مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الثالث والعشرون - المجلد الثامن - علوم الحياة - تموز 2024 م
doi.org/10.52866/esj.2023.08.23.04

تقييم كفاءة العزلات المحلية لبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و بكتيريا *Bacillus thuringiensis tenebrionis* ضد بيض وبالغات حشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callosobruchus maculatus*

استبرق فؤاد علي , رغد خلف الجبوري , حازم عيدان الشمري
قسم علوم الحياة - كلية التربية -الجامعة العراقية دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا

مستخلص

هدفت الدراسة الى تقييم كفاءة عزلتي البكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الجراد والصرصر والعزلة المحلية *B.t.tenebrionis* في مكافحة حشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *C.maculatus* حيث اظهرت النتائج ان عند معاملة البيض بالعزلة البكتيرية *P fluorescens*. المعزولة من الصرصر ان اقل نسبة للبيض الغير فاقس قد بلغت ٪21.43 عند التركيز 2.5×10^5 واعلى نسبة للبيض الغير فاقس بلغت ٪48.22 عند التركيز 7.5×10^5 اما عند معاملة البيض بالعزلة البكتيرية *P fluorescens*. المعزولة من الجراد بلغت اقل نسبة البيض الغير فاقس ٪28.58 عند التركيز 2.5×10^5 فيما بلغت اعلى نسبة للبيض الغير فاقس ٪46.43 عند التركيز 7.5×10^5 اما عند معاملة البيض بالعزلة البكتيرية *B.t. tenebrionis* فيلاحظ ان اقل نسبة للبيض الغير فاقس بلغت 37.50 ٪ عند التركيز 2.5 $\times10^5$ اما اعلى نسبة للبيض الغير فاقس قد بلغت 53.57 ٪ عند التركيز 7.5×10^5 اما عند معاملة البالغات ببكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الجراد ان اعلى نسبة هلاك كانت عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغت ٪42.00 واقل نسبة هلاك كانت عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغت ٪29.17 بعد 72 ساعة من المعاملة مقارنة بمعاملة السيطرة الذي سجلت ٪20.00 كما يلاحظ من النتائج ان اعلى نسبة هلاك سجلت عند معاملة البالغات ببكتيريا *B.t. te-nebrionis* كانت عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغت ٪50.0 بينما اقل نسبة هلاك كانت عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغت ٪25.00 كما يلاحظ عند معاملة البالغات ببكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الصرصر الامريكي ان اعلى نسبة هلاك كانت عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغت ٪38.00 واقل نسبة هلاك كانت عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغت ٪29.17 يتضح مما تقدم ان العزلات البكتيرية المختلفة كانت ذات كفاءة في تقليل نسب فقس البيض وبالغات الحشرة ويمكن ان تكون احد الوسائل الفعالة والصديقة للبيئة في مكافحة الحشرة .

الكلمات المفتاحية : عزلات محلية ، ***Pseudomonas fluorescens*** ، ***Bacillus thuringiensis*** ، **خنفساء اللوبيا الجنوبية .**

Abstract:

The study aimed to investigate the efficiency of bacterial isolates *P. fluorescens,* isolated from locusts and grasshoppers, and the local isolate *B.t. tenebrionis* in controlling the cowpea weevil insect *C. maculatus*. The results showed that when the eggs were treated with the P. fluorescens isolate isolated from grasshoppers, the lowest percentage of unhatched eggs was 21.43% at a concentration of 2.5×10^5, while the highest percentage of unhatched eggs reached 48.22% at a concentration of 7.5×10^5. When the eggs were treated with the P. fluorescens isolate isolated from locusts, the lowest percentage of unhatched eggs was 28.58% at a concentration of 2.5×10^5, while the highest percentage of unhatched eggs reached 46.43% at a concentration of 7.5×10^5. For the eggs treated with the B.t. tenebrionis isolate, the lowest percentage of unhatched eggs was 37.50% at a concentration of 2.5×10^5, while the highest percentage of unhatched eggs reached 53.57% at a concentration of 7.5×10^5. It is evident from the above that the different bacterial isolates were efficient in reducing the hatching percentage of eggs and the survival rate of the insect. They can be considered as effective and environmentally friendly means of insect control.

