تقييم كفاءة الفطر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin والفطر *Metarhizium* (Metschnikoff) Sorokin *anisopliae* في أحداث القتل لحشرة ثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica* (Fabricius).

معن عبد العزيز شفيق الصالحي

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، بغداد ، العراق

(تاريخ الاستلام: 18 / 9 / 2012 ---- تاريخ القبول: 24 / 12 / 2012)

الملخص

تم أختبار القابلية الممرضة للعزلات المختلفة للفطر *Beauveria bassiana* والفطر *Metarhizium anisopliae* على حشرة ثاقبة الحبوب الصغرى (Fab.) *Rhyzopertha dominica*. ظهرت أعلى نسبة موت لعزلة الفطر *B. bassiana* 3000 حيث بلغت 35، 50 و 50 % خلال الفترات 7، 14 و 30 يوم على التوالي، أما عزلة الفطر *M. anisopliae* 2000 فسببت نسبة موت 35، 45 و 50 % خلال الفترات 7، 14 و 30 يوم على التوالي. عند مزج هذه العزلات مع بعضها أظهرت نسبة موت عالية لكل من الفطر *B. bassiana* 3000 + الفطر *M. anisopliae* 2000 بلغت 51.7 %، وأقل نسبة موت كانت 25.8 % عند مزج عزلتي الفطر *B. bassiana* 3001 + والفطر *M. anisopliae* 2000. ظهرت أعلى أختلافات معنوية بوضوح لعزلات الفطر *B. bassiana* 3001 + 3000 وعزلة الفطر *M. anisopliae* 2000.

كلمات المفتاحية: ممرضات الحشرية ، الفطر، *Beauveria bassiana*، *Metarhizium anisopliae*، *Rhyzopertha dominica*.

