الفعالية الحيوية لراشح الفطر *Metarihizum anisopliae* في المكافحة الإحيائية لحشرة خنفساء الحبوب المنشارية *Oryzaephilus surinamensis* L.) على الرز (Coleoptera : Silvanidae

احمد سعيد محمد — **كلية الزراعة/جامعة القاسم**
صباح لطيف علوان — **كلية الزراعة/جامعة الكوفة**
سعدي محمد هلال — **كلية العلوم للبنات/ جامعة بابل**

الخلاصة :

أجريت الدراسة الحالية لبيان مدى تأثير راشح الفطر *Metarihizum anisopliae* في بعض معايير نمو حشرة L *Oryzaephilus surinamensis*.استخدم تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء(HPLC) في تحليل مكونات راشح الفطر أظهرت نتائج الدراسة احتواء راشح الفطر على بعض المركبات الفعالة السامة مثل Destruxin B وDestruxin C وSwainsonine وبتركيز 1.48 و0.69 و1.74 µg/ml على التوالي.
كما أظهرت الدراسة وجود علاقة طردية بين تراكيز الراشح ونسب هلاك الأدوار المختلفة للحشرة وقد كانت أعلى نسبة هلاك لبيض و يرقات الطور الثاني و يرقات الطور الرابع وعذارى و بالغات الحشرة 46.04 و 50.77 و 46.92 و 35.22 و 37.22 % على التوالي عند التركيز 100% بالمقارنة مع 23.85 و 0.00 و 0.00 و 0.00 و 0.00% على التوالي في معاملة السيطرة.

The efficacy of the fungus filtrate *Metarhizium anisopliae* in the biological control of insect sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* L. (Silvanidae: Coleoptera)on Rice

Ahmed S. Mohmed **Sabah L. Alwan** **Saadi M. Hilal**

Abstract:

The present study was carried to reveal the efficiency of filtrate of *Metarihizum anisopliae* on some biological aspects of saw toothed grain beetle *Oryzaephilitis suriuamensis*. HPLC technique was also used to analyze the component of the filtrate. The results showed that the filtrate contains some effective toxins such as Destruxin B, Destruxin C and Swainsonine at concentration 1.48,0.69 and 1.74 ug/ml respectively.
The results also showed that There was a positive relationship between the increasing rates concentrations and the percentage of different stages of the insects being .The highest percentage at 100% concentration which reached 46.04, 50.77, 46.92, 35.22 and37.22% for egg, second larval instar, fourth larval instar, pupa and adult insect respectively as compared
with 23.85, 0.00,0.00,0.00 and 0.00% in the control treatment respectively.

المقدمة :

يعد الرز *Oryza sativa* من محاصيل الحبوب الرئيسة في العالم ،ويحتل المرتبة الثانية بعد محصول القمح من حيث الأهمية يتعرض هذا المحصول إلى العديد من الآفات الحشرية في المخزن وهي احد أهم المشاكل التي تواجه تخزين

البحث مستل من اطروحة دكتوراه الباحث الاول

الحبوب مسببة خسائر كبيرة في الكمية ورداءة في النوعية الغذائية ومن أهم الآفات الحشرية ألمخزنية حشرة الخنفساء ذات الصدر المنشاري *Oryzaephilitis suriuamensis* من عائلة Silvanidae ورتبة Coleoptera التي تهاجم المواد المخزونة في مناطق شاسعة من العالم مسببة أضرار ميكانيكية كبيره لأنواع مختلفة من الحبوب ومنها حبوب الرز (Beckel واخرون،2007).

