فاعلية عدد من العزلات المحلية للفطرين *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill و *Metarhizium anisopliae* (Met.) في السيطرة على ذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* Loew

أكمام علي حبيب محمد جبير حناوي باسم شهاب حمد*

جامعة واسط – كلية العلوم _ قسم علوم الحياة
*وزارة العلوم والتكنولوجيا – دائرة البحوث الزراعية قسم التقانات الاحيائية

Efficacy of some local isolates of *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and *Metarhizium anisopliae* (Met.) in controlling of cucurbit fly *Dacus ciliates* Loew

Akmam A. Habeeb Mohammed J. Hanawi and Bassim S. Hamad*

University of Wasit – College of Science – Department of Biology
*Ministry of Science and Technology- Directorate of Agriculture Research – Department of Biotechnology

Abstract

The study has been conducted to evaluate the effect of four native fungal isolates on cucurbit fly D. ciliatus , two of these belong to *Metarhizium anisopliae* Met and two belong to *Beauvveria bassiana* Bals. The results revealed that the different concentrations of condial suspension of tested isolates have different effect on the adults and the concentration 10^9 spore / ml showed higher percent of mortality in lower period. The percentage of survival of females that treated with concentrations 10^5 , 10^7 , 10^9 spore/ml , were 96 , 80 , 32% respectively after two days of treatment with the isolate *M. anisopliae* (MARD106) while the percentage of males were 100 , 86 and 28% respectively . The result of LC_{50} study revealed that the isolate B.bassiana (MARD66) was the most effective isolate and the LC_{50} was 10^5 spore / ml for males and females. The result also revealed that the study of the effect of female age on the isolates showed that the percentage of mortality was 95% in the case of one day old female treated with

the isolate *B. bassiana* (MARD66) while the percentages were 55 , 7.5% in the case of 4 , 7 days old female respectively. There is a significant differences in the susceptibility of female in different age when treated with the isolate and the percentage of mortality was 95% in one day old female treated with the isolate *B. bassiana* (MARD66) while the percentages were 55 , 7.5% in 4 , 7 days old female respectively. All isolates recorded high percentages of mortality in the last instar larvae of insect and prevent this larval stage from develop to diapose stage.

Key words: Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Dacus ciliatus, Biocontrol

المستخلص

نفذت هذه الدراسة لتقييم تأثير أربعة عزلات فطرية محلية على حشرة ذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* Loew أثنتان منها تابعة للفطر(Met.) *Metarhizium anisopliae* وأثنتان تابعة للفطر *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill . أظهرت النتائج أن التراكيز المختلفة للعالق البوغي للعزلات الفطرية المستخدمة في معاملة بالغات ذبابة القرعيات أبدت تفاوتا واضحاً في تأثيرها على معدل بقاء البالغات المعاملة و حقق التركيز 10^9 في جميع المعاملات نسبة هلاك اكبر وبفترة زمنية اقصر ، أذ بلغت نسبة البقاء للإناث بعد معاملتها بالتراكيز 10^5 و 10^7 و 10^9 بوغ/مل و للعزلة الفطرية MARD106 *Metarhizium anisopliae* 96 و 80 و 32% على التوالي في اليوم الثاني بعد المعاملة اما نسبة بقاء الذكور فكانت 100 و 96 و 28 % للتراكيز انفة الذكر على التوالي. وأظهرت نتائج الدراسة الخاصة بقياس التراكيز القاتلة للنصف (LC_{50}) للعزلات المختبرة ان العزلة *B.bassiana* (MARD66) هي الاكثر فاعلية مقارنة بالعزلات الأخرى اذ بلغت قيمة التركيز القاتل للنصف فيها 10^5 بوغ/مل للذكور والاناث . لوحظ وجود فارق معنوي في درجة تأثر الاناث المختلفة الاعمار عند معاملتها بالمعلق البوغي لجميع العزلات الفطرية اذ بلغت نسبة الهلاك للإناث حديثة البزوغ (عمر يوم واحد) 95% في حين بلغت النسبة للإناث بعمر 4 و 7 ايام هي 55 و 7.5% على التوالي عند معاملتها بالعزلة الفطرية *B. bassiana* MARD66. جميع العزلات الفطرية قادرة على تحقيق الموت لجميع اليرقات المعاملة بتلك العزلات ومنعت وصول هذا الطور الى الطور العذري

الكلمات المفتاحية :السيطرة الأحيائية ***Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Dacus ciliatus,***

المقدمة

تعد ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew) آفة بالغة الأهمية الاقتصادية على ثمار العائلة القرعية Cucurbitaceae وفي العديد من اقطار المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية و الدول الافريقية (1) (2) (3) .اما في العراق فقد سجلت لأول مرة في خريف عام 1988 ثم تفاقم ضررها وباتت تهدد العديد من محاصيل القرعيات(4) يتمثل ضررها للعوائل النباتية التي تصيبها بالتأثير على جودة الثمار بسبب الثقوب التي تحدثها أثناء وضع البيض وتشوه وتجعد الثمار فضلا عن تعفنها وتلفها بعد تغذي اليرقات على لب وبذور تلك الثمار.

استخدمت في مكافحتها طرق عديدة ومتنوعة وعلى رأسها استخدام المبيدات الكيمياوية ، فعلى الرغم من النجاحات التي حققتها هذه الطريقة الا أنها أفرزت تأثيرات جانبية ضارة كثيرة ومنها ظهور سلالات مقاومة من الذباب لهذه المبيدات فضلاً عن قتلها للعديد من الكائنات غير المستهدفة ووجود متبقيات لها في المواد المعاملة بها وتأثيرها في الخصوبة من خلال تأثيرها في أحياء التربة (5).

ذبابة الفاكهة لديها العديد من الأعداء الطبيعية في الطبيعة ومن مجاميع مختلفة كالطفيليات والمفترسات ومتطفلات بالإضافة للممرضات الحشرية .الأطوار الحشرية لذبابة الفاكهة والتي تتطور في التربة تكون محمية من المتطفلات ولكنها تصبح فريسة جاهزة ومناسبة للممرضات الحشرية مثل الديدان الثعبانية المتطفلة على الحشرات والفطريات ، وكان للفطريات الممرضة للحشرات (Entomopathogenic fungi) الدور الأكبر في برامج المكافحة الإحيائية للعديد من الآفات الزراعية والصحية (6).يعد الفطر *Metarhizium anisopliae* (Met.)من اكثر الفطريات شيوعا في اصابة الحشرات وله انتشار عالمي اذ ، يتواجد بالأساس في التربة ويصيب غالبا جميع حشرات التربة باستثناء بالغات البعوض حيث لا تعد عائلا طبيعيا لهذا الفطر (7). ولكن وجد في أحدى الدراسات بان بعض عزلات هذا الفطر فعالة ضد اليرقات (8) يتمتع الفطر *M.anisopliae* بالعديد من الصفات التي جعلته عامل مكافحة احيائية كفوء للحشرات منها أنه يسبب نسبة هلاكات عالية لها (9). أضافة الى امكانية انتاجه بكميات كبيرة على أوساط زرعية اصطناعية رخيصة ويمكن خزنه بسهولة (10). الفطر *Beauveria bassiana* أيضاً من الفطريات الواسعة الأنتشار في العالم وقد استخدم كعامل مكافحة ضد العديد من الحشرات في المختبروالحقل والمخازن وقد حقق نتائج جيدة (11) (12) (13) أن فطر المكافحة الأحيائية *B. bassiana* له القابلية على إصابة ما يقارب 611 نوعاً من الحشرات التي تعود إلى رتب متنوعة منها رتبة غمدية الأجنحة وحرشفية الأجنحة ومتشابهة الأجنحة. ذكر (14) أن ثلاث عزلات من الفطر *Beauveria bassiana* حققت نسبة قتل مقدارها 90% في يرقات حشرة ذبابة المنزل House Fly (*Musca domestica* L.) بعد يومين من المعاملة . نفذت هذه الدراسة لتقويم فاعلية عزلات محلية لكل من الفطر *Beauveria bassiana* والفطر *Metarhizium anisopliae* في السيطرة على ذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* في محافظة واسط.

