أنظمة التعرف المتخصصة (جليكوبروتين و انزيمات) الموجودة على سطح الكيوتيكل . يحدث الالتصاق في فطر الميتاريزيم متلازما مع افراز الغطاء اللزج خلال تميؤ الكونيديا . و في بعض السلالات الفطرية يعتبر التصاق الجراثيم صفة متخصصة بالعائل ، فمثلاً تلتصق كونيديا فطر M.anisopliaae Var .majorالمعزولة من Cetonia aurata بسهولة مع كيوتيكل C.aurataو لكنها تفشل في الالتصاق مع حشرة الجعال القريب الصلة.

مما سبق يتضح أن الالتصاق المتخصص ربما يكون من الأحداث المبكرة التي توضح العلاقة بين العائل و الممرض ، ولقد أوضح بعض الباحثين أن الجين المسئول عن الالتصاق المتخصص في جراثيم فطر ميتاريزيم كان مرتبطاً بالجرثيم ذات اللون البني غير أن الأساس الجزيئي لهذا الالتصاق يبقى غير معروف بعد، إضافة إلى ذلك فأنه يعتقد أن مادة الالتصاق المخاطية ربما تعمل كمادة مانعة للجفاف كما أنها تحمي الكونيديا من مادة البولي فينولات السامة في العائل الحشري. و يحتوي المخاط في فطر الميتاريزيم على مستويات عالية من أنزيمات أمينو ببتيديز ، علاوة على ذلك فلقد وجدت أنزيمات أخرى مثل أستيريز و بروتيز في الكونيديات غير المجرثمة و هذه قد تحسن من سطح الكيوتيكل قبل عملية الانبات و تعمل على الامداد بالغذاء و تعدل من قابلية الكيوتيكل للبلل و تساعد في عملية الالتصاق و تعزز من تجميع الانزيمات التي تفرز بواسطة الممرض في المحلول المائي .و يجب التنويه على أن الالتصاق ليس مجرد ارتباط بجسم الحشرة و لكنه قد يتضمن في محتواه مكان إحداث العدوى.

ب)نمو الفطر قبل التخلل

عندما يصل الممرض و يلتصق على جدار جسم العائل تبدأ مجموعة من العمليات مثل إنبات الجراثيم ، نمو الهيفات وتكوين تراكيب إحداث العدوى .... إلخ ، وهذه قد تنشط أو تثبط بواسطة اقتدار العائل نفسه.

ويمكن تقسيم العمليات إلى :

1. الإنبات Germination

عادة تتم عملية الانبات والنمو بسرعة في الفطريات الناقصة deuteromycetes مثل فطر فيرتيسيليم ويتوقف هذا عادة على توافر احتياجات النمو من الغذاء والاوكسجين والماء ودرجة الحموضة والحرارة ، كذلك يتوقف على التأثيرات السامة لمكونات سطح العائل مثل الفينولات أو الأحماض الدهنية قصيرة السلسة ولا يمكن القول بصورة عامة أن الفطريات الممرضة للحشرات تحتاج إلى الغذاء والاوكسجين المذاب في ماء جدار جسم العائل لينمو ويتطور و لكن الفطريات التي لها مدى واسع من العوائل تنبت على بيئة واسعة من مصادرة الكربون و النتروجين المتضمن الأحماض الأمينية الموجودة في كيوتيكل الرقات ذات الأجسام غير الصلبة. علاوة على ذلك فأن عدم المقدرة على الانتفاع من الليبيدات المنتشرة على سطح الكيوتيكل ربما يمنع بعض الفطريات من إحداث التأثير كممرضات للحشرات،وبيدو أن الفطريات الممرضة التي ها مدى محدود من العوائل لها احتياجات خاصة حتى تتم عملية الانبات و بالمثل ، فمثلاً تحتاج عزلات فطر ميتاريزيم إلى مستويات عالية من الغذاء النيتروجين حتى تتم عملية الانبات وبالمثل فان فطر Erymia variabilis محدود النمو على الحشرات الصغيرة من رتبة ذات الجناحين و ذلك لأحتياجه على حمض أوليك Oleic acid الذي يحفز عملية الانبات.

2. عوامل التعرف Recognation factor

عديد من خطوات التعرف قد تحدث قبل اختراق الفطر لجدار جسم العائل و هذه يمكن تلخيصها فيما يلي:

أ) انبثاق انابيب الانبات التي تتوجة و تلامس سطح طبقة فوق الكيوتيكل .

ب) نزجة هيفات النمو لمكان العدوى المؤثر.

ج) التعرف على المكان.

د) تمييز خطوات التفاعل بين العائل و الممرض الذي يقود إلى التطور الناجح.

وتعتبر المثيرات الكيمائية والفسيولوجية التي تعمل على تحفيز التوجيه والتعرف غير صعبة التميز في الفطريات الناقصة ذات المدى الواسع من العوائل وقلة أماكن التأثير المميز كما هو الحال في الفطري الميتاريزيم و البيرفاريا ، فمثلاً انبثاق قناه الانبات في فطر ميتاريزيم (العزلة MEI) سوف تلتصق بأي سطح مارة للماء من خلال سائل الصمغ الذي يفرز على قمة أنبوبة الانبات و بالتالي تنتج عضو الالتصاق (appressoria) لذلك فان هذه العزلة تكون قادرة على تكوين عضو الالتصاق غالباً في أي مكان على جسم العائل واتضح ذلك من خلال دراسة العوامل البيئية والفسيولوجية والجينية

و الومنية ، و يبدو أن الاستراتيجية المثلى للممرض هو استهلاك و قت قصير و طاقة قليلة للوصول و الاختراق.

و في الحقيقة تتكون أعذاء الالتصاق في غالبية أنواع الكيوتيكل غير المجعد مباشرة أثناء وقت الانبات فمثلاً يحدث تكوين سريع لعضو الالتصاق حينما تنمو الجراثيم فوق الشعيرات في حشرة Manduca sexta و لكنها تتكون بعد نمو كثيف على سطح الكيوتيكل المجعد حيث تتعاض تلك التلافيف مع الالتصاق . يمكن القول أن كيوتيل حفر الشعيرات رقيق جداً و من ثم فهو يمثل منطقة ضعف في الحشرة تسمح للفطر بالتخلل . و بالمثل فلقد و جد أن كونيديا فطر بيوفاريا التي تسقط على مناطق متصلبة في الحشرات مثل الرأس تنتج أنابيب إنبات تنمو على امتداد السطح حتى تصل إلى المنطق اللدنه مثل الأغشية البين مفصلية و تمثل المناطق بين العقلية بشكل عام في العوامل الحشرية مناطق ضعف دفاعي في مهاجمة الفطريات .

هناك دلائل مادية في أن التعرف في بعض الممرصات الخاصة الماحبة للعائل ربما تتضمن روابط Haptens و Lectins أما في الممرض أو العائل و على الرغم من أنه لا يوجد دلائل مباشرة على وجود مادة لكتين كمركب وسطي في العوائل الحشرية إلا أن الارتباط معه يعد خطوة هامة في التعرف على علاقة (فطر – نيماتودا) (و فطر – فطر).

ثانياً – التخلل داخل جدار جسم العائل Penetration into hosts

تحتاج بعض مسببات الأمراض الفطرية ان تتخلل عبر الكيوتيكل للدخول إلى جسم العائل للحصول على الغذائ للنمو و التكاثر ، فمثلاً يحتوي فطر ميتاريزيم على مخزون قليل من المواد الغذائية لذلك فإنه يحتاج إلى الكيوتيكل لكي يمده بالغذاء الذي يحتاجه أثناء فترة التخلل . و يجب التنويه إلى أن الغذاء موجود كمكونات تركيبية في تنظيم معقد عبارة عن طبقة فوق الكيوتيكل الرقيقة .

يعتمد تخلل هيفات الفطر إلى كيوتيكل الحشرة على عوامل ميكانيكية و أنزيمية و حيث اة كمية البروتينات غير المرتبطة في جدار الجسم لا تتعدى 10 % من البروتينات الكلية، لذلك يجب أن يتم تخلل البروتينات المرتبطة قبل بدء تأثير أنزيم الالشيتينيز و يبدو أن الفطر يقوم بهذا الدور عن طريق أنزيم الشيتينيز الخاص به و الذي يحلل الشيتين إلى مونو اسيتيلات الشيتين.

تطور العدوى Development of infection

بعد أن يعبر الفطر جدار الجسم في الحشرة ينتقل بعدها على الهيموليمف في وجود تفاعلات خلوية دفاعية للعائل حيث تحيط خلايا البالزما الميسيليوم كما لو أنها أنسجة كاذبة أو ورم حبيبي (granuloma) يفرز الفطر المرضي مثل البيوفاريا و الميتاريزيم سموم تعمل على تآكل الغشاء المحبب وبذلك يسمح الى البلاستوسبور بغزو الهيموليمف . ومن الجدير بالذكر أن الخلايا الاكولة

(phagocytes) لا تلاحظ دائما كما أن الهيفات لا تنتج الا قبل موت العائل مباشرة.وهكذا فأن السموم الفطرية تعتبر ذات أهمية في القضاء على العائل. و لقد تمكن عزل عدد من السموم مثل Destruxins و كذلك Desmthyidestruxin من مزرعة فطر ميتاريزيم كما امكن عزل سمسوم Beuvericin من فطر بوفاريا (Beaubera bassiama) و سموم Beauvellide من فطر (B.bromgmiartii) ولقد تم دراسة التأثيرات الهيستولوجية للبوفرسين In vitro في مزرعة للحشرات و وجد أن إنتاج التوكسين في السلالات المختلفة لفطر البوفاريا باسيانا يتطابق في قدرته الإمراضية (شراسته) على دودة الشمع الكبيرة . و تقترح الدراسات الهيستوباثولوجية التي أجريت على أنسجة حشرات Elaterid التي تم عدواها بفطر الميتاريزيم إن التوكسينات تقتلا لعائل بواسطة حث أنسجة العائل على الأنهيار نتيجة فقدان التراكيب التكاملي للأغشية و من ثم يحدث فقدان للسائل الخلوي داخل الخلايا و لقد لوحظ أيضاً خلل في النشاط الكهربي في الأعصاب مثل زيادة استهلاك الاكسجين.

التطور الترممي للفطر Sparo phytic development of vungus

يعتبر موت العائل الحشري هو نهاية المظهر التطفلي لتطور الفطر. حين إذا ينمو المسيليوم مترمماً خلال كل الأنسجة في تنافس مع فلورا البكتيريا المعدية. وينتج المسكردين الأبيض على سبيل المثال Oosporein والذي هو حبيبات المضاد الحيوي الحمراء اللون

وينمو الفطر خارج جدار الجسم العائل وتتكون الأشكال الكونيدية conidophpres وذلك فقط حينما يكون الجو مشبعاً بالماء .

ثالثاً - التحورات التركيبية للتخلل داخل الكيوتيكل

Structural adaptation for cuticle penetration of cuticle

غالباً ما يتضمن غزو الكيوتيكل تحورات محددة في سلسلة من التراكيب . فمثلاً تكون أنابيب التجرثم في فطر ميتاريزيم عضو الالتصاق الذي يقع على سطح الكيوتيكل كما يقع نتوء العدوى في طبقة فوق الكوتيكل وهيفات التخلل وصفائح التخلل في طبقة الكيوتيكل الأولى ، وتمثل هذه التراكيب آلية تمكن المرض من اختراق الحواجز الموجودة في العائل ، على سبيل المثال يمثل عضو الالتصاق تحوراً لتركيز الطاقة الفيزيائية والكيميائية في مساحة صغيره جداً كما أنه يمثل مكان الالتصاق بجسم العائل ، ويتوسط هذا العضو إفرازاً مخاطياً كثيفاً يمد نقطة الارتكاز بضغط ميكانيكي متولد بواسطة نتوءات العدوى التي تتكون من أعضاء الالتصاق . وتلعب أعضاء الالتصاق دوراً هاماً في إحداث العلاقات الغذائية مع العائل ولذلك تتحور للإفراز وتصبح ذات جدار منقبة تسمح بمرور الأنزيمات والمواد اللاصقة على عكس جدر الهيفات النامية التي تكون منقبة فقط عند القمة.

وتدل الأبحاث على أن الفطريات الممرضة لم تدرس من الناحية التقسيمية لمعرفة التفاعلات الجزيئية التي تؤدي إلى تمييز أعضاء الالتصاق . وتتضمن الخطوات التي تؤثر علي التخلل تحفيز نقل الإشارات المميزة وتنشيط التخليق الحيوي للجزيئات الكبيرة وكذلك تمييز التعبير الجيني . وتحتوي جراثيم فطر ميتاريزيم كثير من المستقبلات على أغشية جدر الخلايا مثل منظم الأدينلات الحقلي (GTP) والتيروزين (Tyrosine protein kinase) وسيرين وثيرونين (Serine and threonine protein kinase)وأنزيم فوسفوبروتينيز فوسفاتيز وأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATPase) . ولقد أظهرت الدراسات أن تكون عضو الالتصاق يرتبط مباشراً بالعائل ، فمثلاً يظهر عضو الالتصاق في فطر ميتاريزيم الخاص برتبة غمدية الأجنحة في وجود مستويات منخفضة من الأغذية النتروجينية المعقدة ، في حين انه في كثير من عزلات الفطر في رتبة غشائية وحرشفية الأجنحة يظهر في مستويات غذائية عالية ، بالإضافة إلى ذلك تنتج العزلات المأخوذة من متجانسة الأجنحة (Homoptera) عضو الالتصاق خلال نموها في بيئة تحتوي على الجلوكوز، مثل هذه الملاحظات تجعل من السهل دراسة ميكانيكية عمل الفطر والأوساط الغذائية المفضلة في الكيوتكل للعائل حينما يتم اختراق طبقة الفوق الكيوتكل .

يحدث التخلل إلى طبقة الكيوتيكل الأولى بواسطة ما يعرف باسم وتد الاختراق (Penetration peg) وربما يكون هذا الاختراق مباشرة في اتجاه الهيفات أو التراكيب القادرة على الاختراق جانبياً مكونة صفائح التخلل . وهذا الامتداد يسبب تمزقاً يسهل عملية تخلل الفطر كما انه قد يمثل مظهراً لأنزيمات تحل الكيوتيكل . وعلى الرغم من أن التخلل داخل الكيوتيكل قد درس بواسطة عدد من الباحثين إلى أن تأثير تراكيب الكيوتيكل وقوة الشد الموجودة فيه بواسطة صفائح الشيتين ربما يكون لها تأثيراً على سلوك الممرض خلال اختراقه ذلك لأن الهيفات تميل إلى النمو على امتداد المناطق الأقل مناعة فيزيائياً . وهناك بعض الدراسات التي توضح أن الروابط الفينولية الموجودة في الكيوتيكل الخارجي تحد من تخلل الفطر في الكيوتيكل الخارجي .