إن استعمال المبيدات الكيميائية أدى إلى ظهور سلالات مقاومه وقتل للكائنات غير المستهدفة وحصول حالات تسمم للعاملين في مجال المكافحة (Salunkeوآخرون،2005)، بالإضافة إلى التلوث البيئي والفعل التراكمي السام على المواد الغذائية (Tapondjou وآخرون،2002).مما حدى بالعلماء والباحثين بالدعوة لاستعمال الأساليب الحيوية والعودة إلى الطبيعة من خلال الاستفادة من الكائنات الحية التي لا تضر بصحة الإنسان و البيئة و ذات التخصص العالي في السيطرة على أفات معينه (Arthur،1996) وتعد الفطريات من الكائنات الحية الدقيقة ذات الكفاءة الجيدة في المكافحة الاحيائية (الجميلي وآخرون، 2007) ومن بين هذه الفطريات فطر *M. anisopliae* الذي ينمو طبيعيا في ترب إنحاء العالم كافه ويصيب ما يقارب 200 نوع من الحشرات مثل الارضة والجراد مسببا مرض المسكاردين الأخضر green muscardin(Skrobek وآخرون ،2008)، ينتج عن العمليات الأيضية الثانوية للفطر العديد من السموم الفطرية الفعالة وتسمى Destruxin ويرمز لها اختصارا Dxs حيث ان هناك 38 مجموعه منه تقسم الى خمسة مجاميع من A الى E (Hu واخرون،2006) , كما يُنتج الفطر سموماً أخرى مثل Cytochalasins و swainsonins (Patrickوآخرون، 1995).تعمل هذه السموم كمبيدات حشرية كونها تؤدي إلى إضعاف المضيف والدفاعات المناعية له وتتلف الجهاز العضلي و أنابيب مالبيجي مؤديه إلى صعوبات في التغذية والتنقل (Pal. وآخرون،2007).

اجري هذا البحث بهدف تشخيص بعض المواد الموجودة في راشح الفطر *M.anisopliae* و دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الراشح في بعض جوانب الأداء الحياتي لحشرة خنفساء الحبوب المنشارية *O. surinamesis* .

المواد وطرائق العمل :

جمع وتربية الحشرة:

جمعت بالغات حشرة خنفساء الحبوب المنشارية من تمور مخزونه في احد المنازل في مدينة الحلة وتم تشخيصها من قبل الأستاذ الدكتور محمد صالح عبد الرسول متحف التاريخ الطبيعي جامعة بغداد على إنها *O. surinamensis* L، وربيت وكثرت في قناني زجاجيه ذات طول 13 سم وقطر 7 سم تحتوي كميه من بذور الرز صنف ياسمين نقل اليها 30 فرد من بالغات الحشرات وتم إغلاق فتحة القنينة بواسطة قطعه من قماش ألتول لغرض التهوية وربطت هذه القطعة بأحكام بواسطة رباط مطاطي ووضعت القناني في حاضنة ذات درجة حرارة 30 ±2 مْ ورطوبة نسبية 65 ± 5 % وربيت الحشرة لعدة أجيال قبل أن يتم أجراء التجارب اللاحقة عليها، وتم تجُديد الغذاء كلما وجدت ضرورة لذلك(Mohamed وآخرون،2012).

تنمية واكثار فطر *Metarihizum anisopliae*

تم الحصول على عزلة الفطر من الدكتور هادي مهدي عبود مدير دائرة البحوث الزراعية/وزارة العلوم والتكنولوجيا الكائنة في محافظة بغداد في الزعفرانية ونمي الفطر في أطباق حاويه على الوسط ألزرعي Potato Dextrose Agerالجاهز. أما راشح الفطر فقد حضر باستعمال وسط البطاطا الدكستروز السائل Potato Dextrose Brouth وأضيف له المضاد الحيوي Tetracycline بمقدار 250ملغم / لتر ومن ثم وزع الراشح في قناني زجاجية سعة 250 مل بمعدل 150 مل/قنينة مثقبة من الأسفل بوساطة مثقب كهربائي ومسدودة بسداد مطاطي لتسهيل دخول المحاقن الطبية وسحب الراشح منها وحسب الكمية المطلوبة دون سحب الغزل الفطري الذي يكون عادة على سطح السائل مما يسهل عملية الترشيح والحصول على الراشح بأسرع وقت دون تلوث الراشح المتبقي في القناني الأصلية (كمال الدين،2008) ، عقمت بجهاز المؤصدة بدرجة 121 م^{o} وضغط15 باوند/إنج لمدة 20 دقيقة، لقحت كل قنينه بثلاثة أقراص قطر 5ملم بثاقب الفلين من حافة

المستعمرات الفطرية المنقاة في وسط زرعي PDA بعمر سبعة أيام، حُضنت الدوارق تحت درجة حرارة 25±2 مْ اخذين بنظر الاعتبار رج الدوارق كل 3-4 أيام لتوزيع النمو الفطري ، وبعد 28 يوماً رشح من خلال ورق الترشيح Whatman No. 1 لمرتين وأعيد الترشيح باستعمال المرشح الدقيقMillpore . أستعمل الراشح في التجارب اللاحقة.

