التكامل في مكافحة يرقات دودة الشمع الكبرى
Galleria mellonella (L.) (Lepidoptera : Pyralidae)

راضي فاضل الجصاني* حقي اسماعيل داوي**

الملخص

اجريت الدراسة لتقويم كفاءة السلالة المحلية والمستحضر التجاري للبكتريا ***Bacillus thuringensis*** ، ومبيد **Avaunt150sc**، ومنظم النمو **Match** في احداث القتل ليرقات دودة الشمع الكبرى في ظروف المختبر أثناء عام **2007**.

اثبتت نتائج الاختبارات الكيموحيوية ان البكتريا المعزولة من اليرقات المريضة لدودة الشمع الكبرى في الحقل تمثل احدى سلالات البكتريا ***Bacillus thuringensis***. كما اشارت النتائج الى ان معاملة مبيد **Avaunt** ومعاملتي الخلط بينه وبين البكتريا قد سببت قتل **100%** للاطوار اليرقية جميعها الا ان الاطوار اليرقية المتأخرة (من الرابع الى السابع) ابدت حساسية اقل مقارنة بالاطوار اليرقية الثلاثة الاولى وان سلالة البكتريا المحلية قد تأثرت في تسمية المبيد عند خلطهما معاً فيما لم تتأثر سلالة البكتريا الموجودة في المستحضر التجاري التي تم تأكيدها من خلال المدة الزمنية لاحداث قتل **100%** في الاطوار اليرقية المختلفة.

كما اثبتت المعاملة بمنظم النمو **Match** كفاءتها في احداث قتل **100%** في جميع الاطوار اليرقية للحشرة جميعاً الا ان تأثير هذه المعاملة كان تأثيراً ابادياً في الاطوار اليرقية الثلاث الاولى حيث كانت النسبة المئوية للقتل **100%** بعد يوم واحد من المعاملة بينما كان تأثيره تثبيطياً في الاطوار اليرقية المتأخرة حيث انها اقل حساسية وان عملية الموت تحدث بعد عملية الاتسلاخ. اما معاملتا البكتريا بشقيها (التجاري والمحلي) فقد سببت قتل **100%** للاطوار اليرقية جميعها الا ان القتل كان تدريجياً وان اليرقات تقل حساسيتها كلما تقدم عمرها.

المقدمة

يعاني مربو نحل العسل من اصابة النحل داخل الخلايا وخارجها بكثير من الآفات الحشرية وغير الحشرية ، وتعد دودة الشمع الكبرى ***Galleria mellonella*** L. من الافات الاقتصادية الدائمة والمهمة التي تهاجم يرقاتها اقراص الشمع وحبوب اللقاح داخل خلايا نحل العسل وفي المخزن (22). تتغذى اليرقات على الشمع وحبوب اللقاح المخزونة داخل الاقراص محدثةً انفاقاً تبنيها من خيوط حريرية تنتقل فيها من مكان الى آخر داخل القرص مدمرة بذلك العيون السداسية فتضعف الخلايا النشيطة وتهلك الخلايا الضعيفة . كما تحفر اليرقات في خشب الخلية قبيل التشرنق لتستقر فيه وتفرز شرانقها (1). لقد هلكت نتيجة الاصابة بهذه الافة **1976** خلية نحل بخسارة تقدر بما يقارب **4** ملايين دولار في الولايات المتحدة الامريكية في عام **1974** (18)، وارتفعت هذه الخسائر لتصل الى اكثر من **8** ملايين دولار عام **1984** (21).

تعد دودة الشمع الكبرى في العراق من الافات الاقتصادية المهمة والرئيسة التي تهاجم الاطارات الشمعية وكتل الشمع في المخازن وكذلك الاطارات الشمعية داخل الخلايا الضعيفة (6). وان نسبة اصابة الخلايا الحديثة بهذه الحشرة تبلغ **21.3 – 26.5%** في المناطق المختلفة من العراق حيث ان هذه الاصابة تعد عائقاً كبيراً في تطور النحل وانتاج العسل وتعرقل حركة النحل داخل الخلية وتحد من نشاطه مما يضطره لهجرة خلاياه وبعثرته في الطبيعة او تدهوره

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

* كلية الزراعة – جامعة بغداد – بغداد،العراق.