رابعاً – أنزيمات تحلل الكيوتيكل Cuticle degrading enzymes

تعتبر طريقة دخول الممرض جسم العائل من الأمور التي تلاقي كثير من الاختلافات ، ويعتقد أن التخلل قد يتم بواسطة القوة الميكانيكية لو أن الكيوتيكل أنخفض للداخل عند التخلل ، كذلك فأن ظهور الهضم يأخذ على أنه دليل على التخلل الأنزيمي . علاوة على ذلك تظهر الدلائل التي أمكن الحصول عليها من فطر ميتازيزم أن هاتين الآليتين قد تحدثان معاً . وتدل الدراسات على مستوى التركيب الدقيق باستخدام الأجسام المضادة والتي تعمل ضد أنزيم البروتييز (Pr1) للممرض أنه في حين يتم التخلل لطبقة فوق الكيوتيكل أساساً بواسطة التحلل الأنزيمي ، إلا أن التخلل في طبقة الكيوتيكل الأولى يستخدم كل من التحلل الأنزيمي و الانفصال الميكانيكي للصفائح . ولقد وجد أن كثير من الممرضات

يمكنها إنتاج عدد من الأنزيمات الموجودة في كيوتيكل الحشرات وخاصة أنزيمات تحلل البروتين والشيتين والدهون .

ويعتبر أنزيم البروتييز (Pr1) لفطر الميتاريزيم من أكثر الأنزيمات التي درست بالتفاصيل ، حيث يتم معرفة خواصه الدقيقة وكذلك دوره ، ويعتبر أنزيم (Pr2) المنتج من نفس الفطر من الأنزيمات النشطة ضد عدد من البروتينات مثل الكازين و اليستين و البيومين الدم والكولاجين وكيوتيكل الحشرات ، هذا ولقد أمكن التعرف أيضاً على مشابهات أنزيم الببتيديز في فطريات B. bassiana، V. lecanii، N. riley Ascheronia aleyrodis يوضح بعض الباحثين أن شيتين الكيوتيكل يحاط بغشاء من البروتين ، ولذلك فأن معاملة الكيوتيكل بأنزيم البروتييز (Pr1) يحفز على عمل أنزيم الشينيس وعلى الرغم من ذلك فقد وجد إن فطر المتاريزيوم يستخدم أنزيم الشيتيسي ليتخلل الى الكيوتكل الخاص بالحشرة وظهور هذا الأنزيم .

خلال العدوى بالفطر كان نتيجة تخليق له حيث أن هذا الأنزيم لا يظهر إلا بعد تحلل غشاء بروتين الكيوتيكل . ويبدو أن أنزيم (Pr1)يعتبر من العوامل المحددة في فطر M. anisopliae وذلك لقدرته على تحلل الكيوتيكل من حيث يساهم في الوصول إلى البروتينات والتأثير عليها ، كذلك فأن تركيزه المرتفع في مكان التخلل قبل وأثناء تحلل بروتين الكيوتيكل يسهل عملية النفاذ. ولقد وجد أن التطبيق المتزامن لكل من مثبط هذا الأنزيم وكونيديا الفطر يؤخر من موت يرقات حشرت Manduca بالمقارنة باليرقات المطعمة بالكونيديات فقط ، كما أن المثبط يقلل من عملية الصبغ melanization في كيوتيكل العائل وكذلك على معدل نموه ويعطل المثبط التخلل خلال جدار جسم العائل ، ولكنه لا يؤثر على حيوية جراثيم الفطر أو يمنع نموها أو تكوين أعضاء الالتصاق على سطح الجسم مما جعل الباحثون يقترحون أن تثبيط الأنزيم يقلل إحداث العدوى عن طريق تحديد قدرة الفطر على النفاذ خلال كيوتيكل الحشرة . وقد أوضحت الدراسات In vitro أن تراكم نواتج هدم البروتين من الكيوتيكل والمحتوية على الأمونات تعتمد على أنزيم (Pr1) النشط . وهكذا ، يتضح دور الأنزيم في العمل على ذوبان بروتينات الكيوتيكل وبالتالي جعلها قالبة لأن تصلح مواد غذائية للفطر .

ولا يعتبر فطر الميتاريزيم وحده ممثلاً عن باقي الفطريات وذلك للاختلافات الكبيرة بين الفطريات بعضها وبعض من حيث نجاحها كممرضات . ولم يتحقق حتى الآن الوجود العام لأنزيم البروتييز في كل الفطريات . ويجب القول أن الكيوتيكل البروتيني يعتبر حاجزاً لفعل الفطريات الممرضة التي تنفذ من خلال الكيوتيكل . وتختلف أنزيمات تحلل الكيوتيكل التي تنتج بواسطة فطريات A. aleyrodis، V. lecanii، B. bassiana،M. anisopliae بشكل معنوي في مدى مهاجمتها ولكل منها اقتدار مختلف ، وحيث أن ارتباطها بالكيوتيكل شرط أساسي لنشاطها إلا أن الكيوتيكل نفسه ليس له رد فقل واحد من حيث مهاجمة الفطر له فهناك الكيوتيكل المرن والغشاء بين الحلقي وهناك الكيوتيكل

الصلب ، وهكذا فأن مناطق الجسم قد تكون مفضلة أو غير مفضلة ولذلك تتحلل المناطق المختلفة بفعل الأنزيمات بدرجات مختلفة. على هذا يمكن القول أنه وجهة نظر الممرض فأن العائل يمثل له مصدر الغذاء و أن معدل استخدامه يحدد قدرة الممرض على النمو والتزايد. ولكي يكون الممرض ناجحاً ينبغي عليه أن يكون قادراً على كسر وإعادة امتصاص مواد العائل وكذلك ينبغي أن يكون قادراً على كسر آليات المقاومة فيه من خلال الأنزيمات والتوكسينات . وعلى الرغم من أن معلوماتنا عن دور الممرض في الوصول إلى ذلك مازالت غير مؤكدة ، لكن هناك عدد من الأنشطة أمكن الحصول عليها وهي :

1. تحرر الغذاء لنمو الممرض .
2. حركة الممرض خلال الحشرة بواسطة إذابة مكونات الكيوتيكل.
3. الفعل المضاد لبداية أو استمرارية آليات مقاومة العائل مثل نزع سمية الدفاع الكيميائي بواسطة أنزيم بولي فينول اكسيديز.
4. التحوير البيئي (مثل درجة الحموضة أو الإمداد المائي) وعلى سبيل المثال يزيد هدم بروتين الكيوتيكل من درجة الحموضة إلى حوالي 8 وهذا يسهل زيادة التحلل لأنزيمي لإنزيم (Pr1) .
5. تحفيز تأثير السمية الخلوية Cytotoxic من خلال تغيير أنظمة أنزيم الفينول اكسيديز للعائل.
6. تثبيط العدوى الثانوية بالكائنات الدقيقة الأخرى.

خامساً – العلاقة بين العدوى بالفطر والانسلاخ

Relation between infection and moulting

تصل العدوى بالفطر إلى الدم فقط في حالة لو تمكن الفطر من الوصول إلى خلايا البشرة ، فحينما تتم عدوى الفطر بيوفاريا إلى العمر اليرقي الثالث لخنفساء درنات البطاطس Leptinotarsa decemlineata عند وقت الانسلاخ فأن هيفات الفطر تغزو سائل الانسلاخ وتحدث العدوى في الجيل الجديد المتكون ، ولو تم حدوث العدوى في مرحلة متقدمة من الانسلاخ يصبح الكيوتيكل الجديدة ممزقاً خلال تخلص اليرقة من جلدها القديم وذلك بسبب التصاق كل من الكيوتيكل الجديد والقديم بواسطة ميسليوم الفطر ، هذه الجروح الحادثة تصبح منفذاً لدخول الهيفات الموجودة في سائل الانسلاخ وللبكتيريا التي تستطيع أن تسبب الموت . ومن جهة أخرى ، إذا حدث التخلل سطحياً في الكيوتيكل القديم فأن الحشرة تستطيع أن تهرب دون إصابة ، لذلك ينصح بأن يكون التطبيق بالفطر في الحقل متزامناً مع دورة حياة الآفة وانسلاخها.

طريقة نشر الفطريات الممرضة للحشرات في الحقل

أن استخدام الفيروسات والبكتريا والنيماتودا والفطريات أو الكائنات الدقيقة الصغيرة تشكل في مجموعها أسلوب المكافحة الميكروبية الذي بدا يتزايد وتتزايد أهميته في خلال هذه السنوات بعد أن تصاعدت موجات التذمر من استخدام المبيدات الحشرية وما تسببه من آثار مدمرة على حياة الإنسان مباشرة أو ما تسببه من تدمير البيئة فينعكس علية بصورة غير مباشرة ويوجد الآن أكثر من 10000 نوع من الكائنات الدقيقة الممرضة للحشرات بمختلف رتبتها وأنواعها . ولعل من أسهل المبيدات الميكروبية استخداماً ومتابعة في الحقل هي المبيدات الحيوية الفطرية مثل فطر ميتارزيم أنسبوليا Metarahizum anisopliae وفطر بوفاريا باسيانا Beauveria bassiana والذي بدء تجربة الأخير بصورة حقلية صغيره في مركزي مشروع المكافحة الحيوية في المملكة العربية السعودية ودولة الإمارات العربية المتحدة .

- **العوامل التي تؤثر في كفاءة استخدام المبيدات الميكروبية .**

قبل استخدام الكائنات الحية الممرضة لابد من معرفة العوامل التي تؤثر في فاعلية هذه المبيدات الحيوية ليمكن استخدامها بنجاح في عملية المكافحة الحيوية ومن أهم هذه العوامل :-

1- النشاط الحيوي للكائن الحي :

ويعبر عنه بالمستحضر الحيوي الذي سوف يستخدم في عملية المكافحة من حيث سرعة أحداثه للموت – النمو على الكائن الحي – التكاثر – حيوية الجراثيم المستخدمة في علمية المكافحة.

2- توقيت المعاملة :

حيث يجب أن يتزامن نشر الميكروبات أو الجراثيم الفطرية مع فترة تصاعد (Peak) قمة الآفة المراد السيطرة عليها حتى نغطي فرصة ومساحة كبيرة للممرض أن يصيب الآفة بأكبر نسبة مئوية ممكنه .

3- ثبات المستحضر المستخدم تحت الظروف البيئية الحقلية :

يجب أن يستخدم المستحضر مع الظروف البيئية الملائمة من حرارة ورطوبة وكمية الضوء وحركة الرياح التي لها دور كبير في نشر الفطريات ونقلها – كمية الغذاء ونوعه ووجد أن درجة الحرارة المثلى لتطور الفطريات الممرضة تقع بين 20 – 30 م أما الدرجات الحرارية أعلى من 30م – أو درجات الحرارة المنخفضة عن 10م تكون مميتة بالنسبة إلى الفطريات أو مثبطة للنمو ، كما تلعب الرطوبة النسبية 90% دوراً فعالاً في إنبات الجراثيم وفي إنبات الحوامل الجرثومية خارج جدار جسم العائل كما أن الرطوبة النسبية المحتواة داخل جرثومة العائل والرطوبة النسبية التي تتواجد في محيط

البيئة الصغير microenvironement دور كبير في تكوين الكونيديا وضرورية للحوامل الكونيدية لإطلاق الجراثيم إما إذا انخفضت الرطوبة النسبية فإن الجراثيم الفطرية تصبح ساكنة .

أما الضوء فله تأثير على حيوية الفطر بالخصوص الموجات فوق البنفسجية التي تقتل الجراثيم الفطرية لذلك يلاحظ أن معظم الفطريات الممرضة للحشرات تكون الجراثيم خلال الساعات الأولى من الصباح الباكر وعامة فإن تعرض الكائنات الدقيقة إلى جرعة عالية من الأشعة فوق البنفسجية يؤدي إلى موتها. كما أن لنوع وكمية الغذاء المتوفر أهمية لإنبات كونيديات فطر بوفيرا باسيانا Beauveria bassiana حيث ثبت أن وجود مصدر الكربون والطاقة يشجع على إنتاج هذه الكونيدات ويوجد في الكونيدات مخزون طبيعي من النتروجين الهام لتخليق البروتين اللازم لعملية الإنبات أما المصدر الكربوني فيستمده الفطر من المركبات الطبيعية في سطح الحشرة كالجلوكوز – الاسيتايل جلوكوز أمين وبعض من النشاء ولأحماض الأمينية والشيتين وذلك عن طريق تحليلها بواسطة أنزيمات خاصة مثل أنزيم الليبز Lipase والبروتيز Protease والشيتينيز chitinase .

4- تغطية النبات بالمستحضرات الفطرية :

لنجاح عملية المكافحة الحيوية لابد من تغطية المساحة المراد معاملتها تامة ودقيقة حتى لا نترك مجال لهروب الحشرات والتكاثر لأن أي قصور في عملية التغطية سيشجع الحشرة على التكاثر في المحيط الذي لم يتعرض إلى علمية التغطية وتتم عملية تغطية المساحة المراد معاملتها بأسلوبين .

أ) **الرش المباشر على مساحات كبيرة من النبات وهذه تستلزم وقت وجهد ومال.**

ب) **الرش على البؤر الرئيسية وهذه يمكن استخدامها على النخيل المصاب إصابة متوسطة والحشرات ما زالت موجودة فيها .**

ج) **أسلوب تلويث الحشرات:**

ويعتمد هذا الأسلوب على جمع الحشرات بواسطة المصايد الفيرومونية وتعزل الإناث عن الذكور حيث تقتل الإناث وتؤخذ الذكور وتلوث بتركيز مختلف من فطر بوفاريا باسيانا 1×910 جرثومة / مل وتطلق بعد ذلك في الحقل وأثناء التزاوج أو التجمع تنتقل الجراثيم الفطرية من ذكور حشرة سوسة النخيل الحمراء إلى إناثها . وهنا لابد من الانتباه أثناء استخدام هذه الطريقة إلى ثلاث عوامل أساسية هي كما يلي:

1- تركيز المركب: (المستحضر الفطري) حيث يجب أن نعرف ونستخدم التركيز الذي لا يقتل الذكور بسرعة بل يبقيها لفترة حية ونشطة حتى يمكنها من الاختلاط في مجتمعها من جديد لتتمكن من نشر العدوى بأعلى نسبة في هذا المجتمع.

