# عزل وتشخيص بكتريا *Bacillus thuringiensis* من بعض ترب محافظة واسط واستخدامها كمبيد أحيائي وبتراكيز مختلفة لمكافحة الدودة القارضة السوداء (الأرضة) *Agrotis ipsilon* ( Hufnagel) مختبريا

قيس مري لعبوسي
مديرية تربية واسط

# To isolate and diagnose the bacteria *Bacillus thuringiensis* of some soils Wasit Province and use it as bio-pesticide with different concentrations to kill *Agrotis ipsilon* ( Hufnagel) laboratory

Qais Muri Laabusi
Educational Wasit Directorate

## Abstract

The *Bacillus thuringiensis* found in all the study zones in Wasit province, but at different rates because difference type the land and climatic situation in each region. The average of bacteria in those areas 30.0،Swairah and Badra recorded higher rates for this bacteria 50% and 40% respectively. The *Bacillus thuringiensis* in soils Districts Al-ahrar and Al-hai was least 20% and 10% respectively .The study indicated to three of *Bacillus thuringiensis* dilutions differed in kill the larvae of the worm black biting Agrotis ipsilon laboratory, The *B .thuringiensis* dilution ($57 \times 10^6$) Spor / ml killed higher of other dilutions and was 77.5% after 3 days of treatment of killing rate decreased with increasing the length of time .The dilution *B .thuringiensis* ($57 \times 10^6$) Spor / ml recorded 30.7% kill rate during the treatment . dilution *B .thuringiensis* ($34 \times 10^5$) Spor / ml least in kill of larvae of the worm black biting *Agrotis ipsilon* laboratory and was 59.2% after 3 days of treatment in the dilution .The kill rate decreased with increasing the time .Recorded general average for ratio killing of the dilution 25.0% during the time of the treatment.

**المستخلص**

اظهرت هذه الدراسة تواجد بكتريا *Bacillus thuringiensis* في جميع المناطق المدروسة والتي تقع ضمن محافظة واسط ولكن بنسب مختلفة تبعا لاختلاف طبيعة الارض والظروف المناخية في كل منطقة . وكان معدل العام لتواجد البكتريا في تلك المناطق 30.0% حيث سجل كل من قضاء الصويرة وقضاء بدرة اعلى نسبة تواجد لهذا البكتريا بلغت 50% و 40% على التوالي. في حين كان تواجد هذه البكتريا في ترب قضاء الحي وناحية الاحرار الاقل وبنسبة بلغت 20% و 10% على التوالي . وكذلك اشارت الدراسة الى ان (التخافيف) البكتيرية الثلاثة لبكتريا *Bacillus thuringiensis* و التي تم تحضيرها من تلك الترب اختلفت في نسبة قتل يرقات الدودة القارضة السوداء *Agrotis ipsilon* مختبرياً، حيث تميز تخفيف البكتريا *B .thuringiensis* ($57\times10^6$) سبور/مل بنسبة قتل اعلى من بين التخافيف االثلاثة اذ بلغت 77.5% وذلك بعد مرور 3 ايام من معاملة تلك اليرقات لذلك التخفيف ، واخذت نسبة القتل تقل بزيادة المدة الزمنية وكمعدل عام فقد سجل هذا التخفيف نسبة قتل 30.7% خلال فترت المعاملة . في حين كان التخفيف البكتيري *B .thuringiensis* ($34\times10^5$) سبور/مل الاقل في نسبة قتل تلك يرقات الدودة القارضة السوداء *Agrotis ipsilon* مختبرياً، حيث بلغت 59.2 % وذلك بعد مرور 3 ايام من معاملة اليرقات بهذا التخفيف ، واخذت نسبة القتل تقل بزيادة الفترة الزمنية، وكمعدل عام فقد سجل ذلك التخفيف نسبة قتل25.0 % خلال فترات المعاملة.

