

المكافحة الإحيائية لحشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* باستخدام

بعض الفطريات الممرضة للحشرات

عادل طه أمين إسماعيل عباس جديع

الملخص

أجريت هذه الدراسة لتقويم كفاءة عزلات من الفطريات الممرضة للحشرات وهي *Beauveria bassiana*، *Paecilomyces sp* و *verticillium lecanii* كعوامل للمكافحة الإحيائية لحشرة الأرضة تحت ظروف المختبر والحقل. أظهرت النتائج المختبرية والحقلية تفوقا معنوياً لجميع الفطريات المدروسة في النسب المئوية للموتل مقارنة بمعاملة السيطرة وتفوقت العزلتان Bb1 و Bb6 من الفطر *B. bassiana* على بقية العزلات إذ حققنا أعلى نسبة قتل 100% في التجربة المختبرية والحقلية وذلك بعد 10 و 30 يوماً من المعاملة وعلى التوالي.

المقدمة

تعد حشرة الأرضة (*microcerotermes diversus* (termitidae من أقوى أعداء الإنسان لمهاجمتها الأخشاب والمباني والمحاصيل الزراعية والمواد المخزونة (3). تتميز مستعمراتها بنظام الطبقات (الشغالات، الجنود والتكاثرية) وتكون معيشتها إما في التربة أو في الأخشاب (2). تعد طريقة المكافحة الكيميائية بالمبيدات الحشرية هي الطريقة التقليدية لمكافحتها والمتبعة حتى الآن (18-24)، ونتيجة للتطور العلمي في مجال المكافحة الإحيائية والقلق العام من مخاطر استعمال المبيدات الكيميائية وكلفتها العالية قد دفع العديد من الباحثين في مختلف دول العالم إلى البحث عن إحياء دقيقة لمكافحتها إحيائياً ومنها الفطريات، إذ تم عزل 93 عزلة للفطر *Metarhizium anisopliae* من حشرة الأرضة وكانت فعالة أمراضاً ضد أفراد الحشرة نفسها (20). كما تبين من *Espero* (13) أن الفطر *Aspergillus flavus* كان أكثر كفاءة في مكافحة الحشرة من الفطر *Entomophthora sp* إذ بلغت النسبة المئوية للموتل 98% بعد 2.5 يوم من المعاملة. كما استخدم *Haenel* (17) معلق ابواغ الفطر *Metarhizium. anisopliae* بطريقة حقن إنفاق الحشرة مما أدى إلى اختفاء الإصابة ولمدة طويلة. ولكون الفطر *Beauveria bassiana* له القدرة على إصابة أكثر من 200 نوع من الحشرات وإنتاجه بشكل تجاري (12، 14، 15) كما أن الفطرين *Verticillium lecanii* و *paecilomyces spp.* قد بدأ الاهتمام العالمي لإنتاجها بشكل تجاري (11، 19) وعدم توفر دراسات محلية عن استعمالها في مكافحة حشرة الأرضة فقد هدفت الدراسة إلى تقويم كفاءتها الأمراض في المكافحة الإحيائية لهذه الحشرة مختبرياً وحقلياً.

المواد وطرائق البحث

تحضير اللقاحات الفطرية

تم الحصول على جميع الفطريات من مختبر قسم إنتاج المبيدات الإحيائية / وزارة العلوم والتكنولوجيا وهي خمس عزلات للفطر *B. bassiana* وهي Bb1 (معزولة من حشرة السونة - شمال العراق) Bb2 (صينية مستوردة)، Bb4 (معزولة من دودة ثمار التفاح - الراشدية - بغداد)، Bb5 (أردنية مستوردة) و Bb6 (معزولة من التربة - منطقة اللج - واسط).

أما عزلتا الفطرين *V. lecanii* و *Paecilomyces sp* فقد عزلنا من حشرة الذبابة البيضاء. نشطت وكثرت العزلات على الوسط الزراعي (P.S.A.) Potato Sucrose Agar الصلب وبعد حضنة بدرجة حرارة وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، العراق.