المواد وطرائق العمل

تهيئة الأطوار الحشرية

تم وضع ثمار قرع (الكوسة) المصابة ببيض ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* في أقفاص من الزجاج العضوي مكعبة الشكل (طول ضلعها 40 سم) تحت ظروف المختبر (27 ±2 ^{o} م و 60 ± 10% رطوبة نسبة و 16 ساعة ضوء). بعد اكتمال دورة حياة الحشرة تم نقل جميع الكاملات البازغة إلى أقفاص التزاوج من الزجاج العضوي (طول ضلعها 20 سم) المزودة بالخميرة الجافة كمصدر بروتيني للإناث لتحسين النشاط التزاوجي للذكور ومحلول سكري 5% تم تحضيره من خلال اذابة 5 غم من سكر المائدة في 95 مل من ماء الحنفية وفي أطباق بتري بلاستك قطر 15 سم ، زودت أقفاص التزاوج بثمار قرع الكوسة السليمة كوسط طبيعي لوضع البيض، ووضعت تحت الظروف المختبرية مع مراعات استبدال الثمار التي تم استخدامها من قبل الحشرة لوضع البيض فيها بأخرى سليمة وبشكل دوري(15,16)

العزلات الفطرية

عزلت الفطريات الممرضة المستخدمة في الدراسة من ترب البساتين العراقية وعلى نوعين نخيل وحمضيات ونخيل فقط باستخدام طريقة المصائد الحشرية Bait trap Technique باستخدام يرقات حشرة دودة الشمع *Galleria mellonella* L وخزنت بعد تنقيتها باستخدام تقنية السبور المفرد وشخصت بالأعتماد على الخصائص المظهرية (17). ثم اعطيت رمز يمثل مختصرات الشخص العازل والمؤسسة البحثية . جدول (1)

اللقاح الفطري

تم في هذه الدراسة تحضير لقاح لأربعة عزلات فطرية (جدول رقم 1) تابعة للفطريات *Metarhizium anisopliae* و *Beauveria bassiana* كعوامل للمكافحة الاحيائية ضد حشرة ذبابة الفاكهة . نشطت هذه العزلات على الوسط الغذائي PDA (بطاطا - دكستروز- اكار) المجهز في اطباق بتري بلاستيكية قطر 9سم وحضنت بدرجة حرارة 25 ± 2 وعند اكتمال النمو حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 ^{o} م لحين الاستخدام .

حضر العالق البوغي للعزلات الفطرية عن طريق قشط سطح المستعمرة الفطرية النامية على الوسط PDA وبعمر 14 يوم . أستخدم الماء المقطر ومحلول Tween- 80 تركيز 0.1% لتحضير العالق البوغي ثم رج العالق لمدة 5 دقائق لإزالة الابواغ عن حواملها البوغية والحصول على محلول متجانس وحضر التراكيز التالية $1x10^{5}$ ، $1x10^{7}$ ، $1x10^{9}$ بوغ/مل بواسطة شريحة عد الابواغ وتم اختبار حيوية الابواغ وفق طريقة (18).

جدول (1): العزلات الفطرية

ت	اسم العزلة	الرمز	موقع العزل
1	***Metarhizium anisopliae***	**MARD106**	**تم الحصول عليها من مزارع في ابو غريب/بغداد**
2	***Beauveria bassiana***	**MARD66**	**تم الحصول عليها من مزارع في ابو غريب/بغداد**
3	***Metarhizium anisopliae***	**MARD10**	**تم الحصول عليها من بستاين نخيل وحمضيات في النعمانية/كوت**
4	***Beauveria bassiana***	**MARD54**	**تم الحصول عليها من بساتين نخيل وحمضيات في العزيزية/كوت**

أختبارات القدرة الامراضية

تاثير العزلات الفطرية على البالغات

تم رش الحشرات البالغة(اناث وذكور) العائدة لذبابة القرعيات *D. ciliatus* بعد وضعها باسطوانات قطر 3سم وارتفاع 12 سم ذات فوهات مغطاة من الجانبين بشبكة ناعمة (تول) (0.4 ملم حجم) ويتم رشها بواسطة مرشة يدوية بمقدار 2 ملم من المعلق البوغي +Tween 80%0.05 وتم رش بالغات أخرى بالماء المقطر المعقم +Tween 80%0.05 وأعتمدت كمعاملة مقارنة ، بعد المعاملة تم وضع الاسطوانات بشكل عمودي لازالة الزائد من المعلق الفطري وبعد ساعتين يوضع الذباب في صناديق التجربة شكل (1) .

شكل (1) صناديق التجربة

استخدمت التراكيز 10^9x1 ، 10^7x1 ، 10^5x1 بوغ/مل ولكافة العزلات المختبرة ، بواقع خمس مكررات لكل عزلة فطرية (خمس ذكور وخمس اناث) لكل مكرر وفق التصميم التام التعشية ، عمر البالغات المستخدم من 1-5 يوم . تمت متابعة الحشرات يومياً وتم حساب النسبة المئوية للهلاك. في التجربة الحالية والتجارب اللاحقة وضعت الحشرات الميتة في اطباق تحوي ورق مرطب للتأكد من نمو الغزل الفطري.

تأثير عمر البالغات على فاعلية العزلات الفطرية

استخدمت بالغات الحشرة بأعمار مختلفة (1 ، 4 ، 7) أيام لقياس تأثير العمر على فاعلية العزلات الفطرية قيد الدراسة, اذ عوملت جميع البالغات بالعالق البوغي ولكافة العزلات الفطرية المختبرة وبتركيز 1×10^7 بوغ / مل ، خصص لكل معاملة خمس مكررات (8 ذكور 8x اناث) تمت متابعة الحشرات يومياً و حساب النسبة المئوية للهلاك.

النتائج والمناقشة

تاثير العزلات الفطرية على البالغات

بينت نتائج تاثير التراكيز المختلفة للعزلات الفطرية المستخدمة في معاملة بالغات ذبابة القرعيات تفاوتا واضحاً في تأثيرها على معدل بقاء البالغات المعاملة وكان هذا التأثير مرتبط ارتباط وثيق بزيادة التركيز الذي يحقق زيادة في فرص وصول اكبر عدد من الابواغ الى جسم الحشرة, اذ اعطى

قياس فاعلية انتقال الأبواغ بين الذباب المتزاوج

لدراسة فرص انتقال الابواغ بين الذباب اثناء عملية التزاوج عوملت الاناث بالعالق البوغي وبتركيز 1×10^7 بوغ / مل لكل عزلة فطرية ثم وضعت الإناث المعاملة مع ذكور غير معاملة في صناديق خاصة للتربية . خصص لكل معاملة اربع مكررات ولكل مكرر عشرة بالغات (خمس ذكورx خمس اناث) في كل صندوق وتم حساب نسبة الهلاك بفواصل 24 ساعة .