## المقدمة

كانت ولازالت المبيدات الكيمائية هي الاكثر شيوعا في مواجهة التحديات التي شكلتها الآفات الحشرية كعامل رئيس من عوامل تدمير الامن الغذائي ، ولايمكن اهمال دورها اذ استخدمت كسلاح رئيس وفتاك في ايقاف تهديد الآفات الزراعية . وهنا لابد لنا من وقفة لمعرفة الجانب الثاني لهذا السلاح (المبيدات الكيمائية) وما يخلفه من أضرار ومخاطر على صحة الانسان والحيوانات الداجنة وما تحدثه من خلل في التوازن الطبيعي لتواجد الاعداء الحياتية وهذا ما لفت انظارا الباحثين نحو استخدام عناصر المقاومة الاحيائية من اجل حماية المنتج وجعله خالٍ من المتبقيات السمية التي تخلفها المبيدات الكيميائية وتعتبر البكتريا *Bacillus thuringiensis* من اهم عوامل المقاومة الاحيائية التي اظهرت كفاءة ونالت اهتماماً واسعاً ، وصُنع منها مستحضرات تجارية تعرف بـ *Bacillus thuringiensis* حيث تنتج بصيغتين :الاولى تتألف من البروتين البلوري والصيغة الثانية تتألف من الابواغ والبروتين البلوري وتعد الصيغة الاولى اكثر اماناً . وتمتاز مستحضرات B.t بالتخصص الدقيق بالمكافحة وقلة تكاليف انتاجها ولاتترك متبقيات في التربة والمياه ولاتضر بالأعداء الحياتية لكونها من المبيدات المعَدية المتخصصة في تأثيرها وليس لها تأثير بالملامسة وكذلك غير سامة للّبائن والزواحف والبرمائيات (1) . ان *B.t* تحتفظ بحيويتها اكثر من 70 يومياً في المياه العذبة و 40 يوماً في مياه البحر في درجة حرارة 20م$^{o}$ و ان بقائها في مياه البحيرات اطول من بقائها في ماء الحنفية او الماء المقطر (2) . اما بالنسبة لتحللها بالبيئة فقد وجد ان نصف عمر هذه البكتريا على اوراق النباتات اذ يتراوح من 1-4 ايام وحسب شدة تعرضها لأشعة الشمس ، اما في التربة فان نصف عمرها يبلغ اربعة اشهر وبذلك فان تواجدها البيئي المستمر تقريباً يكون في الترب (2) .وقد أخذت115 نموذج تربة من الحقول مختلفة في امريكا حصلوا منها على 46737 مستعمرة بمعدل 432 مستعمرة من كل حقل وعند فحصها تبين ان 250 مستعمرة فقط من هذه المستعمرات كانت *B.t* (3) . كما عزلت البكتريا *B.t* من 136 نموذجاً من الترب اليابانية من مجموع 189 نموذجا قام بفحصه ،(4). وقد استخدمت *B.t* في مكافحة دودة ورق القطن *Spodiptera litterlis* و اعطت نتائج جيدة في مقاومة الحشرة (5) . وتعد الدودة القارضة السوداء *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) واحدة من اهم الآفات الحشرية التابعة لرتبة حرشفية الاجنحة (Noctuidae،Lepidoptera ) والتي تلحق اضرارا زراعية واقتصادية كبيرة وفي مختلف انحاء العالم وقد لحظت بشكل مكثف في المناطق الاستوائية وشبة الاستوائية (6) . وقد شُخصت في جمهورية مصر العربية كأفة مرضية على محصول البرسيم والقطن وفي الولايات المتحدة الامريكية تسبب هذه الافة خسائر لمحاصيل البطاطا، التبغ، وتعتبر الاكثر فتكاً في محصول الذرة اذ تسبب خسائر كبيرة له (7 ) . وفي شمال العراق (الموصل) وجنوبه (البصرة) سُجل لها تواجد كثيف خلال هذا الدراسة باستخدام المصائد الفرمونية (8 ) . حيث يتركز ضررها على نبات العائلة البقولية في الشتاء ونبات الخضر في الربيع (9 ) . ان ميكانيكية عمل هذه الدودة هي عملية القطع(Cutting ) لشتلات النباتات والتغذية على الاوراق و السيقان ، وتظهر الاصابة عل الاوراق بشكل قرض او ثقوب مما يؤدي الى ذبولها (6 ) . ان الدودة القارضة السوداء هـــــي (Poly phagus ) اي انها حشرة فتاكة ذات مدى عائلي واسع حيث سُجلت وهي تصيب اكثر من 30 عائلاً نباتياً ذا اهمية اقتصادية واهمها ( الذرة ، التبغ، القطن،الحنطة، القرنابيط، البطاطا ، الطماطة، اللوبيا، الباذنجان، قصب السكر و البطيخ وغيرها ) (10). لهذه الافة صفة الهجرة (Migration )من منطقة الى اخرى في العالم اي انها افة عالمية الانتشار (7) .ان استخدم المبيدات الحشرية الحبيبية (Granular intecticides ) في مكافحة الدودة السوداء وهي طريقة ذات فعالية عالية في مكافحة تلك الحشرة (11) . وفي العراق استعمل مبيد السفن 85% بنسبة 500 غم/ دونم ومبيدد بيتركس80% بنسبة 500 غم/ دونم في مكافحة الديدان القارضة (12). كما استعملت البكتريا *Bacillus thuringiensis* بشكل موسع ضمن برامج الادارة المتكاملة للآفات وحققت نتائج جيدة عند استعمالها (13) . وقد وضع برامج مكافحة متكاملة لآفات حرشفية الاجنحة بشكل عام على فول الصويا في كولومبيا و على ثلاث مراحل : المرحلة الاولى استعمال مستحضرات فطرية وفي المرحلة الثانية مستحضرات بكتريا ، اما في المرحلة الثالثة فقد تم استخدام مستحضرات فيروسية (14) . وفي هذه الدراسة سوف يجري جمع عينات من تريب مختلفة ضمن مناطق محافظة واسط وتحليلها للحصول على عزل من بكتريا *Bacillus thuringiensis* لا عطاء صور عن تواجد هذه البكتريا في محافظة واسط من جهة ومن جهة اخرى استخدام تلك العزلات في مكافحة الدودة القارضة السواء (الارضية) *Agrotis ipsilon*