.

مقدمة :

تعد خنفساء اللوبيا -*Callosobruchus macula* *tus* واحدة من اهم الآفات التي تصيب البقوليات في العالم بشكل عام والعراق بشكل خاص فهي منتشرة عالميا وتسبب خسائر كبيرة في المحاصيل الزراعية تحدث الاصابة بها في الحقل وتستمر اصابة البذور بها في المخزن حيث تفضل بذور اللوبيا على الانواع الاخرى من البقوليات (Arora واخرون، 2020). تكمن خطورة هذه الحشرة في عدم تخصصها في التغذية على عائلة واحدة ولكن يمكن ان تنمو يرقاتها وتتطور على 35 نوع من بذور البقوليات (Neto واخرون، 2019) تسبب خنفساء اللوبيا اضرار كمية ونوعية تتجلى في ثقب البذور وانخفاض الوزن بالإضافة الى انخفاض القيمة التسويقية وقدرة انبات البذور (kalpna, 2022 و kumar) في حين بلغ معدل تلف بذور البقوليات المصابة بخنفساء اللوبيا الجنوبية يتراوح بين ٪ 30-40 في غضون ستة اشهر ويمكن ان يصل الضرر الى ٪100 عند تركها دون مكافحة (2020، Mogali و majhi) استخدم الباحثون عدة طرق للسيطرة على خنفساء اللوبيا الجنوبية بما في ذلك استخدام المبيدات الكيماوية حيث كانت أكثر الطرق شيوعاً في مكافحة الآفات الحشرية لما لها من تأثير سريع الفعالية على الحشرات. تعتمد مكافحة الآفات بشكل كبير على استخدام مبيدات الآفات الكيميائية العضوية معظمها مسجلة كمبيدات أعصاب تؤثر على الجهاز العصبي (Mohammed واخرون، 2019) فقد أثبتت كثير من البحوث العلمية أن استخدام المبيدات الكيميائية يشكل خطورة بالغة على البيئة (Pisa واخرون، 2021) وصحة الإنسان (Nicolopouiou واخرون 2016) وقد أدى الاعتراف العالمي بهذه التهديدات إلى تغييرات كبيرة في استراتيجيات مكافحة الآفات، مما أدى إلى إدخال مفهوم الإدارة المتكاملة للآفات وهو اتجاه عالمي متزايد يهدف إلى الحد من استخدام المبيدات الكيميائية المصنعة واستبدالها بتدابير مكافحة أخرى صديقة للبيئة مثل المبيدات الحشرية الحيوية (Barzman واخرون، 2015) أعطى هذا فرصة لنمو سوق المبيدات الحيوية (Olson واخرون، 2015).

واحدة من أفضل البدائل للمبيدات الحشرية الكيميائية المصنعة هي المبيدات الحشرية الحيوية التي تعتمد على سموم المبيدات الحشرة التي تنتجها أنواع البكتيريا مثل B. t. tenebrionis وهي بكتيريا على شكل عصوي معروفة بخصائصها الممرضة للحشرات (Fernandez واخرون، 2015) يُعزى نشاط الإبادة البيولوجية لهذا النوع تجاه اللافقاريات بشكل أساسي إلى سموم البلورة البروتينية cry و vip (Kumar واخرون، 2021) كما يعد استخدام البكتيريا P. fluorescens احد طرائق المكافحة الحيوية حيث تعد أكبر مجموعة من البكتيريا التي تنتج المضادات الحيوية والمركبات المضادة للميكروبات من حمض السيانيد (HCN) حيث يمكن للمركبات التي تنتجها أن تمنع النشاط وتسيطر على مسببات الأمراض (Gusnadi واخرون، 2023) كما اثبتت الدراسات المتوالية ان لهذه البكتيريا القدرة على اصابة الحشرات واحداث الامراضية الامر الذي يفتح الباب في امكانية استخدامها في مكافحة الحشرات ايضا (Manjula ، 2018) وبالنظر لأهمية الحشرة *C.maculatus* الاقتصادية ولأهمية عوامل المكافحة الاحيائية في السيطرة على الحشرات نفذت هذه الدراسة بهدف تقويم كفاءة وفاعلية العزلات البكتيريا قيد الدراسة ضد بيض وبالغات الحشرة كطريقة حيوية صديقة للبيئة في المكافحة بدلا من المبيدات الكيميائية سيئة الصيت .