2- زمن التعريض: ونقصد به الفترة اللازمة لإحداث تلويث الحشرات عند عملية تغطيسها في هذا المحلول أو سكبه عليها فيجب أن تتراوح بين 30 – 60 ثانية تبعاً لدرجة الحرارة لكي لا تموت الحشرات على الفور ولذلك عند استخدام فطر بوفاريا باسيانا وهناك أساليب أخرى تستخدم في علمية تلويث الحشرات وذلك بعمل مصايد خاصة يوضع بها غذاء ملوث وتترك في الحقول فتجذب الحشرات وتتغذى فيحدث لها تلويث ذكورا وإناث فإذا ما عادت إلى مجتمعها تتلوث الحشرات الأخرى أو تضع الإناث بيضاً ملوثاً وبذلك تنتشر الإصابة بالفطر

3- عدد الحشرات الملوثة التي يتم إطلاقها في البيئة : كلما زاد عدد الحشرات الملوثة التي يتم إطلاقها في الحقل كلما أعطت نسبة إبادة أعلى وذلك لأن احتمالية أن تصادف حشرات غير ملوثة بحشرات ملوثة تصبح أعلى في حالة زيادة الحشرات الملوثة.

معايير تقييم فعالية المكافحة باستخدام الفطريات الممرضة :

لمعرفة نجاح أي معاملة في المكافحة لا بد لها من مقياس على ضوءه تعرف عملية نجاح المكافحة من فشلها كما يحدث في استخدام المكافحة الكيميائية للمبيدات وتقيس نجاح المكافحة الميكروبية وذلك عن طريق.

يتم تقييم المكافحة باستخدام الفطريات الممرضة للحشرات من خلال المعايير الآتية :

1- جمع الحشرات المجموعة من الحقول المعاملة وحساب نسبة الموت نتيجة الإصابة بالفطر عن طريق التحضين.

حيث يجمع على سبيل المثال 100 حشره ميتة من الحقل المعامل ونحسب النسب المئوية للموت نتيجة ظهور الفطر عليها في كل أسبوع أو شهر حسب الفترة الزمنية المختارة.

2- تطوير الإصابة بسوسة النخيل في الحقول المعاملة بالفطر مقارنة بالحقول غير المعاملة.

فمثلا لو كانت نسبة الإصابة في الحقل المعامل 3% والنسبة المئوية للإصابة في الحقل الغير معامل 10% نعلم عندها أن هناك نسبة مقداره 7% انخفاض نتيجة استخدام هذا الفطر.

3- انخفاض من مجتمع سوسة النخيل في الحقول المعاملة مقارنة بالحقول غير المعاملة.

حيث يتم وضع مصايد فيرومونية في الحقل كما هو الحال في دراسة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقول المعاملة بالفطر وفي الحقول التي لم يتم معاملتها وعلى مدار موسم أو سنة كاملة يقاس الاختلاف الفرق في التذبذب الموسمي بين المعامل ويعرف ذلك من تغير خط التوازن العام الجديد الذي يحدث في الحقول المعاملة.

4- قدرة الحشرة على الطيران والانتشار في الحقول المعاملة مقارنة بغير المعاملة.

وفي هذه الحال توضع مصايد على مسافات مختلفة كما هو المعمول به حالياً في تجربة تأثير الفطر على ديناميكية حشرة سوسة النخيل الحمراء حيث وضعت المصايد على بعد 65م من مركز دائرة إطلاق الحشرات وعلى بعد 135م من مركز الإطلاق وتقاس المسافة التي تقطعها الحشرات المعلمة والحشرات المعلمة الملوثة المعاملة في الحقل وتحسب النسبة المئوية للحشرات المعلمة التي تم اصطيادها في النطاق الأول والنسبة المئوية للحشرات التي تم اصطيادها في النطاق الثاني وتقارن هذه النسبة بالنسبة المئوية للاصطياد للنطاقين في الحقول الغير معاملة (الشاهد) .

وهذه الطريقة تساعد في معرفة قطر المساحة التي يجب أن تعامل سواء بالرش أو حتى بطريقة إطلاق الذكور ليتم التغطية التامة للمنطقة المعاملة كما ذكرنا سابقاً كما أن هناك معادلات رياضية أخرى لا سبيل إلى ذكرها هنا تحسب نشاط التطفل والآفة تبحث في محلها في دراسة إيكولوجيا الحشرات.

اصطياد وتلويث ذكور حشرة سوسة النخيل الحمراء ثم إطلاقها في مزارع النخيل لتلويث الإناث والقضاء عليها.

المبـــدأ العلمي:

أثبتت دراسات المشروع أنه بمقدار ذكور الحشرة أن تبقي حية ونشطة جنسـياً لمـدة وسـيطة تتراوح من 3- 7 أيام تقريباً بعد تلويثها بالفطريات الممرضة و إطلاقها في مزارع النخيل. كما أثبتت دراسات المشروع أن الذكور الملوثة تقول خلال تلك الفترة بالبحث عن الإناث و التزاوج معها وتلويثها هي الأخرى بالفطريات الممرضة والقضاء عليها في أماكن تجمعها الطبيعية في آباط الكـرب والليـف حيث تتوفر ظروف ملائمة من الظل و الرطوبة للفطريات الممرضة لإبادة تلك الإناث.

الإستراتيجية:

- تجمع الذكور الحية من كافة مصايد المناطق الزراعية وترسل إلى المشروع.
- تلوث الذكور النشيطة بالفطريات الممرضة في مختبرات المشروع.
- تعاد الذكور الملوثة بعبوات بلاستيكية خاصة إلى المناطق الزراعية.
- تطلق الذكور الملوثة في المزارع الموبوءة.

مصادر الذكور :

إلى أن يتم تربية غزيرة للذكور ، تجمع ذكور سوسة النخيل الحمراء كافة المصايد التي يتم تخصيصـها لهذا الغرض.

جمع الذكور الحية والعناية بها واختيار أفضلها:

- تجمع الذكور الحية مرة واحدة كل يومين من كافة المصايد المخصصة لهذا الغـرض بعد وضع خشب النخيل إضافة إلى التمر والماء والخميرة بالمصايد وكما ذكر سابقاً .
- تنقل الذكور الحية في عبوات بلاستيكية مثقبة مع قطع من خشب النخيل كغذاء ضمن براد متنقل إلى مختبرات المشروع.
- تجمع الذكور السليمة النشيطة و تستبعد الذكور المشوهة أو الميتة.
- تراقب الذكور لمدة 4 – 6 أيام مع استبدال قطع الخشب كل يومين واستبعاد الـذكور الكسولة أو الميتة باستمرار للإبقاء فقط على الذكور النشيطة القوية.

تلويث الذكور الحية النشيطة وإطلاقها:

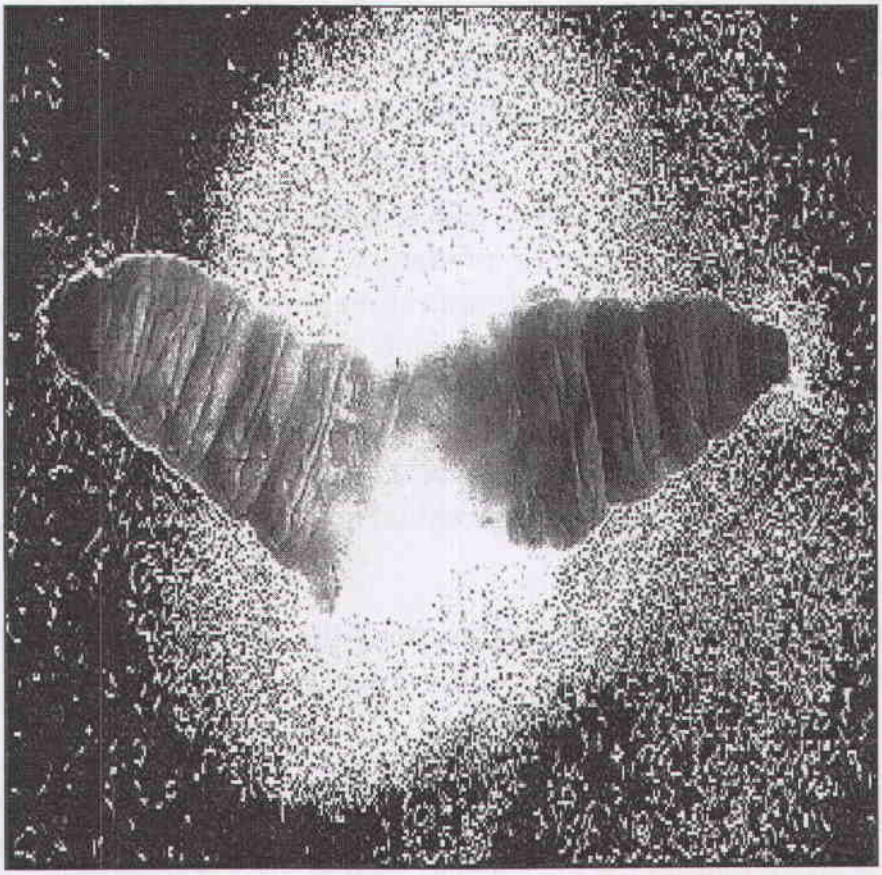
- تلوث الذكور بتغطيسها في مستحلب زيتي لسلالة مناسبة من فطر بوفيرا بازيانا لمدة معينة (مثلا تغطس الذكور في المستحلب الزيتي للسلالة الكولومبية لفطر بوفيرا بازيانا تركيز 1×10 9 بوغ / مل لمدة 20 – 30 ثانية وتقدر هذه المدة وتركيز الفطر بحسب الظروف المناخية التي سيتعرض لها الذكر الملوث بعد إطلاقه في الحقل أو بحسب السلالة الفطرية أو المستحضر الفطري مائي أو زيتي بعد إجراء تقويم مخبري بسيط)
- تعاد ثانية الذكور بعد تلويثها في المشروع إلى المناطق الزراعية بعبوات بلاستيكية خاصة لاستخدامها بعمليات الإطلاق.
- تطلق الذكور الملوثة، في المزارع المصابة، من عبواتها بعد فتحها ووضعها في أماكن إطلاق معينة بالمزرعة يتم تحديدها من قبل فنيين.
- يمكن وضع علامة مميزة (قطعة بلاستيكية صغيرة رقيقة على السطح العلوي للصدر الأمامي للحشرة ولصقها بصمغ التيكو) لمتابعة سلوك الذكور الملوثة بعد إطلاقها.
- يستمر إطلاق الذكور الملوثة أسبوعياً أو مرة كل أسبوعين خلال شهر فبراير ، مارس ، أبريل ثم أكتوبر ونوفمبر وبحسب الظروف المناخية السائدة.

محاضرات الدكتور سامي عبد الرحمن العوض

خبير النيماتودا الممرضة للحشرات – مركز الحمرانية

بدولة الإمارات العربية المتحدة

Introduction to Entomopathogenic Nematology



Introduction

Biological Control of Insects

Biological control is becoming more important as modern agriculture is shifting from reliance on synthetic organic pesticides in favour of integrated pest management. Under natural conditions the insect populations are kept in check by the influence of a multitude of environmental factors which together bring about natural control of a given insect.

The scientist DeBach (1964) has defined biological control, which regulates pest populations using predators, parasitoids, nematodes and microbial agents as "the action of natural enemies which maintain a host population at a level lower than that which would occur in their absence". Biological control of insects has become more important mainly because of the problems of insecticide resistance and also due to the mounting pressure from environmentalists. The biological control involving the use of parasitoids, predators and other microbial agents can be divided into four groups:

1. Conservation: Consists of conserving the existing control agents by creating refuges, which are protected from pesticides and provide an alternative food source for its hosts.

2. Augmentation: This is the process by which mass-reared agents are released to augment the existing population in the field or for their re-introduction into a habitat where natural enemies have been eliminated one way or another.

3. Inundative: A process by which mass-reared agents are released to inundate the pest population, to control a pest population within the first generation of release such as in glasshouses. Generally this approach is too costly to use on a large scale or on a yearly basis. This kind of release is the major approach in the utilisation of the nematodes in the two families Steinernematidae and Heterorhabditidae for field and future biocontrol programmes.

4. Introduction: Where an exotic organism is introduced into an area in the hope that it establish itself and control target pest in the introduced area. It is successful some cases of using parasites and predators.

Biological control of insect has been practised since 1200 B.C. when the Chinese used a predaceous ant in citrus groves. One of the classical examples which shows the success of biological control against a well defined problem of pest status was the control of the cottony cushion scale insect *Icerya purchasi* (Homoptera: Coccoidea) by the introduction of the vedalia beetle *Rodolia cardinalis* (Coleoptera: Coccinellidae) from Australia. This pest nearly destroyed the citrus industry in California in the late 1880's.

Use of Nematodes in Insect Control

Nematodes and microbial control agents are becoming more widely used in controlling insect pests. Although there has been an awareness of the natural control of insect population by microbes, the first record of the idea of using these microbial control agents for insect control dates back to the eighteenth century. The subject of insect microbiology and pathology did not become a serious topic of study until this century. One of the major benefits of the microbial biocontrol agents is that they are generally host specific and therefore can be used in pest management programmes without killing the natural enemies.

The Phylum Nematoda is divided into two major groups:

1. Class: Adenophorea the members of the class Adenophorea represent about 42% of the described species of nematodes. (Mostly free-living nematodes live either in fresh or marine water or soil habitat). The two known orders, which contain members that are parasites of some insects, are Tricocephalida and Mermithida.

2. Class: Secernentea (mostly parasitic of some plants and animals). The members of this class represent about 48% of the described species of nematodes. This class contains the two families Steinernematidae and Heterorahabiditidae of the order Rhabditida.

There are about 40 families of the Nematoda which have some sort of association with insects but very few of these can cause host mortality. The most important entomopathogenic nematodes were found in the families Mermithidae, Allantonematidae, Neotylenchidae, Heterorhabditidae and

Steinernematidae. Mermithid nematodes are mainly parasites of terrestrial or aquatic invertebrates. Considerable research was conducted on the species *Romanomermis culicivorax* which is mermithid parasite of mosquitoes. In spite of the fact that this nematode can kill larvae of mosquito it has not become an established biocontrol agent as all attempts to formulate this nematode on a mass-scale have failed. In addition, field trials using this nematode to control mosquito gave inconsistent results particularly in Africa where the quality of water affected the efficacy of this nematode. In the Neotylenchidae, the species *Deladenus siricidicola* is a parasite of the wood wasp *Sirex noctilio,* causing sterility to adult females of the wood wasp.