## مواد البحث وطرائق العمل

### طريقة اخذ عينات التربة

جمعت العينات من اربع مناطق وهي قضاء الصويرة، ناحية الاحرار، قضاء الحي وقضاء بدرة ، وهذه المناطق متباينة مناخياً ومختلفة في نسجة التربة تقريباً مع التأكيد عند اخذ عينات من المناطق وخصوصاً الاراضي الزراعية ان لا تكون قد استخدمت فيها مستحضرات B.t ومن خلال الاستفسار من المزارع او سكنة المنطقة. ثم نقل كمية كافية تقدر بـ 15 غم تقريباً من كل تربة وبعمق من 5

الى 10 سم لمواقع مختلفة ضمن المنطقة المدروسة وباستخدام ملعقة معقمة الى الكيس نايلون معقم واحكم اغلاقه وثبتت المعلومات التالية عليه (اسم المنطقة ،طبيعة الارض وتاريخ اخذ العينة ) ثم اعطي رمز وحفظ في الثلاجة لحين اجراء عملية العزل مع التأكيد على العشوائية في اخذ العينات (15). وطبقت هذه الاجراءات مع جميع العينات التي تم جمعها والمدرجة في الجدول ادناه (1)

**جدول (1): يبين المواقع المدروسة ضمن محافظة واسط وتاريخ اخذ العينة وطبيعة الارض.**

| الموقع | الرمز | تاريخ اخذ العينة | طبيعة الارض |
|---|---|---|---|
| قضاء الصويرة | S | 2013/1/28 | حديقة منزل |
| قضاء بدرة | B | 2013/2/1 | ارض زراعية |
| قضاء الحي | H | 2013/2/5 | ارض زراعية |
| ناحية الاحرار | A | 2013/2/10 | ارض غير مزروعة |