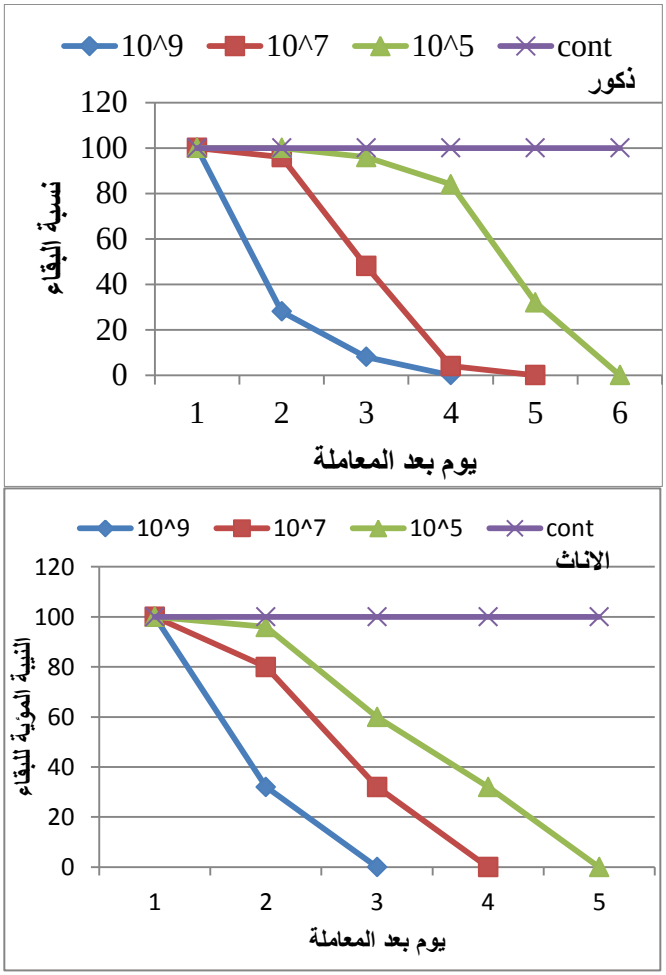
تأثير العزلات الفطرية على اليرقات

تم غمر اليرقات الخارجة للتعذر في العالق البوغي بتركيز 10^7x1 بوغ \مل لمدة 5 ثواني ، وتم غمر يرقات أخرى بماء مقطر +Tween800.05 كمعاملة مقارنة ثم وضعت اليرقات في انابيب بأبعاد 46 ملم قطر x 42 ملم ارتفاع تحتوي 40غم رمل + 5مل ماء للتعذر وتم حساب معدل التعذر بعد 8أيام . تم وضع جميع العذارى واليرقات التي تموت في اطباق تحوي ورق مرطب وتحضن بدرجة حرارة 22 ^{o} م للسماح بالنمو الفطري .خصص لكل معاملة اربع مكررات ولكل مكرر عشرة يرقات وفق التصميم التام التعشية.

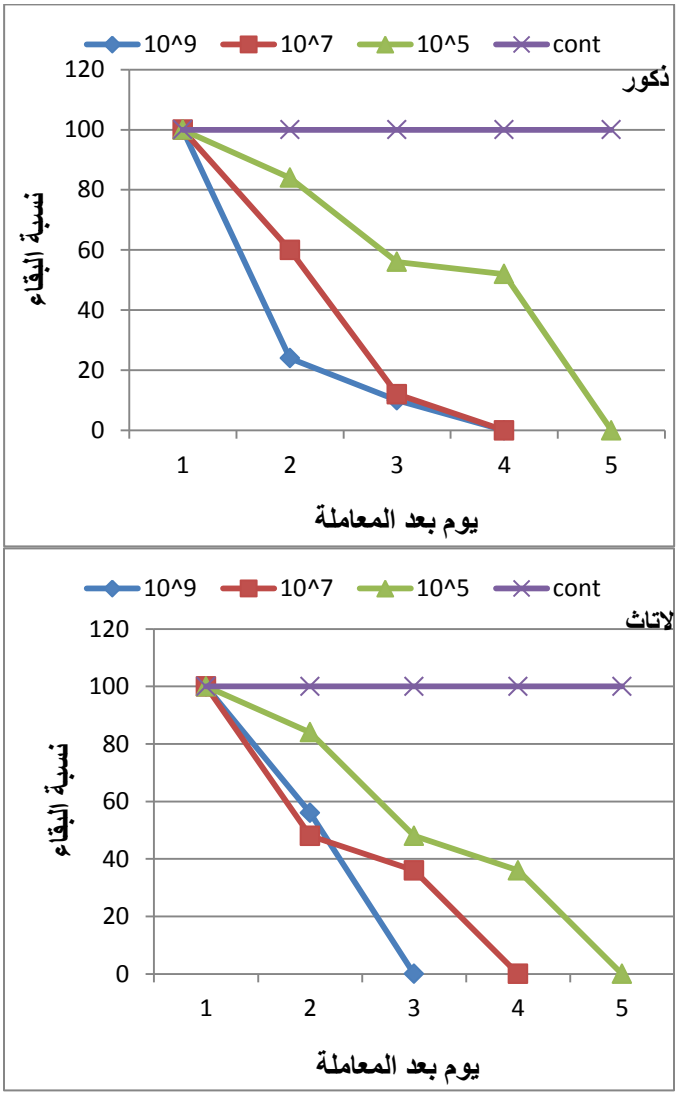
التحليل الإحصائي

صممت المعاملات الثلاثية على وفق التصميم التام التعشية وتم التحليل الاحصائي(تحليل التباين ANOVA) والمقارنة بين المعدلات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود ضمن البرنامج الاحصائي SPSS النسخة 20 اما التجارب ثنائية العامل فاستخدم اختبار t, و استخدم تحليل الاحتمالية(Propit analysis) لاستخراج التراكيز القاتلة للنصف LC_{50} والقاتلة للنسبة 90% من البالغات (LC_{90}) علاوة على الزمن اللازم لقتل النصف LT_{50} والزمن اللازم لقتل 90% من البالغات LT التركيز 10^9 في جميع المعاملات نسبة هلاك اكبر وبفترة زمنية اقصر. بلغت نسبة البقاء للإناث بعد معاملتها بالتراكيز 10^5 و 10^7 و 10^9 للعزلة الفطرية MARD106 *Metarhizium anisopliae* 96 و 80 و 32% على التوالي في اليوم الثاني بعد المعاملة اما نسبة بقاء الذكور فكانت 100 و 96 و 28 % للتراكيز انفة الذكر على التوالي (شكل 2) .

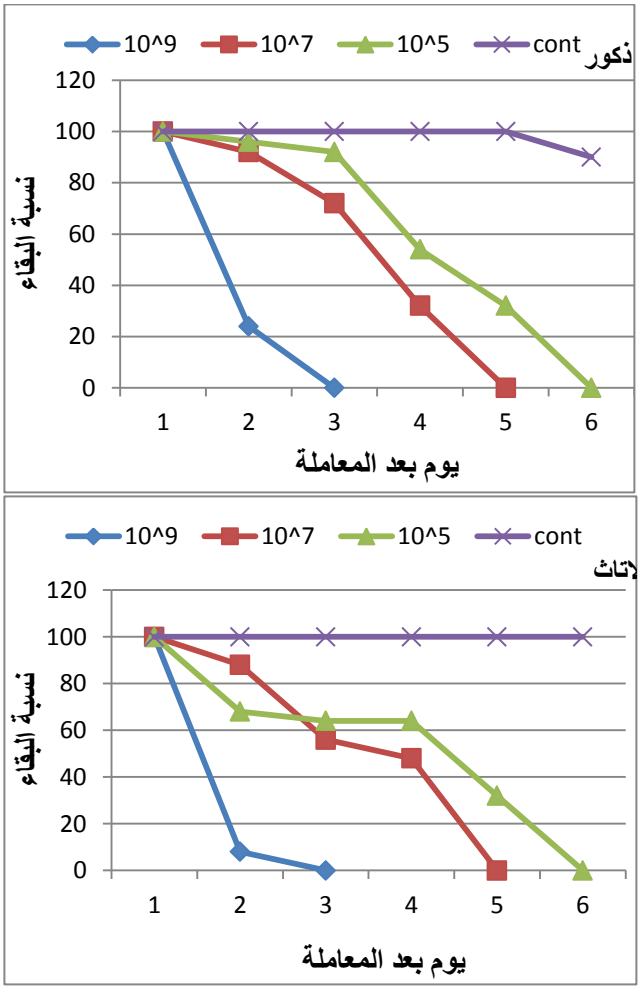
اظهرت العزلات الاخرى فارقا مماثلا في تأثير تراكيزها على نسبة بقاء البالغات وبأفضلية عالية للتراكيز الاعلى وفقا للأشكال (2 و 3 و4). تعتمد حساسية الآفات المستهدفة للإصابة الفطرية على تركيز المعلق الفطري المستخدم لذا فان اختبار تراكيز متنوعة يحمل اهمية اقتصادية بتحديد الامثل في التطبيق الذي يساعد على تقليل الكلف اللازمة مع تحقيق اعلى كفاءة في المكافحة (19).