مواد وطرائق العمل :

جمع وتربية حشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *C.maculatus*:

تم الحصول على بالغات الحشرات عن طريق جمع عينات من اللوبيا الحمراء المصابة من الاسواق المحلية في مدينة بغداد وتم تشخيص الحشرة في متحف التاريخ الطبيعي في جامعة بغداد هيئت المزرعة الحشرية عن طريق تحضير قناني زجاجية ذات فوهة سعة 800 مل وتم وضع كمية من البذور السليمة المعقمة و نقل مجموعة من البالغات الى القناني مع اغلاق فوهتها بواسطة قطعة من قماش الململ وتثبيتها بواسطة رباط مطاطي ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 30±2° ورطوبة نسبية 70٪ ± 5 وتم تجديد هذه المزرعة باستمرار لغرض ديمومة وبقاء الحشرات لحين اجراء تجارب (محمود، 1986).

تحضير الاوساط الزرعية المستخدمة في تنمية البكتيريا :

استخدم الوسط المغذي الصلب King b Agar لتنمية عزلتي البكتريا p. Fluorescent والوسط المغذي الصلب Nutrient Aga لتنمية بكتريا *B.t.tenebrioni* اما الوسط المغذي السائل Nutrient Brotl استخدم لتنشيط العزلات المستخدمة .حضرت الأوساط الزرعية حسب تعليمات الشركة المصنعة وعقمت بالموصدة (Autoclave) تحت ضغط 121 °م ولمدة 20 دقيقة وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

مصادر سلالات البكتيريا المستخدمة في الدراسة

اعتمدت سلالتي البكتيريا *P.fluorescena* المعزولة من الجراد *Locusta* والصرصر الامريكي *Periplaneta americana* والمؤكد تشخيصها مورفولوجيا وجزئيا بواسطة PCR (الجعفري، 2022) فيما تم الحصول على البكتيريا *B.t. tenebrionis* المعزولة من حفار ساق النخيل ذي القرون الطويلة Jebusaea hammer-schmiditi والمؤكد تشخيصها مورفولوجيا وجزيئيا بواسطة PCR (الساعدي، 2019).

الخصائص المظهرية لنوعي البكتيريا

B.t.tenebrionis و*P. fluorescens*:

فحصت الصفات المظهرية للعزلات تحت المجهر من حيث شكل المستعمرة ولونها ومن حيث تفاعلها مع صبغة كرام (Petersen و Mclaughlin, 2016).

تنشيط وحفظ عزلات البكتيريا *P. fluorescens* **و البكتيريا** *B. thuringinesis tenebrionis* :

تم تنشيط بكتيريا *P. fluorescens* المعزولة من الجراد والصرصر الامريكي عن طريق صب الوسط المغذي الصلب King Agar B في اطباق بتري معقمة وبواقع ثلاث مكررات لكل عزلة ومن ثم اخذت مسحة من المزرعة البكتيرية بواسطة ابرة ذو عقدة وخطط على الطبق بشكل خطوط متعرجة ومن ثم اغلقت ووضعت في الحاضنة لمدة 48 ساعة على درجة حرارة 28±2 ، وبنفس الطريقة تم تنشيط بكتيريا *B.t. tenebrionis* عن طريق صب الوسط المغذي الصلب Nutrient Agar واتباع نفس الخطوات اعلاه ثم وضعت في الثلاجة للحفظ المؤقت عند درجة حرارة 5-7 م° وتم اعادة تنشيط العزلات كل اسبوعين للحفظ المؤقت (Saberi واخرون، 2020) .