Entomopathogenic Nematodes (EPNS)

The most studied nematodes, which show a great potential for the biocontrol of insects, are the entomopathogenic nematodes in the two families Steinernematidae and Heterorhabditidae. The entomopathogenic nematodes are similar to insect parasitoids as the immature stage of these nematodes develops at the expense of the host. They are also ecologically similar to both parasitoid and arthropod predators because the host individual is eventually killed. However these nematodes differ from predators and parasites in two aspects:

1. The nematodes are mutualistically associated with a bacterial pathogen which actually kills the host insect.

2. The pathogencity of the bacterium has a great influence on the efficacy of the system.

The American Swiss-born scientist Gotthold Steiner (1886-1961) reported in 1923 the presence of the first steinernematid nematode, which was called *Aplectana kraussei*. Glaser followed Steiner and described a new species *Neoaplectana glaseri* in 1929. Glaser also developed a method of culturing the nematodes on solid media and he was the first to conduct field trials by applying the nematodes to control the Japanese beetle *Popillia japonica* in USA. Following these findings many new species of entomopathogenic nematodes were described and a better understanding of the life cycle and the symbiosis between the nematodes and the bacteria was discovered. Many insect pests were tested against nematodes as target pests.

The following amended classification shows the position of entomopathogenic nematodes within the Phylum Nematoda:

Phylum:	Nematoda
Class:	Adenophorea
Subclass:	Secernentea
Order:	Rhabditida
Sub-order:	Rhabditina
Super family:	Rhabditoidea
Family:	**(a) Steinernematidae** (Chitwood & Chitwood, 1937) (two Genera): (1) *Steinernema* (Travossos,1925 (2) *Neosteinernema* (Nguyen & Smart,1994) **(b) Heterorhabditidae** (Poinar, 1975) (one Genus): (1) *Heterorhabditis* (Poinar, 1975) (See table 1 a & b)

Difference between Heterorhabditids and Steinernematids

Heterorhabditids, unlike steinernematids, possess a 'dorsal tooth in the head region' that enables them to penetrate through soft cuticle such as the soft cuticle. IJS of steinernematids develop in the first generation into male and females where as IJS of *Heterorhabditids* develop into hermaphrodites females. Males of *Heterorhabditis* possess bursa in the caudal region while Steinernematids do not. Position of the excretory pore in *Heterorhabditis* is always below the nerve ring while the position of the excretory in *Steinernema* is above the nerve.

The families of Steinernematidae and Heterorhabditidae are unique and have been used successfully to control many insects because:

1. They are the only nematodes that have evolved the ability to carry and introduce the symbiotic bacteria of the genera *Xenorhabdus* or *Photorhabdus* into the body cavity of insects which eventually cause septicaemic death of insect within a relatively short period.

2. These nematodes are the only pathogens with a wide host range which include many families in the class Insecta.
3. These nematodes can be cultured on a large scale either in artificial solid media or in liquid fermenters.

Entomopathogenic nematodes have other attributes, which can be summarised as follows:

a. They can kill insects within a relatively short time usually 24-48h.

b. The third stage juveniles of the life cycle can be stored for long periods.

c. The third stage juveniles can be applied by conventional spray techniques.

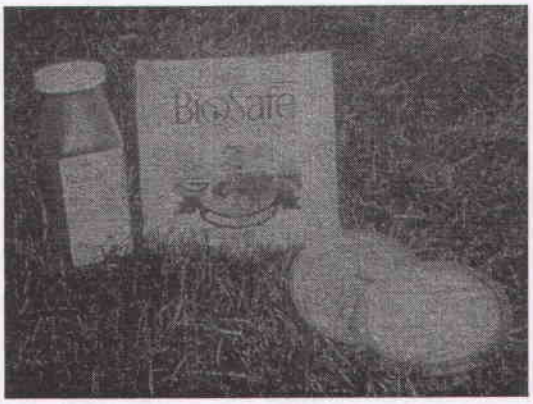
d. The third stage infective juveniles are adapted to withstand adverse environmental conditions.

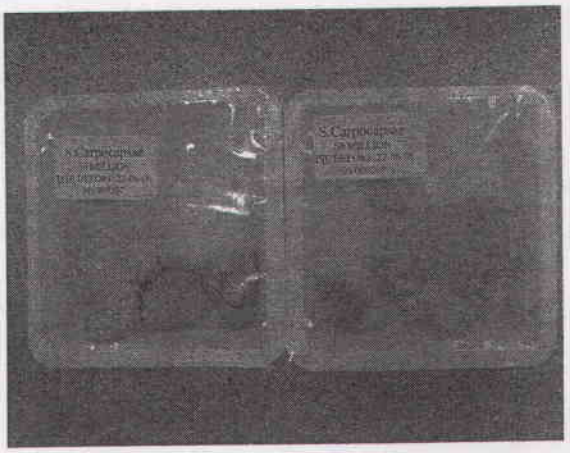
e. Entomopathogenic nematodes are adaptable biological organisms, and therefore a natural population of the insects would not be expected to acquire immunity against them.

f. Entomopathogenic nematodes are not harmful to mammals or plants.

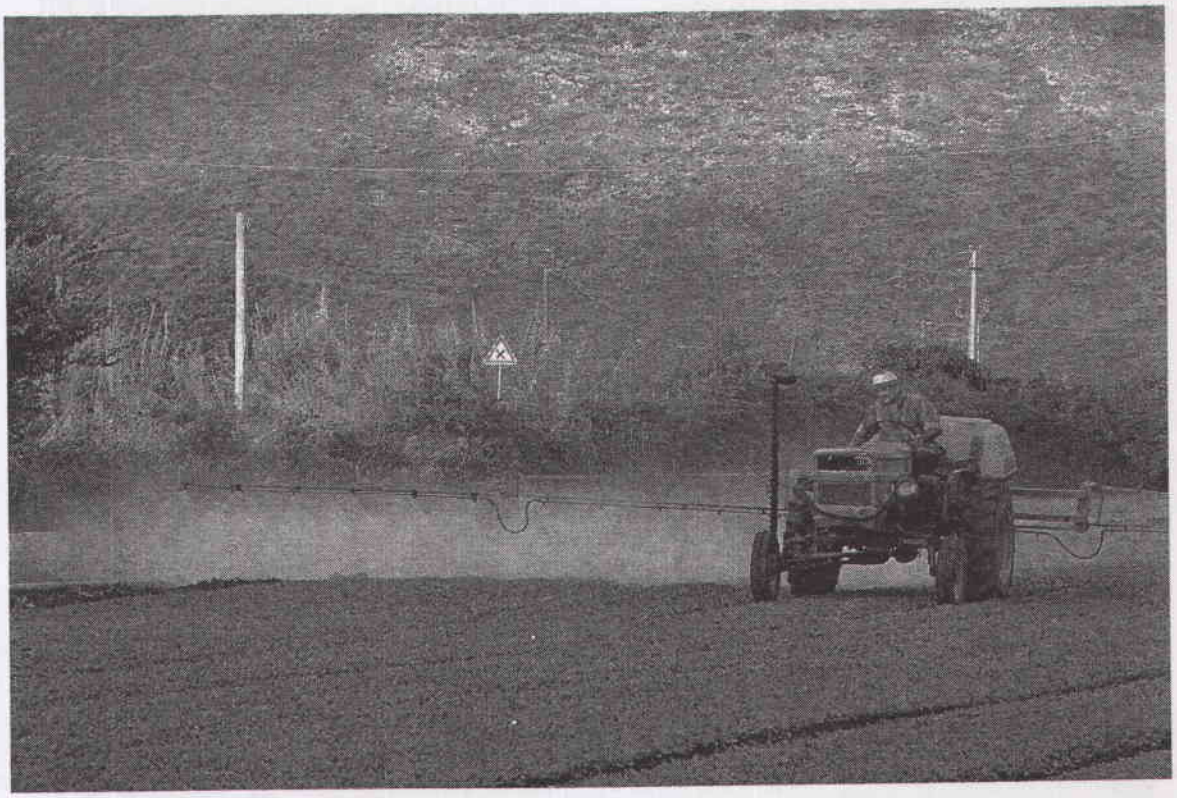
Entomopathogenic nematodes are now commercially available and extensive field research has shown that application strategies can be developed so that levels of control are comparable to the use of standard insecticides.

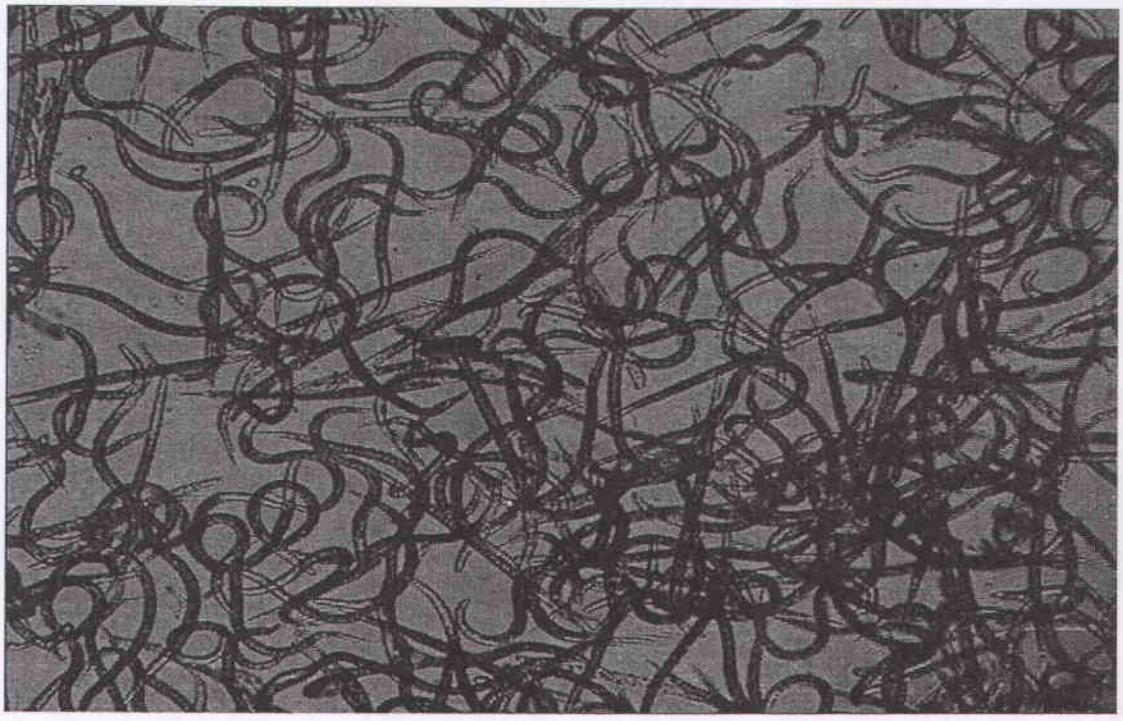
Some of available entomopathogenic nematode biopesticide products:





Application of Entomopathogenic nematodes for controlling insect pests in Europe and in United States of America:





Infective juveniles of *Heterorhabditis indicus*:

Geographic Distribution of EPNS:

Nearly thirty species of *Steinernema* and nine species of *Heterorhabditis* have been described from various insects or from the soil worldwide. As stated by (Hominick *et al.* 1996), Steinernematids and heterorhabditids are ubiquitous in distribution and have been recovered from soils throughout the world. Several surveys have been conducted in many part of the world to detect the presence of entomopathogenic nematodes. (see table 1 & 2). Although some entomopathogenic nematodes have been isolated from insects naturally infected in the field, they are most commonly recovered from soil by baiting with susceptible insects using Bedding & Akhurst method. Larvae of the wax moth *Galleria mellonella* are most commonly used in this method.

Table 1: Examples of surveys for entomopathogenic nematodes conducted at different parts of the world:

Location	Reference
Europe	
Czechoslovakia	Mrácek, 1980
Italy and Germany	Ehlers *et al.*, 1991
The Netherlands	Hominick *et al.*, 1995
United Kingdom	Blackshaw, 1988; Hominick & Briscoe, 1990; Griffin et al., 1991; Boag *et al.*, 1992; Gwynn & Richardson, 1996
Africa	
Central Kenya	Waturu *et al.*, unpublished data
Egypt	Shamseldean & Abud-elgawad, 1994
Asia	
China	Li & Wang, 1989
Hawai'i	Hara *et al.*, 1991
India	Poinar *et al.*, 1992
Australia	Akhurst & Bedding, 1986
Sri Lanka	Amarasinghe *et al.*, 1994
Malaysia	Mason *et al.* 1996
Russia	Poinar, 1986
Vietnam	Rhan *et al.*, 2000
Americas	
Canada	Mrácek & Webster, 1993
USA	Poinar, 1986; Liu & Berry, 1995
Argentina	Doucet, 1986; Stock, 1995

Table 2: Described Species of Entomopathogenic Nematodes

a. Genus *Steinernema*:

Species	Source	Country	Authority
S. abbasi	*Spodoptera* larvae	Oman	Elawad *et al.*, 1997
S. kraussei	*Cephaleia abietis*	Germany	Steiner, 1923
S. glaseri	*Popillia japonica*	New Jersey, USA	Steiner, 1929
S. feltiae[2]	Bibionidae (*Bibio* spp.)	Denmark	Filipjev, 1934
S. affinae	Bibionidae (*Bibio* spp.)	Denmark	Bovien, 1937
S. carpocapsae[3]	*Cydia pomonella*	Czechoslavakia	Weiser, 1955
S. anomali	*Phyllophaga* sp.	Central Russia	Kozodoi, 1984
S. intermedia	Soil	S. Carolina, USA	Poinar, 1985
S. rarum	Soil	Argentina	Doucet, 1986
S. kushidai	*Anomala cuprea*	Shizuoka, Japan	Mamiya, 1988
S. scapterisci	*Scapteriscus* sp.	Uruguay	Nguyen & Smart, 1990
S. ritteri	Soil	Córdoba, Argentina	Doucet & Doucet, 1990
S. neocurtillae	*Neocurtilla hexadactyla*	Florida, USA	Nguyen & Smart, 1992
S. riobravae	*Helicoverpa zea*	Texas, USA	Cabanillas *et al.*, 1994
S. longicaudum	Soil	China	Shen, 1992
S. serratum	Soil	USA	Liu, 1992
S. cubana	Soil	Cuba	Mrácek *et al.*, 1994
S. bicornutum	Soil	Yugoslavia	Tallosi *et al.*, 1995
S. caudatum	Soil	Japan/China	Xu *et al.*, 1991
S. puertoricensis	Soil	Puerto Rico	Roman & Figueroa, 1994

S. karri	Soil	Kenya	Waturu *et al.*, 1997
S. oregonensis	Soil	Oregon, USA	Liu & Berry, 1996a
S. ceratophorum	Soil	China	Jian *et al.*, 1997
S. monticolum	Soil	Korea	Stock *et al.*, 1997
S. arenarium	Soil	Central Russia	Artyukhovsky, 1967
S. siamkayai	Soil	Thialand	Stock *et al.*, 1998
S. sangi	Soil	Vietnam	Phan *et al.*, 2001
S. locii	Soil	Vietnam	Phan *et al.*, 2001
S. jolietti	Soil	Mid West America	Phan *et al.*, 2004
S. robustispiculum	Soil	Vietnam	Phan *et al.*, 2005

b. Genus: *Heterorhabditis*

Species	**Source**	**Country**	**Authority**
H. bacteriophora	*Heliothis punctigera*	South Australia	Poinar, 1975
H. zealandica[3]	Scarabaeidae	New Zealand	Poinar (syn.), 1990
H. megidis	*Popillia japonica*	Ohio, USA	Poinar *et al.*, 1987
H. indicus	*Scirpophaga excerptalis*	India	Poinar *et al.*, 1992
H. brevicaudis	Soil	China	Liu, 1994
H. hawaiiensis	Soil	Hawai, USA	Gardner *et al.*, 1994
H. argentinensis	Soil	Argentina	Stock, 1995
H. hepialius	*Hepialis californicus*	Bodega Bay, CA, USA	Stock *et al.*, 1996
H. marelatus	Soil	Oregon, USA	Liu & Berry, 1996
H. baujardi	Soil	Vietnam	Phan *et al.*, 2004

Basic Biology of Entomopathogenic Nematodes

The life cycle *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 CO_2 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 can enter larvae of the leather jacket directly through the cuticle.