25م لمدة 7 أيام أصبحت جاهزة للاستعمال (1). حضر العالق البوغي بإضافة 10مل من الماء المقطر المعقم لكل طبق ثم فصلت الابواغ باتباع الناقل الزجاجي المعقم (Loop) واخذ التخفيف 10×3 بوغ/مل باستعمال طريقة التخفيف والعد باستخدام شريحة Haemocytometer واستعمل في الدراسة المختبرية والحقلية (10).

تقويم كفاءة الفطريات مختبرياً

نفذت ثلاث تجارب مستقلة وبالتصميم العشوائي الكامل (CRD) على الطبقات الثلاثة للحشرة وشملت كل تجربة 7 معاملات فطرية مع معاملة السيطرة (بدون أي فطر) حضرت إطباق بلاستيكية قطر 9ملم، ثقت الأغذية بثقوب صغيرة ثم أضيف إليها خليط من تربة معقمة مع نشارة الحشب (10: 1 حجم: حجم) ثم وضع في كل طبق 20 حشرة ولكل طبقة من طبقات الحشرة الثلاث وبثلاثة مكررات لكل معاملة فطرية، رشت جميع الإطباق 5 مل من العالق المائي لابواغ الفطريات وبالتخفيف 10×3 بوغ/مل وحسب المعاملات 6 و 9 وباستخدام مرشة يدوية حجم 1 لتر، أما معاملة السيطرة فقد تركت ثلاثة أطباق لكل طبقة من طبقات الحشرة إذ رشت بالماء فقط (5 مل/طبق). وضعت جميع الأطباق داخل حاضنة بدرجة حرارة 25م وحسبت النسب المئوية للقتل حسب معادلة abbot (5) بعد 5 و 10 أيام من المعاملة. حللت النتائج احصائياً بطريقة تحليل التباين وتمت مقارنة المعدلات حسب اختبار دنكن المتعدد المدى (4).

تقويم كفاءة الفطريات حقلياً

تم اختيار بستان بمساحة 9 دونم في محافظة ديالى يحوي أشجار حمضيات مصابة إصابة شديدة بحشرة الأرضة وذلك للمدة من 7/1 إلى 2002/8/30 قسم البستان وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) وبمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة (شجرة/ مكرر) واشتملت على سبع معاملات فطرية ومعاملة السيطرة (بدون أي فطر). ثم حفر خندق حول الشجرة بعمق 60 سم وعرض 15 سم ويبعد عن جذع الشجرة 50 سم ووضع فيه مقدار 2 لتر من المعلق المائي بالتخفيف 10×3 بوغ/مل وحسب المعاملات الفطرية ثم تم ردمه بالتراب مع حقن إنفاق الحشرة على الشجرة المصابة بالتخفيف نفسه وحسب المعاملات باستعمال محقنة زجاجية سعة 20 مل أما معاملة السيطرة فقد عوملت بالطريقة نفسها وباستخدام الماء العادي فقط. سجلت أعداد الشغالات الحية في نفق سطحي للحشرة بطول 1م بعد 10 أيام من المعاملة عن طريق خدش النفق باستعمال اللوب (LOOP) وجمع الشغالات داخل طبق بتري. كررت هذه العملية على نفق آخر بعد 20 يوماً كذلك على نفق ثالث بعد 30 يوماً من المعاملة، تم حساب النسب المئوية للقتل حسب معادلة Abbott، حللت النتائج احصائياً بطريقة تحليل التباين وتمت مقارنة المعدلات حسب اختبار دنكن المتعدد المدى (4).

النتائج والمناقشة

كفاءة الفطريات مختبرياً

أظهرت نتائج جدول (1) أن جميع الفطريات المدروسة أدت إلى نسب قتل متفاوتة بعد 5 أيام من المعاملة وبفروق معنوية إحصائياً مقارنة بمعاملة السيطرة وازدادت هذه النسب بعد 10 أيام من المعاملة وفي جميع طبقات الحشرة الثلاث إلا أنه كان هنالك تأثير واضح لعزلات الفطر *B. bassiana* عن بقية الفطريات إذ حققت العزلات Bb1، Bb4 و Bb6 نسب قتل عالية في طبقة الشغالات وصلت إلى 78.33، 80 و 80% على التوالي والجنود 100% والطبقة التكاثرية 78.33، 78.33 و 80% وعلى التوالي بعد 5 أيام من المعاملة وزادت هذه النسب بعد 10 أيام من المعاملة لتصل إلى نسب قتل تراوحت بين 96.66 إلى 100%. أن ارتفاع النسب المئوية للقتل بعد 5 أيام من المعاملة بالعزلات Bb1، Bb4 و Bb6 مقارنة بالفطريات الأخرى قد يعود إلى قابلية ابواغ الفطر على الإنبات والنمو في أقل من