تحضير المعلقات الجرثومية للعزلات البكتيرية المختلفة :

بعد ان تم تحضير الوسط المغذي السائل N.broth نقلت مسحة من المزرعة البكتيرية لكلا العزلتين *P.fluorescens* المعزولة من الجراد والصرصر الامريكي بواسطة اللوب (ابرة ذو عقدة) كل على حدة الى الوسط السائل لغرض التلقيح ويحضن لمدة 48 ساعة بدرجة

حرارة °2±28م ثم اجريت سلسلة من التخافيف العشرية من 10^{-1} الى 10^{-7} ولغرض حساب وحدة تكوين المستعمرة cfu / مل نقل 0.5مل من كل تخفيف الى وسط طبق بتري ومن ثم اضيف الوسط المغذي الصلب ثم وضع في الحاضنة بشكل مقلوب عند درجة حرارة °±28 2م لمدة 48ساعة وتم اتباع نفس الخطوات عند تحضير المعلق البكتيري *B.t. tenebrionis* وبعدها تم حساب وحدة تكوين المستعمرة (CFU) Colony-Forming Unit باستخدام معادلة :

$$\text{وحدة تكوين المستعمرة cfu / مل} = \frac{\text{عدد المستعمرات X مقلوب التخفيف}}{\text{حجم العينة}}$$

تقييم كفاءة بكتيريا *B.t. tenebrionis* وعزلتي بكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الجراد والصرصر تجاه بيض حشرة *C.maculatus*:

تم استخدام ثلاث تراكيز وهي $\times 10^5$ 2.5 cfu / مل - $\times 10^5$5 cfu / مل - $\times 10^5$7.5 cfu / مل .اذ تم تحضير 12 علبة بلاستيكية كل علبة تحوي على 10 بيوض حديثة الوضع بعمر 24 ساعة وتم عمل ثلاث مكررات لكل تركيز فضلا عن معاملة السيطرة التي يتم معاملتها بالماء المقطر فقط وتعامل باقي التراكيز بصورة مباشرة بطريقة الرش بمعدل ثلاث رشات على بعد 10سم وتغلق العلب مع عمل فتحات تهوية ويتم حساب الفقس بعد انتهاء مدة حضانة البيض وتم اتباع نفس الخطوات عند المعاملة بالعزلة البكتيرية *P. fluorescena* المعزولة من الجراد والصرصر .وتم حساب نسبة الموت المصححة وفق معادلة ابوت (Abbott ,1925) مع اجراء بعض التحويرات :

$$\text{(معادلة ابوت للموت المصححة)} = \frac{\text{عدد البيض الفاقس في المقارنة – عدد البيض الفاقس في المعاملة}}{\text{عدد البيض الفاقس في المقارنة}} \times 100$$

تقييم كفاءة بكتيريا *B.t. tenebrionis* وعزلتي بكتيريا *P.fluorescena* المعزولة من الجراد والصرصر على بالغات حشرة *C.maculatus*:

استعملت نفس التراكيز المذكورة في الفقرة السابقة حيث تم تحضير 12 علبة بلاستيكية يوضع داخل كل علبة 10بالغات حديثة البزوغ و10بذور سليمة ويتم عمل لكل تركيز ثلاث مكررات بالإضافة الى معامل السيطرة يتم معاملة بطريقة الرش بمعدل ثلاث رشات على بعد10 سم ويتم مراقبة الحشرات بشكل يومي وتسجيل هلاك البالغات لمدة 96 ساعة من المعاملة . وتم اتباع نفس الخطوات عند المعاملة بالعزلة البكتيرية *P.fluorescena* المعزولة من الجراد والصرصر .تم حساب النسبة المئوية المصححة لموت البالغات وفق معادلة ابوت (1925,Abbott) .

التصميم والتحليل الاحصائي :

نفذت تجارب عامليه Fectorial Expermant وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) Completely Randomized Design وتم مقارنة الفروقات بين متوسط المعاملات حسب قيمة اقل فرق معنوي (LSD Least Signifecant Deffrance) عند مستوى احتمالية

(Al-Sahoky and Wahayib ,1990 0.05). وحللت النتائج بواسطة البرنامج الاحصائي Genstat 12 .