**طريقة عزل البكتريا *Bacillus thuringiensis***

عزلت بكتريا *Bacillus thuringiensis* حسب طريقة (Ohba و Aizawa ) (4) والتي تضمنت نقل 1 غم من كل نموذج تربة الى دورق زجاجي معقم سعة 250 مل يحتوي على 10 مل ماء مقطر ومعقم ووضع الدورق على هزاز لمدة 10 دقائق بعد ذلك سحب 1مل من المعلق (التخفيف$10^{-1}$ ) ووضع في انبوبة (ابيندورف) Eppenddorf وعومل حرارياً في حمام مائي على درجة 70م$^{o}$ لمدة 30 دقيقة للتخلص من الانواع غير المكونة للأبواغ. بعد ان بُرد المعلق اجري له سلسلة تخافيف باستخدام الماء المقطر المعقم لحد التخفيف $10^{-6}$ ،استعملت ثلاثة من التخافيف وهي $10^{-3}$، $10^{-4}10^{-6}$ ،حيث تم نقل 100 مايكرو لتر من كل تخفيف الى طبق بتري تحتوي على وسط مغذي صلب Nutrient agar ووزع جيداً باستخدام حاصدة قضيب زجاجي معقوف الى ان جف سطح الوسط . حفظت الاطباق مقلوبة في الحاضنة على درجة حرارة 30م$^{o}$ لمدة 72 ساعة ,ثم فُحصت بعدها المستعمرات تحت المجهر بعد تصبيغها بصبغة الفوكسين القاعدية Basic fuchsin واجريت مجموعة من الاختبارات الحيوية للتأكد من وجود البروتين البلوري و الابواغ او من خلال شكل الحافظة البوغية الذي يميز البكتريا *Bacillus thuringiensis* ثم اجريت عملية تنقية للمستعمرات التي اظهرت الفحص المجهري انها *Bacillus thuringiensis* وحفظت في الثلاجة لحين تحضير اللقاح البكتيري .

**تحضير اللقاح البكتيري (الابواغ والبروتين البلوري)**

تم تنمية البكتريا بطريقة مزرعة السّجاد (Carpt culture ) وذلك بأخذ مسحة لوب كامل من العزلات التي تم تنقيتها و التأكد من انها تعود الى النوع *Bacillus thuringiensis* على سطح الوسط الصلب (T3 Agar ) في طبق بتري ثم اضيف 50 مايكرو لتر من الماء المقطر المعقم ووزعت على كامل سطح الوسط بواسطة قضيب زجاجي ثم تم وضعها في حاضنة الاطباق بشكل مقلوب لمدة 72 ساعة على درجة 30 مُ حصدت الخلايا بإضافة1.5 مل من المحلول الملحي الفسلجي0.8 غمNaCl مذابة في 100 مل ماء مقطر معقم الى الوسط وقشطت المستعمرات باستخدام قضيب زجاجي . وبإمالة الطبق بزاوية 25 درجة سحب المعلق باستخدام ماصة ونقل الى انابيب ابيندورف وحفظت في الثلاجة لحين استخدامها في الاختبارات الحيوية (15) .

**تحضير تراكيز المعلق الجرثومي لعزلة البكتريا *Bacillus thuringiensis***

تم تهيئة بتري من المزرعة البكتريا المحفوظة في الثلاجة والتي تم تشخيصها في الفقرة السابقة حيث اخذ لوب كامل من المستعمرة النقية والمعزولة الى دورق اختبار معقم يحتوي على 250 مل من الوسط الزراعي Nutrient broth وحضن على درجة حرارة 30 ±1 مُوبعدد مرور24 ساعة على الحضن لغرض تنشيط البكتريا تم تحضير ثلاثة تراكيز من المعلق البكتيري ، حيث اخذ من دورق المعلق البكتيري 100 مل ووضع في انبوبة معقمة ، واخذ من دورق المعلق البكتيري 50 مل معلق بكتيري مرة ثالثة واضيف له 50 مل ماء مقطر ومعقم ووضع في انبوبة معقمة . وقد استخدمت التركيز في الخطوة اللاحقة.

