

المكافحة الاحيائية للحلم ذو البقعتين (*Tetranychus urticae* Koch) باستخدام  
عزلتين من الفطر *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill

محمد عامر فياض      علاء صبيح جبار      حياة محمد رضا  
قسم وقاية النبات/كلية الزراعة/جامعة البصرة/العراق

### الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة/جامعة البصرة بهدف تقييم كفاءة عزلتين من الفطر *Tetranychus urticae* B1 و *Beauveria bassiana* BC في مكافحة الحلم ذو البقعتين على محصول الطماطة . أظهرت نتائج التجارب المختبرية ان كلا العزلتين تأثيراً واضحاً في خفض اعداد الاطوار المختلفة للحلم ذو البقعتين اذ بلغت النسبة المئوية لهلاك البيوض في معاملة العزلة B1 36.1 % مقارنة بـ 44.04 % لمعاملة العزلة BC في حين بلغت النسبة المئوية لهلاك الطورين الحوري والبالغ بعد 72 ساعة من المعاملة 83 و 92.7 % للعزلتين B1 و BC للطورين الحوري والبالغ على التوالي.

واظهرت نتائج الظلة الخشبية ان كلا العزلتين قد خفضت اعداد الحلم المنحركة على محصول الطماطة ، اذ انخفضت من 28.8 الى 1.7 فرد/انج2 في معاملة العزلة B1 ومن 29 الى 2.8 فرد/انج 2 في معاملة العزلة BC وذلك بعد 10 أيام من المعاملة بالملحق الجريثومي وراشنج مزرعة كلا العزلتين.

البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

## المقدمة

يعد محصول الطماطة من المحاصيل المهمة في العراق. يصاب هذا المحصول بافات زراعية متعددة منها الحلمة ذات البقعتين (*Tetranychus urticae* Koch) العائدة إلى عائلة الحلمة الحمر الاعتيادي (*Tetranychidae* ، رتبة العنكبوتيات (Nihoul, 1992).

تسبب هذه الأفة أضرار كبيرة للمحصول نتيجة امنصاصها العصارة النباتية واحداث تشوهات في الأوراق فضلاً عن تجمع الاتربة والغبار على الشبكة التي تتسبّب بها مما يؤدي إلى عرقلة وبطيء عملية التركيب الضوئي وقلة نكilon الأوراق الجديدة والازهار وجفاف الأجزاء النباتية المصابة ومنها (أبو الحب، 1982). استخدمت مبيدات كيميائية متعددة في مكافحة هذه الأفة إلا ان الاستخدام المفرط والخطيء لهذه المبيدات نجم عنه العديد من التأثيرات السلبية الضارة في النظام البيئي منها عدم التوازن الاحيائي وارتفاع بعض الاداء الطبيعية كالمفترسات والطفيليات وظهور سلالات مقاومة لفعل المبيدات اضافة الى التلوث البيئي (Flexner وجماعته، 1988 و Robinson، 1996) مما دفع الجهات البحثية للتفكير بطرق بديلة للمكافحة الكيميائية فبرزن المكافحة الاحيائية كأحد الطرق الآمنة والرائدة في مجال مكافحة الافات الزراعية. وبعد الفطر *Beauveria bassiana* من أشهر الفطريات التي استخدمت في مكافحة العديد من الافات الزراعية كالحشرات والحلم. فقد وجد انه فعالاً في مكافحة الذباب المنزلي مختبرياً (خلف، 1997) كما استخدم في مكافحة الحلم جنس *Tetranychus* وتثريس (Kramer 1997، *Aphi fabae* وذباب البيضاء *Bemisia tabae* و *Thrips sp.* و *shanae* Ellie، 1999 و صالح وجماعته، 1999 و 2000).

ونظراً لأهمية هذه الأفة على محصول الطماطة في محافظة البصرة ولوجود ملاحظات عن فشل المبيدات المستخدمة في الحد من اضرارها اضافة الى تأثيراتها السلبية في البيئة فقد جاء هذا البحث بهدف تقييم كفاءة عزلتين من الفطر *B. bassiana* في مكافحة الحلم ذو البقعتين.