النتائج والمناقشة :

تقييم كفاءة بكتيريا *B. thuringiensis tenebrio-nis* وعزلتي بكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الجراد والصرصر تجاه بيض حشرة *C.maculatus*:

توضح النتائج المدونة في الجدول (1) تأثير تراكيز مختلفة من العزلات البكتيرية *P.fluorescens* المعزولة من الجراد والصرصر الامريكي والعزلة البكتيرية *B.t. tenebrionis* في نسب فقس البيض حشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية اذ يلاحظ ان اقل نسبة للبيض الغير فاقس عند المعاملة ببكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الصرصر الامريكي كان عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغ 21.43٪ اما اعلى نسبة للبيض الغير فاقس كان عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغ 48.22٪ وكما يلاحظ ايضا عند المعاملة البيض بتراكيز مختلفة من بكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الجراد ان اقل نسبة للبيض الغير فاقس كان عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغ 28.58٪ اما اعلى نسب للبيض الغير فاقس كان عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغ 46.43٪ اما عند المعاملة بالتراكيز المختلفة من بكتيريا *B.t. tenebrionis* فيلاحظ ان اقل نسبة للبيض الغير فاقس كان عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغ 37.17٪ اما اعلى نسبة للبيض الغير فاقس كان عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغ 49.41٪ وتشير نتائج التحليل الاحصائي الى وجود فروق معنوية في النسب المئوية للبيض الغير فاقس عند المعاملة بالعزلات المختلفة مع افضلية للعزلة البكتيرية *B.t. tenebrionis* وبفارق معنوي كما اوضحت نتائج التحليل الاحصائي ان نسب البيض الغير فاقس تزداد وبفارق معنوي مع زيادة التركيز مع افضلية للتركيز الثالث كما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان التداخل بين المعاملات المدروسة لم يكن له تأثير معنوي في نسب فقس البيض. يعتقد ان عدم فقس البيوض يرجع الى غاز سيانيد الهيدروجين الذي يعتبر احد المنتجات الثانوية التي تنتجها البكتيريا *P.f luorescens* اذ يعمل هذا الغاز على تثبيط انزيم السايتوكروم اوكسديز الذي يؤثر على عملية التنفس ومن ثم موت الجنين، وقد يكون لانزيم البروتييز الذي تفرزه البكتيريا تأثير على الجنين اذ يقوم هذا الانزيم بتحليل البروتينات وبالتالي تحلل الجنين وموته (Qessqoui واخرون، 2017). ويعتقد ايضا ان البكتيريا *B.t. tenebrionis* تؤثر على بيض الحشرات عن طريق تحلل طبقة الكورين التي يتكون منها غلاف البيضة وبالتالي عدم تطور الجنين وقد تسبب السموم التي تفرزها البكتيريا في قتل الجنين ايضا . في هذا الجانب وجد wang واخرون (2022) ان البكتيريا B.t. tenebrionis تهاجم العديد من ادوار الحشرة *Callosobruchus chinensis* اذ لوحظ انها تسبب نسبة موت 50٪ و95 ٪ لليرقات عند التراكيز 1.08×10^7 و 4.27×10^7 على التوالي . كما اشار Magda و Moharm (2015) الى انخفاض عدد البيض الموضوع من قبل اناث نوعي C.chinensis و C.maculatus عند المعاملة بستة سلالات من البكتيريا *B.t. tenebrionis*.