** مديرية الزراعة في محافظة واسط–وزارة الزراعة–واسط،العراق.

وموته (5). نظراً للسلبيات المسجلة على المبيدات الكيميائية وتأثيراتها السمية في نحل العسل مثل Acetic acid ، Sulfer ، Paradichlorobenzene ، Phostoxin ، Ethyl bromide ، Calcium cyanide, Formic acid. لذلك توجه العديد من الباحثين الى البحث عن بدائل مناسبة لمكافحة هذه الحشرة او في الاقل دعم وسائل المكافحة الكيميائية بوسائل اخرى تؤدي الى الترشيد من استعمال المبيدات الكيميائية. لذا استعملت المبيدات الجرثومية بشكل واسع في مكافحة الافات الحشرية الضارة ومنها انواع البكتريا التي تعود الى الجنس ***Bacillus*** الذي يعد اهم جنس من الناحية المرضية للحشرات (16). واوصى **Bugdanor** وجماعته (9) باستعمال بكتريا ***Bacillus thuringensis*** (Berliner) في مكافحة حشرة دودة الشمع الكبرى حيث تعد من الطرق الآمنة التي لا تترك متبقيات سامة سواء أكان ذلك على الشمع أم في العسل، واكد **Doerr** وجماعته (13) ان المبيدات الحديثة من مجموعة **Oxadiazines** او منظمات النمو الحشرية او المبيدات الميكروبية اثبتت فعاليتها في مكافحة الافات التي تنتمي الى رتبة حرشفية الاجنحة مقارنة بسمية وفعالية المبيدات الكيميائية من مجاميع الفسفور العضوية والكاربامیت والهيدروكاربونات المكلورة.

لذا استهدفت دراستنا تقويم كفاءة بعض المبيدات الجرثومية ومنظمات النمو والمبيدات الكيميائية الحديثة في احداث القتل لبرقات دودة الشمع الكبرى وتأثيراتها في نحل العسل.

المواد وطرائق البحث

تحضير مستعمرة دودة الشمع الكبرى

جمعت اطارات مصابة بأدوار دودة الشمع الكبرى جميعها ***G. mellonella*** L. من مناحل عديدة في محافظتي واسط وبغداد. ولغرض الحصول على حشرات بالغة. لذا عزلت البرقات ووضعت في اقفاص خشبية ابعادها 30 × 30 × 30 سم وغذيت اليرقات على شمع نحل داكن عقم بواسطة التبريد بعد وضعه في المجمدة لمدة 4.5 ساعة على درجة حرارة –7 سيليزية (10). وضعت الاقفاص في حاضنة على درجة حرارة 30 ± 3 سيليزية ورطوبة نسبية 70 ± 5% وظلام تام ، بعد بزوغ الحشرات البالغة وتأكيد تشخيصها في متحف التاريخ الطبيعي نقلت الى اقفاص خشبية حاوية على شمع داكن معقم لوضع البيض وديمومة المستعمرة بالادوار المختلفة للدراسات اللاحقة.

عزل البكتريا المحلية من اليرقات المصابة في الحقل والحصول على المستعمرات النقية

جمعت ما يقارب من 200 يرقة من الاطوار اليرقية لدودة الشمع الكبرى جميعها من الاطارات المصابة التي جمعت من المناحل التي شوهدت عليها اعراض اصابات مرضية مختلفة المتمثلة بقلة الحركة واسوداد نهاياتها وامتناعها عن التغذية ، وضعت في انابيب زجاجية معقمة في المختبر. عقم الجسم الخارجي لليرقات المصابة من خلال تغطيس اجسامها بالكحول الاثيلي تركيز 70% لمدة دقيقتين نقلت بعدها الى محلول هايبوكلورات الصوديوم (Sodium hypochlorite) بتركيز 5.25% لمدة 3–5 دقائق ، غسلت بعدها ثلاث مرات بالماء المقطر مع مراعاة تغيير ماء الغسل كل مرة (8).