**قياس تركيز العالق البكتيري للبكتريا *Bacillus thuringiensis***

اعتمدت طريقة (Thiery و Frachon ) (15) لحساب عدد سبورات التراكيز الثلاثة للمعلق البكتيري المشار سابقاً ، استعملت عملية الصب بالأطباق (Pourplating ) في هذه الطريقة حُضرت تخافيف عشرية متتالية حيث عقمت ستة انابيب اختبار حجم20سم$^3$ مع ستة ماصات (Pipet ) تحتوي كل انبوبة على كمية 9 مل من الماء المقطر والمعقم ، اضيف 1 مل من المعلق الجرثومي للتركيز الاول بواسطة الماصة الاولى الى الانبوبة الاختبار الاولى حيث اصبح حجمها 10 مل الذي يمثل التخفيف الاول (10/1) او ($10^{-1}$ ) بعدها سُحِبَ 1مل من انبوبة الاختبار الاولى بواسطة الماصة الثانية لوضعها في أنبوبة الاختبار الثانية ليصبح حجمها 10مل الذي يمثل التخفيف الثاني (100/1) او ($10^{-2}$) وهكذا الى ان نصل للتخفيف السادس (1000000/1) او ($10^{-6}$) من خلال التتابع في السحب لحد الانبوبة السادسة والاخيرة سُحِبَ 3 مل من التخفيف الاول ($10^{-1}$) ووزع على ثلاثة اطباق بتري قطر 14 سم يحتويان على الوسط الزراعي Nutrient agar بمعدل 1مل لكل طبق . بعدها سُحِبَ 3مل من التخفيف الثاني ($10^{-2}$) ووزع على ثلاثة اطباق بتري قطر 14 سم يحتويان على الوسط الزرعيNutrient agar بمعدل 1مل لكل طبق . وهكذا ان نصل للتخفيف السادس ($10^{-6}$) من خلال التتابع في السحب لحد الانبوبة السادسة والاخيرة $10^{-6}$، وحُضّنَت الاطباق على درجة 30 ±1 مْ ولمدة 24 ساعة وبعد نمو المستعمرات البكتيرية اخذت الاطباق التي تعود للتخفيف السادس$10^{-6}$ وهملت التخافيف الاخرى ، وقد تم حساب متوسط عدد المستعمرات في كل طبق ومن ثم استخرج عدد البكتريا حسب المعادلة الاتية :

$$\text{عدد البكتريا} = \frac{\text{معدل عدد المستعمرات (في ثلاثة اطباق)} \times \text{مقلوب التخافيف}}{\text{حجم العينة}} \qquad (16)$$

وبعد الحصول على البكتريا في1 مل من العينة من خلال المعادلة أُعتُمِدَت طريقة النسبة والتناسب للحصول على كمية المحلول الذي يمكن اعتماد والحاوي على (57 ×$10^6$ ) خلية (سبور) /مل. اما التركيز الثاني والثالث فقد تم حساب عدد الخلايا (السبورات) بالطريقة نفسها حيث حيث تم اخذ التخفيف الرابع $10^{-4}$ واهملت المخففات الاخرى في التركيز الثاني ليصبح (41 × $10^4$) خلية (سبور)/ مل ، وفي التركيز الثالث اخذ التخفيف الخامس ($10^{-5}$) واهملت التخافيف الأخرى ليصبح (36 ×$10^5$) خلية(سبور) / مل