جدول (1) النسبة المئوية للبيض الغير فاقس لحشرة *C.maculatus* عند المعاملة بتراكيز مختلفة من العزلة البكتيرية B.t وعزلتي البكتيريا *P.fluorescens*

نوع العزلات البكتيرية	٪للبيض الغير فاقس التراكيز cfu/ مل				المعدل
	$10^5 \times 2.5$	$10^5 \times 5$	$10^5 \times 7.5$	Con	
P.fluorescens / Perplaneta	21.43	46.43	48.22	6.66	a 30.69
P.fluorescens / Lucost	28.58	42.86	46.43	6.66	b 31.13
B.t. tenebrionis	37.50	46.43	53.57	6.66	a 36.04
المعدل	b 29.17	a 45.24	a 49.41	c 6.66	
LSD 0.05	**نوع العزلة**	**التركيز**		**التداخل**	
	4.88	5.629		ns 9.750	

تقييم كفاءة بكتيريا *B. thuringiensis tenebrionis* وعزلتي بكتيريا *P. fluorescena* المعزولة من الجراد والصرصر على بالغات حشرة *C.maculatus*:

تشير النتائج المدونة في الجدول (2) ان استخدام تراكيز مختلفة من العزلات البكتيرية *P.fluorescens* المعزولة من الجراد والصرصر والعزلة البكتيرية *B.t. tenebrionis* المعزولة من حفار ساق النخيل ذو القرون الطويلة وبفترات زمنية مختلفة يؤدي الى احداث تأثيرات سمية عالية في بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية *C.maculatus* اذ يلاحظ انه عند معاملة البالغات ببكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الجراد ان اعلى نسبة هلاك كانت عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغت ٪42.00 واقل نسبة هلاك كانت عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغت ٪29.17 بعد 72 ساعة من المعاملة مقارنة بمعاملة السيطرة الذي سجلت ٪20.00 كما يلاحظ من النتائج ان اعلى نسبة هلاك سجلت عند معاملة البالغات ببكتيريا *B.t. tenebrionis* كانت عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغت ٪50.0 بينما اقل نسبة هلاك كانت عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغت ٪25.00 كما يلاحظ عند معاملة البالغات ببكتيريا *P.fluorescens* المعزولة من الصرصر الامريكي ان اعلى نسبة هلاك كانت عند التركيز 7.5×10^5 والذي بلغت ٪38.00 واقل نسبة هلاك كانت عند التركيز 2.5×10^5 والذي بلغت ٪29.17 كما اشارت النتائج ان معدلات الهلاك تزداد بزيادة الفترة الزمنية والتركيز واضحت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية بين معدلات الهلاك عند المعاملة بالعزلات البكتيرية المختلفة كما ان نسب الهلاك تناسب بشكل طردي مع زيادة التركيز مع افضلية للتركيز 7.5×10^5 وبفارق معنوي بالإضافة الى ان نسب الهلاك تزداد بمرور الوقت وبفارق معنوي ايضا كما اشارت نتائج التحليل الاحصائي الى ان التداخل بين العوامل المدروسة كان له تأثير معنوي على هلاك البالغات. يعتقد ان البلورات البروتينية التي تنتجها البكتيريا. تبدا بالتحرر بعد دخولها الي جهاز الهضمي للحشرة وخصوصاً في القناة الهضمية الوسطى حيث ترتبط مع المستقبلات الموجودة على السطح الخارجي لخلايا الطبقة الطلائية مؤثرة في نفاذية الغلاف الخلوي لهذه الخلايا مما يسبب خللا في وظيفته ومن ثم دخول السوائل اليه وانتفاخه وانفجاره ومن ثم تنتقل البكتيريا الى التجويف الدموي وتبدا بالتكاثر وتموت الحشرة نتيجة لتدمير الخلايا الطلائية في المعدة الوسطى (Heck-