هيئت اطباق بتري معقمة ونقل لكل طبق بتري 7–10 يرقات من مختلف الاطوار واضيف 2 مل من الماء المقطر لكل طبق ، هرست وسحقت بواسطة قضيب زجاجي صلب معقم وبعد السحق التام لاجسام اليرقات، اخذت قطرة من المسحوق بواسطة Needle loop معقم ونقلت الى طبق بتري معقم قطره 9 سم يحتوي على الاكار المغذي Nutrient agar المجهز من شركة IDG (International Diagnostics Group) الانكليزية وقد استعملت 10 اطباق واجريت عملية النقل تحت ظروف التعقيم التام منعاً للتلوث ونقلت الاطباق الى حاضنة على درجة حرارة 30 ± 1 سيليزية لمدة 48 ساعة، بعد نمو المستعمرات البكتيرية اعيدت الزراعة مرة ثانية باطباق بتري

جديدة تحت الظروف السابقة نفسها حاوية على الاكار المغذى لغرض الحصول على مستعمرات نقية، وبعد النمو فحصت المستعمرات البكتيرية النقية لغرض تشخيصها اعتماداً على حجم وشكل وحافة ولون وقوام المستعمرات، وصبغت بعدها البكتريا النامية وللاطباق جميعها بصبغة كرام وفحصت تحت المجهر الضوئي المركب لملاحظة وجود السبورات والبلورات (16). كما اجريت اختبارات كيموحيوية بالاعتماد على طريقة Quinn وجماعته (19) لغرض تأكيد التشخيص المظهري. اما البلورة السمية للبكتريا فقد كان من الصعوبة تشخيصها ضمن الامكانات المتوفرة، بعد تأكيد تشخيص البكتريا ***Bacillus thuringensis*** حفظت الانابيب الحاوية على البكتريا في الثلاجة لحين استعمالها في التجارب اللاحقة.

اختبار القابلية المرضية للبكتريا حسب فرضيات كوخ

فحصت القابلية المرضية (Pathogenicity) حسب فرضيات كوخ بطريقتين، الاولى عن طريق حقن يرقات الطورين الخامس والسادس التي اخذت من المستعمرة الحشرية النقية المرباة في المختبر، حيث حقنت كل يرقة في الجهاز الهضمي بواسطة محقنة طبية صغيرة بجرعة من محلول البكتريا المحفوظ في الثلاجة (فقرة 2)، وغذيت اليرقات المحقونة بالشمع الداكن المعقم.

اما الطريقة الثانية لغرض فحص القابلية المرضية للبكتريا فتم تلويث الغذاء (الشمع الداكن المعقم) بكمية 1 مل من محلول البكتريا المخفف لكل 0.5 غرام من الشمع وذلك لضمان وصول البكتريا الى الجهاز الهضمي عند التغذية على الشمع الملوث بالبكتريا وقدم بعد جفافه الى يرقات الطورين الاول والثاني حيث استعملت 20 يرقة بمعدل 0.5 غم شمع لكل 5 يرقات حيث ان هذه الكمية من الشمع كافية لتغذية يرقات الطورين الاول والثاني.

فحصت وروقبت اليرقات في الطريقتين ولمدة (24-72) ساعة، حيث ظهرت الاعراض المرضية على اليرقات المتمثلة باسوداد المنطقة حول مناطق الحقن، قلة الحركة، الامتناع عن التغذية، تحول الجسم الى اللون البني الغامق ومن ثم الى اللون الاسود، طراوة الجسم وبعد تركه يتحول الى الجفاف، كذلك خروج بعض اللعاب الذي تمت اعادة زرعه فتبين انه حاو على البكتريا، ومن ثم الموت. وبعد التأكد من ظهور الاعراض ولغرض تأكيد وجود البكتريا اجريت الخطوات المذكورة نفسها في الفقرة (2) من حيث السحق والتعقيم والتنمية للحصول على مستعمرات نقية لغرض التشخيص. حفظت الاطباق الحاوية على المستعمرات البكتيرية في الثلاجة لحين استعمالها في الاختبارات الكيموحيوية اللاحقة والدراسات المختلفة على ادوار الحشرة، ولضمان ديمومة حيوية البكتريا المخزونة في الثلاجة تعاد تنميتها شهرياً في الظروف والوسط الغذائي المستعمل نفسه.

تحضير المعلق الجرثومي لعزلة البكتريا المحلية

هيء طبق بتري من المزارع البكتيرية المحفوظة في الثلاجة بعد تجديد تنميته بمدة لاتزيد عن 24 ساعة ، اضيف له 1 مل من الماء المقطر المعقم للطبق وقد هيئت حاصدة معقمة، وبعد حصاد البكتريا من الطبق اضيف الناتج الى انبوبة اختبار معقمة تحتوي على 10 مل من الوسط الزراعي Nutrient broth وحضنت على درجة حرارة 30 ± 1 سيليزية لمدة 24 ساعة لغرض تنشيط البكتريا ، ولغرض تحضير المعلق للاستعمال اضيفت محتويات انبوبة الاختبار الى انبوبة اختبار اخرى تحتوي على 50 مل من الوسط الزراعي نفسه لتحضير المعلق (Stock).