شكل(2): منحنى البقاء لبالغات ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliates* (ذكور وأناث) المعاملة بالعزلة الفطرية *M. anisopliae* MARD106



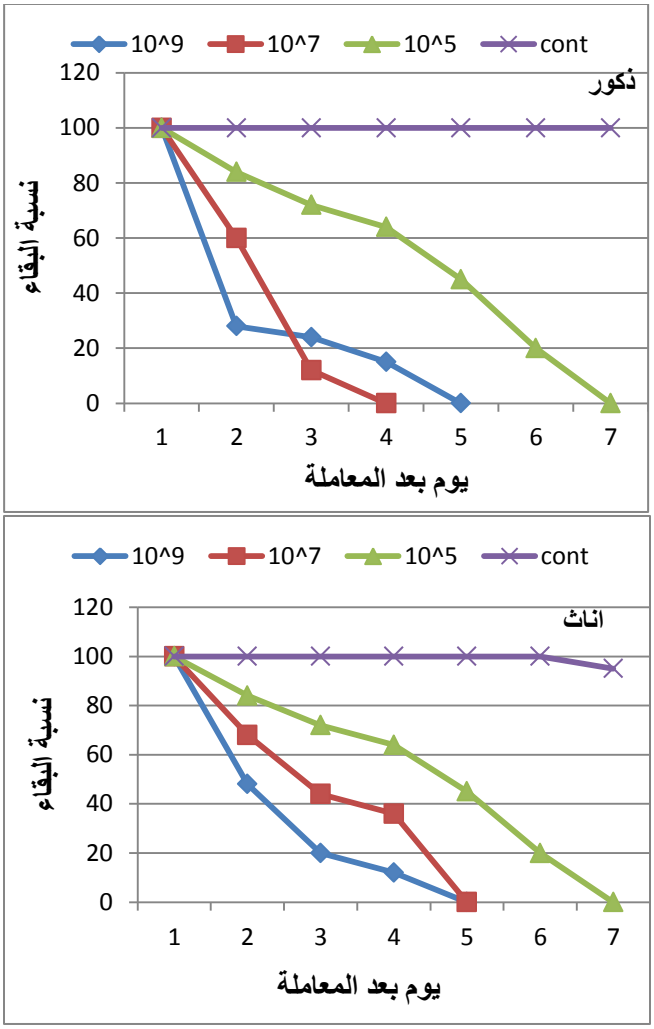
شكل(3) منحنى البقاء لبالغات ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* (ذكور وأناث) المعاملة بالعزلة *B.bassiana* MARD66



شكل(4) منحنى البقاء لبالغات ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* (ذكور وأناث) المعاملة بالعزلة الفطرية *M. anisopliae* MARD10

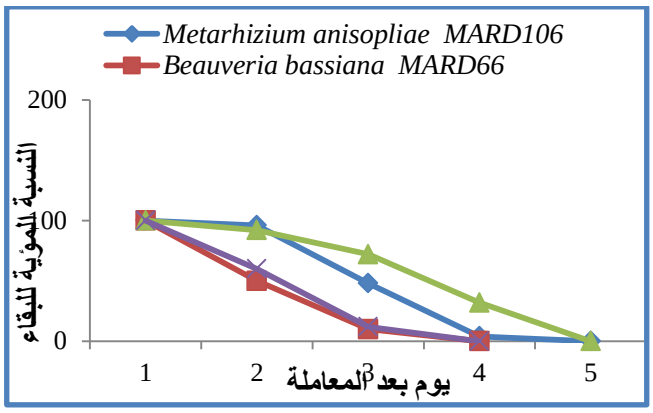
أشارت دراسة مشابهة الى أن تأثير الفطر *Beauveria bassiana* على الأطوار اليرقية لحشرة الدعسوقة ذات النقاط الإحدى عشر يزداد بزيادة التركيز المستخدم وزيادة الفترة الزمنية (20) . وأشارت دراسة اخرى الى أن سبب زيادة كفاءة العالق البوغي بزيادة التركيز يعود الى زيادة الوحدات الفعالة (الأبواغ) التي هي الأساس الأول في أحداث ونشر الإصابة وبالتالي زيادة كفاءة الفطر في قتل نسبة أكبر من الحشرات (21) . أشارت دراسة مشابهة أخرى الى أن زيادة

تركيز رواشح الفطريات يؤدي إلى زيادة نسب القتل في بالغات منّ القطن ومنّ الدفلة (22) . كانت النتائج متوافقة مع ما أشار اليه (12) والذين أشاروا الى أن فاعلية الفطر *B. bassiana* في قتل حشرة Mediterranean Fruit Fly (*Ceratitis capitata*) تزداد بزيادة التركيز المستعمل من العالق البوغي للفطر .

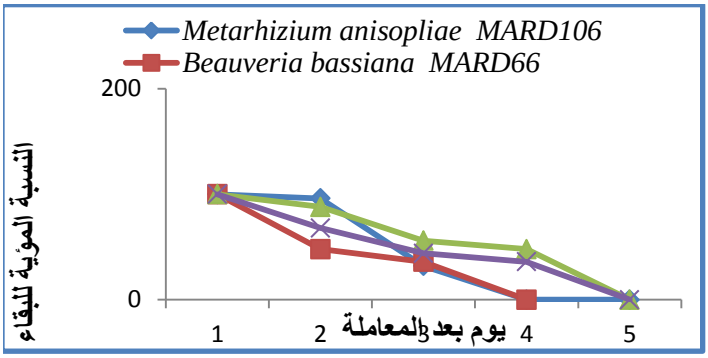


شكل(5):منحنى البقاء لبالغات ذبابة ثمار القرعيات *D. ciliatus* (ذكور وأناث) المعاملة بالعزلة *B. bassiana* MARD54

اما عن المقارنة بين العزلات الفطرية في تأثيرها على النسبة المئوية لبقاء البالغات عند تعريضها للمعلق البوغي لتلك العزلات بينت نتائج الدراسة (شكل 5) فاعلية العزلة *B.bassiana* (MARD66) كونها احدثت انخفاضا سريعا في نسبة بقاء البالغات من الذكور وكانت النسبة (50%) تلتها العزلة *B.bassiana* (MARD54) وبنسبة (60% بقاء) بعد يومين من التعريض وفي اليوم الثالث حققت العزلتين اعلاه انخفاضا في نسبة البقاء وصل الى 10 و 12 % على التوالي بالوقت الذي كانت فيه نسبة البقاء 72% للعزلة *M.anisopliae* (MARD10) و 48 % للعزلة *M.anisopliae* (MARD106) . اعطت العزلتين *B.bassiana* (MARD66) و(MARD54) *B.bassiana* نتائج مماثلة على الاناث و حققت تفوقا في التأثير اذ بلغت نسبة البقاء 48 و 68 % في اليوم الثاني للعزلتين على التوالي (شكل 7).