**التقييم الحيوي لتخافيف بكتريا *B. thuringiensis* ضد يرقات الدودة القارضة السوداء *A.ipsilon***

لغرض التقييم الحيوي لعزلة البكتريا ضد يرقات الدودة القارضة السوداء ***A.ipsilon*** وبمختلف الاعمار باستخدام معلق بكتيريا *Bacillus thuringiensis* و بثلاثة مخففات (15×$10^6$ ،24×$10^4$ ،20×$10^5$) خلية(سبور) / مل والتي تم تحضيرها في الفقرة 5 . رشت باردات الطماطة والغير مصابة اذ كانت بارتفاع (10–15) سم مزروعة في اصص وبمعدل نبات /اصيص ، بواسطة مرشة حجم 1لتر بانفراد وبمعدل 1 اصيص لكل معاملة مع معاملة رشت بالماء المقطر فقط.حجز كل نبات داخل زجاجة فانوس بعد ذلك تم عدوى كل نبات باليرقات وبمعدل 20 يرقة / نبات باستعمال فرشاة ناعمة لنقل اليرقات ، غطيت زجاجة فانوس من الاعلى بواسطة قطعة قماش من الململ مثبتة برباط مطاطي . فحصت النباتات وسجلت النسبة المئوية لعدد اليرقات الميتة بعد مرور 3 ايام و6 ايام وكثر من 8 يوم . اجريت التجربة في المختبر وتحت الظروف المشار اليها سابقا وبمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة . صححت نسبة الهلاكات المئوية لليرقات وفق معادلة Abbott (17) والمعادلة حسب معادلة Schneider and Abbott Formula المدرجة في ادناه:

$$\text{النسبة المؤية للهلاكات المصححة} = \frac{\%\text{ للهلاكات في المعاملة} - \%\text{ للهلاكات في المقارنة}}{100 - \%\text{ للهلاك في المقارنة}} \times 100\ \%$$

وحولت النسبة المؤية للهلاك الى قيم زاوية لإدخالها في التحليل الاحصائي (18)

## النتائج والمناقشة

### تواجد البكتريا *Bacillus thuringiensis* في العينات المفحوصة

اظهرت النتائج وجود البكتريا *B . thuringiensis* في جميع الترب التي جمعت من المحافظة الا ان عدد العزلات اختلفت تبعا لطبيعة المنطقة والظروف البيئية للمنطقة المدروسة. حيث تم فحص اربع نماذج من كل منطقة والتي اخذت من مواقع مختلفة منها .تواجد البكتريا في 12 نموذج من مجموع النماذج المفحوصة حيث سُجلت نسبة تواجد 30.0 % ، في الترب محافظة واسط و من خلال المعدل العام تبين ان اعلى نسبة تواجد للبكتريا *Bacillus thuringiensis* كانت في قضاء الصويرة وقضاء بدرة 50% و 40% على التوالي واقل نسبة تواجد للبكتريا *Bacillus thuringiensis* في ناحية الاحرار وقضاء الحي 10% و20% على التوالي. وكما مبين في جدول رقم (2)

**جدول (2): تواجد البكتريا *B . thuringiensis* في الموقع المدروسة وحسب النسب .**

| ت | الموقع | عدد العينات المأخوذة | عدد العينات التي تحتوي علىB.t | نسبة تواجد B.t |
|---|---|---|---|---|
| 1 | قضاء الصويرة | 10 | 5 | 50.0 |
| 2 | قضاء الحي | 10 | 2 | 20.0 |
| 3 | ناحية الاحرار | 10 | 1 | 10.0 |
| 4 | قضاء بدرة | 10 | 4 | 40.0 |
| | المجموع | 40 | 12 | 30.0 |
| | معدل تواجد بكتريا *Bacillus thuringiensis* في جميع المناطق المدروسة | | | |