المقدمة

تسبب حشرات الحبوب المخزونة أنخفاض في الوزن و النوعية و القيمة الأقتصادية وحيوية البذور. حيث أن 75% من هذه الحشرات تعود الى رتبة Coleoptera [1]، ومعظم أنواع حشرات الحبوب المخزونة التي تسبب الأضرار تعود الى جنس Rhyzopertha وجنس Tribolium وجنس Sitophilus [2، 3 و4]. تعد ثاقبة الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica* (Fab.) (Coleoptera: Bostrichidae) من الأفات المهمه أقتصادياً و هي حشرة داخلية التغذية حيث تحفر داخل الحبوب المخزونة، تتغذى بالغات الخنافس بشكل أساسي على سويداء الحبوب وتؤدي الى خفض محتوى الحبوب من الكاربوهيدرات والبروتينات والفيتامينات و تفضل اليرقات في تغذيتها جنين الحبوب، وتعمل على أزالة نسبة كبيرة من البروتين والفيتامينات، تهاجم ثاقبة الحبوب الصغرى الجنين بصورة خاصة و تسبب أنخفاض كبير في أنبات البذور أكثر من الحشرات الأخرى، تتم مقاومة الحشرات على المواد المخزونة بشكل أساسي بأستخدام التبخير والمبيدات الكيميائية ذات الآثر المتبقي للحصول على مواد مخزونة خالية من الآفات الحشرية [5، 6]. ينتج عن الأستعمال المفرط للمبيدات الكيميائية الحشرية التقليدية مشاكل خطيرة منها المقاومة لهذه المبيدات، والقضاء على الحشرات المفيدة من الناحية الأقتصادية، وتكون سامة للأنسان وللحيوانات، وينتج من أستخدامها تكاليف مرتفعة للحصول على الحبوب سليمة [7]. أن العديد من الحشرات والحلم قادرة بشكل فعلي تحمل جميع مبيدات الآفات المستخدمة في مكافحتها بسبب ظهور أجيال مقاومة [8]. أدراكنا لهذه التأثيرات الضارة لمبيدات الآفات تشجع على نشوء وتطوير البدائل التي تكون أقل مشاركة في تخطيط أدارة مكافحة الآفات ومنها أستعمال المسببات المرضية في المكافحة. الدافع الكبير في تطوير المبيدات الأحيائية ناتج من تطور الوعي والأدراك من قبل المزارعين بخصوص قيمة الأدارة المتكاملة للآفات للحصول على بيئة سليمة وحماية المحصول بشكل أقتصادي وسليم وأنتقائي [9]. توصلت العديد من الجهود المبذولة بشأن المبيدات الأحيائية بشكل ناجح الى أستخدام الممرضات الحشرية، ويظهر الأختبار كفاءة ومتانة المكافحة الأحيائية التي تحسنت عن طريق أستعمال مواد مضادة مختلفة وهذه المواد لها طرق تأثير مختلفة [10]. التطور الناجح للفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. داخل العائل يعتمد بشكل مبسط في تغلب الفطر على أستجابة خلايا دم العائل [11]. أعداد الخلايا الحبيبية تنخفض بشكل مفاجيء بعد 3 يوم من دخول الفطر [12]. أقترح [13] أن أستجابة الدفاع الخلوي للعائل هي الهدف الرئيسي للعمليات الأيضية الناتجة من قبل *B. bassiana*، هذه العمليات الأيضية تعوق تجنيد خلايا الدم الجديدة التي تحيط بالجسم الغريب وتكوين عقدة nodule، كذلك الأستجابات للتميز الأولي للبلعمة لاتزال فعالة من قبل الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok. وذلك بأنتاج مواد تضعف وتخفض مناعة العائل ومن هذه المواد المادة السامة Destruxin E التي تثبط تكوين العقد وذلك بأصابة خلايا الدم بالشلل [14، 15]. تظهر المستحضرات الفطرية قوة كبيرة في أدارة الحشرات و تستخدم بشكل واسع في مكافحة مختلف الحشرات التي تعود الى رتبة Coleoptera [3، 16، 17، 18، 19، 20 و21] أن العديد من حشرات المواد المخزونة تتعرض الى نسبة موت عالية بأستعمال المسببات الممرضة كعوامل في المكافحة الأحيائية على حشرات الحبوب المخزونة التي تأخذ أهتمام قليل. تهدف هذه الدراسة الى تحديد التأثيرات المختلفة لعزلات الفطر *B. bassiana* والفطر *M. anisopliae* في أحداث الموت لحشرة *R. dominica* كأحد عوامل المكافحة الأحيائية للحشرة.

الطرائق ومواد العمل

مصدر وتربية حشرة *R. dominica*: تم الحصول على المستعمرة الأولية لحشرة *R. dominica* من الحنطة المصابة. كثرت الحشرة في الحاضنة على درجة حرارة 27 ± 2 م° و رطوبة نسبية 70 ± 5% (تم وضع جهاز Thermo-hygrograph في الحاضنة للتأكد من درجة الحرارة والرطوبة) مع تبادل الأضاءة والظلام بشكل دوري كل 12 ساعة بدون تعريضها الى المبيدات الحشرية لعدة أجيال للحصول على أجيال حساسة (4). وضعت الحشرات في وعاء زجاجي حجم 0.25 لتر مع 200غم من الحنطة بعيداً عن المبيدات الحشرية. وضع غطاء للوعاء من قماش الموسلين وبعد فترة 2 أسبوع أبعدت البالغات الأولية بأستخدام المناخل، تم مراقبة الوعاء الزجاجي يومياً وجمعت البالغات عند خروجها من الحبوب و وضعت في أوعية منفصلة على شكل مجاميع.