شكل(6) منحنى البقاء لبالغات الذكور المعرضة لعزلات مختلفة من الفطريات الممرضة *B. bassiana* و *M. anisopliae* بالتركيز 10^7



شكل(7): منحنى البقاء لبالغات الإناث المعرضة لعزلات مختلفة من الفطريات الممرضة *B. bassiana* و *M. anisopliae* بالتركيز 10^7

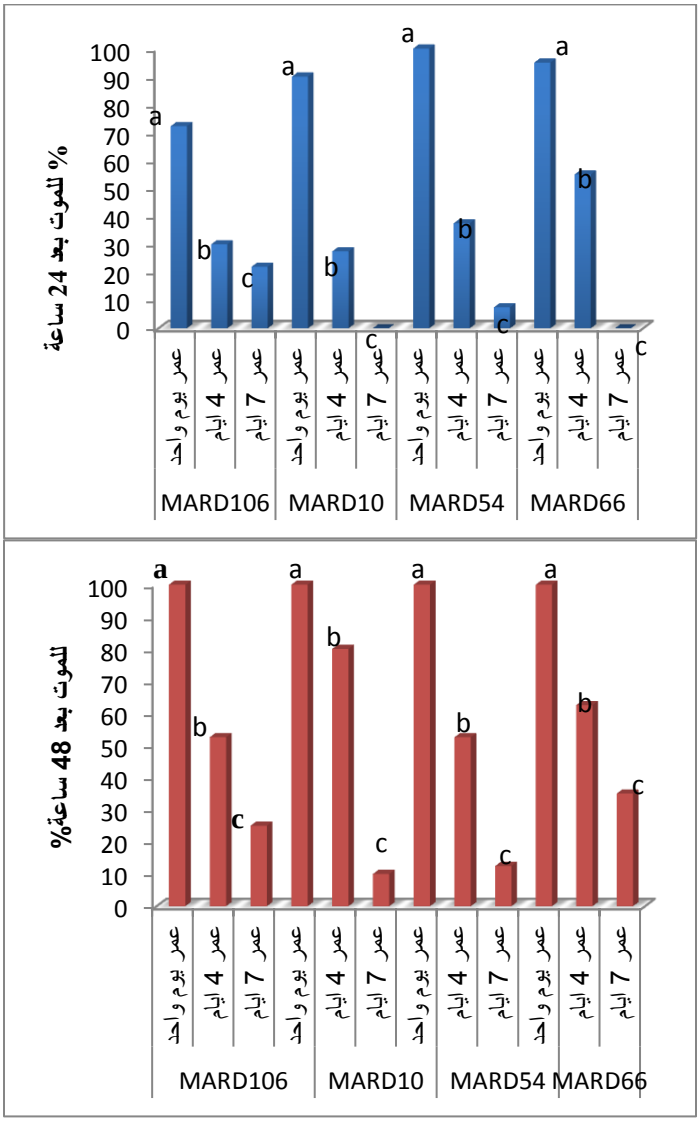
أظهرت النتائج أيضاً تباين العزلات الفطرية المختبرة فيما بينها من حيث التركيز القاتل لنصف الأفراد المختبرة والذي يعرف بالـ LC_{50} (جدول 2) وقد كانت العزلة *B.bassiana* (MARD66) هي الاكثر فاعلية اذ بلغت قيمة التركيز القاتل لنصف العينة المختبرة فيها هو 10^5 بوغ / مل للذكور والاناث مقارنة مع العزلات الاخرى ، يليها في ذلك العزلة *B. bassiana* (MARD54) حيث بلغت قيمة التركيز القاتل لنصف العينة المختبرة فيها هو 10^6 بوغ / مل لكل من الذكور والاناث ، في حين كانت العزلة *M. anisopliae* (MARD106) أقل العزلات تأثيراً حيث بلغت قيمة التركيز القاتل لنصف العينة هي 10^7 بوغ / مل في حالة الأناث و 10^8 بوغ / مل في حالة الذكور وهذا التباين قد يعزى الى النشاط الأنزيمي للعزلات الفعالة التي تلعب دور في قتل الحشرة والتطفل عليها .وفيما يخص التركيز القاتل لـ 90% من الأفراد المختبرة والذي يعرف بالـ LC_{90} فقد اختلفت العزلات ايضاً فيما بينها وكانت العزلة (MARD 66) *B.bassiana* و العزلة (*M. anisopliae* MARD106)هي الأكثر فاعلية اذ بلغت قيمة التركيز القاتل لـ 90% من الأفراد المختبرة فيها هو 10^8 بوغ / مل للإناث المعاملة بكلا العزلتين في حين بلغت قيمة هذا التركيز 10^{11} بوغ / مل للذكور .

جدول رقم (2): التراكيز القاتلة للنصف 50 % و90% من بالغات ذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* المعاملة بالمعلقات البوغية للعزلات المختبرة

العزلة الفطرية	الجنس	LC_{50}	حدود الثقة %95	LC_{90}	حدود الثقة %95
M. anisopliae (MARD10)	♂♂	10^7	10^8 – 10^6	10^9	10^{12} - 10^8
	♀♀	10^6	10^7- 10^5	10^{10}	10^{14}- 10^8
B.bassiana (MARD66)	♂♂	10^5	-10^5 10^8	10^{11}	-10^{10} 10^{14}
	♀♀	10^5	10^6- 10^4	10^8	10^{12}- 10^7
B.bassiana (MARD54)	♂♂	10^6	10^{7--} 10^4	$10^{9.5}$	10^{22} - 10^8
	♀♀	10^6	10^7- 10^5	10^{10}	10^{15}- 10^8
M. anisopliae (MARD106)	♂♂	10^8	10^9- 10^7	10^{11}	10^{22}- 10^9
	♀♀	10^7	10^7- 10^6	10^8	10^9- 10^8

تأثير عمر الاناث البالغة على فعالية العزلات الفطرية

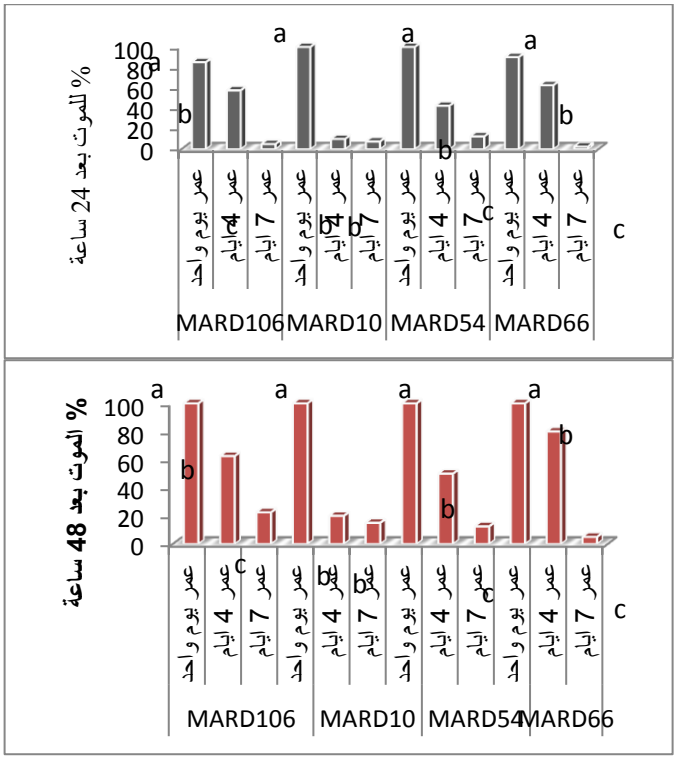
بينت النتائج وجود فارق معنوي في درجة تأثر الاناث مختلفة الاعمار عند معاملتها بالمعلق الفطري لجميع العزلات اذ بلغت نسبة الهلاك للإناث حديثة البزوغ (عمر يوم واحد) 95% في حين بلغت النسبة للإناث بعمر 4 و7 ايام 55 و 0.0% على التوالي للعزلة الفطرية MARD66 بعد 24 ساعة من المعاملة واصبحت نسبة الموت 100 و 62.5 و35 % بعد 48 ساعة (شكل 8).