التحري عن قابلية الفطر *M. anisopliae* في إنتاجه السموم وتشخيص تلك السموم وتقديرها باستعمال جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)

تم تحليل 2مل من الراشح الفطري من قبل شركة الحقول البيضاء/بغداد حيث قامت باستخلاص السموم الفطرية الموجودة في الراشح الفطري باستخدام المذيب المكون من ethylacetate:methanol(80:20,v/v) وحسب طريقة Cristea واخرون (2003)، ثم تم اجراء تحليل العينة بحقن20 µL بتركيز µg/ml2 في جهاز كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء (HPLC) نوع (Shimadzu) موديل (AV - LC10) المتكون من مضختين موديل (LC-10A)،و عمود الفصل ذو أبعاد ID 50 mm x 4.6 mm والمعبأ بمادة C-8 phenomenex ذات الحجم µm3 ، فيما بلغ معدل الجريان flow rate 1.0 ml/min، اما الطور المتحرك المكون من المحاليل 0.01M phosphate buffer pH 6.2:acetonitrile (75:25 V/V) وتمت عملية الفصل في درجة حرارة $30C^{o}$، والكشف عن الاستجابات الكروموتوغرافية تم على طول موجي 280 نانومتر باستعمال كاشف الأشعة فوق البنفسجية Spectrophotometer (SPD-10A) detector. تم تعيين زمن الاحتجاز Retention time للمركبات المفصولة ومقارنتها مع زمن الاحتجاز للمركبات القياسية والتي تم حقنها بالجهاز بنفس ظروف الفصل ومن ثم تم حساب تركيز المواد الفعالة التي تحتويها سموم الفطر من خلال استخدام القانون التالي :-

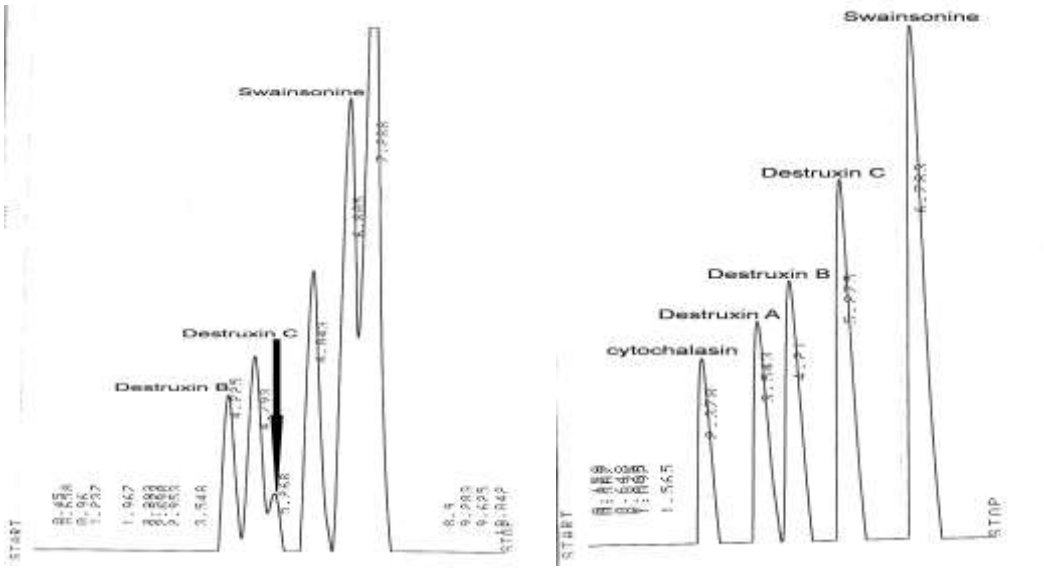
تركيز المادة الفعالة في سموم الفطر مايكروغرام/مل= مساحة العينة /مساحة المادة القياسية × تركيز المادة القياسية

تقييم الكفاءة السمية لراشح الفطر *M. anisopliae* في معايير الأداء الحياتي لحشرة خنفساء الحبوب المنشاريةL *O. surinamensis*