### التقييم الحيوي لتراكيز مختلفة من بكتريا *Bacillus thuringiensis* ضد يرقات الدودة القارضة السوداء *A.ipsilon*

تم دراسة تأثير كثافة البكتيريا حيث وجد اعلى معدل لنسبة القتل حصلت لليرقات التي تم تغذيتها على بادرات الطماطة و رشت بتخفيف ($57\times10^{6}$ ) خلية (سبور) /مل لبكتريا *B . thuringiensis* حيث بلغت 30.7 % في حين كان اقل معدل بتخفيف ($34\times10^{5}$ ) خلية (سبور) / مل لبكتريا *B . thuringiensis* حيث بلغ 25.0% وكما مبين في جدول رقم (3) اشار الجدول ذاته الى تأثير عامل المدة زمنية في نسبة الهلاك حيث ان اعلى معدل لنسبة قتل اليرقات سُجلت في اليوم الثالث من المعاملة وبلغ 69.5% في حين كان اقل معدل لنسبة قتل اليرقات في اليوم الثامن من المعاملة وبلغ 0.3% مع وجود اختلافات معنوية بين الايام . اما بالنسبة للتدخل مابين المدة الزمنية وتراكيز البكتريا في نسبة الهلاك فقد سجل التخفيف البكتيري ($57\times10^{6}$ ) خلية (سبور) / مل اعلى نسبة قتل بعد مرور ثلاثة ايام من المعاملة بلغت 77.5% في حين سجل التخفيف البكتيري ($41\times10^{4}$ ) خلية (سبور) / مل والتخفيف البكتيري ($34\times10^{5}$) خليـــــــــة ( سبور) / مل اقل نسبة قتل بلغت 0.0% بعد مرور ثمانية ايام على المعاملة مع وجود فروق معنوية بين التركيز والايام . وقد بين (Govhndarajan واخرون) (19) الى ان بكتريا *B. thuringiensis* اعطت نسبة قتل 100 ليرقات دودة ورق القطن بعد مرور 6 ايام من المعاملة في المختبر . في حين بين ( Bekheit واخرون) (20). ان استخدام بكتريا *B. thuringiensis* مختبرياً ادى الى احداث نسبة قتل بلغت 95 – 82.5% في يرقات الطور الاول لعثة درنات لبطاطا *P.operculella* . واوضح الجدول ادناه أيضاً. ان النسبة المؤية التراكمية لهلاك اليرقات بلغت 91.7% عند استخدام التخفيف البكتيري ($57\times10^{6}$) خلية (سبور ) / مل و 67.9% عند استخدام التخفيف البكتيري ($34\times10^{5}$) خلية (سبور) / مل

**جدول (3): التقيم الحيوي لتراكيز مختلفة من البكتريا *B. thuringiensis* ضد يرقات الدودة القارضة السوداء *A.ipsilon* وتحت ظروف مختبرية وباختلاف الفترة الزمنية .**

| ت | تركيز (سبور/مل) | النسبة المئوية للهلاكات (%) | | | معدل النسبة المئوية لهلاك اليرقات (%) | النسبة المئوية التراكمية لهلاك اليرقات (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | بعد (3) يوم | بعد (6) يوم | بعد اكثرمن(8)يوم | | |
| 1 | $10\times57^{6}$ | 77.5 | 13.2 | 1.0 | 30.7 | 91.7 |
| 2 | $10\times41^{4}$ | 71.9 | 9.9 | 0.0 | 27.2 | 81.8 |
| 3 | $10\times34^{5}$ | 59.2 | 8.7 | 0.0 | 25.0 | 67.9 |
| المعدل | | 69.5 | 10.6 | 0.3 | | |
| L.S.D | | للأيام | للتراكيز | | للتداخل | |
| | | 4.02 | 3.90 | | 7.74 | |

**المصادر**


1-**Bajwa,W.I and Kogan.M(2001)** *Bacillus thurigiensis* based biological control of insect pest .national IPM.NetworkBajwa,W.I and Kogan.M.2001.*Bacillus thurigiensis* based biological control.P22-56

2- **Menon, AS and De Mestral, J(1985)** Survival of *Bacillus thuringiensis*var.*kurstaki*in waters .Water Air.Soil Pollut ,25:265-274

3-**Delucca , A.J; Simonson J.G andLarson,A.D. (1981).** *Bacillus thuringiensis* distribution in soil of the United States.Can J. Microbial 27 (9) : 865- 870.

4-**Ohba M and Aizawa K (1986)** Distribution of *Bacillus thuringiensis*in soils of Japan. J InvertebrPathol; 47: 277-282.