شكل (8): تاثير عمر الاناث البالغة لذبابة القرعيات *D.ciliatus* في فاعلية العزلات الفطرية

***الحروف المتشابه في كل عزلة تدل على عدم وجود فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 0.05**

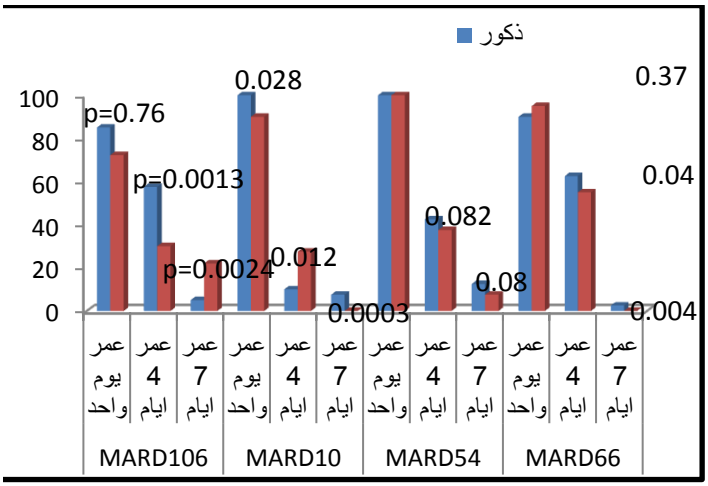
وأظهرت النتائج أيضاً وجود فارق معنوي في درجة تأثر الذكور مختلفة الاعمار عند معاملتها بالمعلق البوغي لجميع العزلات اذ بلغت نسبة الهلاك في الذكور حديثة البزوغ (عمر يوم واحد) 90% في حين بلغت النسبة للذكور بعمر 4 و7 ايام 62 و2.5 % على التوالي بعد 24 ساعة و100 و80 و5 % بعد 48 ساعة من معاملتها بالعزلة الفطرية MARD66 (شكل 9) . تماثلت طبيعة نتائج تأثير باقي العزلات على البالغات مع التي تم الحصول عليها في العزلة سابقة الذكر أذ ان النسبة المئوية للهلاك في كل من الذكور والاناث كبيرة عند الأعمار الحديثة وتبدأ بالتناقص بتقدم العمر .



شكل (9) :تاثير عمر الذكور البالغة لذبابة القرعيات *D.ciliatus* في فاعلية العزلات الفطرية

***الحروف المتشابه في كل عزلة تدل على عدم وجود فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 0.05**

وعند المقارنة بين الذكور والاناث متماثلة العمر من حيث درجة تأثرها بالعزلات الفطرية (شكل 10) بينت النتائج عدم وجود فارق معنوي في نسبة الموت بين الجنسين عند العمر المبكر (يوم 1) لشدة تأثرهما وارتفاع نسبة الهلاك عدا عند المعاملة بالعزلة MARD 10 فان الفارق كان معنويا , اذ بلغت نسبة الموت في الذكور 100% وفي الاناث 90% وبقيمة احتمالية (P) 0.028 . في الاعمار اللاحقة كان الفارق في نسبة الموت معنويا بين الذكور والاناث عدا العزلة MARD54 فعند العمر 4 يوم بلغت نسبة هلاك الذكور 42.5% ونسبة هلاك الاناث 37.5% وبقيمة احتمالية (P) 0.082 وعند العمر 7 يوم بنسبة هلاك 12.5 % للذكور و 7.5 % للإناث وقيمة احتمالية (P) 0.08 .



شكل (10): تاثير العزلات الفطرية في ذكور واناث ذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* متماثلة الاعمار

لوحظ من خلال هذه النتائج أن هنالك تناسب عكسي بين عمر الحشرة وفاعلية الفطريات حيث تزداد نسبة الهلاك في الأعمار الفتية وتنخفض بتقدم العمر وهذا قد يعزى الى صلابة غلاف الحشرة بمرور الزمن وبالتالي فان الفطر يحتاج الى فترة زمنية أطول لأختراق جسم الحشرة والتطفل عليها . كما لوحظ من خلال هذه النتائج أن النسبة المئوية للهلاك تزداد بزيادة مدة التعرض وقد توافقت هذه النتيجة مع ما أشارت اليه احدى

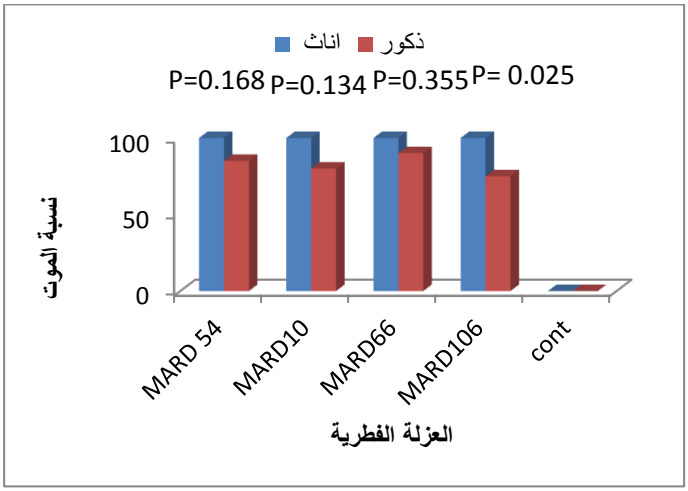
الدراسات التي أكدت على أن لمدة التعرض لعوامل المقاومة الأحيائية تأثيراً معنوياً في النسبة المئوية لهلاك يرقات العمر الثالث لحشرة *T.absoluta* ، إذ كانت أعلى نسبة مئوية للهلاك بلغت 66.67% قد تحققت بعد مدة تعرض ثمانية أيام بعد المعاملة مقارنة بمدة التعرض يومين بعد المعاملة والتي أعطت نسبة مئوية للهلاك مقدارها 21.21% وبهذا فان النسبة المئوية للهلاك في اليرقات تزداد كلما تقدم مدة التعرض (23).

وذكر (24) في دراسة أجراها لتحديد فاعلية كل من الفطر *Beaveria bassiaana* والفطر *M. anisopliae* ضد الحشرة *Nilaparvata lugens* Brown planthopper (Stål) أن البيوض بعمر يوم واحد فقط كانت أكثر حساسية للفطريات مقارنة بالبيوض التي بعمر يومين أو ثلاثة أيام .

أشارت دراسة مشابهة الى أن النسبة المئوية للهلاك في عذارى وبالغات حشرة ذبابة الفاكهة الأفريقية تنخفض بتقدم العمر عند معاملتها بالفطر *Beaveria bassiaana* والفطر *M. anisopliae* (25). وفي دراسة أجريت لتقويم فاعلية ثلاث عزلات للفطر Beauveria bassiana في السيطرة على أفة النخيل *Rhynchophorus ferrugineus* لوحظ أن الطور اليرقي كان أكثر حساسية للأصابة مقارنة بالبالغات كما أن البالغات أصبحت ناقلة للمرض على الرغم من قلة نسبة الهلاك فيها (26) .

انتقال الأبواغ بين الذباب المتزاوج

بينت الدراسة امكانية انتقال السبورات التي عوملت بها الاناث الى الذكور اثناء عملية التزاوج والتي تسببت بنسبة موت للذكور في نهاية التجربة بعد (6 ايام) بنسب لاتختلف معنويا عن نسب موت الاناث عدا تلك التي في العزلة الفطرية MARD106 وفقا لاختبار T , اذ بلغت نسبة هلاك الذكور فيها 75% مقابل 100% للاناث(شكل11).