تم تحضير عدة تراكيز من الراشح الفطري 75,50,25، 100% وذلك بسحب كمية من الراشح بواسطة محقنه طبية معقمة و اكماله بإضافة الماء المقطر المعقم لتحضير التراكيز السابقة وكانت معاملة المقارنة بالماء المقطرفقط و استعملت قناني بلاستيكيه ذات قطر5سم وارتفاع7 وضعت في كل منها ورقة ترشيح معقمة لغرض سحب الرطوبة الزائدة ، وضع في كل مكرر 10 من بيض ويرقات الطور الثاني والرابع والعذارى والبالغات و بواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة ورشت المكررات بتراكيز الراشح الفطري بمقدار1مل/مكرر باستعمال محقنه طبية معقمة ثم وضع 30 غم من بذور الرز لغرض التغذية ،أحيطت القناني قطعه من قماش ألتول لغرض التهوية ولضمان عدم خروج اليرقات بعد الفقس وربطت هذه القطعة بأحكام بواسطة رباط مطاطي ووضعت القناني في حاضنة ذات درجة حرارة 30 ±2 مْ ورطوبة نسبية 65 ± 5 %. سجلت نسب هلاك البيض و مدة حضانته ونسب هلاك اليرقات وفترة نموها ونسبة هلاك الطور العذري وفترة نموه ونسبة بزوغ البالغات الطبيعية والمشوهة و بصورة يومية.

النتائج والمناقشة :

بينت نتائج التحليل بجهاز HPLC وجود بعض المركبات الفعاله السامة في راشح الفطر *M.anisopliae* والتي يتميز الفطر في افرازها وهي Cytochalasin و Destruxin A و Destruxin B و Destruxin C و Swainsonine كما في الشكل 1 ، حيث ان المركبين Cytochalasin وDestruxin A على الرغم من تواجدهما إلا إن كميتهما قليله ودون المستوى التشخيصي الكمي للجهاز وطريقة الكروموتوغرافيا المستخدمة في التشخيص أما Destruxin B وDestruxin C و Swainsonine فبلغت تراكيزهم 1.48 و0.69 و1.74 µg/ml على التوالي والموضح في الجدول 1



شكل(1) كروماتوغرام السموم الفطرية التي تم فصلها من راشح الفطر*M. anisopliae* باستخدام تقنيةHPLC

جدول (1) انواع وتراكيز السموم الفطرية التي ينتجها الفطر*M.anisopliae* باستخدام تقنية HPLC

التسلسل	اسم المركب	زمن الاحتجاز	المساحة	تركيز المادة الفعالة µg/ml
1	Destruxin B	4.22	101240	1.48
2	Destruxin C	5.26	60995	0.69
3	Swainsonine	6.80	200550	1.74

ان نتائج الدراسة الحالية تتفق مع ما بينه Liu واخرون (2004) حيث اشار الى ان مجموعة Destruxins هي من النواتج الايضيه لفطر المقاومه الحيوية ضد الحشرات*M.anisopliae* وان تاثيره يكون متعدد على الحشرات وانه يوجد 35 نوع منه والتي منها DA. كما وتتفق الدراسه معSingh وKaur (2014) اللذين اكد ان مادة Swainsonine هي احد النواتج الايضية الثانويه لفطر *M.anisopliae* .

كما اظهرت نتائج تاثير تراكيز مختلفه من راشح الفطر*M.anisopliae* في بيض الخنفساء ذات الصدر المنشاري ووجود فروق معنوية بين معاملات تراكيز الراشح50و75و100 بالمقارنة مع معاملة السيطرة حيث بلغت نسبة هلاك البيض بمعاملات الراشح هي29.37 و 34.33و41.51 و46.04 على التوالي بالمقارنة مع 23.85 في معاملة السيطرة، في حين بلغت مدة طور البيض بمعاملات الراشح4.0 و4.3 و4.3 و 4.6 يوم بالمقارنة مع 3.6 في معاملة السيطرة (جدول 2).

جدول (2) تأثير تراكيز مختلفة من راشح الفطر*M.anisopliae* في بيض خنفساء ذات الصدر المنشاري . *O. surinamensis* بعمر 24 ساعة و تطوره

التراكيز	% قتل البيض	مدة حضانة البيض/يوم	% قتل الاطوار اليرقية	مدة الاطوار اليرقية/يوم	%قتل العذارى	مدة الطور العذري/يوم	% بزوغ البالغات الطبيعية	% بزوغ البالغات المشوهة
0	23.85	3.6	0.00	22.6	0.00	5.6	66.15	0.0
25	29.37	4.0	23.85	23.6	21.1	6.3	21.15	26.6
50	34.33	4.3	26.56	24.00	23.9	6.6	21.15	12.3
75	41.51	4.3	28.78	24.6	23.9	8.0	0.00	12.3
100	46.04	4.6	28.78	25.3	23.9	—	—	—
l.s.d	6.0	0.9	5.8	1.4	7.6	0.8	6.6	12.2