ولحساب عدد السبورات في المعلق استعملت طريقة الصب بالاطباق (Pourplating) في هذه لطريقة تحضر تخافيف عشرية متتالية الى ان نصل للتخفيف السادس (1/1000000) او (10^{-6}) من خلال التتابع في السحب حتى الانبوبتين السادسة والاخيرة. سحب 2 مل من التخفيف الاخير (10^{-6}) ووزع على طبقي بتري قطر 14 سم يحتويان على الوسط الزراعي Nutrient agar بمعدل 1 مل لكل طبق وحضن الطبقان على درجة 30 ± 1سيليزية

ولمدة 24 ساعة وبعد نمو المستعمرات البكتيرية حسب عدد المستعمرات في كل طبق ومن ثم استخرج عدد البكتريا (2). وبعد الحصول على عدد البكتريا في 1 مل من العينة من خلال المعادلة اعتمدت طريقة النسبة والتناسب للحصول على كمية المحلول الذي يمكن اعتماده والحاوي على (1×10^6) سبور / مل.

مستحضر البكتريا التجاري

اعتمد المستحضر التجاري **Certan** مبيداً حيوياً تجارياً حاو على البكتريا ***Bacillus thuringensis var. aizawai*** استعمل بتركيز 1×10^6 سبور / مل ماء (التركيز الموصى به) وحضر بطريقة التخفيف المباشر باذابة 1 غم من المستحضر في لتر واحد من الماء.

المعاملات المختلفة المستعملة في الدراسة

ان المعاملات التي اجريت في الدراسات كافة شملت على:

المعاملة الاولى: المعلق الجرثومي للمستحضر التجاري **Certan** وبتركيز 1×10^6 سبور / مل ماء مقطر معقم (فقرة 5).

المعاملة الثانية: المعلق الجرثومي للبكتريا المحلية وبتركيز 1×10^6 سبور / مل ماء مقطر معقم (فقرة 4).

المعاملة الثالثة: مبيد **Avaunt150sc** بتركيز **0.3** مل / لتر ماء مقطر معقم ، حيث ان مبيد **Avaunt** من المبيدات الحشرية الحديثة التي تعود الى مجموعة **Oxadiazine** يحتوي على المادة الفعالة **Indoxacarb** ويكون تأثيره عن طريق الملامسة والابتلاع ، يعمل على عدد كبير من الحشرات حرشفية الاجنحة فضلاً عن فعاليته على بيوض الحشرات.

المعاملة الرابعة: الخلط بين المعلق الجرثومي للمستحضر التجاري **Certan** ومبيد **Avaunt150sc** وبالتراكيز نفسها الموصوفة في المعاملتين الاولى والثالثة.

المعاملة الخامسة: الخلط بين المعلق الجرثومي للبكتريا المحلية ومبيد **Avaunt150sc** وبالتراكيز نفسها الموصوفة في المعاملتين الثانية والثالثة.

المعاملة السادسة: منظم النمو **Match050EC** بتركيز **0.4** مل / ماء مقطر معقم ، حيث يعمل على تثبيط تكوين الكايتين ويحتوي على المادة الفعالة **Lufenuron** . ويعود الى مجموعة **Acylurea** ويمتاز بفعالية عالية جداً ضد آفات رتبة حرشفية الاجنحة .

المعاملة السابعة : معاملة المقارنة (الماء المقطر المعقم فقط).