شكل (11) تاثير انتقال السبورات الفطرية من الاناث المعاملة بالمعلق الفطري(10^7) الى الذكور غير المعاملة خلال عملية التزاوج لذبابة القرعيات *Dacus ciliatus*

أن ظاهرة الاحتكاك بين الأفراد في مجتمع الحشرات شائعة فهو قد يكون احتكاكا" عفويا" نتيجة الحركة والتجوال أو يكون نتيجة تبادل الغذاء بين الأفراد كما يحصل بين حشرة النمل وهذا ما يطلق عليه (Trophallaxis) أو يحصل نتيجة التزاوج بين الذكور والإناث أو يحصل عند ما يحص والاحتكاك لتحديد أفضل الذكور والإناث وهذه الظاهرة شائعة في الحشرات والحيوانات الأخرى ويطلق عليها Leks aggregation (27) (28).

ان انتقال الإصابة من الذكور المعاملة الى الأناث الغير معاملة وبالعكس يثبت أنتقال الكونيديا من الجنس المعامل والذي يطلق عليه الواهب الى الجنس الغير معامل والذي يطلق عليه المستقبل وأن أحد الركائز الأساسية لنجاح الفطريات كعوامل مكافحة أحيائية هو سرعة أنتشارها وأنتقالها بين الأفراد المعاملة والغير معاملة وهذه الحقيقة العلمية قد أشير اليها في دراسات كثيرة . فقد أشير الى أن ذكور الحشرة B. *cucurbitae* المعاملة بكونيديا الفطر M. anissopliae قد ساهمت بنقل الأصابة الى الأناث الغير معاملة من تلك الحشرة وسببت قتل للأناث بنسبة 83% ، وأن ذبابة واحدة معاملة تنقل المرض على الأقل الى ثلاث أفراد غير معاملة من الذباب قبل موتها كما أن عدد البيض المنتج من قبل الأناث المعاملة قليل مقارنة بالأناث السليمة (29) .أشارت دراسة مماثلة أخرى ان معاملة الاناث لثلاثة انواع من ذباب الفاكهة *Ceratitis capitata* و *Ceratitis* cosyra و *Ceratitis fasciventris* بكونيديا الفطر *Metarhizium anisopilae* وتزاوجها مع ذكور غير معاملة بالفطر سببت في اصابة وموت الذكور بعد التزاوج بنسبة 83 و 73 و72 % للانواع الثلاثة على التوالي . وعند معاملة الذكور بكونيديا نفس الفطر وتزاوجها مع اناث غير معاملة بلغت نسبة الموت في الإناث 100 و 85 و 93% على التوالي ، وأشارت الدراسة الى أن أنتقال العدوى لا يقتصر على الجنسين فيما بينهما (من الذكور الى الأناث وبالعكس) أثناء التزاوج ولكن سجل انتقال العدوى من الذكور الى الذكور أثناء التجمع لأختيار أفضل الذكور وهي ظاهرة سائدة في معظم الحيوانات وأشار أيضاً أن الذكر أو الأنثى المعاملة يمكن أن تنقل العدوى الى ثلاثة أفراد من الجنس المغير قبل هلاكها (30) .توافقت النتائج أيضاً مع ما أشار اليه (31) والذي أكد الانتقال الأفقي بين ذكور حشرة *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) المعاملة بالفطر *Metarhizium anisopliae* والأناث الغير معاملة وبالعكس كما أشار (9) الى أن الأنتشار الأفقي لعدوى الفطر *Metarhizium anisopliae* بين جنسي بعوض الأنوفلس لم يقتصر على أنتقاله من الأناث الى الذكور بل يمكن أن ينتشر من الذكور المعاملة الى الأناث الغير معاملة في المختبر وهذا يشير الى أمكانية أنتقال هذه العدوى بين الجنسين في الحقل .

تأثير العزلات الفطرية على اليرقات

بينت نتائج دراسة فاعلية العزلات الفطرية في نسبة هلاك الطور اليرقي الاخير قدرة امراضية عالية لجميع العزلات الفطرية على تحقيق الموت لجميع اليرقات المعاملة بتلك العزلات وعدم وصولها الى الدور العذري جدول (3) . الطور اليرقي الاخير احد المراحل المهمة في الاستهداف بالمكافحة بالممرضات الحشرية لامكانية حصول تماس مباشر معها الامر الذي يسهل ميكانيكية الاصابة واحداث الضرر.

جدول (3): تاثير العزلات الفطرية في يرقات ذبابة القرعيات *D. ciliates*

ت	اسم العزلة	الرمز	% لموت اليرقات
1	*Metarhizium anisopliae*	MARD106	100
2	*Beauveria bassiana*	MARD66	100
3	*Metarhizium anisopliae*	MARD10	100
4	*Beauveria bassiana*	MARD54	100

هذه النتائج تثبت حساسية الطور اليرقي لهذه الحشرة الى العزلات الفطرية وهذا قد يعود الى تركيبة الغلاف الخارجي لليرقات وقد سجلت فعالية هذه الفطريات كعوامل مكافحة أحيائية في العديد من الدراسات (3) (32).أشارت دراسة مشابهة أخرى الى أن عدد يرقات الذبابة *Cephus cinctus* في االحقول الغير معاملة كان كبير جدا مقارنة بتلك المعاملة بالفطريات *Beauveria bassiana* و *Metarhizium brunneum*

وأشار الى أن أستخدام هذه الفطريات يمكن أن يكون طريقة مكافحة أمينة وبديلة للمكافحة الكيمياوية (33) . أشارت (11) أن الطور اليرقي الرابع هو أكثر الأطوار تأثراً بالفطر *Beauveria bassiana* مقارنة بالأطوار اليرقية الأخرى والعذارى والبالغات أذ كانت النسبة المئوية للهلاك في هذا الطور هي 80.23% لحشرة ثاقبة الحبوب و66.66% لحشرة خنفساء الدقيق الصدئية . وأشار (24) الى أن الفطر *B.bassiana* أثر في نسبة هلاك الأطوار اليرقية المختلفة لهذه الحشرة والتي بلغت النسبة المئوية للهلاك فيها 77.78% ، 72.51% ، 76.74% و 78.92% لكل من الأعمار اليرقية الاول ، الثاني ، الثالث و الرابع على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة التي لم يظهر فيها اي هلاك لليرقات . كما ذكر (34) في دراسة لتقيم تأثيربعض عزلات الفطر *Beauveria bassiana* في الحشرة Rose sawfly (*Arge rosae*) ان جميع العزلات كانت فعالة في قتل اليرقات وأن النسبة المئوية للهلاك في اليرقات تزداد بزيادة التركيز .

المصادر

1-White, I. M. and Elson-Harris, M. M. (1994). Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics. CAB International. Oxon, UK. p. 601 .

2-Ekesi, S. ; Dimbi, S. and Maniania, N. K. (2007) . The role of entomopathogenic fungi in the integrated management of fruit flies Diptera: Tephritidae) with emphasis on species occurring in Africa. In: S . Ekesi and N.K. Maniania, eds. Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management. Research, SignPost, Kerala, India, pp. 239–274.

3-Hancock, D. L. (1989). Pest status, southern Africa. In A. S. Robinson & G. Hooper (Eds.), World crop pests. Fruit flies; their biology, natural enemies and control (pp. 5158). Amsterdam: Elsevier.

4-Moanas, A. M. and Abdul – Rassol, M. S. (1989). First record of *D. ciliatus* 20ew. As aspect of cucumber in Iraq Nat. His. Mus. of Cucumber in Iraq. Bull . Iraq Nat. His. Mus. 8 (2) : 173 – 174.

5-Saleem, M. A. ; Ahmad , M. ; Aslam , M. and Sayyed , A. H. (2008) Resistance to selected organochlorin, organophosphate, carbamate and pyrethroid, in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. J. Econ. Entomol. 101: 1667–1675.

6-Fan, Y. ; Fang, W. ; Guo, S. ; Pei, X. ; Zhang , Y. ; Xiao, Y. Li, D. ; Jin , K. ; Bidochka, M. J. and Pei, Y. (2007) . Increased insect virulence in *Beauveria bassiana* strains

overexpressing an engineered chitinase. Appl Environ Microbiol. 73(1):295-302.