## المواد و طرائق العمل

1- الحصول على مستعمرة دائمة للحلمة ذات البقعتين *T. urticae*. جلبت نباتات طماطة مصابة بالحلم ذو البقعتين من محطة البحوث الزراعية في البرجسية /محافظة البصرة.

اجريت عدوى اصطناعية لنباتات الطماطة صنف S25 ممزروع داخل اصص بلاستيكية وفي ظروف المختبر. تم تجديد المستعمرة بإجراء عدوى اصطناعية لنباتات سليمة كلما تطلب الأمر.

2- الحصول على عزلتين من الفطر *B. Bassiana* والمبيدات Polo و Neoron . تم الحصول على عزلتين *B. Bassiana* عزلة عراقية تحت الرمز B1 وعزلة صينية تحت الرمز B2 من الدكتور حمود مهيدى . قسم العلوم الباليولوجية /منظمة الطاقة الذرية العراقية.

كثرت العزلتين بتنميتها على وسط PDA واستخدم التركيز 10% بوع/مل في جميع التجارب اللاحقة . حضر التركيز اعلاه باستخدام شريحة العد Haemocytometer . ااما المبيدان Polo و Neoron فقد تم الحصول عليهما من شركة سنجننا للخدمات الزراعية /فرع العراق . واستخدم المبيدان بهدف المقارنة مع عزلتي الفطر.

3-تأثير المعلق الجرثومي لعزلتي الفطر *B. Bassiana* و المبيدان Polo و Neoron في الادوار المختلفة للحمل ذو البقعتين .

#### أ-التأثير على البيض :

وضعت 10 ذكور و 10 إناث بالغة من الحلم على وريقات طماطة سلية ، وبعد السماح لها بالتزواج ووضع البيض (48 ساعة) رفعت الأفراد البالغة وتركت 20 بيضة على سطح كل وريقة بعد إزالة البيض الزائد بواسطة فرشاة ناعمة . أحيط البيض بمادة Tangle foot مزدوج من الكندا بلسم والفالازلين وزيت السكروفيلا (النعمي، 1979) بعد ذلك وضعت كل وريقة ثانية بما تحويه من بيض في طبق بترى بلاستيكي قطر 9 سم، وضع في قاعته قطن مرطب بماء مقطر معقم ورشت الوريرات بالمعلق الجرثومي لعزلتين B1 و B2 وبالتركيز 10% جرثومة/مل ، ااما المبيدان Neoron و Polo فقد استخدم بنسبة 0,5% مل/لتر لكل منها على التوالي . كررت كل معاملة ثلاثة مرات ووضعت الأطباق في حاضنة نوع Astell في درجة حرارة 30 درجة مئوية ( $^{+}2$  درجة) ورطوبة نسبية 60-70% . ااما معاملة السيطرة فقد رشت بماء مقطر معقم . سجلت النسبة المئوية لهلاك البيض بعد 72 ساعة من الرش وصححت القيم حسب معادلة Orell Schreider الواردة في شعبان والملاح (1993).

#### نسبة الموت في المعاملة

$$\frac{100 \times}{100 - \text{نسبة الموت في السيطرة}} = 100$$

- نسبة الموت في السيطرة

#### ب-التأثير في الدور الحوري والبالغ:

وضع 20 فرد متحرك لكل من الدور الحوري والإناث البالغة على وريقات طماطة سلية . وضعت الوريرات داخل أطباق بلاستيكية قطر 9 سم وعولمت بالمعلق الجرثومي لعزلتي الفطر *B. Bassiana* (Bc, B1) والمبيدان الكيميائية Polo و Neoron كما في الفقرة أ . حضنت الأطباق في حاضنة نوع Astell في درجة حرارة 30  $^{+}2$  م ورطوبة نسبية 60-70% وبعد 24,48,72 ساعة من الرش تم حساب النسبة المئوية للقتل (الجبوري وعواد، 1999) وصححت نسبة القتل حسب معادلة Schnider,Oreu الواردة في الفقرة أ .