تأثير المعاملات المختلفة في الاطوار اليرقية في دودة الشمع الكبرى

هيئت الاطوار اليرقية السبعة لدودة الشمع الكبرى من المستعمرة المختبرية النقية ، حيث تم تمييز الاطوار اليرقية المختلفة على اساس جلود الانسلاخ وكبسولة الرأس. واستعملت اربعة مكررات لكل طور ولكل معاملة وبواقع خمس يرقات لكل مكرر. واستعملت في دراسة تأثير المعاملات المختلفة في الأطوار الصغيرة من الطور الاول الى الطور الثالث اطباق بتري قطرها 14 سم وارتفاعها 2.5 سم معقمة مسبقاً ونقلت اليرقات اليها بواسطة فرشاة ناعمة بعدها سدت فوهاتها بغطاء من قماش الموسلين مع رباط مطاطي. اما الاطوار اليرقية الكبيرة من الطور الرابع الى الطور السابع فوضعت في قناني قطرها 8 سم وارتفاعها 15 سم معقمة مسبقاً وغطيت ايضاً بغطاء من قماش الموسلين ورباط مطاطي. غذيت اليرقات بشمع داكن معقم بالتبريد بمقدار 0.5 غم لكل مكرر للاطوار اليرقية الثلاثة الاولى و 1 غم لكل مكرر للاطوار اليرقية الاربعة الاخيرة. رش الشمع بالتراكيز المحضرة مسبقاً (فقرة 6) من المعاملات المختلفة بواسطة مرشة يدوية ومن على بعد 15 سم وبصورة عمودية كل على حدة ومن منطقة معزولة بين معاملة واخرى بحيث لوثت

وعوملت العيون السداسية جميعها ، نقلت اليرقات لكل معاملة بعد جفاف الشمع وغلقت الاواني الزجاجية ونقلت الى الحاضنة عند درجة حرارة 30 + 3 سيليزية ورطوبة نسبية 70 + 5% . اما دراسة تأثير المعاملات المختلفة في درجة حرارة الغرفة فقد وضعت مكررات المعاملات جميعها في دواليب معقمة تحت ظرف ظلام تام. فحصت يومياً وسجلت حالات الموت والتشوه والسلوك لليرقات في المعاملات المختلفة وظروف الدراسة المختلفة وحساب النسب المئوية للموت والنسب المئوية للبقاء والمدد الزمنية لتحقيق القتل لحين انتهاء التجربة وموت اليرقات جميعها الذي استغرق فترات زمنية مختلفة.

وقد تم اجراء تقويم تراكيز مختلفة من مبيد Avaunt (0.2 ، 0.3 و 0.4 مل / لتر ماء) على شغالات نحل العسل اضافة الى تقويم تأثير البكتريا في يرقات نحل العسل ومدى وجودها في العسل في المعاملات المختلفة (2).

تم التحليل الاحصائي اعتمد التصميم العشوائي الكامل (CRD) في دراسة تأثير المعاملات المختلفة في الاطوار اليرقية وقورنت النتائج باستعمال معيار اقل فرقاً معنوياً LSD على مستوى (0.05) لاختبار معنوية تأثير المعاملات المختلفة في المدة الزمنية لتحقيق القتل واعتمد اختبار مربع كاي (X^2) لمقارنة الفروق المعنوية بين نسب القتل في المعاملات المختلفة وقد استعمل البرنامج SAS (21) في التحليل الاحصائي.

النتائج والمناقشة

تشخيص العزلة المحلية لبكتريا *Bacillus thuringensis* مقارنة ببكتريا المستحضر التجاري

توضح النتائج في جدول 1 ان الاختبارات جميعها اكدت ان النماذج المفحوصة هي بكتريا ***Bacillus thuringensis***.

واظهرت نتائج تقدير كفاءة البكتريا على اليرقات ان نسبة القتل بلغت 85% للمستحضر التجاري مقارنة بمعلق البكتريا المحلية الذي سبب نسبة قتل 90% فضلاً عن اختبار قابلية النمو على الوسط الزراعي Nutrient agar .

تأثير المعاملات المختلفة في الاطوار اليرقية لدودة الشمع الكبرى

لقد اظهرت نتائج الدراسة ان المعاملات جميعها اثبتت كفاءتها في التأثير في الاطوار اليرقية لدودة الشمع الكبرى جميعاً حيث حققت نسبة قتل 100% الا ان الاختلاف كان معنوياً بين الاطوار اليرقية المختلفة في المدة الزمنية لتحقيق هذه النسبة، كما اثبت التحليل الاحصائي وجود اختلافات طفيفة ومحدودة وغير معنوية بين نسب قتل الاطوار اليرقية المختلفة في المعاملات المختلفة عند ظرفي الدراسة في الحاضنة عند درجة حرارة 30 + 3 م ودرجة حرارة المختبر الاعتيادية.