7-Scholte , E. J. ; Njiro , B. N. ; Smaligange , R. C. ; Takken , W. and Knols , B.G. J. (2003a) . Infection of malaria(*Anopheles ganbiae*) and filariasis (*Culex quinquefasiatus*) vectors with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisoplia.* Malaria Journal, 2**:** 29**.**

8-Alves , S. B. ; Alves, L. F. A. ; Lopes ,R. B. ; Pereira ,R. M. and Vieira ,S. A.(2002) . Potential of some *Metarhizium anisopliae* isolates for control n of *Culex quinquefasciatus* (Dipt., Culicidae). J. Appl. Ent. 126: 504–509.

9-Scholte , E. j. ; Knols , B. ; Knols , B.G. J. and Takken , W. (2004) . Autodissemination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* amongst adults of the malaria vector *Anopheles gambiae s.s.* Malaria Journal , 3: 45.

10-Denny, J. B. and Donahue, K. M. (2007). Persistence of *Metarhizium anisopliae* incorporated into soilless potting media for control of the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* in container-grown ornamentals. Journal of Invertebrate Pathology 95 :146–150.

11-عبيد ، جنان محمد ؛ حسن ، كوثر محمد علي و علي ، أخلاص محمد .(2014). تقييم كفاءة الفطر *Beauveria bassiana*(Bals.)Vuill في السيطرة على الأطوار المختلفة لحشرتي خنفساء الطحين الصدئية *Tribolium castaneum* وثاقبة الحبوب الصغرى مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية ، العدد: 8 ، المجلد: 22 . *Rhizopertha daminica* Fab.

12-Qazzaz , F.O. ; Al-Masri , M. I. and Barakat , R. M.(2015) . Effectiveness of *Beauveria bassiana* native isolates in the biological control of the mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). Advances in Entomology 3: 44-55.

13-حنونيك ، سليم بولص ؛ محمد سعيد الجارحي ؛ منصور ابراهيم منصور ؛ سعيد البفام ؛ علي شامبية ؛ صلاح عبد الله و سعيد العواش(2000) . استخدم الفطر *B. bassiana* (Bals.) Vuill كعنصر هام في الادارة المتكاملة لحشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل.مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي.1,37-44.

14-Mwamburi, L. A. ; Laing , M. D. and Miller, R. M. (2010) . Laboratory Screening of Insecticidal Activities of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces lilacinus* Against Larval and Adult House Fly (*Musca domestica* L.). African Entomology 18(1) : 38-46.

15-Drew, R. A. and Hancock, D. L. (1994). Phylogeny of the tribe Dacini (Dacinae) based on morphological distributional and biological data In ; Aluja, M. and Norrbom, A. L. (Eds) Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 491-504.

16-Schroeder, W. J. ; Chambers, D. L. and Miyabara, R. Y. (1973) . Reproduction of melon fly ;Mating activity and compatibility of flies treated to function in sterile-release programs. Journal of Economic Entomology; 66(3) : 661-663.

17-Humber, R.A., 2012. Identification of entomopathogenic fungi. In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of Techniques in Insect Pathology, second ed. Academic Press,Inc., California, USA, pp. 151–187.

18-Lacey, J., 1997. Actinomycetes in Compost. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 4 : 113-121.

19-Wright, M.S., Raina, A.K. and Lax, A.R. (2005) . A strain of the fungus *Metarhizium anisopliae* for controlling subterranean Termites. J. Econ. Entomol., 2005. 98: 1451-1458.

20-السلامي ، فاطمة هاشم عباس .(2010). تأثير الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill في بعض الجوانب الحياتية للدعسوقة ذات النقاط الأحدى عشر

Coccinella undecimpunctata L. رسالة ماجستير – كلية العلوم للبنات – جامعة بابل.

21- الأمارة ، محمد صبري جبر . (2009) . تأثير بعض عوامل المكافحة الحيوية والكيمياوية في بعض أوجه حياتية خنفساء الحبوب الشعرية (الخابرا) *Tragoderma granarium* (Everts) Coleoptera(Dermestidae) . رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة البصرة

22-**الجبوري ، أميرة ناجي حسين .(2008).** تأثير بعض مترشحات الفطريات في مقاومة حشرتيّ منّ القطن *Aphis gossypii* Glover ومنّ الدفلة *Aphis nerii* Boyer (Homoptera:Aphididae) مختبرياً. مجلة جامعة كربلاء –المجلد السادس – العدد الثالث.

23-عزيز ، خضير عباس ؛ علوان ، صباح لطيف ؛ هلال ، سعدي محمد و كريم ، علي عبد الحسن .(2012). المكافحة الحيوية لعثة الطماطة الامريكية الجنوبية *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)) Lepidoptera: Gelechiidae (ملحق / المجلد (4) /مختبرياً. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية العدد (1) ص (195– 209).

24-Li , M. ; Lin , H. ; Li , S. ; Xu , A. and Feng , M. (2012) . Efficiency of entomopathogenic fungi in the control of eggs of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål (Homopera: Delphacidae). African Journal of Microbiology Research , 6(44) : 7162-7167.

25-Ekesi, S. ; Maniania, N. K. and Lux, S. A.(2002). Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. -- Biocontrol Science and Technology 12: 7-17.

26-Lo Verde , G.; Torta, L. ; Mondello, V. ; Caldarella, C. G. ; Burruano,S. and Caleca, V. (2015) . Pathogenicity bioassays of isolates of *Beauveria bassiana* on *Rhynchophorus ferrugineus*. Pest Manag. Sci. 71(2) : 323-328.

27-Andreadis, T. G.(1987). Transmission. In Epizootiology of insect diseases. Edited by Fuxa JR, Tanada Y. Wiley, New York .

28-Tumuhaise, V., Ekesi , S., Mohamed ,S.A., Ndegwa , P.N.' Irungu L.W., Srinivasan , R. and Maniania , N. K. (2015). Pathogenicity and performance of two candidate isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in four liquid culture media for the management of the legume pod borer *Marucavitrata* (Lepidoptera : Crambidae) International Journal of Tropical Insect Science 35 (1) : 34-47.

29-Sookar,P. (2013). Study of Two Potential Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for the Biocontrol of Fruit Flies (Diptera : Tephritidae) of Economic Importance in Mauritius. PhD Thesis, University of Mauritius, Faculty of Science.

30-Dimbi , S. ; Maniania , N. K. and Ekesi , S. (2013). Horizontal transmission of *metarhizium anisopliae* in fruit flies and effect of fungal infection on egg laying and fertility. Insects, 4 : 206-216.

31-Quesada-Moraga , E. ; Martin-Carballo , I. ; Garrido-Jurado, I. and Santiago-lvarez, C. (2008) .Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Biological Control 47: 115–124.

32-Mochi, D. A. ; Monteiro, A. C. ; De-Bortoli, S. A. ; Doria , H.O.S. and Barbosa, J.C. (2006) . Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) in soil

with different pesticides. Neotropical Entomology, 35: 382-389.

33-Tangtrakulwanich, K. ; Reddy, G.V . P. ; Wu, S. ; Miller, J. H. ; Ophus , V. L. and Prewett, **J**. **(2014) .** Efficacy of entomopathogenic fungi and nematodes, and low risk insecticides against wheat stem sawfly, *cephus cinctus* (hymenoptera: cephidae). Journal of Agricultural Science;. 6(5) : 1 – 9 .

34-Khosravi , R. ; Sendi, J. J. ; Zibaee , A. and Shokrgozar , M. A. (2015) . Virulence of four *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Asc., Hypocreales) isolates on rose sawfly, *Arge rosae* under laboratory condition. Journal of King Saud University - Science 27(1) : 49 – 53.