القيم التي تمثل نسب الهلاك وبزوغ البالغات محولة زاويا

أما الجدول رقم(3) فيبين التاثير المعنوي لتراكيز راشح الفطر في يرقات الطور الثاني للحشرة بالمقارنة مع معاملة السيطرة حيث بلغت نسبة هلاك يرقات الطور الثاني المعاملة بمعاملات الراشح 25و50و75و100 هي37.22 و41.15 و 46.92و50.77على التوالي بالمقارنة مع 0.00 في في معاملة السيطرة، أما مدة الطور اليرقي الثاني فبلغت في معاملات الراشح6.33 و6.67 و6.67 و7.33 بالمقارنة مع 5.33 في معاملة السيطرة.

جدول (3) تأثير تراكيز مختلفه من راشح الفطر*M.anisopliae* في يرقات الطور الثاني للخنفساء ذات الصدر المنشاري *O.surinamensis* بعمر 24 ساعة و تطورها .

التراكيز	%قتل يرقات الطور الثاني	مدة الطور اليرقي الثاني/يوم	%قتل يرقات الطور الثالث	مدة الطور اليرقي الثالث/ يوم	%قتل يرقات الطور الرابع	مدة الطور اليرقي الرابع /يوم	%قتل العذارى	مدة الطور العذري/ يوم	نسبة ظهور البالغات الطبيعية	نسبة ظهور البالغات المشوهه
0	0.00	5.33	0.00	5.6	0.00	7.3	0.00	5.6	90.00	0.0
25	37.22	6.33	23.85	6.3	18.44	8.0	21.15	6.3	21.15	18.4
50	41.15	6.67	28.78	6.6	18.44	8.3	18.44	7.0	18.44	6.1
75	46.92	6.67	28.78	7.3	21.15	8.6	18.44	—	—	—
100	50.77	7.33	30.99	7.6	21.15	—	—	—	—	—
l.s.d	4.7	1.0	6.6	1.3	5.3	0.8	3.8	1.0	3.8	8.6

القيم التي تمثل نسب الهلاك وبزوغ البالغات محولة زاويا

ومن الجدول رقم (4) يلاحظ وجود فروق معنوية بين معاملات راشح الفطر بالمقارنة مع معاملة السيطرة حيث بلغت نسبة هلاك يرقات الطور الرابع المعاملة بتراكيز راشح الفطر 25و50و75و100 هي33.00 و 37.22و43.08و46.92على التوالي بالمقارنة مع 0.00 في المقارنة، في حين بلغت مدة الطور اليرقي الرابع المعامل بتراكيز راشح الفطر هي8.00 و 8.33و8.67و9.33يوم على التوالي بالمقارنة مع 7.33يوم في معاملة السيطرة

جدول (4) تأثير تراكيز مختلفه من راشح الفطر*M.anisopliae* في يرقات الطور الرابع للخنفساء ذات الصدر المنشاري *O.surinamensis* بعمر 24 ساعة و تطورها

التراكيز	%قتل يرقات الطور الرابع	مدة الطور اليرقي الرابع(يوم)	%قتل العذارى	مدة الطور العذري/يوم	% ظهور البالغات الطبيعية	% ظهور البالغات المشوهة
0	0.00	7.33	0.00	5.6	90.00	0.0
25	33.00	8.00	23.85	6.3	26.6	35.0
50	37.22	8.33	26.56	7.00	26.6	28.8
75	43.08	8.67	26.56	7.6	21.1	26.6
100	46.92	9.33	28.78	8.3	12.3	23.9
l.s.d	7.0	0.9	4.9	0.9	9.4	7.7

القيم التي تمثل نسب الهلاك وبزوغ البالغات محولة زاويا

أظهرت نتائج الجدول (5) وجود فروق معنوية بين معاملات تراكيز الراشح بالمقارنة مع معاملة السيطرة حيث بلغت نسبة هلاك الدور العذري المعاملة بتراكيز راشح الفطر 25و50و75و100 هي23.85و26.56و30.99و35.22على التوالي بالمقارنة مع 0.00 في المقارنة، وبلغت مدة الدور العذري المعامل بتراكيز راشح الفطر هي6.3و 7.00و7.6 و 8.6يوم على التوالي بالمقارنة مع 5.6 يوم في معاملة السيطرة.