يتضح من جدول 2 ان نسبة القتل في الاطوار اليرقية بعد يوم واحد من المعاملة عند المعاملات المختلفة تعتمد على نوعي المعاملة والطور اليرقي حيث سببت معاملة مبيد Avaunt لوحده ومخلوطاً مع العزلة المحلية والمستخلص التجاري للبكتريا في تحقيق نسبة قتل 100% في الطورين اليرقيين الاول والثاني ومعاملة منظم النمو Match حققت نسبة قتل 100% في الأطوار اليرقية الاولى والثانية والثالثة بعد يوم واحد من المعاملة . اما الاطوار اليرقية الاخرى فحققت هذه المعاملات نسبة قتل مختلفة متناسبة مع الطور اليرقي حيث ان الاطوار اليرقية الصغيرة تأثرت بدرجة اعلى من الاطوار اليرقية المتقدمة في العمر بعد يوم من المعاملة. اما المعاملة بالعزلة المحلية والمستحضر التجاري للبكتريا فقد اظهرت تأثيرها البطيء والتدريجي في التأثير في الاطوار اليرقية المختلفة وان الاطوار اليرقية الصغيرة الاولى تأثرت بدرجة اكبر من الاطوار اليرقية الاخيرة والمتقدمة في العمر حيث ان تأثير المعاملات كانت تنازلياً ابتداءً من الطور اليرقي الاول (نسبة القتل 60%) والطور اليرقي السابع (نسبة القتل 10–15%) بعد يوم واحد من المعاملة جدول 2.

جدول 1: نتائج الاختبارات الكيموحيوية على البكتريا ***Bacillus thuringiensis***

نوع الاختبار	نتيجة اختبار العزلة المحلية	نتيجة اختبار المستحضر التجاري
1- اختبار Sulphide Indol – Motality (S.I.M)		
a- الحركة Motality	+	+
b- هوائية aerobic	+	+
c- انتاج غاز H_2S	–	–
2- اختزال النترات	+	+
3- اختبار تحلل النشأ	+	+
4- اختبار تحلل خلايا الدم	+	+
5- الفحص عن انزيم Catalase	+	+
6- اختبار صبغة كرام	+	+
7- اختبار قابلية نمو العزلات البكتيرية عند درجة حرارة 50 سيليزية	–	–
8- اختبار قابلية تحمل البكتريا لظروف التجميد	+	+
9- اختبار حساسية البنسلين	R	R
10- موقع السبور وشكله مع وجود البلورة البروتينية	+	+
11- تخمر الكاربوهيدرات		
a- Glucose	+	+
b- Lactose	+	+
c- Arabinose	–	–

R = Resistance.

كما اوضحت نتائج الدراسة ان النسبة المئوية لقتل الاطوار اليرقية المختلفة المتبقية من نسبة القتل المتحققة 100% في المعاملات المختلفة بعد اليوم الاول من المعاملة تتصاعد تدريجياً اعتماداً على الطور اليرقي حيث ان الاطوار اليرقية الصغيرة الاولى تأثرت في اليوم الاول من المعاملة والنسب المتبقية تكون منخفضة وتتزايد بتقدم الاطوار اليرقية في العمر التي كانت قليلة التأثر في اليوم الاول، اضافة الى ان المدد الزمنية لتحقيق القتل تكون مختلفة ومتناسبة مع الطور اليرقي . كما يتضح ان نسب القتل المتبقية تكون عالية في معاملة العزلة المحلية والمستحضر التجاري للبكتريا ومعاملة منظم النمو **Match** ومبيد **Avaunt** خاصة في الأطوار اليرقية الخامسة والسادسة والسابعة مما يشير الى بطء فاعلية هذه المعاملات في احداث القتل اضافة الى تحمل الاطوار اليرقية الاخيرة لميكانيكية قتل هذه المعاملات.