Entomopathogenic nematodes can be divided into two broad groups according to the way by which they become attracted to their host, however this classification is not precise and one has to be careful in case of using it:

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 as 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 IJs of *Heterorhabditis* develop only in the first generation to adult hermaphrodite females and in the second generation develop to amphimictic adults (i.e. separate males and females). In the case of *Steinernema* IJs 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*

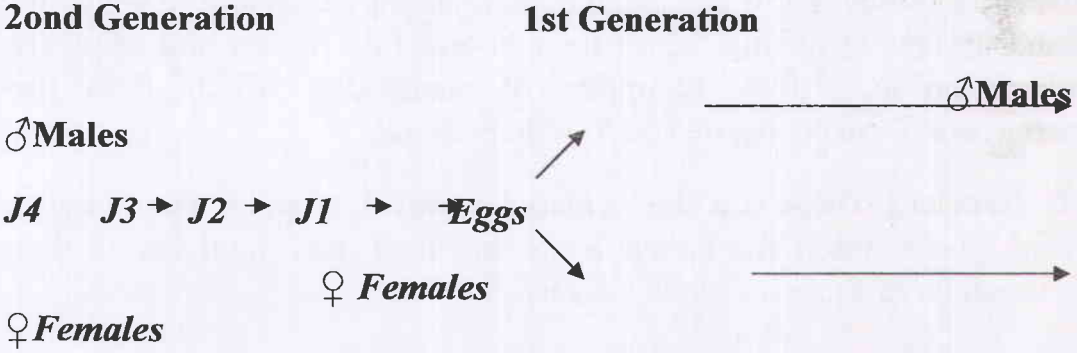
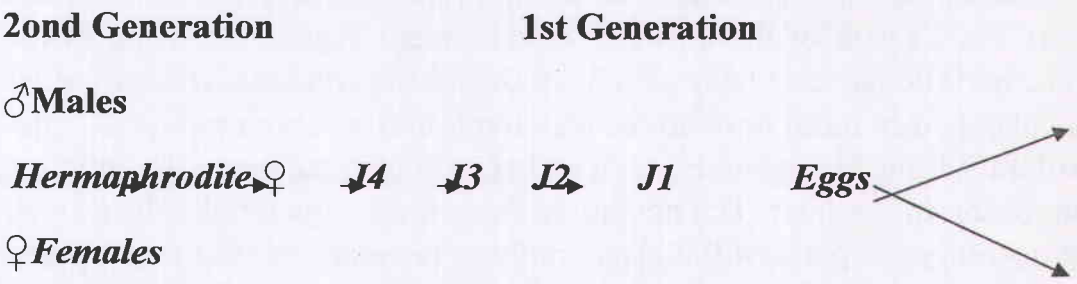
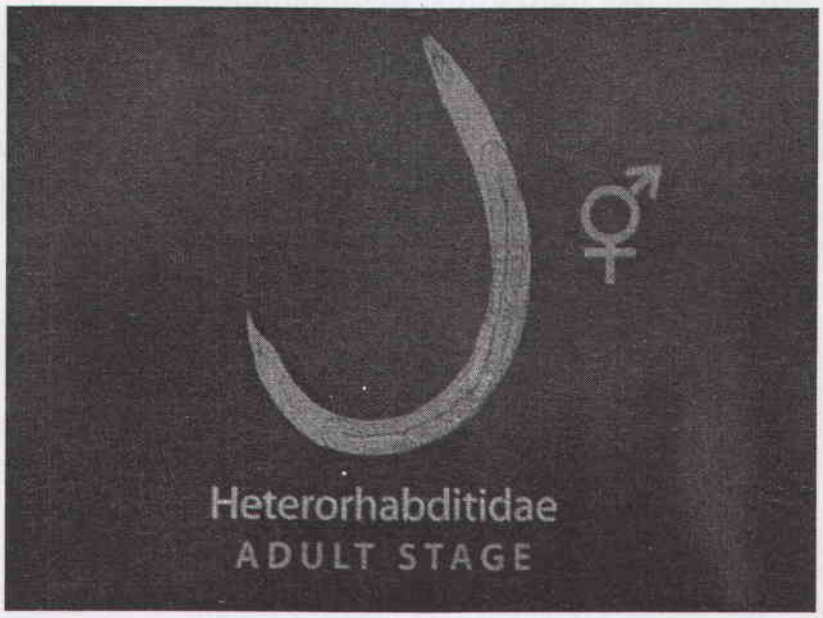


Fig. 2 : Course of life Cycle of the Genus *Heterorhabditis*



Hermaphrodite Female of *Heterorhabditis* nematode:

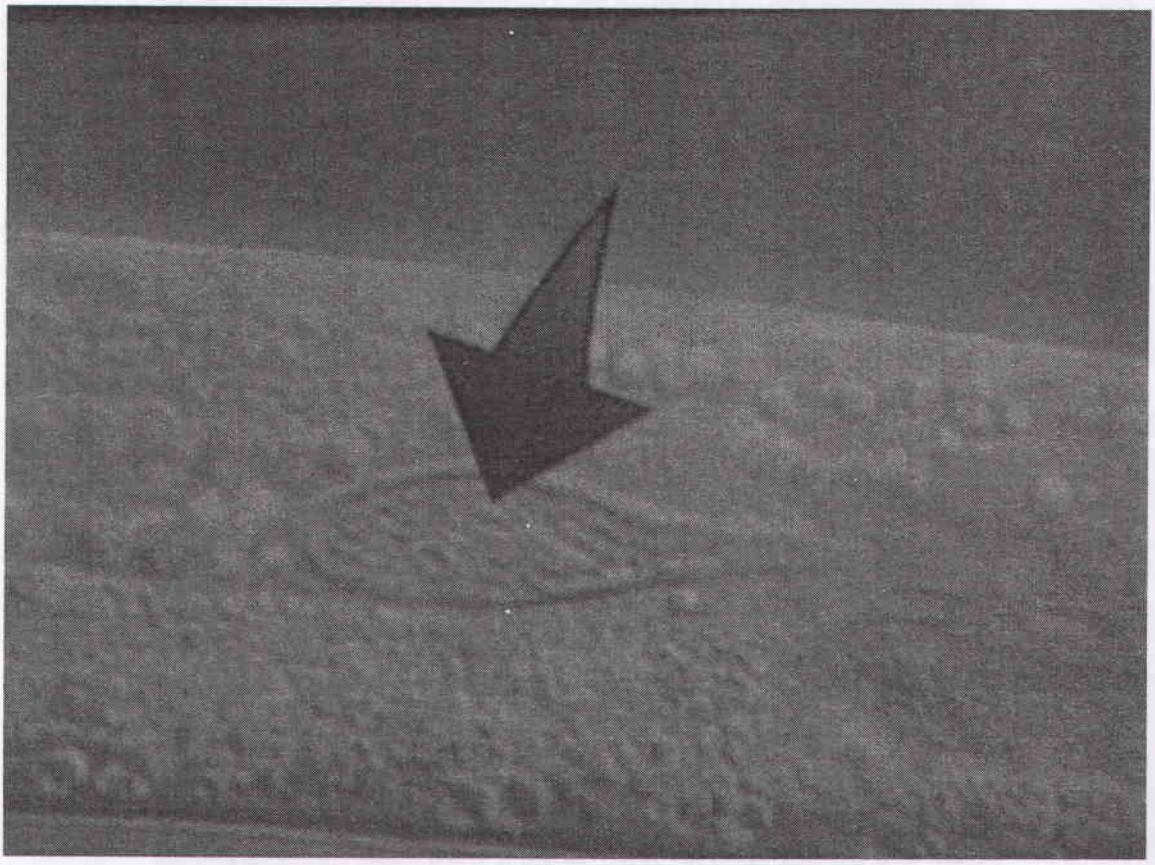


Male and Females stage of *Steinernema*:

The Symbiotic Bacteria

Steinernema spp are symbiotically associated with specific bacteria which are always carried monoxenically within the intervesticular vesicle of the IJ gut while bacteria associated with *Heterorhabditis* spp are carried within the whole gut of the IJ.

Symbiotic bacteria of the genus of *Steinernema* inside interventicular vesicle (below the basal bulb of the oesophagus):



The symbiotic bacteria were 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 *Achromobactor 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 3 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 catalyse 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. luminesces* 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 fermintative 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 (See photo below). 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*.

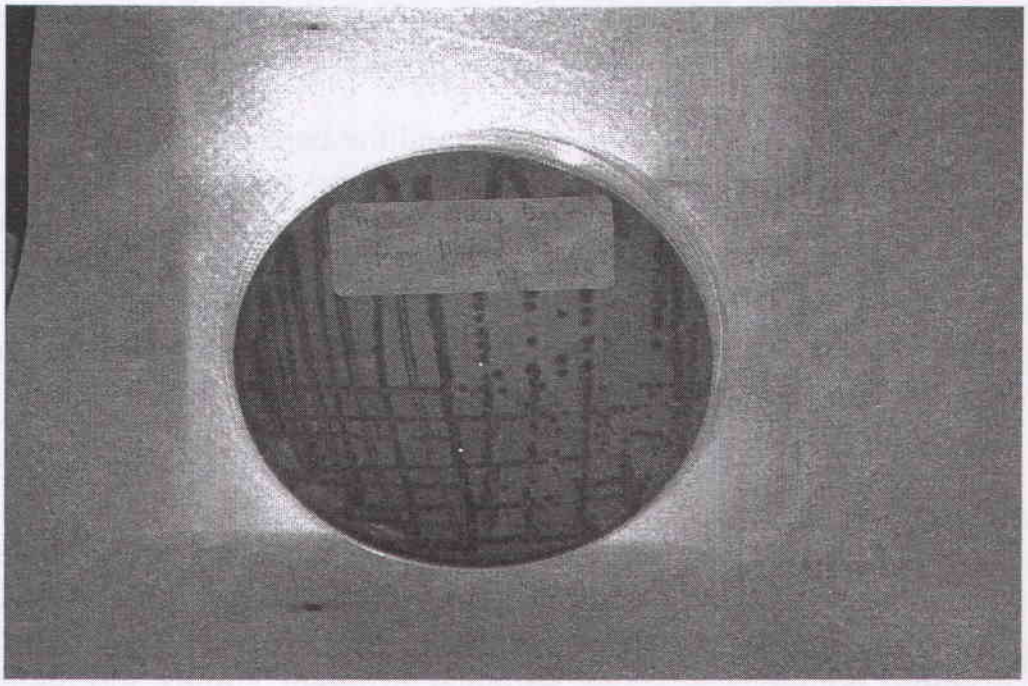
Other differences between the two bacterial phases can be summarised as the follows:

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

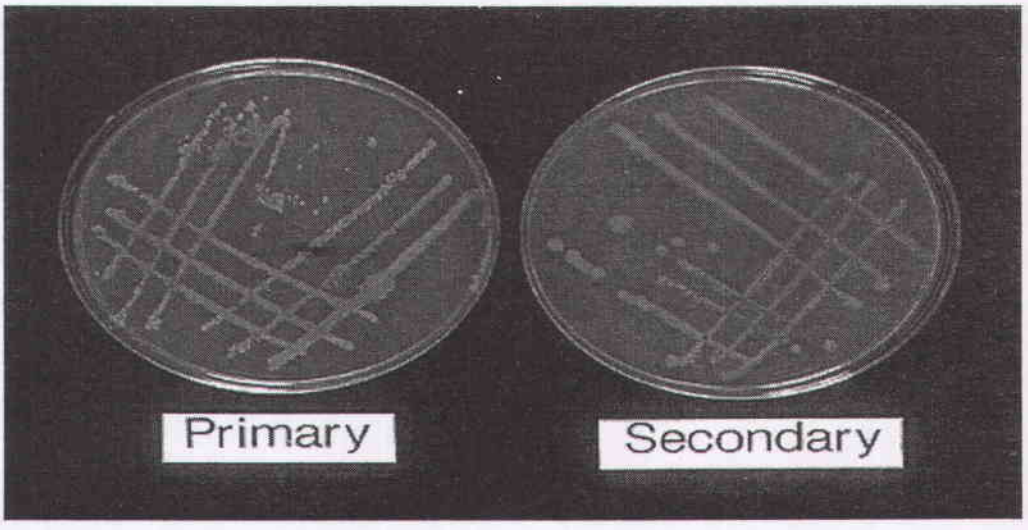
(2) Phase one adsorbs certain dyes and develops large intracellular inclusions, whereas phase two does not adsorb dyes, and forms insufficient intracellular inclusions.