مصدر عزلات الفطر: أستخدمت أربع عزلات من الفطر *B. bassiana* وثلاث عزلات من الفطر *M. anisopliae* (جدول 1). وتم الحصول على هذه العزلات من (Entomopathogenic Culture Collection, Plant Soil and Nutrition Lab, USDA-ARS, Ithaca, NY, USA) [22، 23]. للتأكد من فعالية العزلات للفطرين أستعملت يرقات الدودة الشمعية الكبيرة *Galleria mellonella* حيث رشت اليرقات بكمية 10 مل من كل عزلة من عزلات الفطرين ثم تركت في ظروف المختبر وبعد 8 أيام وصلت نسبة القتل 100 % لجميع اليرقات، وللتأكد من أن حدوث القتل عن طريق الأصابة بالفطرين، جمعت اليرقات الميتة وعقمت بمحلول هيدروكلور ات الصوديوم NaOCl (بتركيز 5 %) لمدة دقيقة واحدة، أستخرجت اليرقات وتركت على ورق الترشيح نوع Whatman No. 2 لكي تجف ، ثم زرعت على الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA) ووضعت في الحاضنة على درجة حرارة 27 ± 2 م° ورطوبة 80 ± 5 % لمدة 14 يوم، لوحظ خلالها النمو الفطري للفطر *B. bassiana* كان أبيض سطحياً ناعماً، طباشيري الشكل. النمو الفطري للفطر *M. anisopliae* يتميز بكتل سميكة من الخيوط الفطرية تعلوها الأبواغ الخضراء. تم تنمية الفطرين على الوسط الزرعي(Potato Dextrose Agar (PDA جمعت الكونيديا بعد 10 يوم بواسطة غسل المستعمرات بشكل معتدل بواسطة ماء مقطر ومعقم، ورشح معلق الكونيديا من خلال منخل (60 mesh) (يحتوي 60 فتحة للأنج الواحد) لأزالة تكتلات الكونيديا وعمل معلق بأضافة ماء مقطر و 20 Tween معقم (0.01 % v/v على شكل محلول مائي). المعلق يخلط في خلاط لمدة 2 دقيقة لتكسير تجمعات وتكتلات الكونيديا، حسبت اعداد الكونيديا بواسطة شريحة hemocytometer، وعمل عدة تخفيفات للوصول للتركيز X7 10^6 كونيديا. مل$^{-1}$.

الأختبارات: أستخدمت في الدراسة بالغات الحشرة التي تم تربيتها في المختبر بعمر 24 ساعة. البالغات جمعت من أوعية التربية ووضعت في طبق بتري وخلطت بشكل كامل لتسهيل الأختيار العشوائي للحشرات. لأختبار القدرة الأمراضية لكل فطر أخذت ثلاث أطباق بتري تحتوي على ورق ترشيح بقطر 9 سم ووضع الطبق الذي يحتوي على 20 بالغة في المجمدة لمدة دقيقتين لغرض تقليل حركتها، وأستخدمت مرشة يد صغيرة لرش ثلاث مكررات المحتوية على حشرة *R. dominica* رشتمباشر ة بكمية 1 مل من معلق الكونيديا الذي يحتوي على 7 × 10^6 بوغ . مل$^{-1}$ من كل عزلة من عزلاتالفطر ين، معاملة السيطرة رشت بواسطة Tween 80 (0.01 %) في ماء مقطر. كل مكرر تم معاملته حفظ لمدة 24 ساعة بدون غذاء في الحاضنة عند درجة حرارة 27 ± 2 م° ورطوبة نسبية 70 ± 5 %. بعد 24 ساعة نقلت الحشرات من كل مكرر الى كأس بلاستيكي حجمه 100 مل يحتوي على 50 غم من حبوب الحنطة السليمة غير مكسرة، وضع غطاء مثقب من قماش الموسلين على كل كأس أحتفظ بجميع الحشرات في الحاضنة عند درجة حرارة 27 ± 2 م° ورطوبة نسبية 70 ± 5 %. سجلت الملاحظات من كل كأس عند الفترات 7، 14 و 30 يوم بأفراغ محتويات كل كأس على ورقة بيضاء لتحديد الأفراد الميته، جمعت البالغات الميته في الفترات المشار أليها وعقمت بمحلول هيدروكلورات الصوديوم NaOCl (بتركيز 5 %) لمدة دقيقة واحدة، أستخرجت اليرقات وتركت على ورق الترشيح نوع Whatman No. 2 لكي تجف ، ثم زرعت في أطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA) ووضعت في الحاضنة على درجة حرارة 27 ± 2 م° ورطوبة 80 ± 5 % لمدة 14 يوم، لوحظ خلالها النمو الفطري للفطر *B. bassiana* أبيض سطحياً ناعماً، طباشيري الشكل.النمو الفطري للفطر *M. anisopliae* يتميز بكتل سميكة من الخيوط الفطرية تعلوها الأبواغ الخضراء (6). الأختبار الثاني يتضمن العزلات الثلاث الأكثر كفاءة وفعالية، تم تقييم أمراضية عزلات كل من الفطرين ومزيج من هذه العزلات للفطرين عند أصابتها لبالغات *R. dominica*. أنجز الأختبار كما مشار أعلاه ولكن الملاحظات سجلت في فترات 7 و14 يوم، التركيز المستخدم كان 7 × 10^6 كونيديا . مل$^{-1}$ لكل فطر وكذلك عند خلط الفطرين. عشرون بالغة خلطت مع بعضها للأختيار العشوائي ووضعت في كؤوس بلاستسكية حجم 100 مل تحتوي على 50 غم من الحبوب الحنطة السليمة غير المكسرة. تم أصابة كل مجموعة من 40 بالغة برش الحبوب بكمية 1 مل من خليط العزلات لثلاث مكررات لكل معاملة، وخلطت الحبوب المعاملة بشكل كامل وحفظت عند درجة حرارة 27 ± 2 م° ورطوبة نسبية 70 ± 5 % لمدة 30 يوم، تم مراقبة للحشر ات يومياً لتسجيل نسبة القتل، البالغات الميته في جميع المعاملات أزيلت وحفظت عند رطوبة عالية في طبق بتري يحتوي على ورق ترشيح رطب لتحديد عدد أجسام الحشرات الميتة المصابة بالأبواغوطبقت فر ضية كوخ كما موضح أعلاه، وصححت نسب القتل أستناداً الى معادلة Abbott (24).