جدول (5) تأثير تراكيز مختلفه من راشح الفطر*M.anisopliae* في الدور العذري للخنفساء ذات الصدر المنشاري *O.surinamensis* بعمر 24 ساعة و تطورها

التراكيز	%قتل العذارى	مدة الطور العذري/يوم	% ظهور البالغات الطبيعية	% ظهور البالغات المشوهه
0	0.00	5.6	90.00	0.00
25	23.85	6.3	37.22	43.08
50	26.56	7.00	35.22	43.08
75	30.99	7.6	35.22	39.23
100	35.22	8.6	30.99	37.22
l.s.d	5.6	0.9	5.8	4.7

القيم التي تمثل نسب الهلاك وبزوغ البالغات محولة زاويا

فيما بينت نتائج الجدول (6) وجود فروق معنوية بين معاملات تراكيز مختلفه من راشح الفطر 25و50و75و100 بالمقارنه مع معاملة السيطرة حيث بلغت نسبة هلاك دور البالغه بمعاملات هي28.78 و30.99و33.21و37.22 على التوالي بالمقارنه مع 0.00 في معاملة السيطرة.

جدول (6) تأثير تراكيز مختلفه من راشح الفطر*M.anisopliae* في الدور البالغ للخنفساء ذات الصدر المنشاري *O.surinamensis*

التراكيز	نسبة هلاك البالغات
0	**0.00**
25	**28.78**
50	**30.99**
75	**33.21**
100	**37.22**
l.s.d	**5.2**

القيم التي تمثل نسب الهلاك محولة زاويا

تشير نتائج الدراسة الحالية الى التأثير المعنوي لراشح الفطر *M.anisopliae* على الأدوار المختلفة لحشرة خنفساء الحبوب المنشارية *O.surinamensis* ويرجع تاثير الراشح إلى وجود المواد السامةmycotoxin . حيث جاءت هذه النتيجة مطابقة لما أشار اليه Gottwald, وTedders (1984) من أن معظم الفطريات المتطفلة والتى تعود الى الفطريات الناقصة قادرة على أنتاج مواد سامة mycotoxin تتراكم فى خلايا الأفة مما يؤدى الى انفجارها داخل جسم العائل وتدمير أنسجته الداخلية . وأوضح Male و آخرون (2009) ان الفطر *M. anisopliae* ينتج مركبات ايضية ثانوية داخل جسم العائل لا سيما عند غزوه للسائل الدمويHaemocoel ومن اكثر هذه السموم هي الدستروكسينات(Destruxins (DTXs ، وبين Samuels (1998) ان Destruxins تعمل على تثبيط جهاز المناعه من خلال احداث تغييرات اساسية في الخصائص المظهريه والفسلجيه لبعض الخلايا مثل خلايا Plasmatocytes التي تؤثر في عملية الالتهام Phagocytosis والكبسلة Encapsulation، و انها اثرت كذلك في يرقات الطور المتأخر للنوع *Manduca sexta* من حيث التأثير في Ca^{++} خارج الخلايا والتي تكون مؤثرة على عمل عضلات الحشرة و تثبيطها لعمل أنزيم ATPase الذي يؤدي الى الخلل في ضربات قلب الحشرة بتاثيره في PH الخلايا العضلية للقلب ، حيث قام Golo واخرون (2011)بحقن يرقاتGalleria mellonella بجرع منخفضه من Destruxins حيث ادى ذلك الى حدوث شلل في عضلات القلب مؤديا الى حدوث تسرع في ضربات القلب كاستجابه لتغير الPH داخل الخلايا القلبيه مؤديا بالنهاية الى الموت. وان تفسير موت معظم اليرقات أو العذارى المصابة أثناء عملية الإنسلاخ أو حدوث تأخر في عملية النمو والتطور يعود الى تأثير الفطر في الفعاليات الحيوية التي تحدث أثناء طور العذراء مما يؤدي الى عدم إكتمال بعض أجزاء جسمها وتشوهها(الدركزلي ، 1982).

المصادر :

الجميلي ،سامي عبد الرضا؛هدى جميل الخلخالي؛بسعاد عبد زيد عبود. 2007.تصنيع مستحضر حيوي من لقاح الفطر *Beauveria bassiana* لمكافحة حشرة من الخوخ الاخضر *Myzus persicae*.مجلة جامعة كربلاء العلميه. 5. (3).