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

Colonies of *Photorhabdus luminescens* bacteria isolated from *H. indicus* on NBTA plate:



Differentiation between Phase one (Primary form) and Phase two (Secondary form) on Nutrient agar plates:



Source: Rationale Biopesticide

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 lipopolyasacharides (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.

The Pathogencity of the Symbiotic Bacteria

Table 3: Symbiotic Bacteria associated with different species of EPNS:

Species	**Bacterial symbiont**
Steinernema kraussei	*Xenorhabdus bovienii*
S. glaseri	*X. poinarii*
S. feltiae	*X. bovienii*
S. affinis	*X. bovienii*
S. carpocapsae	*X. nematophilus*
S. anomaly	*Xenorhabdus* sp.
S. intermedia	*X. bovienii*
S. rara	*Xenorhabdus* sp.
S. kushidai	*Xenorhabdus japonicus*
S. scapterisci	*Xenorhabdus* sp.
S. ritteri	*Xenorhabdus* sp.
S. neocurtillae	*Xenorhabdus* sp.
S. riobravae	*Xenorhabdus* sp.
S. longicaudum	*Xenorhabdus* sp.

S. serratum	*Xenorhabdus* sp.
S. cubana	*Xenorhabdus* sp.
S. bicornutum	*Xenorhabdus* sp.
Heterorhabditis bacteriophora	*Photorhabdus luminescens*
H. zealandica	*P. luminescens*
H. megidis	*P. luminescens*
H. indicus	*P. luminescens*
H. brevicaudis	*P. luminescens*
H. argentinensis	*P. luminescens*
H. hawaiiensis	*P. luminescens*
H. hepialus	*P. luminescens*
H. marelatus	*P. luminescens*

Host location

The third stage juvenile is the infective stage in a number of animal-parasitic nematodes for example the hookworms *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, and *Strongyloides stercoralis* possesses an array of sensory structures and show distinct host-location behaviours.

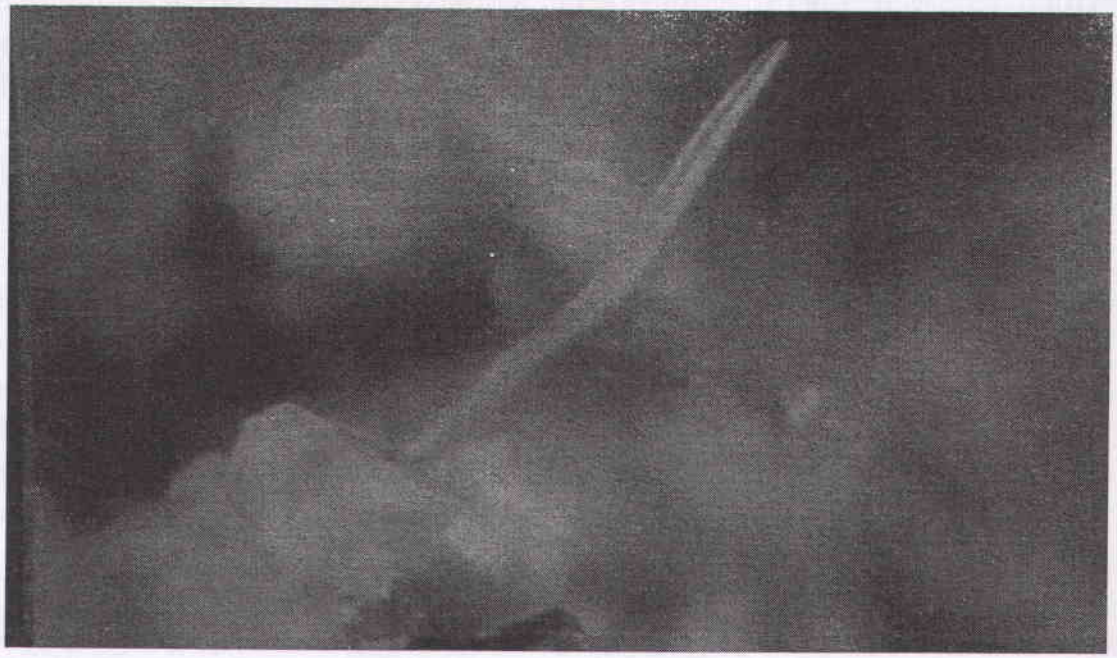
Searching behaviour in most animals as been mentioned earlier can be broadly classified into two strategies; 'ambushing' and 'cruising'. Ambushing can be described as a 'sit and wait' strategy whereby the predator obtains its prey by waiting in ambush, while cruisers acquire their victims by actively searching for them. This classification has recently been used to describe the host-location behaviour of IJs of entomopathogenic nematodes.

Important differences have been found between ambushing and cruising nematodes in regard to the type of insects they each parasitize. However, the importance of host susceptibility to the nematodes cannot be

minimised. When *Heterorhabditis bacteriophora* (a cruiser) was compared with *S. carpocapsae* (an ambusher) in a bioassay against larvae of the black cutworm (*Agrotis ipsilon*) and the black vine weevil (*Otiorhynchus sulcatus*), a significant difference was found in which host the nematodes parasitized: *Steinernema carpocapsae* was more effective at killing *A. ipsilon*, while *H. bacteriophora* was more effective against *O. sulcatus*. The foraging behaviour of the two nematodes and the distribution of the target insect in the soil can explain the difference in host preference. *Heterorhabditis bacteriophora* tends to disperse more readily into the deeper layer of the soil profile, and being a cruiser, it is able to locate *O. sulcatus* which occurs near the plant's roots. In contrast, *S. carpocapsae* tends to remain near the soil surface, therefore better able to infect surface dwelling insects such as *A. ipsilon*. In addition, *S. carpocapsae*, together with *S. riobravae* and *S. scapterisci*, share an important behavioural trait which is ability to nictate.

Nictation involves the IJ lifting all but the posterior part of the body from the substrate and waving from side to side. Bouts of waving are interrupted with periods of inactivity whereby the IJ remains extended in a straight posture for several minutes. Studies have shown that nictation can take up more than 70% of the time spent on the substrate surface. By raising the body off the substrate the nematode is able to reduce the surface tension holding it to the substrate, enabling it to attach more readily to passing insects. Occasionally, the nictating IJ may leap enabling it to disperse or attach to passing insects. It is not known what triggers leaping but it does increase in frequency in the presence of an insect. Nictating IJs of *S. carpocapsae* have also been shown to be more infective than non-nictating individuals in laboratory bioassays. This suggests that nictation is an adaptive behaviour used in host location and infection. More recently, the nictation behaviour of *S. carpocapsae* has been exploited in the design of a trap for cockroaches. The substrate used in the trap has been designed to allow IJs to nictate.

Nictating IJ of *Steinernema carpocapsae*



Sensory organs of infective juveniles

Most nematode sensory organs are associated with the body cuticle, and are often referred to as cuticular sensilla, receiving signals from the external environment. Other sensory units occur internally and are responsible for sensing mainly internal body factors. Stimulation from the external environment may act directly on the muscular and coordinating systems of the nematode, or indirectly through sensory receptors. The dermal light responses, certain temperature reactions may be the result of direct action, without sensory perception.

Nematodes are practically devoid of free sensory endings in the body wall. All sensory endings in nematodes are connected to special organs, for example, setae and papillae. Essentially, nematodes do not sense touch at any place on the body except at the papillae and setae. Labial papillae, cephalic papillae or setae and amphids represent sensory organs of the head. Labial papillae are represented by small raised places in the cuticle with an opening at the top. Cephalic sensory organs in entomopathogenic nematodes may have a chemical/mechanical role, as demonstrated in *C. elegans* where the labial papillae are organs of mixed reception whilst cephalic papillae may be pure mechanoreceptors. Nematode amphids are strongly associated with the perception of distant chemical cues and are

considered as the primary chemosensilla in nematodes. Indirect evidence of a chemoreceptor function in amphids is also derived from greater development of amphids among males of certain free-living nematodes and of free-living stages of parasitic nematodes, e.g. mermithid nematode.

Observations on IJs of entomopathogenic nematodes (Haukeland, 1993) have identified four distinct cephalic papillae, morphologically similar to the adult stage labial papillae. The amphids on IJs are larger, and more pore-like than those found on adults, suggesting that they have a greater role to play in IJs, possibly in host location. In adult *S. feltiae*, amphids are not observed on the females but are present on males which may use them in finding females inside the insect. The electrophysiology of nematode responses to external cues has been studied in plant-parasitic nematodes, but similar studies with entomopathogenic nematodes have been lacking. Such work would prove valuable in screening those insect-derived chemicals that best stimulate the nematodes. This could lead to methods for manipulating nematode responses/activity to improve their efficacy in the field.

Host perception

Orientation towards potential hosts and their identification as suitable targets may involve a number of chemical cues, emanating from the host's immediate environment and from the host itself. A number of organisms use a hierarchy of cues (abiotic and biotic) to locate food and mates. These cues are initially non-directional and provide information on the suitability of the environment for locating a target. When the searcher is in the right environment, it will use directional cues to reach the target host. Parasitoid foraging behaviour is a classic example of such a search strategy. One recent report has provided evidence to support the suggestion that entomopathogenic nematodes may use several hierarchy of cues to locate the host. Infective juveniles are responsive to certain chemicals produced by the host. For example, studies have shown that IJs respond to host products such as CO_2, faecal components, gut contents and other volatiles emitting from the insect. Host specificity may also be determined by internal factors present in the insect haemocoel and temperature gradient. The importance of these different cues has only been established in Petri dish bioassays in which the nematodes are placed in a choice type arena with the host-derived chemical spread over the agar or located at a distance from the nematodes. In order to demonstrate the difference between attraction and arrestment of an organism to a particular chemical, a measure of directed movement relative to time is necessary (sand column

assays). Entomopathogenic nematodes may also be able to detect cues emitting from the host's immediate environment. For example, CO_2 is regarded principally as a long-distance attractant of plant-parasitic nematodes in the rhizosphere. Since a large amount of CO_2 is produced by roots, it is likely that it acts to attract entomopathogenic and other insect-parasitic nematodes into the rhizosphere where encounters with plant-feeding insects are more likely present. Insect-evolved CO_2 would then serve as a more close range attractant, and possibly direct the IJs to openings of spiracles, one of the major routes of nematode entry into an insect.

Infectious subpopulations

It is well known that within a population of IJs not all individuals will infect an insect at any one time. This phenomenon was investigated in detail using the sand-tube infectivity bioassay and *G. mellonella* as other hosts. Evidence for the existence of a dynamic, binomially structured IJs population made up of an infectious subpopulation and a non-infectious subpopulation was proved. Hay & Fenlon (1995) suggested three subpopulations; a group of IJs which initiate infection, a group which invade already infected hosts, and a third group which are non-infective. The consequence of both models is an extended survival of IJs population. Assuming low intra-population genetic diversity, steinernematid populations are highly related to their parental populations. Thus a local population of IJs is likely to share a similar genotype. Therefore, having temporal asynchrony in the population in regard to infectivity and possibly other factors, would increase survival of nematode population. Infective juveniles of *S. feltiae* and *H. megidis* have also been found to have asynchronous rates of lipid utilization.

Male protandry (steinernematid)

Male protandry in entomopathogenic nematodes has been a recent subject of discussion. Protandry is a mating strategy where both males and females benefit from the early emergence of males. Early emerging males increase their chances of finding un-mated females, while later emerging females benefit by entering into an environment already populated with males, which reduces the risk of pre-reproductive death. The proportion of males in control populations of different species (*S. anomali*, *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. glaseri* and *S. scapterisci*) ranged from 38-42%. When the nematodes were placed in a sand column containing a *G. mellonella* larva, the ratio of males to females that penetrated the larva was significantly different, with the exception of *S. feltiae*, compared with the

sex ratio found in the control population. Between about 60% (for *S. anomali*) and almost 100% (for *S. scapterisci*) of the nematodes that had penetrated the larvae were male. Males were also found to disperse, locate, and establish in distant live hosts before females. In addition, female IJs of *S. glaseri* were attracted to hosts previously exposed to male IJs for 4 h, although hosts exposed to males for longer periods were not as attractive. The latter authors suggested that this might be a means to avoid interspecific competition.

Protandry would be a reproductive strategy for *Steinernema* species that employ the cruising strategy for host location, but not those that are predominantly ambushers. The hypothesis is based on the poor response of the ambusher species *S. carpocapsae* to host volatiles making it unlikely that either sex would find the host before the other. The results of the experiment showed that predominately male IJs of *S. glaseri* emerged first from the insect cadaver, in contrast to *S. carpocapsae* where more than 85% of the IJs were females. Furthermore, early-emerged IJs of *S. glaseri* were more responsive to unparasitized hosts, whereas later emerging IJs responded more strongly to parasitized hosts. These later emerging IJs were found to be predominately female. The above results suggest that male protandry in *S. glaseri* may be a natural phenomenon. However, the suggestion that ambushers do not behave in such a manner is disputed by the work of Ishibashi *et al.* (1994) who found that when nictating individuals were considered as a population, more males nictated and therefore went on to parasitize hosts in relatively higher numbers than female IJs. Assuming that male IJs are better at locating insects, Lewis & Gaugler (1994) suggested that a female biased population of nematodes could result in poor field efficacy, although there has been no published data on the sex ratio of *in vitro* reared IJs.

In some plant-parasitic nematodes, environmental stress (including nutritional, crowding effects, and the presence of other pathogens) can result in the production of more males. This adaptation has two possible benefits for the population. First, the increase in motile males (females being sedentary) allows individuals to leave the area and find more suitable feeding sites. Secondly, the incidence of sexual reproduction may increase, resulting in the production of more fertilised eggs better able to withstand adverse conditions. The production of males in response to stress may also occur in steinernematids. For instance, laboratory culture conditions may put some unknown stress factor on the nematodes, inducing the formation of more males. Therefore, more realistic studies are needed to establish

whether or not male protandry in entomopathogenic nematodes is a natural phenomenon.

Once outside the host, IJs have to cope with built-in and non-built in constraints: having limited energy reserve is the major built-in constraint. Since the IJs are non-feeding, the task of locating and infecting a new host has to be completed before energy reserves become depleted. On the other hand, non built-in constraints are considerably more and they includes abiotic and biotic factors. Together all factors can limit the effectiveness of the IJs to do their job and from a commercial point of view this is certainly not what is needed.