24 ساعة ومن ثم اختراق جسم الحشرة ومهاجمتها للأنسجة الداخلية وظهور نمواته إلى خارج جسم الحشرة وتكوينه الابواغ التي تصبح مصدراً جديداً للإصابة (10,12) أما سبب تفوق العزلات الثلاث Bb1، Bb4 و Bb6 عن بقية عزلات الفطر فقد يعود إلى كونها عزلات سريعة الإنبات والنمو والاختراق ضمن درجات الحرارة المثلى للفطر وخبثاة العزلات نفسها (Virulence) وهذا يتطابق مع دراسات سابقة (8، 16، 23) كما يلاحظ من الجدول إن طبقة الجنود أكثر تأثيراً بالفطريات المدروسة مقارنة بالطبقات الأخرى وهذا قد يعود إلى الطبيعة الفسيولوجية لهذه الأفراد وهذا يتطابق مع ما وجدته Myles وجماعته (21) من أن طبقة الجنود أكثر حساسية للإصابة بالفطر الممرض *Antomopsis gallica* من الطبقات الأخرى.

جدول 1: تأثير بعض الفطريات الممرضة للحشرات في نسب هلاك الطبقات المختلفة لحشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* تحت ظروف الحقل

معدل نسب الهلاك %						المعاملات
الطبقة التكاثرية		الجنود		الشغالات		
بعد 10 أيام	بعد 5 أيام	بعد 10 أيام	بعد5 أيام	بعد 10أيام	بعد 5 أيام	
a 100.00	a 78.33	a100.00	a100.00	a 100.00	a 78.33	عزلة Bb1***
b 80.00	b 55.00	b 93.33	b 78.33	b 80.00	b 50.00	عزلة Bb2
a 98.33	a 78.33	a 100.00	a 100.00	b 96.99	a 80.00	عزلة Bb4
c 71.66	c 45.00	c 85.00	c 73.33	c 75.00	a 43.33	عزلة Bb5
a100.00	a 80.00	a100.00	a100.00	a 1000	a 80.00	عزلة Bb6
e 28.33	e 25.00	e 35.00	e 31.66	e 25.00	e 23.33	Verticilium lecanii
d 45.00	d 31.65	d 68.33	d 48.33	d 48.33	d 31.65	Paecilomyces sp
f 0.00	f 0.00	f 0.00	f 0.00	f 0.00	f 0.00	Control

* المعدلات التي تقع بالعمود نفسه والمتبوعة بالحروف نفسه لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن عند مستوى 5%.

** كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات.

*** Bb6, Bb3, Bb4, Bb2, Bb1 تمثل عزلات الفطر *B. bassiana*.

$$\text{تم احتساب النسب المئوية للقتل حسب معادلة Abbott} = \frac{\text{عدد الحشرات الحية في المقارنة} - \text{الحية في المعاملة}}{\text{عدد الحشرات الحية في المقارنة (5)}} \times 100$$