#### 4- دراسة تأثير مبidi الحلم *Polo* و *Neoron* في نمو عزلتي الفطر *B. Bassiana*

حضر وسط غذائي PDA وزع في دوارق زجاجية سعة 250 مل، عقمت الدوارق بما تحويه من وسط غذائي بجهاز التعقيم البخاري. وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط إلى ما قبل التصلب، أضيف إلى بعض الدوارق المبidi 0,25Polo و 0,5 و 0,75مل/لتر وأضيف إلى دوارق أخرى المبidi Neoron بنسبة 0,5 و 1 و 1,5 مل/لتر وترك دوارق أخرى بدون إضافة كمعاملة شاهد. رجت الدوارق جيداً لغرض تجانس المبidi مع الوسط الغذائي ثم صب الوسط الغذائي في اطباق بتري زجاجية سعة 9 سم بعد تصلب الوسط الغذائي، لقع مركز كل طبق بعرض اخذ من مزرعة حديثة بعد 10 أيام لعزلتي الفطر . *B. Bassiana*

حضرت الاطباق على درجة حرارة 25°C وحسب معدل النمو للفطر بأخذ معدل فطرين متعمدين يمران بمركز المستعمرة وذلك بعد 10 أيام من فترة الحضن (وصول النمو في معاملة المشاهد إلى حافة الطبق) وحسبت النسبة المئوية للتطبيق في النمو كما في المعادلة التالية

$$\% \text{ للتطبيق في النمو} = \frac{\text{معدل النمو في معاملة السيطرة} - \text{معدل النمو في المعاملة}}{\text{معدل النمو في معاملة السيطرة}} \times 100$$

#### 5- دراسة تأثير المعلق الجرثومي والراشح الفطري لعزلتي الفطر *B. Bassiana* (B, B1) في دوار الحلم المتحركة تحت ظروف الظل الخشبية:

زرعت نباتات طماطة صنف S25 (صنف منتخب من الصنف Super mermonid ) داخل أصص بلاستيكية سعة 5 كغم داخل الظل الخشبية التابعة إلى محطة ابحاث البرجسية. وبعد اكتمال نمو النباتات وأصابتها بالحلم، عمّلت النباتات بالمعلّق الجرثومي لعزلتي الفطر B, B1 وبنكهة 10 جرثومة /مل كما استخدم الراشح الفطري الخام لعزلتي الفطر والمحضر بتنمية العزلتين على وسط Potato Dextrose Broth (PDB). رشحت نباتات الطماطة بالمعاملات وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة. أما المعاملة المقارنة فرشت بماء مقطّر معقم. حسبت اعداد الحلم الحية قبل يوم واحد من الرش وبعد واحد وثلاثة وسبعة وعشرة أيام من الرش. وذلك بأخذ 10 وريقات من كل مكرر ولجميع المعاملات. سجلت درجة الحرارة والرطوبة النسبية داخل الظل الخشبية .

## النتائج والمناقشة

### 1-تأثير المعلق الجرثومي لعزلتي الفطر *B. Bassiana* و *Polo* و *Neoron* في دور البيض.

تشير النتائج الموضحة بالجدول (1) إلى عدم وجود فروقات معنوية احصائياً تحت مستوى احتمال 5 %، بين المعلق الجرثومي للعزلة Bc للفطر *B. Bassiana* والمبيدات الكيميائية في تأثيرها على نسبة هلاك بيض الحلم ذو البقعتين إذ بلغت النسبة المئوية لهلاك البيض في المعاملة B1 و Bc 44,04 و 36,1 مقارنة بـ 42,5 و 54,9 للمبيدات *Polo* و *Neoron* على التوالي، من جانب آخر أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية احصائياً من العزلة B1 والمبيد *Neoron*. وتنقق هذه النتيجة إلى حد ما مع ما توصل إليه باحثين آخرين في قدرة الفطر *B. Bassiana* في التأثير على بيوض عذلي الفطر *B. Bassiana* في دور البيض قد يعود إلى قدرة الفطر على إنتاج إنزيم Chitinase الذي يلعب دوراً أساسياً في عملية تحلل الكايتين الموجود في جدار البيض (Smith وجماعته 1990 و Lappa وجماعته 1972). إن تأثير عذلي الفطر *B. Bassiana* في دور البيض قد يعود إلى قدرة العزلة B1 على إنتاج إنزيم Chitinase (Smith وجماعته 1981)، وقد يعود تأثير العزلة Bc بشكل أكبر من العزلة B1 إلى قدرة العزلة الأولى على إنتاج كميات أكبر من إنزيم Chitinase.