Energy reserves in nematodes

Lipids and carbohydrates serve as the main energy reserves in parasitic and free-living nematodes. Nematodes usually contain both lipids and glycogen their presence is affected by nematode species, environment, and developmental state. Few generalisations can made; animal-parasitic nematodes have more glycogen than lipid, while free-living and plant-parasitic nematodes, and IJs of entomopathogenic nematodes contain significantly more lipid. This dichotomy is a reflection of the habitat in which these groups of nematodes are found. The utilization of lipid can only occur in aerobic environments, and so animal-parasitic nematodes tend to use glycogen since it can also be utilized anaerobically.

Factors Affecting the Efficacy of Entomopathogenic Nematodes:

(a) Behaviour: In spite of the fact that entompathogenic nematodes can parasite 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 entomoapthogenic 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 LD_{50} 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, pathogencity 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

Entomopathogenic nematodes have been produced for 68 years by a variety of means; by 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 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. riobravae* 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 IJs 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 IJs 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 IJs 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 Practical Protocols for Entomopathogenic Nematodes:

Composition of Nutrient Agar:

Peptone	5.00g
Beef Extract	3.00g
Agar	15.00g

To be added to one litre of DDH_20

Nutrient Agar bottle 37g to be added to one litre of DDH_20

Composition Nutrient Bromthymol Triphenyltetrazolium Chloride Agar:

Peptone	5.00g
Beef Extract	3.00g
Agar	15.00g
Bromothymol Blue	0.025g
Filterate of Triphenyltetrazolium Chloride 1%	0.04ml

To be added to one litre of DDH_20

Composition of Nutrient Broth:

Peotone	5.00g
Beef Extract	3.00g

Nutrient Broth bottle 30g to be added to one litre of DDH_20

Composition of Ringer's solution:

NaCl	0.90g
KCl	0.40g
$CaCl_2$	0.40g
0.20g	NaH_2CO_3
1000ml	Distilled H_2O

Composition of TAF solution:

7.00ml	Formalin

2.00ml Triethanolamine

91.00ml Distilled H_2O

Processing EPNS for taxonomic purposes

1. **Collection of nematodes**

To isolate males and females of *Steinernema* dissect of previously infested 2–4 days earlier. to recover first generation nematodes stages and 5-7 days after infection to recover the second-generation stages.

Dissection should be carried out in saline solution (Ringer solution) to avoid osmotic shock.

To isolate hermaphrodite females of *Heterorhabditis* dissection of suitable host should be carried 3-4 days after infection and 6-9 days after infection for second generation (Males and Females).

2. **Preparation of nematodes for observation**

It is essential to do correct fixation for accurate measurement of specimens prior to identification.

Quick preparation

Living nematodes picked from dissected host can be mounted on a glass slide using a drop of saline solution. Always use cover glass to prevent flattening of the specimens. The slide can be sealed with nail polish and the specimen become immobile and ready for examination after 20 minutes.

Preparation for long preservation

Nematode specimens should be killed using hot water at 60°C, then fixed in TAF solution for 3 days then transferred for slow evaporation in 2% glycerol solution with traces of formalin for 8 days. Specimens can then be mounted on anhydrous glycerol on glass slide. Also use glass wool and pieces of glass cover as support to prevent flattening of the specimens.

Isolation of bacteria associated with EPNS

Bacteria associated with EPNS can be isolated using the following method: Isolating the haemolymph from surface sterilised *G. mellonella* larva (infected 24 h earlier with *S. riobrave*).

Steps

Infect *G. mellonella* larvae with suspension of nematode provided in Petri-dish and filter paper.

- Incubate at 28°C in the incubator for 24 h.
- After 24 h take the dead larvae and surface-sterilise *G. mellonella* larva with 70% alcohol for 5 min. under the laminar air flow cabinet.
- Flame the larvae and leave the larvae to dry for few mins.
- Using sterile needle open the larva dorsally on sterile Petri-dish.
- Dip sterile loop onto the oozing haemolymph and streak it on previously prepared NBTA agar.
- Incubate the plates in dark at 28°C for 24h.
- Pick pure colony and streak it on NTBTA and incubate again for 24h.
- Pure colonies can be used to prepare bacterial suspension in broth by introducing one colony to flask containing 1000ml of sterile broth suspension.

Formulation of Entomopathogenic Nematodes:

Alginate Formulation: Two steps:

a. Preparation of Nematode / sodium alginate suspension:

- Weigh 2 gm of Sodium Alginate and add to 90 ml of H_2O. Mix thoroughly for 3-4 minutes.
- Add 8 ml of nematode suspension with known concentration.
- Introduce the nematode and Sodium Alginate suspension to distillation funnel to facilitate the formulation of nematode/Alginate mixture into drops.

b. Preparation of Calcium Chloride Solution:

- Mix 1.47 g $CaCL.2H_2O$ in 100ml of water in glass beaker. Introduce the beaker to magnetic stirrer. Mix the solution continuously.
- Distil nematode alginate mixture of the into Calcium Chloride solution through valve of glass funnel.
- Leave in $CaCL_2$ solution for 20 –30 min.
- Collect the formulated sodium alginate pellets by sieving off Calcium Chloride suspension.

Formulated pellet can be stored in Petri dishes at 8-15°C.

Clay formulation: know-how regarding clay formulation technology remains in confidential only for personnel working in companies.

الكلمات

- كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي المدير العـــام للمنظمـــة العربيـــة للتنمية الزراعية في حفل الافتتاح
- كلمة نيابة عن معالي الشيخ عبدالرحمن بن خليفة بن عبد العزيز آل ثاني وزير الشؤون البلدية والزراعة بدولة قطر.
- كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي المدير العام للمنظمـــة فـــي حفـــل الاختتام
- كلمة سعادة عبدالله صفر عبدالله الخنجي مدير إدارة التنمية الزراعية بوزارة الشؤون البلدية والزراعة بدولة قطر

كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي

المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية ألقيت نيابة عنه

في حفل افتتاح

الدورة التدريبية الإقليمية الثانية في مجال

نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل

الدوحة ـ دولة قطر

2006/6/22-18

الدكتور عبدالله صفر المحترم

مدير إدارة التنمية الزراعية بوزارة الشؤون البلدية والزراعة

السيدات والسادة المشاركون

الإخوة والأخوات الحضور

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته،

يسعدني ونحن نلتقي بالدوحة لؤلؤة الخليج أن أرحب بكم أجمل ترحيب أصالة عن نفسي ونيابة عن معالي الدكتور سالم اللوزي المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية في حفل افتتاح الدورة التدريبية الإقليمية الثانية في مجال نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل التي تعقدها المنظمة العربية للتنمية الزراعية بالدوحة بالتعاون مع وزارة الشؤون البلدية والزراعة والصندوق العربي للإنماء الاقتصادي والاجتماعي والبنك الإسلامي للتنمية والصندوق الدولي للتنمية الزراعية وصندوق الأوبك للتنمية الدولية.

ويسعدني في البداية أن أتقدم بعاطر الثناء والتقدير لدولة قطر أميراً وحكومةً وشعباً لاحتضانها واستضافتها هذه الدورة. كما أتقدم بالشكر لمعالي الدكتور سلطان بن حسن الدوسري وزير الشئون البلدية والزراعة بدولة قطر على رعايته الكريمة لهذه الدورة ونثمن لمعاليه دعمه ومساندته لكافة أنشطة المنظمة الهادفة إلى تنمية وتطوير الزراعة المستدامة في المنطقة العربية. كما لا يفوتني أن أتقدم بالشكر للسادة المختصين الذين يشرفون على تنفيذ برنامج هذه الدورة وكذلك للإخوة القائمين على تنفيذها وأرحب بالإخوة المشاركين من الدول العربية متمنياً لهم طيب الإقامة في بلدهم الثاني قطر والاستفادة الكاملة من هذه الدورة والتوفيق والنجاح في مجالهم العملي.

السيدات والسادة الحضور،

إن شجرة النخيل هي من أقدم وأهم الأشجار في منطقة الخليج العربي لقدرتها على النمو المستدام وتحملها للظروف المناخية القاسية مما جعلها مصدراً متميزاً وفريداً للغذاء والخشب والألياف لآلاف السنيين . كما أن تمر أشجار النخيل ليس فقط جزءاً أساسياً في الغذاء اليومي بل أيضاً يلعب دوراً مهماً كسلعة تصديرية في منطقة الخليج وتشير التقديرات إلى أن 50% من إنتاج التمور يستخدم كتمور طازجة وبقية إنتاج التمور تستخدم مجففة ومعبأة.

وعلى الرغم من الجهود التي تقوم بها الدول العربية في مجال قطاع النخيل إلاَّ أن إنتاج زراعة النخيل ظل يعاني من مشاكل متعددة ناتجة عن الوسائل التقليدية المتبعة في زراعته بالإضافة إلى ظهور أمراض وآفات عدة من أهمها حشرة سوسة النخيل الحمراء في دول الشرق الأوسط والحشرة القشرية في السودان ومرض البيوض في دول المغرب العربي ، حيث تسبب هذه الأمراض والآفات هلاك لآلاف أشجار النخيل وتفقدها دورها في الحياة البيئية وهي بالتالي تشكل أكبر تهديد لبقاء الواحات مما يفاقم مشكلات الجفاف وازدياد معدلات التصحر.

وفي هذا الإطار فقد أولت المنظمة العربية للتنمية الزراعية اهتماماً كبيراً في خطط أعمالها حول قطاع النخيل في الوطن العربي بهدف تنميتها وزيادة إنتاجها والحفاظ عليها . كما تقوم المنظمة حالياً بتنفيذ مشروعين إقليميين لمكافحة مرض البيوض في المغرب العربي وحشرة سوسة النخيل في الشرق الأوسط بالإضافة إلى مشروع قطري لمكافحة الحشرة القشرية بجمهورية السودان.

الإخوة والأخوات الحضور،

استشعاراً لأهمية نقل تقانة المكافحة الحيوية باستخدام الفطريات والنيماتودا الممرضة للحقل لما له من أهمية كبرى في التحكم والسيطرة على حشرة سوسة النخيل الحمراء ، وكذلك نشر المصايد الفيرومونية الكيرومونية لما لها من أثر على تقليل الإصابة بالإضافة إلى المعرفة بتشكيل المبيد الحيوي وكيفية تخزينه وطرق استخدامه والتي تعتمد تطبيقاتها جميعا على وجود الكوادر الوطنية المؤهلة ذات الكفاءة والمعرفة التطبيقية بهذه التقنيات .

وإدراكاً من المنظمة لأهمية التدريب والتأهيل للكوادر الفنية الوطنية في الدول المشمولة بالمشروع وذلك من خلال تنفيذ الدورات التدريبية المتخصصة فقد ارتأت تنفيذ هذه الدورة بهدف التنسيق والتعاون لمكافحة هذه الآفة والسيطرة عليها و الحفاظ على ثروة النخيل باعتبارها إحدى العناصر المهمة في تحقيق الأمن الغذائي العربي.

وفي ختام هذا الحفل لا يفوتني أن أتوجه بالتحية الخالصة لهذا البلد العربي الأصيل المضياف، ومثمناً عالياً مساهمات مؤسسات التمويل وهي الصندوق العربي للإنماء الاقتصادي والاجتماعي و البنك

الإسلامي للتنمية وصندوق الأوبك للتنمية الدولية والصندوق الدولي للتنمية الزراعية في تنفيذ مكونات هذا المشروع.

وأكرر شكري وتقديري لمعالي وزير الشؤون البلدية والزراعة وأسرة الوزارة على حسن الوفادة وكرم الضيافة متمنياً للإخوة المشاركين كل التوفيق والنجاح في عملهم.

ونسأل الله أن يوفقنا لما فيه الخير والسداد لأمتنا العربية.

والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته.

كلمة

نيابة عن معالي الشيخ عبد الرحمن بن خليفة بن عبد العزيز آل ثاني
وزير الشؤون البلدية والزراعة بدولة قطر

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله ... والصلاة والسلام على رسول الله ...
السيدة الدكتورة / كوثر أحمد عوض
مدير إدارة المشاريع بالتكليف بالمنظمة العربية للتنمية الزراعية
السادة/ خبراء مشروع مكافحة سوسة النخيل الحمراء
الإخوة والأخوات / المشاركون

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته،

بداية يطيب لي أن أرحب بكم في بلدكم الثاني قطر وأن أنقل لكم تحيات سعادة الدكتور/ سلطان بن حسن الضابت الدوسري وزير الشؤون البلدية والزراعة، كما يطيب لي أن أتقدم بالشكر الجزيل للمنظمة العربية للتنمية الزراعية وعلى رأسها معالي الدكتور سالم اللوزي – المدير العام للمنظمة والدكتور / ناصر الجاغوب – المنسق الإقليمي للمشروع على جهودهم المبذولة لمكافحة سوسة النخيل الحمراء التي باتت تهدد ثروتنا الوطنية .. شجرة النخيل المباركة ..

آملين مواصلة تلك الجهود من المنظمة العربية على كل الأصعدة .. حتى نصل إلى مرحلة السيطرة على هذه الآفة.

وختاماً ..

نتمنى للجميع دوام التوفيق والنجاح ،،،

والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته ،

كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي

المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية

في حفل ختام الدورة التدريبية الإقليمية الثانية في مجال

نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل

الدوحة ـ دولة قطر

2006/6/22-18

سعادة / الدكتور فالح بن ناصر آل ثاني الأكرم

المدير العام للبحوث والتنمية الزراعية بوزارة الشؤون البلدية والزراعة

سيادة / على الكبيس الخبير الزراعي بوزارة الشؤون البلدية والزراعة

سيادة / الدكتور عبد الله صفر الأكرم

مدير إدارة التنمية الزراعية بوزارة الشؤون البلدية والزراعة

الإخوة مدراء الإدارات والأقسام بوزارة الشؤون البلدية والزراعة

السيدات والسادة المشاركون

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته،

يسعدني أن أرحب بكم أجمل ترحيب في حفل ختام الدورة التدريبية الإقليمية الثانية في مجال نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل. ويسعدني أن أنقل لكم تحيات معالي الدكتور سالم اللوزي المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية لأخيه معالي الدكتور سلطان بن حسن الدوسري وأسرة وزارته الكريمة لاحتضانه واستضافته لهذه الدورة والتي أكسبت الكوادر الوطنية العاملة بمشروع **"نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الشرق الأوسط"** الخبرة في نقل وتطبيق تقانة المكافحة الحيوية في الحقل والمختبر باستخدام الحزم الحيوية لمكافحة هذه الآفة الخطيرة وذلك من خلال عزل الفطريات والنيماتودا الممرضة للحشرة وكيفية تحضير إكثارها وتخزينها وطرق استخدامها في حقول النخيل بالإضافة إلى استخدام المصايد الكرمونية الفيرمونية في مكافحة الحشرة، وذلك في فترة قصيرة امتدت خمسة أيام قام بتنفيذ هذه الدورة خبراء المشروع في كل من المركزين بالحمرانية بدولة الإمارات العربية المتحدة والقطيف بالمملكة العربية السعودية وبالتعاون مع وزارة الشؤون البلدية والزراعة بدولة قطر. وقد تخلل البرنامج التنفيذي للدورة تقديم المحاضرات النظرية والتطبيقات العملية في مجال استخدام النيماتودا والفطريات لحشرة سوسة النخيل الحمراء وإعداد وتحضير المعلق الفطري وتحضير الفيرمون النخيلي

وأتمنى للمشاركين أن يكونوا قد استفادوا من هذه الدورة الاستفادة الكاملة.