كفاءة الفطريات حقلياً

تشير نتائج جدول (2) إلى وجود تأثير معنوي احصائياً لجميع الفطريات المدروسة مقارنة بمعاملة السيطرة وللمدد الثلاث، وكان هنالك تفوق معنوي للعزلات Bb1، Bb4 و Bb6 إذ بلغت النسبة المئوية للقتل للشغالات الحية 49,49، 46,13 و 47,82% وعلى التوالي بعد 10 أيام من المعاملة وزادت نسبة القتل لتصل إلى 100، 99,11 و 100% وعلى التوالي بعد 30 يوماً من المعاملة. كما يلاحظ أن النسب المئوية للقتل للفطر *V. lecanii* زادت إلى 18,43% بعد 20 يوماً ثم انخفضت بعد 30 يوماً لتصل إلى 13,31% في حين أن الفطر *Paecilomyces sp* زادت نسبة القتل مع تقدم الزمن لتصل إلى 63,02% بعد 30 يوماً من المعاملة وهذا قد يرجع إلى قدرة الفطر الثاني على تحمل الظروف وتكاثره داخل النفق بشكل يجعله فعالاً أكثر من الفطر *V. lecanii* (18). نستنتج من جدولي (1 و 2) أن العزلات Bb1، Bb4 و Bb6 هي أكثر كفاءة في التأثير على مستعمرات الحشرة مختبرياً وحقلياً وذلك لتوفر الظروف الملائمة من رطوبة عالية وحرارة معتدلة لنمو وتكاثر الفطر وتأثيره المباشر في طبقات الحشرة وعدم إنتاج أفراد جديدة تدعم المستعمرة وهذا يتطابق مع ما حصل عليه Riba و Marcandier (22) من أن الحرارة المعتدلة (20-30°م) والرطوبة العالية (90-100%) تساعد على انتشار المسبب المرضي في الحشرات. كما أن معاملة التربة أو حقن الأنفاق في الشجرة قد أدى إلى عدم تعرض الفطر لأشعة الشمس المباشرة مما حافظ على حيوية الفطر في الإنبات والنمو والتطور وأحداث الإصابة. كما أن الحشرات المصابة داخل عش المستعمرة أصبحت مصدراً جديداً للعدوى (7).

جدول 2: تأثير بعض الفطريات الممرضة للحشرات في النسب المئوية لهلاك حشرة الآرضه *Microceroterms diversus* تحت ظروف الحقل

معدل نسب الهلاك %			المعاملات
بعد 30 يوماً	بعد 20 يوماً	بعد 10 أيام	
a 100	a 74.07	a 49.49	عزلة Bb1***
b 90.54	b 63.13	b 29.97	عزلة Bb2
a 99.11	a 71.87	a 46.13	عزلة Bb4
c 70.71	c 49.06	c 23.91	عزلة Bb5
a 100	a 73.75	a 47.82	عزلة Bb6
e 13.31	e 18.43	d 16,8	<i>Verticillium lecanii</i>
d 63.02	d 39.10	d 19.19	<i>Paecilomyces sp</i>
f 0.00	f 0.00	f 0.00	Contnol

* المعدلات التي تقع في العمود نفسه والمتبوعة بالحروف نفسها لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن وعند مستوى 5 %

** كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات

***Bb6,Bb3,Bb4,Bb2,Bb1 تمثل عزلات الفطر *B. bassiana*

$$100 \times \frac{\text{عدد الحشرات الحية في المقارنة} - \text{الحي في المعاملة}}{\text{عدد الحشرات الحية في المقارنة}} = \text{Abbott \% للقتل للمعاملة}$$

المصادر

- 1- البهادلي، حسين مكطوف ديوان (2003). دراسة بعض الصفات الإحيائية لعزلات الفطر *Beauveria bassiana* كعامل للمكافحة الحيوية لحشرة ذبابة الياسمين البيضاء *Aleuroclava jasmini* (Takahashi). رسالة ماجستير - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية، بغداد، العراق. ص: 8.
- 2- العزاوي، عبد الله (1980). علم الحشرات العامة والتطبيقي، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. مؤسسة المعاهد الفنية. ص: 450.
- 3- الراوي، محمد عمار (1962). دابة الأرض، بحث تمهيدي عن حياة الأرض الاجتماعية وأهميتها الاقتصادية وطرق مقاومتها. مطبوعات جمعية نشر العلوم والثقافة. ص: 410.
- 4- الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل، العراق. ص: 488.
- 5- شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح (1993). المبيدات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل، العراق. ص: 518.
- 6- صالح، حمود مهدي وهادي مهدي عبود (2002). كفاءة بعض الفطريات الممرضة للحشرات في مكافحة الاحيائية لحشرة دوباس النخيل *Ommittissus binotatus*. مجلة الزراعة العراقية (عدد خاص) 7 (5): 63-69.
- 7- Ahmad, S.S. and J.J. Phang (1988). Pathogenicity of two entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the termite diseases of forest plantations V. I. lop.
- 8- Akbar, W.; J. Lord; J. Nechols and R. Howard (2003). Diatomaceous earth increases the efficaey of *Beauveri bassiana* against *Tribolium castanium* larvae and increases conidia attachment J. Econ. Entomol, 23-28
- 9- Akbar,w.; J. Lord; J. Nechols and TM. Longhin (2005). Efficacy of *Beauvria bassiana* for red flour beetle *Tribolium, castanium* when applied with plant essential oils in mineral oil and organosilicones carriers. J. Econ. Entomol, 98(3): 683-688.