el ،2020) . ويعتقد ايضا ان بكتيريا *P.fluorescens* تؤثر على الحشرة عن طريق انتاج انزيم الكايتنيز حيث يعمل هذا الانزيم على تحلل طبقة الكايتين في جدار الجسم وبالتالي موت الحشرة (Suganthi واخرون ، 2015) . فضلا عن موت الحشرة اختناقا بسبب تأثير السم سيانيد الهيدروجين الذي تنتجه البكتيريا اذ يؤثر هذا السم على اهم الانزيمات المساهمة في عملية التنفس وهو السايتوكروم اوكسديز (Devi و Kothamsi ، 2009) كما اشار Malakikozhundan و Vinodhini (2018) الى ان بكتيريا B.t.tenebrionis كانت فعالة في السيطرة على حشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية حيث بلغت الجرعة النصف قاتلة 3×10^{7} خلية / مل فضلا عن تثبيط الفاعلية الانزيمية للحشرة مثل الفا اميلز واللاييبيز والبروتييز وglutathione S-transferase وغيرها. وجد ان معاملة الحبوب المخزونة بتراكيز مختلفة من عزلات بكتيريا *B.t. tenebrionis* قد وفرت حماية جيدة بالنسبة للحبوب المخزونة وقد سببت انخفاض كبير في المعطيات الحيوية للحشرة حيث انخفض نسبة بزوغ البالغات الى اكثر من 80٪ بعد 4 اشهر من المعاملة (Magda و moharam 2015) .

جدول (2) النسبة المئوية لهلاك البالغات حشرة *C.maculatus* عند المعاملة بتراكيز مختلفة من البكتيريا وعزلتي *B.t. tenebrionis* بكتيريا *P.fluorescens*

نوع العزلات البكتيرية	التركيز	الموت المصححة %				المعدل
		24\h	48 \h	72\h	96\h	
P.fluorescens / Locust	$2.5\times10^{+5}$	3.33	3.70	14.81	29.17	17.26 a
	$5\times10^{+5}$	6.67	11.11	29.63	41.67	
	$7.5\times10^{+5}$	10.00	14.81	30.00	42.00	
	Con	0.00	10.00	10.00	20.00	
B.t. tenebrionis	$2.5\times10^{+5}$	13.33	11.11	22.22	25.00	16.83 a
	$5\times10^{+5}$	6.67	3.70	14.81	29.17	
	$7.5\times10^{+5}$	20.00	11.11	22.22	50.0	
	Con	0.00	10.00	10.00	20.00	
P.fluorescens / Perplaneta	$2.5\times10^{+5}$	6.67	7.41	15.71	29.17	17.08a
	$5\times10^{+5}$	10.00	11.11	19.54	37.50	
	$7.5\times10^{+5}$	6.67	14.81	27.20	38.00	
	Con	6.67	10.00	13.33	20.00	
معدل الفترات الزمنية		7.50 c	9.91 b	19.09 b	31.74 a	
معدل التراكيز	2.5×10^{5}		$5\times10^{+5}$	$7.5\times10^{+5}$	Con	
		10.83 c	15.14 b	18.46 b	23.80 a	
اقل فرق معنوي LDS 0.05	نوع العزلات	التركيز	الزمن	التداخل		
	3.63	4.19	4.19	14.52		

الاستنتاجات :

يتضح مما تقدم ان عزلات بكتيريا *P.f* والعزلة المحلية *B.t. tenebrionis* ذات كفاءة جيدة في التأثير على بيض وبالغات حشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *C.maculatus* وهذه الكفاءة تتناسب مع زيادة التركيز والمدة الزمنية ويمكن استعمال هذه العزلات كمستحضرات حيوية بدلا من المبيدات الكيميائية في مكافحة الحشرات .

المصادر :

المصادر العربية:

الساعدي، حسن مؤمن ليلو (2019). تقييم بعض عناصر الادارة المتكاملة لمكافحة حشرة حفار ساق النخيل ذو القرون الطويلة (Jebusaea hammer-schmiditi (Coleoptera:Cerambycidae في وسط العراق. أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد 270. صفحة.

الساهوكي، مدحت ووهيب، كريمة محمد .(1990) . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب . العراق . دار الحكمة للطباعة والنشر . جامعة بغداد . 199 صفحة .

الجعفري، شيماء حميد كامل (2022). عزل وتشخيص البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* واستعمال البكتيريا *Bacillus thuringiensis tenebrionis* وجسيمات الفضة النانوية المحضرة بيولوجيا في مكافحة حشرة الارضة *Microcerotermes diversus Silv*. .