التحليل الأحصائي: أستعملت تجربة عاملية، طبقت بتصميم عشوائي كامل (C.R.D.)، لدراسة تأثير العزلات والمدد الزمنية وتأثيرها في

نسب القتل، كما قورنت الفروقات المعنوية بين المتوسطات بأختبار أقل فرق معنوي (L.S.D.) عند مستوى أحتمالية 0.05 لمقارنة النتائج، أستعمل البرنامج الأحصائي SAS في التحليل الأحصائي (25).

النتائج والمناقشة

تم ملاحظة نمو الميسيليوم والكونيديا عند فحص أجسام الحشرات الميتة ، وهذا يثبت أن معظم البالغات قتلت بسبب المسبب المرضي الفطر. تبين أن الميسيليوم يظهر خارجياً خلال 24–48 ساعة بعد وضع البالغات على ورق الترشيح الرطب، جميع العزلات المختبرة سببت نسبة قتل في *R. dominica*، هناك أختلافات كبيرة في القدرة الأمراضية حسب نوع الفطر ضد البالغات (جدول 2). بصورة عامة جميع العزلات سببت نسبة قتل منخفضة في الحشرة، هناك أختلافات معنوية ($P < 0.05$) في تأثيرات المبيدات الأحيائية ويظهر بوضوح للعزلات 3000 و 3001 للفطر *B. bassiana* والعزلة 2000 للفطر *M. anisopliae* حيث سببت نسبة قتل أعلى. أن النسبة المئوية للموت لعزلة الفطر *B. bassiana* 3000 وعزلة الفطر *M. anisopliae* 2000 بلغت 35 % بعد 7 يوم من المعاملة، أما خلال فترة 14 يوم بلغت النسبة المئوية للموت لعزلتي الفطر *B. bassiana* 3001 والفطر *M. anisopliae* 2000 45 %، ولنفس الفترة كانت نسبة الموت 50 % لعزلة الفطر *B. bassiana* 3000 وعند فترة 30 يوم بلغت نسبة الموت 50 % لعزلتي الفطر *B. bassiana* 3000 والفطر *M. anisopliae* 2000 و هي أعلى نسبة موت لجميع العزلات. أكد كل من [19، 26 و27] أن نسبة القتل كانت مرتفعة لأفات الحبوب المخزونة المصابة بالفطر *Beauveria spp* أعلى من نسبة القتل للفطر *M. anisopliae*. أن أقل نسبة موت للحشرة عند مزج عزلة الفطر *B. bassiana* 3001 مع عزلة الفطر M. anisopliae 2000 بلغت 25.8 %، أما عند مزج العزلتين للفطر *B. bassiana* 3000 +3001 مع عزلة الفطر *M. anisopliae* 2000 بلغت نسبة الموت 40.0 % (جدول 3)، في حين عند مزج العزلات *B. bassiana* 3000 + *M. anisopliae* 2000 سببت نسبة قتل عالية 51.7 % لحشرة *R. dominica* في نهاية التجربة. أستناداً الى [28] بين أن المبدء العام في القتل هو حدوث ترابط معقد وأكثر ثبات وتوازن في الطبيعة ينتج عنه فرصة جيدة في تحقيق مكافحة حيوية ناجحة وذلك بمزج عدة عوامل مضادة أفضل من وجود عامل مضاد واحد. أختبر [6] عدة عزلات من *B. bassiana* ضد بالغات *Sitophilus zeamais* (Motsch.) وظهرت أختلافات معنوية عالية في القدرة الأمراضية للعزلات التي سببت نسبة قتل 37– 100 % ضمن متوسط الفترة المميته تتراوح بين 3 الى 9 يوم. قيم [19] عزلات الفطر *B. brongniartii* (Sacc.) Petch. والفطر *M. anisopliae* بتجارب مختبرية ضد كل من *S. zeamais* و *Acanthoscelidnes obtectus* Say