ان سبب تحقيق هذه النسب العالية للقتل في الاطوار اليرقية الثلاثة لمعاملة مبيد **Avaunt** لوحده وخلطه مع البكتريا أثناء يوم واحد بعد المعاملة قد يعود الى تخصص تأثير هذا المبيد في يرقات حرشفية الاجنحة عن طريق الملامسة والابتلاع فضلاً عن ميكانيكية تأثير المادة الفعالة **Indoxacarb** في اليرقات اضافة الى التوافق بين تأثير البكتريا والمبيد حيث تظهر الاعراض المشتركة في اليرقات المصابة المتمثلة ببطء الحركة وانعدامها والتوقف عن التغذية وتقزم جسم اليرقات وتحول لونها الى البني الداكن المحمر. وفي هذا المجال ذكر **Wing** وجماعته (23) عند استعمال هذا المبيد على حشرة *Manduca sexta* (L.) من ان المادة الفعالة **Indoxacarb** تعمل على غلق قنوات الصوديوم كلياً في الجهاز العصبي لليرقات المصابة مما يعيق مرور الشحنات العصبية فتتوقف الحشرة عن تنسيق حركتها وبالتالي امتناعها عن التغذية وموتها. كذلك اشار **McCann** (17) من ان المادة الفعالة **Indoxacarb** تعمل على غلق قنوات الصوديوم كلياً في الحشرات المستهدفة من حرشفية الاجنحة. كما ذكر **Galven** (14) ان رتبة حرشفية الاجنحة وخاصة اطوارها اليرقية هي اكثر الرتب الحشرية حساسة اتجاه هذا المبيد.

جدول 2: النسبة المئوية لقتل الاطوار اليرقية المختلفة لدودة الشمع الكبرى بعد يوم من المعاملة عند المعاملات المختلفة تحت ظروف الدراسة

المعاملة	درجة حرارة ظروف الدراسة	نسبة القتل الكلية (%)	النسبة المئوية للقتل بعد يوم واحد من المعاملة (%)							قيمة مربع كاي (X^2)
			الاول	الثاني	الثالث	الرابع	الخامس	السادس	السابع	
المستحضر التجاري للبكتريا B.t.	أ	100	60	50	40	30	15	0	10	**8.24
	ب	100	60	55	35	25	10	5	15	**8.31
العزلة المحلية للبكتريا B.t.	أ	100	70	55	55	10	30	5	5	**9.45
	ب	100	80	60	60	25	35	10	0	**9.12
مبيد Avaunt	أ	100	100	100	85	60	40	20	10	**8.74
	ب	100	100	100	90	55	45	30	15	**8.20
مبيد + Avaunt المستحضر التجاري للبكتريا	أ	100	100	100	85	65	80	80	60	**5.93
	ب	100	100	100	90	55	65	65	70	**5.90
مبيد + Avaunt عزلة محلية	أ	100	100	100	75	45	45	35	45	**6.04
	ب	100	100	100	65	25	40	35	40	**6.13
منظم النمو Match	أ	100	100	100	100	5	5	0	0	**11.71
	ب	100	100	100	100	0	0	0	0	**12.00
المقارنة	أ	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s 0.00
	ب	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s 0.00
قيمة مربع كاي (X^2) ** (P<0.01).	–	10.5 **	12.7 **	11.9 **	10.6 **	10.4 **	10.24 **	8.35 **	9.05 **	–

أ- الحاضنة (درجة حرارة 30 ± 3 سيليزية ورطوبة نسبية 70 ± 5 %.

ب- ظروف المختبر الطبيعية (درجة حرارة الغرفة).

n.s التأثير في الظروف الدراسة محدود وغير معنوي.

وفي دراسة مماثلة وجد Govindarajan وجماعته (15) ان خلط بكتريا *Bacillus thuringensis* مع المبيد الكيميائي DDVP ادى الى ارتفاع سمية البكتريا بالخليط مقارنة مع استعمال البكتريا لوحدها عند معاملة يرقات دودة ورق القطن *Spotoptera littoratis* . كما توصل عبد الله (7) الى ان استعمال المبيد الحيوي Thuricid-HP الحاوي على البكتريا *Bacillus thuringensis* لوحده يؤدي الى قتل 79% من يرقات دودة درنات البطاطا في حين ادى خلط المستحضر البكتيري مع مبيد فابكوسيدين الى قتل 99% في اليرقات المعاملة . يتضح ان فعالية منظم النمو Match تنخفض بتقدم عمر اليرقات عند الجرعة نفسها قد يعزى سبب تحقيق منظم النمو Match قتلاً سريعاً للاطوار اليرقية الثلاث الاولى وبطء تأثيره في الاطوار اليرقية المتقدمة في العمر (الرابع حتى السابع) الى ان منظم النمو كان عمله ابادياً وذات سمية عالية على الاطوار اليرقية الصغيرة وان تأثيره تثبيطياً في العمليات الفسلجية قبل الانسلاخ