**جدول (1) تأثير المعلق الجرثومي لعزلتي الفطر *B. Bassiana* و *Polo* و *Neoron* في % لهلاك البيض.**

% لهلاك البيض	المعاملة
44,03	Bc
36,1	B1
42,5	المبيد <i>Polo</i> (0,5 مل/لتر)
54,9	المبيد <i>Neoron</i> (1 مل/لتر)
11,8	R.L.S.D R=0,51

## 2-تأثير عزلتي الفطر *B. Bassiana* و المبيدات *Polo* و *Neoron* في الدور الحوري والبالغ.

تشير النتائج الموضحة في جدول (2) ان عزلتي الفطر *B. Bassiana* (*Bc,B1*) تأثيراً واضحاً يقترب من تأثير المبيدات الكيميائية في خفض اعداد الدور الحوري والبالغ للحمة ذات البقعتين *Tetranychus urticae* وخاصة بالنسبة للعزلة الصينية *BC* الذي بلغت فيها نسبة هلاك الدور الحوري والبالغ 92,7% مقارنة بـ 83% للعزلة *B1* (عزلة عراقية).

وعلى الرغم من وجود فروقات معنوية من الناحية الاحصائية ( خاصة بالنسبة للدور الحوري ) بين المبيدات الكيميائية والعزلات الفطرية الا انه يمكن القول ان نتائج تأثير العزلتين في الدور الحوري والبالغ لهذه الاقفة كانت مشجعة جداً عند الاخذ بنظر الاعتبار التأثيرات السلبية للمبيدات الكيميائية في النظام البيئي.

ان نتائج هذه الدراسة تتفق الى حد ما مع نتائج دراسات سابقة استخدم فيها الفطر *B. Bassiana* ضد افات اخرى واعطى نتائج جيدة ، فقد استخدم ضد حشرة دوباس النخيل (صالح، 2000).

كما استخدمت الخواجة (1989) الفطر *B. Bassiana* لمكافحة حفار عذق النخيل *Oryctes elegans* وحصلت على نسبة قتل 100%.

كما اشير في دراسات اخرى الى قدرة الفطر *B. Bassiana* في التأثير على الافات الحشرية وغيرها قد يعود الى قدرته على انتاج بعض الانزيمات المحللة لجدار جسم الافة مثل انزيمات Chitinase,Protease,Lipase St-leger (1984),tedders (1982) و gottwald (1986). وجماعته، (1986).

## 3-تأثير المبيدات *Polo* و *Neoron* في نمو عزلتي الفطر *B. Bassiana*.

تشير النتائج المبينة في جدول (3) ان المبيد *Polo* كان اكثر تأثيراً في نمو عزلتي الفطر *B. Bassiana* (*Bc,B1*) مقارنة بالمبيد *Neoron* وبفروقات معنوية احصائياً ،اذ بلغت النسبة المئوية للتبسيط في النمو 59,9% و 56,5% للمبيد *Polo* مقارنة بـ 17,3% و 45,6% للمبيد *Neoron* وللعزلتين *B1* على التوالي.

ان نتائج هذه التجربة تشير بوضوح الى توافق المبيد *Neoron* مع كلا عزلتي الفطر وامكانية استخدامه في برامج المكافحة المتكاملة.

ان تأثير المبيدات الكيميائية في الكائنات غير المستهدفة اعطى الكثير من الاهتمام في السنوات الاخيرة خاصة بعد الادراك المتزايد وازدياد الاهتمام ببرامج الادارة المتكاملة للافات.

**جدول (2) تأثير العزلتين Bc, B1 للفطر *B. Bassiana* والمبيدات Polo و Neoron في الدور الحوري والبالغ للحلمة ذات البقعتين:**

النسبة المئوية للقتل المصححة						المعاملات	
الدور البالغ		الدور الحوري					
الزمن ساعة							
72	48	24	72	48	24		
92,7	81,5	76,91	92,7	80	74,9	Bc	
83	69,6	64,7	83	76,4	64,8	B1	
93,5	83,3	78,3	100	100	87,72	Polo	
100	91,5	88,17	100	100	91,6	Neoron	
7,8	8,6	8,6	4,04	6,4	10,3	R.L.S.D	