- 10- Barker, J.F. (1999). Laboratory evaluation of the pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* larvae of the banded sunflower moth *Cochylis hospes*. *Gt. Lakes Entomol*, 32(3): 101 – 106.
- 11- Deshpande, M.V (1999). Mycopesticide production by fermentation potential and challenges. *critical Reviews in Microbiology*, 25(3):229-243.
- 12- Ellie, G. and O. Mcune (2001). Using *Beauveria bassiana* for insect management. United States Department of Agricultural Research Service, 94-97.
- 13- Espero, L .V. (1985). Survey of entomogenous fungi associated with termites (Philippines). *Scientific Journal*, 6(1):23-24
- 14- Fagade, O.E; S.A. Balogun and C.J. Iomer (2005). Microbial control of caged population of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium* sp. *African J. of Biotech*, 4(1): 113-116.
- 15- Feng, M.G; J. Poprowski and G.G. Khachatourians (1994). Production formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocont. Sci. Tech.*, 4:3 - 34.
- 16- Glare, T.R. and A. Inwood (1998). Morphological and genetic characterization of *Beauveria* spp. *From New Zealand Mycol. Res.*, 102: 250-256.
- 17- Haenel, H. (1984). Biological control of termites by the fungus *Metarhizium anisopliae* Drw. *Verlage*, 36–63.
- 18- Leathers, T.D.; S. C. Gupta and N.J. Alexander (1993). Mycopesticides: status, challenges and potential. *J. Ind. Microbiol*, 12-96.
- 19- Leger, R.J. and D.W. Roberts (1997). Engineering improved mycoinsecticides, *Trends Biotechnol*, 15(83).
- 20- Milner, R.J.; J.A. Staples and G.G. Lutton (1998). The selection of an isolate of the hyphomycetes fungus, *Metarhizium anisopliae* for control termites in Australia biological control. *Theory and Applications in Pest Management (U.S.A)*, 11(3): 240 -247.
- 21- Myles, T.G.; B.I. Strack and B. Forschler (1998). Distribution and abundance of *Antennopsis gallica* and Ectoparasitic fungus on the eastern subterranean termite in Canada. *J. of Invertebrate Pathology (U.S.A)*, 72(2): 132-137.
- 22- Riba, G. and S. Marcandier (1984). The effects of relative humidity on the virulence and viability of conidia of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae*. *Agronomi*, 4(2): 184-194.
- 23- Smith, K.E; R. Wall and M.P. French (2000). The use of entomopathogenic fungi for the control of parasitic mites *Psoroptes* spp. *Vet. Parasitolo*, 92(2): 97-105.
- 24- Watson, D.L. and A.W. Brown (1977). Pesticides management and insecticide resistance. Cited in *plant Research and Development*, 10: 7-28.

**BIOLOGICAL CONTROL OF TERMSA INSECT
Microcerotermes diversus BY USING SOME
ENTOMOPATHOGENIC FUNGI**

A. T. Amin

I. A. Jediaa

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the efficacy of isolates entomopathogenic fungi: five isolates of *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecani*, *Paecilomyces Sp.* as biocontrol agents of termites *Microcerotermes diversus* under laboratory and field condition. Laboratory and field results indicated that the all entomopathogenic fungi showd highly effective in percentage of killing compared with control treatment, isolate Bb1, Bb6 showd highly percentage of killing 100% in laboratory and field trials after 10, 30 days after treatment respectively compared with the other fungal isolates.