وفي الختام أكرر شكر وتقدير معالي الدكتور المدير العام للمنظمة إلي الأخ الدكتور سلطان بن حسن الدوسري وللدكتور فالح بن ناصر آل ثاني ولجميع الإخوة العاملين بوزارته لحسن الوفادة وكرم الضيافة ولكافة الجهات التمويلية لإسهاماتها المقدرة.

والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته.

كلمة السيد عبدالله صقر مدير إدارة التنمية الزراعية بدولة قطر
في حفل إفتتاح الدورة التدريبية الإقليمية الثانية في مجال
نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل
الدوحة – دولة قطر
2006/6/22-18

بسم الله الرحمن الرحيم

والصلاة والسلام على سيدنا محمد أشرف المرسلين وعلى آله وصحبه أجمعين

السادة / مدراء الإدارات المحترمون

السيدة الدكتورة/ كوثر أحمد عوض

السادة / خبراء المنظمة العربية للتنمية الزراعية

الإخوة والأخوات الحضور

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته

يطيب لي بالأصالة عن نفسي وبالنيابة عن سعادة الدكتور سلطان بن حسن الدوسري – وزير الشؤون البلدية والزراعة، أن أرحب بكم جميعاً في فعاليات افتتاح هذه الدورة **نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل**، ولذلك فقد أولت الشؤون البلدية والزراعة بتوجيهات من سعادة الدكتور سلطان بن حسن الدوسري – وزير الشؤون البلدية والزراعة باتخاذ كافة الإجراءات اللازمة للسيطرة على تلك الآفة وباستخدام كافة السبل المتاحة ووفق الأساليب العلمية الحديثة. كما تم رصد المبالغ المالية اللازمة لتنفيذ مشروع المكافحة المتكاملة لتلك الآفة وتم اعتماد الطرق الحيوية كإحدى مكوناته الرئيسية، ولعلمنا بعدم إمكانية تحقيق ذلك إلا من خلال تأهيل الكوادر الوطنية المدربة والتي يمكنها القيام بأعمال المكافحة وفق الأساليب العلمية المتطورة. عليه فإني أدعو كافة الأخوة والأخوات المشاركين على ضرورة الاستفادة من مواضيع هذه الدورة والتي ستتناول كافة الجوانب المتعلقة بالمكافحة الحيوية لسوسة النخيل الحمراء والعمل الجاد على نقل نتائج وتقنيات التجارب والبحوث إلى حيز التطبيق الحقلي.

وبهذه المناسبة لابد لي من أن أتقدم بخالص الشكر وعميق التقدير إلى سعادة الدكتور سالم اللوزي – مدير عام المنظمة العربية للتنمية الزراعية على حرصه واهتمامه الشديدين من خلال متابعته الدؤبة لتنفيذ برامج المشروع بما فيها الدورات التدريبية الإقليمية. والشكر موصول أيضاً إلى الإخوة الخبراء المحاضرين والذين عانوا من متاعب وعناء السفر للحضور للدوحة. كما أشكر كل من ساهم في الإعداد والتنظيم والتحضير لهذه الدورة القيمة.

وأخيراً أتمنى أن تثمر هذه الدورة إلى تحقيق الأهداف المرجوة، كما أتمنى لكم جميعاً ولدورتكم هذه كل النجاح والتوفيق.

والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته.

عبد الله صفر عبد الله الخنجي
مدير إدارة التنمية الزراعية
وزارة الشؤون البلدية والزراعة
الدوحة – قطر

كشف بأسماء المشاركين

كشف أسماء المشاركين

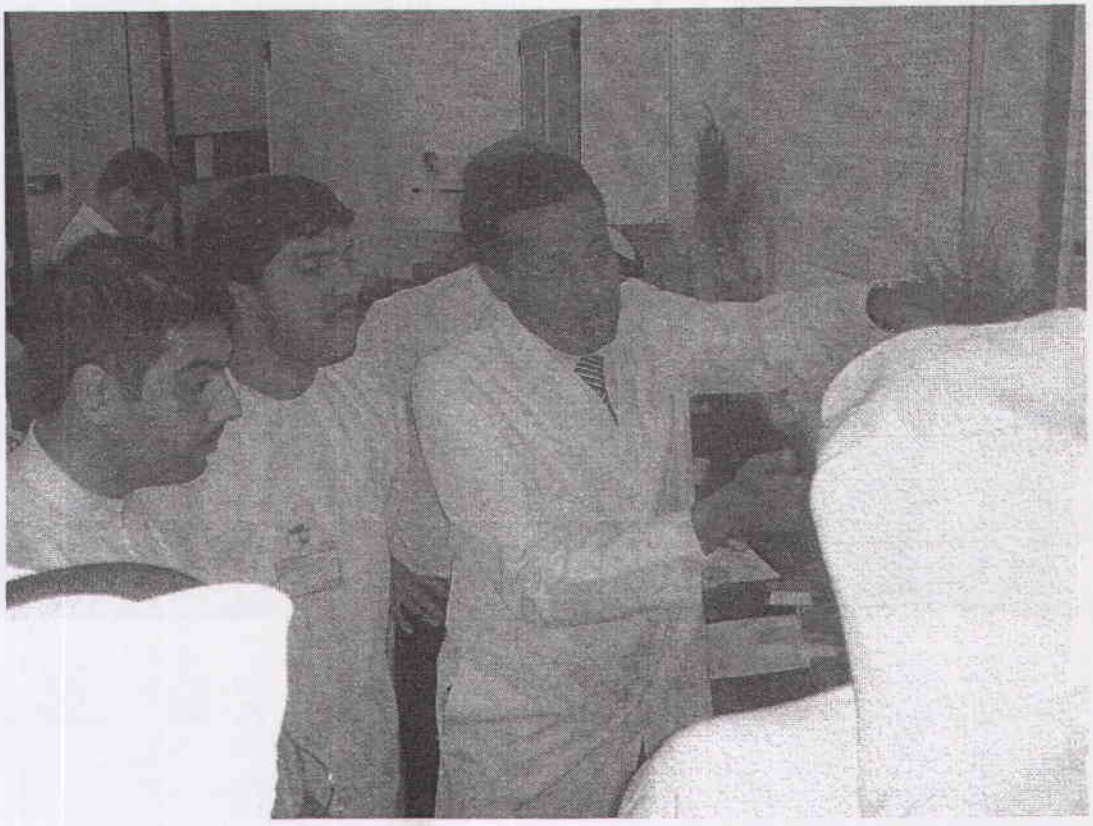
في الدورة التدريبية الإقليمية الثانية حول

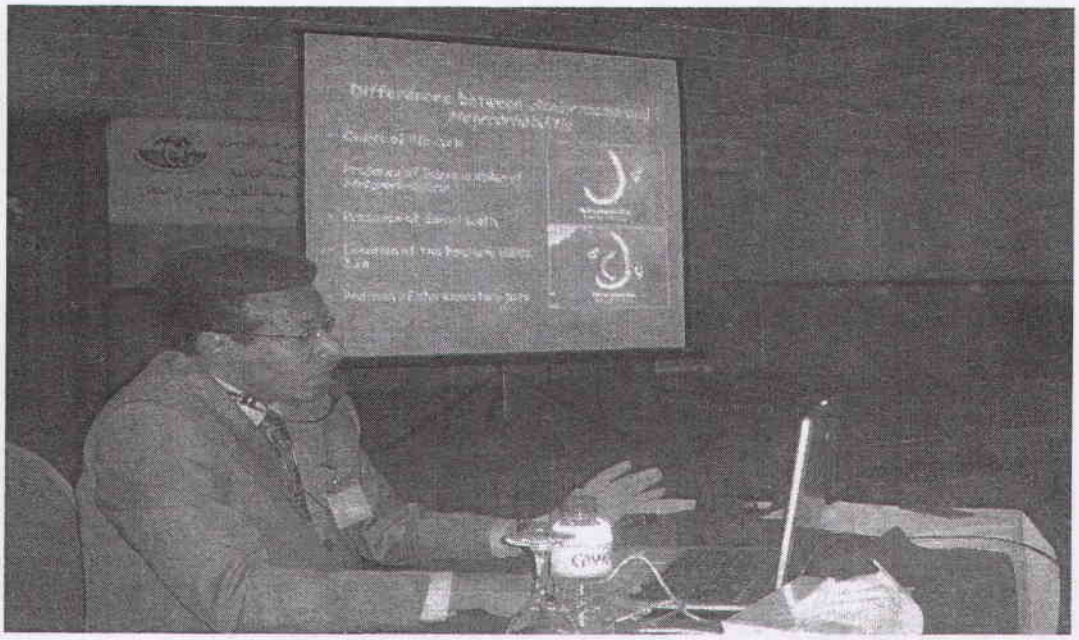
نقل تقانة المكافحة الحيوية لمكافحة حشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل

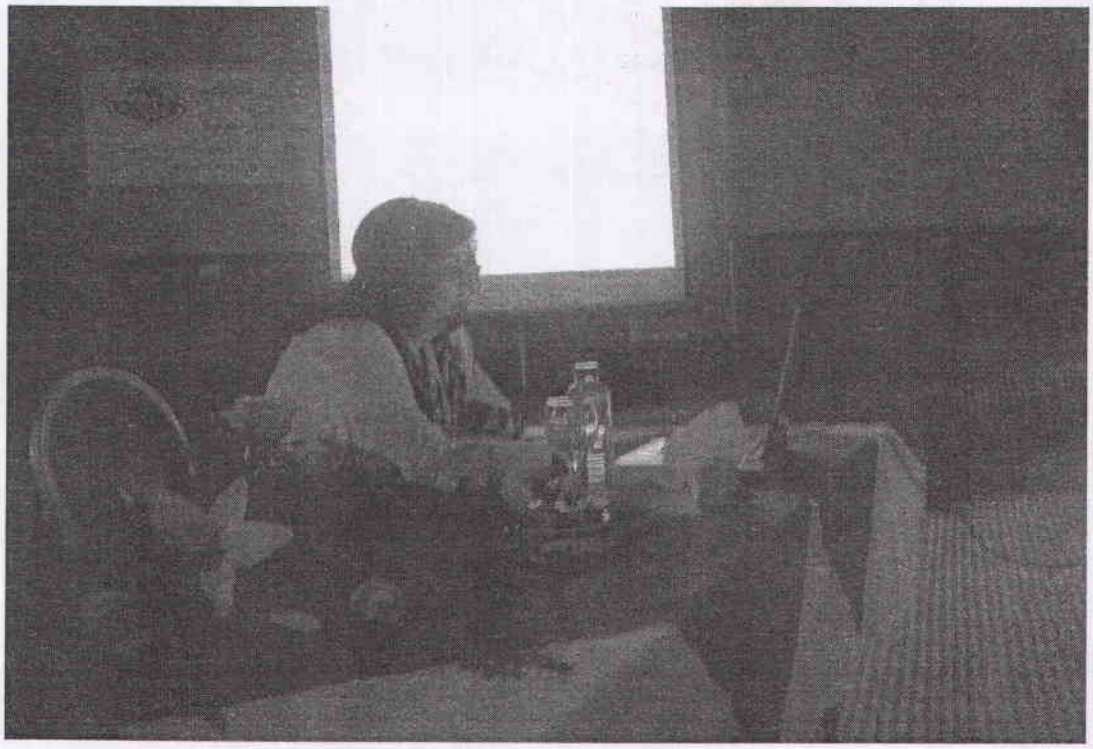
الدوحة 18-2006/6/22

الاســـــــــــم	الدولة
1. السيد/ عبد الله إبراهيم أحمد	البحرين
2. السيد/ إبراهيم محمد عبد الوهاب	البحرين
3. م/ إبراهيم حسن يعقوب	اليمن
4. م/ سعيد عمر سالم باحشوان	اليمن
5. م/ محمد عبد الحي حسين	فلسطين
6. م/ جمال محمد أبو جرار	فلسطين
7. م/ عبد القادر جبر الخراز	فلسطين
8. السيد/ سعود عبد العزيز القلاف	الكويت
9. السيد/ محمد علي أحمد الإبراهيم	الكويت
10.م/ أشرف صابر الحوامدة	الأردن
11.م/ مصطفى أحمد القاسم	الأردن
12.م/ مأمون عبد الله البكري	الأردن
13.م/ خالد بن خميس الشماخي	سلطنة عُمان
14.م/ أحمد بن علي المقبالي	سلطنة عُمان
15.م/ عبد الله بن علي الشقاق	السعودية
16.م/ عمر بن عيسى المهنا	السعودية
17.م/ علي حارب البثرة	الإمارات
18.م/ علي شمبي شهدات	الإمارات
19.م/ صلاح عبد الله موسى	الإمارات
وفد المنظمة العربية للتنمية الزراعية	
1. د/كوثر أحمد عوض	مدير إدارة المشروعات بالتكليف
2. د/ سامي العوض	خبير النيماتودا
3. د/ جمال الدين حجازي	خبير الفطريات
4. السيد/بشير مصباح	إدارة الشئون المالية والإدارية

حفل افتتاح الدورة ممثلة المدير العام للمنظمة العربية د.كوثر أحمد عوض والاخ عبدالله صفر عبدالله المنسق القطري للمشروع ومسؤولين من وزارة الزراعة







ممثلة المدير العام د.كوثر أحمد عوض أثناء عرض منجزات المشروع والدور الذي تقوم به المنظمة العربية لتطوير القطاع الزراعي .

د.كوثر أحمد عوض ممثلة المدير العام للمنظمة العربية والمهندس عبدالله صفر في حفل اختتام الدورة التدريبية وتسليم الشهادات .

رقم الإيداع: 2007/145