5-**Navon,A;Wysoki,M and Keren, S(1983)** Potency and effect of *Bacillus thuringiensis* preparation against larvae of *Spodoptera littoralis*.Phtoparasitica 11:3-11.

6-**El-Salamouny , S., Martin , L. ; Manfred , J., Jurg , H. and Johannes, A. J( 2003)** Comparative study on the susceptibility of cutworms (Lepidoptera : Noctuidae) to *Agrotissegetum*nucleopolyhedrovirus and Agrotisipsilonnucleopolyhedro virus and *Agrotis ipsilon*nucleopolyhedro virus. Journal of Invertebrate Pathology . 84 : 75-82.

7-**Showers , W.B(1997)** Migratory Ecology of the Black cutworm . Ann. Rev. Entomol. 42 : 393-425.

8 - **جرجيس، سالم جميل ،سعاد اردیني عبدالله و عبد الباقي محمد حسين (1987)** دراسة بيئية لبعض انواع الحشرات الليلية النشاط التاتبعة لرتبة حرشفية الاجنحة باستخدام مصيدة روبسن الضوئية زمجلة الرافدين،19 (2) ،ص 325– 355

9- **العزاوي ، عبدالله فليح ، إبراهيم قدوري قدو و حيدر صالح الحيدري (1990)** الحشرات الاقتصادية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد . 652 صفحة .

10- **Boughton , J. Harrison , L. ; Lewis , C. and Bryony , C( 1999)** Characterization of a Nuclopolyhedrovirus from the black cutworm , *Agrotisipsilon* (Lepidoptera : Noctuidae). Journal of Inveretebarte Pathology 74 : 289-294.

11- **Hill , D.S( 1983)** *Agrotis ipsilon* (ufn). In Agricultural Insect pests of the tropics and their control , 2nd Edition . Cambridge University Press , Cambridge , London , New York , New Rochelle ,. Melboutne , Sydney , 746 .

12 - **الحسن، خليل كاظم، غنيية ياسين عباس , رحيم حسن عبدالله، جواد عبدالله سلطان، رستم تومابياو و كامل مصطفى حسن (1980)** آفات محاصيل الخضر المزروعة داخل البيوت البلاستيكية والزجاجية وطرق مكافحتها. قسم بحوث الوقاية. الهيئة العامة لوقاية المزروعات . نشرة أرشادية . بغداد، العراق .

13-**Persley, G.T(1996)** Biotechnology and integrated pest management . CAB. International, Washington , USA , 51 – 283 .

14-**Ignoffo , C.M(1981)** Entomopathoyens for control of insect pest of soybeans. AR – Sea. Usda Biological control of insect research , Columbia Cited in Rev. Appl. Entomol. Ser. A, 69 , 53 : 85.

15- **Thiery and Frachon.E .(1997)** .Identification ,Isolation, culture and preservation of entomopathogenic bacteria . in:Manual of techniques in insect pathology : Acadenic Press:54-77.

16 - **الدليمي، خلف صوفي داود ( 1988)** علم الأحياء المجهرية للأغذية ( الجزء العملي ). مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة بغداد. العراق. 264 صفحة.

17-**Abbott , W . S ( 1925 )** .Method for computing the effectiveness of an insecticide . J . Econ . Entomol . 18 : 265 – 267 .

18 - **شعبان، عواد و الملاح، نزار مصطفى.(1993)** المبيدات. مطبعة جامعة الموصل.520 صفحة.

19 **-Govhndarajan,R.; Tayaraj, S and Narayana,K.(1979) .**Observation on the nature of resistance in *Spodopteralittoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) infection by *Bacillus thuringiensis*.Indian J. Experimental Biology 13(6) :548-550.

20-**Bekheit, H. K. M. ; Moawad, G. M. ; Elbedawy, R. A. ; Mahgoub, M. M( 1997)** Control of potato tuber moth *P.operculella* in potato crop . Egyptian . J. Agric . Res. 75 (4): 923-938.