تبين أن الفطر *B. brongniartii* سبب نسبة قتل 89 % الى *S. zeamais* و47 % الى *A. obtectus* بينما الفطر *M. anisopliae* سبب نسبة قتل أقل من 50 % لكل من الحشرتين. نتائج الدراسات السابقة أثبتت أن النسبة المئوية للقتل لكل من الفطر ين *B. bassiana* و *M. anisopliae* كانت متشابهه ضد آفات حشرية مخزنية آخرى [6، 19 و 27]. في هذه الدراسة تم مكافحة حشرة ثاقبة الحبوب الصغرى بأستعمال كل من الفطرين بشكل منفصل، ولتحسين هذه المكافحة أكثر أستخدم خلط العزلات للفطرين. خلط العزلات له فوائد كثيرة منها مكافحة العديد من الحشرات،و المكافحة تكون متماسكة وقوية وتكون ضمن مدى واسع في الظروف البيئية. عزلة الفطر *B. bassiana* 3001 والفطر *M. anisopliae* 2000 ينتج عند خلطهما تأثير قاتل منخفض، وعند دمج عزلة الفطر *B. bassiana* 3000 مع العزلتين السابقتين ترتفع نسبة القتل. تأثيرات القتل العالية مرتبطة بأستمرار مع وجود العزلة 3000، عند دمج عزلة 3001 لاتسبب نسبة قتل عالية كما هو عند دمج عزلة *M. anisopliae* 2000 مع عزلة *B. bassiana* 3000 . لاتوجد فروقات معنوية بين معاملة العزلات 3001 + 3000 ومعاملة العزلات 3000 + 2000 + 3001 ($P < 0.05$) (جدول 3). من خصائص الفطريات هي قدرتها في أنتاج مركبات أيضية سامة للأفات الحشرية لذلك تعد الفطريات عوامل مكافحة أحيائية كفوءة بسبب أنتاجها لمركبات حيوية فعالة عند أصابتها لعوائلها [29]. يقوم الفطرين B. bassiana و M. anisopliaeبأنتاج عدد من المركبات الأنزيمية السامة لاسيما في الأوساط السائلة ذات المحتوى النتروجيني العالي هذه الأنزيمات مثل Proteolytic, Chitinolytic,Lipolytic تسبب التشنج والتحلل في يرقات الحشرات [30]. ينتج الفطر M. anisopliae مركبات أيضية ثانوية داخل جسم العائل لاسيما عند غزوه للسائل الدموي Haemocoel ومن أكثر هذه السموم هي الدستروكسينات Destruxins (DTXs)[31، 32] . عند حقن يرقات Galleria mellonella بجرعة منخفضة من (DTX) يحدث شللا في عضلات القلب والذي يؤدي الى الموت، ويسرع ضربات القلب في يرقات Manduca sexta كأستجابة لتغير الـ PH داخل الخلايا العضلية [32]. كذلك يقوم بتثبيط جهاز المناعة من خلال أحداث تغيرات أساسية في الخصائص المظهرية والفسلجية لبعض الخلايا مثل خلايا Plasmatocytes فهي تؤثر في عملية الألتهام Phagocytosis والكبسلة Encapsulation [31، 33]. أوضح [34] أن الفطر B. bassiana ينتج مركب Beauvericins وله نفس التأثيرات السمي للدستروكسين (DTX) ويزداد أنتاج Beauvericin بأرتفاع تركيز الكونيديا. المكافحة الحيوية تعتبر طريقة بديلة لمكافحة حشرات الحبوب المخزونة، يجب التقدم في المكافحة الحيوية لتحسين كفائتها وفعاليتها والأعتماد عليها.هذه الدراسة تعتبر بحث أولي في أستخدام خلط عزلات الفطر والنتائج التي حصل عليها تحتاج الى دراسات أخرى.