**جدول (3) تأثير المبيدات Polo و Neoron في نمو عزلتي الفطر *B. Bassiana* و Neoron في دور العزلة (Bc, B1)**

النسبة المئوية للتبسيط في النمو		التركيز مل/لتر	البيادات		
تحت مستوى R.L.S.D	متوسط تأثير التركيز	نوع العزلة			
		B1	Bc		
5,2	19,9	1,8	38	0,5	Neoron
	23,15	1,9	44,4	1	
	51,3	48,2	54,4	1,5	
		17,3	45,6		متوسط تأثير العزلة
		4,6			تحت مستوى R.L.S.D
		8,7			احتمال 5% للعزلات والتدخل
5,2	54,4	48,5	6,04	5,25	Polo
	62,05	61,1	63	0,5	
	70,9	70	71,8	0,75	
		59,9	65,1		متوسط تأثير العزلة
		4,6			تحت مستوى R.L.S.D
		للتداخل=غير معنوي			احتمال 5% للعزلات والتدخل

**4-تأثير المعلق الجرثومي وراشح عزلتي الفطر *B. Bassiana* (Bc,B1) في ادوار الحلم  
المتعركة تحت ظروف الظلة الخشبية:**

تشير نتائج جدول (4) إلى ان كلاماً من عزلتي الفطر *B. Bassiana* (Bc,B1) تأثيراً واضحاً في خفض اعداد الطم المتحركة ،اذ انخفضت من 28,8 فرد/انج 2 الى 1,7 فرد/انج 2 بالنسبة للعزلة B1 ومن 29 الى 2,8 فرد/انج 2 بالنسبة للعزلة Bc كما تشير النتائج الى ان المعلق الجرثومي لكلا العزلتين كان اكفاً في خفض اعداد الحلم مقارنة براشح مزرعة العزلتين اذ انخفضت اعدادا الحلم من 29,2 الى 3 فرد/انج 2 بالنسبة لراشح مزرعة العزلتين ،وتتفق هذه النتيجة مع دراسات سابقة اشير اليها الى كفاءة استخدام المعلق الجرثومي والراشح الفطري للفطر *B. Bassiana* في مكافحة افات اخرى تحت ظروف البيت الزجاجي كالذبابية البيضاء (صالح وجماعته، 1999). ان قدرة الفطر *B. Bassiana* في التأثير في الحلم ذو البقعتين قد تعود الى قدرته الى انتاج السموم الفطرية مثل Beavrcin او الى انتاج العديد من الانزيمات المحللة لكيوتكل الافة مثل انزيمات Lipase,Protease وغيرها .

**جدول (4) تأثير الراشح الفطري و المعلق الجرثومي لعزلتي الفطر *B. Bassiana* (Bc,B1) في  
ادوار الحلم المتحركة تحت ظروف الظلة الخشبية:**

متوسط تأثير المعاملة	الافراد المتحركة(الحية)/ انج 2			العزلة	الزمن		
	نوع المعاملة		راشح فطري				
	معلق جرثومي	راشح فطري					
28,8	26,3	31,3	B1	المتوسط للعزلة	قبل يوم من الرش		
29	29,7	28,3	Bc				
	28	29,8					
	28,3		المقارنة				
5,6	3,97	7,4	B1	المتوسط للعزلة	بعد ثلاثة ايام		
3,9	2,7	5,1	Bc				
	3,33	6,25					
	26,1		المقارنة				
1,7	1,27	2,1	B1	المتوسط للعزلة	بعد 10 أيام من الرش		
2,8	1,76	3,9	Bc				
	15	3					
	29,6		المقارنة				