محمود، عماد احمد .(1989). آلية مقاومة بعض انواع بذور البقول لخنفساء اللوبياء الجنوبية Callosobruchusmaculatus(Fab.) (Coleoptera: Bruchidae) اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

المصادر الاجنبية :

Abbott , W.S. (1925).A method of computing the effectiveness of an insecticide J. Econ .Entom., 1 (18):265-267.

Arora S. and Srivastava C. (2020). Locational dynamics of concentration and efficacy of phosphine against pulse beetle Callosobruchus maculatus (Fab). Crop. Prote. 14: 105475 . 1-8

Barzman M, Bàrberi P, Birch ANE, Boonekamp P, Dachbrodt-Saaydeh S, Graf B, et al. Eight principles of integrated pest management. Agron Sustain Dev. 2015;35: 1199–1215. cowpea beetle Callosobruchus maculatus (Fab. (Coleoptera: Bruchidae). J. edu. sci. . 28(3): 186-197 .

Fernández-Chapa D, Ramírez-Villalobos J, Galán-Wong L. Toxic Potential of Bacillus thuringiensis: An Overview. In: Jia Y, editor. Protecting Rice Grains in the Post-Genomic Era. 2019. pp. 1–22.

Gusnadi, B., Advinda, L., Anhar, A., Putri, I. L. E., & Chatri, M. (2023). Pseudomonas fluorescens as a Biocontrol Agent for Controlling Various Plant Diseases. Jurnal Serambi Biologi, 8(2), 123-128.

Kalpna, Hajam YA., Kumar, R.,

dae) in cowpea beansJ. exper. agric. inter. 30 (2): 1-7.

Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P, Hens L. Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. Front Public Health. 2016;4: 1–8.

Olson S. An analysis of the biopesticide market now and where it is going. Outlooks on Pest Management. 2015;26: 203–206.

Petersen , J. and Mclsughlin , S. (2016). Laboratory exercises in Microbiology discovering the unseen world through hands-on investigation. University of New York . PP. 195 .

Pisa L, Goulson D, Yang EC, Gibbons D, Sánchez-Bayo F, Mitchell E, et al. An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems. Environmental Science and Pollution Research. 2021;28: 11749–11797.

Saberi , F. , Marzban, R. , Ardjmand, M., Shariati , F.P. and Tavakoli , O(2020). Optimization of culture media to enhance the ability of local Bacillus thuringiensis var. tenebrionis. Journal of the Saudi Society of Agricultura l Sciences,19: 468-475 .

2022. Management of stored grain pest with special reference to Callosobruchus maculatus, a major pest of cowpea: a review. Heliyon 1(8) e08703.

Kumar P, Kamle M, Borah R, Mahato DK, Sharma B. Bacillus thuringiensis as microbial biopesticide: uses and application for sustainable agriculture. Egypt J Biol Pest Control. 2021;31: 95.

Majhi, P.K., Mogali, S.C., 2020. Characterization and selection of bruchid [Callosobruchus maculatus (F.)] tolerant greengram [Vigna radiata (L.) Wilczek genotypes. Indian J. Agric. Res. 54(6): 679-688.

Malaikozhundan B, Vinodhini J. Biological control of the Pulse beetle, Callosobruchus maculatus in stored grains using the entomopathogenic bacteria, Bacillus thuringiensis. Microb Pathog. 2018 Jan;114:139-146.

Mohammed, Adnan Musa and Aswad, Sarah Amer. (2019). The effect of some nanomaterials on the vitality of the southern

Neto S. E. P. , Andrade A. B. A. , Costa E. M. , Maracaja P B. , Santos A. B. , Santos J. L. G. and Pimenta T. A. (2019). Effect of Neem powder (Azadirachta indica A. Juss) on the control Of cowpea weevils Callosobruchus maculatus (F.) (Coleoptera : Bruchi-

Wang, Lei, and Yaru Zhao. "Transcriptome analysis of Callosobruchus chinensis: insight into the biological control using entomopathogenic bacteria, Bacillus thuringiensis." Food Science and Technology 42 (2022).