جدول 1 : عزلات الفطر ومصدرها التي تم أختبارها على حشرة *Rhyzopertha dominica*

العدد	عزلات الفطر	رقم العزلة	مصدر العزلة
1	*B. bassiana*	100	*Diatraea saccharalis*
2	*M. anisopliae*	2000	*Aedes crinifer*
3	*M. anisopliae*	50	Soil
4	*B. bassiana*	3000	*Diatraea saccharalis*
5	*B. bassiana*	3001	*Xanthogaleruca luteola*
6	*B. bassiana*	3002	*Diatraea saccharalis*
7	*M. anisopliae*	1500	*Curculio caryae*

جدول 2 : متوسط النسبة المئوية لقتل بالغات حشرة *Rhyzopertha dominica* المعاملة بعزلات الفطريات خلال الفترات 7، 14 و 30 يوم (القيم هي متوسطات لثلاث مكرر ات)

	% للموت [a]			
العزلات المختبرة	7 يوم	14 يوم	30 يوم	المتوسطات
B. bassiana 100	[b]25	[c]35	[c]35	[cd]31.7
M. anisopliae 2000	[a]35	[b]45	[a]50	[a]43.3
M. anisopliae 50	[b]25	[d]25	[d]25	[ef]25
B. bassiana 3000	[a]35	[a]50	[a]50	[a]45
B. bassiana 3001	[b]25	[b]45	[b]45	[b]38.3
B. bassiana 3002	[b]25	[c]35	[b]45	[bc]35
M. anisopliae 1500	[b]25	[d]25	[d]25	[ef]25
الفترة / المتوسط العام لليوم	[b]30	[a]40	[a]37	

جدول 3 : متوسط النسبة المئوية للقتل لبالغات حشرة *Rhyzopertha dominica* المعاملة بمزيج العزلات *B. bassiana* 3001, *Beauveria bassiana* 3000 و *Metarhizium anisopliae* 2000 خلال فترة 14 يوم (القيم هي متوسطات لثلاث مكررات)

العزلات المختبرة	% للموت [a]
2000 + 3001	25.8^{ab}
2000 + 3001 + 3000	40.0^{bc}
3001 + 3000	31.7^{bc}
2000 + 3000	51.7^{c}

References

[1] E. Vin Ä uela, A. Adan, P. Del Estal, V. Marco, and F. Budia, Plagas de los Productos Almacenados, H.D., Madrid, Espan Ä a 1, (1993), p.31.

[2] G. Marsans, Manejo y ConservacioÂ n de Granos, Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, (**1987),** p. 266.