## المصادر

- ابو الحب،جليل كريم(1982). الحلم الضار بالنباتات الاقتصادية-الجزء الاول، مطبعة جامعة بغداد،700 صفحة.
- خلف،جانان مالك ومجيد متعب ديوان وسمير خلف عبد الله (1997) استخدم بعض العزلات الفطرية في السيطرة على يرقات الذباب المنزلي *Musca domostica* مختبرياً. مجلة البصرة للعلوم الزراعية 10(2):29-35.
- الخواجة،هناه كاظم جاسم(1999) مكافحة حفار عذق النخيل *Oryctes elegans*. باستخدام وسائل زراعية وحياتية وكيماوية .مجلة الزراعة العراقية 4(1):31-20.
- شعبان،عواد ونزار مصطفى الملاح(1993) المبيدات .دار الكتب للطباعة والنشر .جامعة الموصل. 250 صفحة.
- صالح ،حمود مهدي وهادي عبود وحمدية زاير علي وفائز حمادة عبود وفالح حسن سعيد (1999) تقويم القابلية الامراضية للفطريات الممرضة لحشرة النباية البيضاء *Bemisia tabaci* مجلة الزراعة العراقية.4(1):154-163.
- صالح ،حمود مهدي(2000)استخدام الفطريات في مكافحة الافات الحشرية،ورشة العمل الفطرية الاولى في مجال المكافحة الحيوية للفات الزراعية .منظمة الطاقة الذرية.25-26/11/2000 . 8-1 صفحة.
- التعيمي،خولة طه(1979).التأثير الايجابي للمبيدات الحشرية على حياتية حلم الشليك *Tetranychus turkestanii* رسالة ماجستير .كلية الزراعة.جامعة بغداد. 119 صفحة .
- Ellie,G(1999).using *Beauveria bassiana* for insect management.North coast J.313-315.
- Evans,H.C.(1982).Entomogenous fungi in tropical forest ecosystem an apprasial.Eco Entomol.
- Flexner,J.L.,Westigard,P.H.and Croft,B.A.(1988)Field reversion of organotion resistance in the tow-Spotted spider mite following relaxation of selection presswre. J. of Econo. Entomo. 81(6):516-520.
- Gotoh,T.(1997). Annual life cycles of the tow-spotted spider mite.*Teteranych urticae*. In for Japanese pear Japanese pear orchards.Appl.Entomo.Zoo.32(1):207-216
- Gottwald,R.R.and Tedders,W.L.(1984). Colonization. Transmission and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metrhizium anisopliae* on pecan weevil larvae in the soil . Environ. Entomol.13:557-560.
- Kramer,T.(1997)Natural pest control. North coust.J:471-473.
- Lappa.N.V.,Goral,V.M.and Markys,V.G.(1972)Ation of Beareia on eggs of *Eurygaster integriceps*.Zakhyst.Rosl.Kiev.16:23-24.

- Nihoul,P.(1992).Effect of temperature and relative humidity on sucessful of *Tetranychus urticae* by *Phytoseiulus persimilis*in tomato crop under glasshouse conditions Med . Fac. Landbouw. Univ.Gent.57:949-954.
- Robinson,W.ll.(1996)urban entomology insect and mite pests in the human environment.Firest edition. Chapman & Hal-london:430 PP.
- Shanaz, B (2000).Biopesticide fact sheet *Beauveria bassiana* ATCC 74049.EPA:1-8.
- Smith,R.J.,Pekul,S. and Grula,E.A.(1981)Requirement for Seguential enzymatic activities for pereratration at the integument of the corn earworm (*Heliothes zea*).J.invert.path.38:335-344.
- St-Leger,R.J., Cooper,R.M. anEharnley ,A.K. (1986) cuticle degredation enzymes of entomopathogenes.J.inver.path.47:167-177.

BIOLOGICAL CONTROL OF TOW SPOTTED SPIDER MITE  
*TETRANYCHUS URTICAE* (KOCH)  
BY TOW ISOLATES OF *BEAUVIRIA BASSIANA* (BALS)  
VUILL

Mohammed A.Fayad. Alia S.Jabar. Hyat M.Radi  
Plant protection Dept.  
Univ.Basrah  
Agri.College

**SUMMARY**

This study was conducted in Agri. College.Univ.of Basrah to evaluate the efficiency of the tow isolate of *Beauveria bassiana* (Bc,B1)for controling the tow spotted spider mite on Tomato plants. Laboratory experiment revealed that the tow isolate had significant effect on reducing the number of different instars of the spider mites.However,percentage of eggs mortality in b1 isolate was 36.1% compared to 44.04% in Bc isolate ,on the other hand the percentage of mortality of nymphal and adult instars after 72 hours of treatment was 92.7% for each isolates respectively. Shaded place experiment also showed that both isolate reduced the number of mites from 28.2 to 1.7 mite/inch<sup>2</sup> in B1 isolate and from 29 to 2.8 mite/inch<sup>2</sup> in Bc isolate after to days of treatment with spore suspensions.