الدركزلي ، ثابت عبد المنعم . 1982. علم فسلجة الحشرات وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل . صفحة 464 .

كمال الدين، زاهد نوري علي. 2008. تأثير التداخل بين الفطر *Trichoderma harzianum* Rifai والفطر*Aspergillus niger* Van Tieghem في حماية نباتات الطماطة من الاصابة بالفطر *Fusariumoxysporum f.sp.lycopersici*. رسالة ماجستير- كلية الزراعة – جامعة الكوفة.

Arthur ,F.H. ,1996. Grain protectants : Current status and .302Prospects for the Future

.J. Stored prod .Res 32: 293-302.

Beckel, Helenara dos Santos; Irineu Lorini; Sonia M. N. Lazzari.2007. Rearing method of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) on various wheat grain granulometry. Rev. Bras. entomol. 51 (4)

Cristea, D.; Isabelle B. and Ge´rard V..2003. Identification and quantitative HPLC analysis of the main flavonoids present in weld (Reseda luteola L). Dyes andPigments57:267-272.

Golo P. S., I. C. Angelo, M. G. Camargo, W. M. Perinotto, and V. R. E. Bittencourt.2011. Effect of Destruxin A on Rhipicephalus *microplus* tick (Acari: Ixodidae), Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal, 20(4): 338-341.

Gottwald, T.R. and Tedders, W.L. 1984 . Conlonization, transmission and longevity

of *Beauveria bassiana* and Metarhizium anisopliae (Deutromycotina: Hyphomycetes)

on pecan weevil Larvae (Coleoptera :Curculionidae) in the soil.Environ. Entomo l.13: 557-560.

Hu, Q.B., Ren, S.X., Wu, J.H., Chang, J.M., Musa, P.D., 2006. Investigation of destruxin A and B from 80 *Metarhizium* strains in China, and the optimization of

cultural conditions for the strain MaQ10. Toxicon 48,

491-498.

Liu, C.; Shyuan-Shuenn H. andYew-MinT.2004. Analysis of Destruxins Produced from *Metarhizium anisopliae* by Capillary Electrophoresis. Journal of Chromatographic Science, 42.: 141-144.

Male K. B., Y. M. Tzeng, J. Montes, L. M. Liu, W. C. Liao, A. Kamen, and H. T. Loung. 2009. Probing inhibitoryeffects of destruxins from *Metarhizium anisopliae* using insect cell based impedance spectroscopy: inhibition vs chemical structure, J. Royal Soc. Chemist, 134: 1447-1452.

Mohamed Y., Sayeda S. Ahmed, Mohsen A. El-Mohandes, Mahrous A. Gharib.2012. Susceptibility of different life stages of saw- toothed grain beetle Oryzaephilus surinamensis (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to modified atmospheres enriched

with carbon dioxide. Journal of Stored Products Research 48:

46-51 .

Pal, S., S.t Leger, R.J., Wu, L.P., 2007. Fungal peptide destruxin A plays a specific role in suppressing the innate immune response in Drosophila melanogaster. J. Biol. Chem. 282: 8969_8977.

Patrick, M. S., Adlard , M. W. and Keshavarz, T. 1995 .

Swainsonine production in fed-batch fermentations of*Metarhizium anisopliae* . Biotechnol. Letters 17:433- 438.

anisopliae in insects and factors influencing their degradation. BioControl.53:361–373.

Singh,Dand KaurG.2014. Production, HPLC analysis, and in situ apoptotic activities of swainsonine toward lepidopteran, Sf-21 cellline.journal BiotechnologyProgress. 30(5)1196-2204.

Tapondjou, LA., Adler, C., Bouda, H. and Fontem, DA. 2002. Efficacy of powder and

essential oil from *Chenopodium*

ambrosioides leaves as post-harvest grian protectantagainst six-stored product beetles. J. of Stored ProductResearch. 38:395-402.

Salunke B.K., Kotkar H.M., Mendki P.S., Upasani S.M., Maheshwari V.L. 2005. Effi cacy of fl avonoids in controlling *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae),

a post-harvest pest of grain legumes. Crop Prot. 24: 888-893.

Samuels R. 1998. 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, 27(2): 229-235.

Skrobek, A, S, Farooq A. and Butt, Tariq M. 2008. Destruxinproduction by the entomogenous fungus *Metarhizium*