[3] A. R. Khan, and B. J. Selman, On the mortality of *Tribolium castaneum* adults treated sublethall as larvae with pirimiphos methyl, *Nosema whitei* and pirimiphos methyl - N. *whitei* doses, Entomophaga, (**1988),** 33, 377-380.

[4] A. R. Pinto Jr, R. S. Furiatti, P. V. S. Pereira, and F. A. Lazzari, Avaliac°ao de Insecticidas no Controle de *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera : Curculionidae), e *Rhyzopertha dominica* (Fab.) (Coleoptera: Bostrichidae) em Arroz Armazenado, Anais da Sociedade Entomologica do Brasil, (**1997),** 26, 285-290.

[5] D. B. Brooker, F. W. Bakker- Arkema, and C. W. Hall, Drying and Storage of Grains and Oilseeds, Van Nostrand Reinhold, New York, USA, (**1992),** Pp: 275.

[6] K. Adane, D. Moore, and S. A. Archer, Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory, Journal of Stored Products Research, (**1996**), 32, 105-113.

[7] A. R. Khan, and B. J. Selman, *Nosema* spp. (Microspora: Microsporida: Nosematidae) of stored- product Coleoptera and their potential as microbial control agents, Agricultural Zoology Reviews, **(1989),** 3, 193-223.

[8] R. L. Metcalf, Changing role of insecticides in crop protection, Annual Review of Entomology, (**1980),** 25, 219-256.
[9] J. J. Menn, Biopesticides: Has their time come, Journal of Environmental Science Health B, (**1996),** 31, 383-389.
[10] P. Lemanceau, and C. Alabouvette, Suppression of fusarium- wilts by fluorescent pseudomonads, mechanisms and applications, Biocontrol Science and Technology, (**1993),** 3, 219-23.
[11] R. F. Hou, and J. Chang, Cellular defense response to *Beauveria bassiana* in the silkworm, *Bombyx mori*, Applied Entomological Zoology, (**1985),** 20, 118-125.
[12] S. Hung, and D. G. Boucias, Influence of *Beauveria bassiana* on the cellular defense response of the bee armyworm, *Spodoptera exigua*, Journal of Invertebrate Pathology, (**1992),** 6, 152-158.
[13] S.Y. Hung, D. G. Boucias, and A. Vey, Effect of *Beauveria bassiana* and Candida albicans on the cellular defense response of *Spodoptera exigua*, Journal of Invertebrate Pathology, (**1993),** 61,179-187.
[14] I. M. Huxham, A.M. Lackie, and N. J. Mc Corkindale, Inhibitor effects of cyclodepsipeptides, destruxins, from the fungus *Metarhizium anisopliae* on cellular immunity in insects, Journal of Insect Physiology, **(1989),** 35, 97-105.
[15] L. Cerenius, P. O. Thornquist, and A. Vey, M. W. Johansson, K. Soderhall, The effect of the fungal toxin destruxin E on isolated crayfish haemocytes, Journal of Insect Physiology, (**1990),** 36, 785-789.
[16] T. R. Gottwald, and W. L. Tedders, Suppression of pecan weevil (Coleoptera: Curculionidae) populations with entomopathogenic fungi, Environmental Entomology, (**1983),** 12, 471-474, .
[17] A. R. Khan, and B. J. Selman, Effect of insecticide, microsporidian and insecticide microsporidian doses on the growth of *Tribolium castaneum* larvae, Journal of Invertebrate Pathology, (**1984),** 44, 230-232.
[18] A. R. Khan, and B. J. Selman, Effect of pirimiphos methyl, *Nosema whitei* and pirimiphos methyl- *Nosema whitei* doses on the growth of *Tribolium castaneum* adults, Journal of Invertebrate Pathology, (**1987),** 49, 336-338.
[19] C.Rodrigues, and D.Pratissoli, Patogenicidade de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e seu efeito sobre o gorgulho do milho e caruncho do feijao, Anals da Sociedade Entomologica do Brasil, (**1990),** 19, 301-306**.**
[20] K. Adane, Microbial control of storage pests using the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with special reference to *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus chinensis*, MSc Thesis. University of London, **(1994),** p. 93**.**
[21] S. B. PadõÂn, G. M. Dal Bello, and A.L. Vasicek, Pathogenicity of *Beauveria bassiana* for adults of *Tribolium castaneum* (Col.: Tenebrionidae) in stored grains, Entomophaga (**1997),** 42, 569-574**.**
[22] R. A. Humber, Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures: Catalog of Strains, (**1992),** USDA-ARS, Ithaca, NY, USA**.**
[23] R.A. Humber, Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures. USDA- ARS, (**1998),** Ithaca, NY, USA. Supplement to the 1992 catalog**.**
[24] W. S. Abbott, A method of computing the effectiveness of an insecticide, J. Econ. Entomol, (**1925),** 18: 265-267..
[25] SAS. SAS/ STAT User' s Guide for personal computers, (**2004),** Release 6.12 SAS Institute Inc., Cary, N. C. , USA.
[26] A. Moino Jr, and S. B. Alves, Determinacao de Concentracoes de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o Controle de Insetos-Pragas de Graos Armazenados, Anais da Sociedade Entomologica do Brasil, (**1997),** 26, 15-20,**.**
[27] A. Moino Jr, S. B. Alves, and R. M. Pereira, Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests, Journal of Applied Entomology, (**1998),** 122, 301-305**.**
[28] K. Baker, and R. J. Cook, Biological Control of Plant Pathogen, The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA, (**1982).**
[29] S. S. Mohanty, M. P. K. Raghavendra, and A. P. Dash, Efficacy of culture filtrates of *Metarhizium anisopliae* against larvae of *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. J. Microbiol. Biotechnol, (2008), 35, 1199-1202.
[30] C. Tamerlar, M. Ullah, M.W. Adlard, and T. Keshavarzt, Effect of PH on physiology of *Metarhizium anisopliae* for production of sawinsonine, Microbiology Letters, (1998), 168, 17-23.
[31] K. B. Male, Y. M. Tzeng, J. Montes, L. M. Liu, W. C. Liao, A. Kamen, and H. T. Loung, Probing inhibitory effects of destruxins from *Metarhizium anisopliae* using insect cell based impedance spectroscopy: inhibition vs chemical structure, J. Royal Soc. Chemist, (2009), 134, 1447-1452.\
[32] P. S. Golo, I. C. Angelo, M. G. Camargo, W. M. Perinotto, and V. R. E. Bittencourt, Effect of Destruxin A on *Rhipicephalus microplus* tick (Acari: Ixodidae), Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal, (2011), 20(4), 338-341.
[33] R. Samuels, Systematic, morphology and physiology a sensitive bioassay for Destruxin, cyclodepsipeptides from the culture filtrates of the Entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., AA. Soc. Entomol. Brasil, (1998), 27(2), 229-235.
[34] J. D. Wells, J. R. Fuxa, and G. Henderson, Virulence of four fungal pathogens to *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae), J. Entomol. Sci., (1995), 30, 208-215.

Evaluate the efficiency of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin to cause mortality for lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (Fabricius)

Maan Abdul Aziz Shefik Al-Salihi
Department of Biology , College of Science , Al-Mustansiriyah University, Baghdad , Iraq.
(Received: 18 / 9 / 2012 ---- Accepted: 24 / 12 / 2012)

Abstract
The virulence of different fungal isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (Fab.) was tested. The results showed highest mortalities for isolate of *B. bassiana* 3000 were 35, 50 and 50 % on periods 7, 14 and 30 days respectively, but isolate of *M. anisopliae* 2000 caused mortalities 35, 45 and 50 % on periods 7, 14 and 30 days respectively. When mixed isolates of fungus, appeared highest mortality for isolate *B. bassiana* 3000 + isolate *M. anisopliae* 2000 was 51.7 %, the lowest mortality was 25.8 % when mixed fungus isolates *B. bassiana* 3001 + *M. anisopliae* 2000. Highly significant differences were demonstrated for *B. bassiana* 3000 and 3001 and for *M. anisopliae* 2000.