داخل جسم الاطوار اليرقية المتقدمة في العمر حيث ان اليرقات تمتنع عن التغذية بعد المعاملة مباشرة فيما بدأت اليرقات بالموت خصوصاً بعد عملية الانسلاخ ، ففي دراسة مماثلة وجد **Charmillot** وجماعته (12) بأن معاملة يرقات حشرة عثة العنب ***Upoecilia ambiguella*** بمنظم النمو الحشري **Tebufenozide** بتركيز 20-30 جزءاً بالمليون قد سبب تقليلاً معنوياً في اعداد اليرقات في كل الاطوار اليرقية لكن كفاءته تنخفض باستمرار تقدم عمر اليرقة. كما بين **Chandler** (11) عند استعمال منظم النمو **RH-5992** ضد حشرة دودة ورق القطن ان اغلب منظمات النمو الحشرية تطول فيها مدة حدوث التأثير في الحشرات المستهدفة وان سبب الفعل السام لمثبط النمو الحشري المذكورة آنفاً بأنه يؤثر في عمليات الانسلاخ الطبيعي ليرقات حرشفية الاجنحة ويسبب الاضرار بهورمون الانسلاخ وان اليرقات المعاملة تمتنع عن التغذية بعد ساعات من التعرض لمنظم النمو بعدها تمر بانسلاخ غير ناجح ينتج عنه الموت.

ان الانخفاض الواضح في نسب القتل في الاطوار اليرقية جميعها عند المعاملة بالعزلة المحلية والمستحضر التجاري بالبكتريا على الرغم من وجود نسبة قتل واضحة في الاطوار اليرقية الثلاثة الاولى بعد يوم واحد من المعاملة قد يعزى ضرورة توفر الوقت الكافي لتغذية اليرقات ووصول البكتريا الى الجهاز الهضمي لليرقات واحداث تأثيرها السمي فضلاً عن ان اصابة اليرقات بالبكتريا تؤدي الى قلة التغذية وتأخير النمو. كما ان اليرقات المتقدمة في العمر تتميز بكبر حجمها وتحملها وحاجتها الى كميات كبيرة من الغذاء المعامل بالبكتريا للوصول الى الجرعة اللازمة لاحداث التسمم والقتل ، وفي هذا المجال توصل الزبيدي (4) عند استعماله المبيد الجرثومي **Bactospeine** ضد حشرة دودة ورق القطن الى ان نسبة القتل لكل عمر يرقي تزداد بزيادة الجرعة المستعملة من قبل اليرقة وان الحساسية تقل بتقدم العمر.

معدل المدة الزمنية لتحقيق قتل 100% في الاطوار اليرقية لدودة الشمع الكبرى جميعها في المعاملات المختلفة

اوضحت نتائج الدراسة الموضحة في جدول 3 ان الاطوار اليرقية الثلاثة الاولى كانت اكثر حساسية إتجاه المعاملات جميعها مقارنة ببقية الاطوار الاخرى. اذ تراوحت المدة اللازمة لتحقيق قتل 100% بين 1-2 يوم بعد المعاملة للاطوار الثلاثة الاولى لمعاملات المبيد **Avaunt150sc** والتداخلات بينه وبين البكتريا ومعاملة مثبط تكوين الكايتين **Match050EC** ولتحقيق نسبة القتل نفسها المذكورة آنفاً في الاطوار الثلاثة الاولى لمعاملتي البكتريا تراوحت المدة الزمنية بين 2-7 أيام، بعدها اخذت حساسية اليرقات تقل وتحملها يزداد في المعاملات جميعاً بتقدم عمر اليرقات.

اما الاطوار المتأخرة فقد ابدت حساسية اقل للمعاملات نفسها في آعلاه مما اطال المدد اللازمة للقتل، حيث كانت معاملة الخلط بين المبيد والمستحضر التجاري للبكتريا اسرع في احداث القتل من معاملة الخلط بين المبيد ومعلق البكتريا المحلية والسبب قد يكون في توفير المواد الحاملة في المستحضر الحماية اللازمة لسبورات البكتريا ضد سمية المبيد عكس سبورات البكتريا المحلية التي تأثرت لحد كبير بسمية المبيد **Avaunt150sc** مما انعكس سلبياً على فعاليتها. اما معاملة مثبط تكوين الكايتين **Match050EC** وحساسية الاطوار الثلاثة الاولى لهذه المعاملة وموت اليرقات جميعها بعد 24 ساعة من المعاملة وقبل حدوث عملية الانسلاخ عكس اليرقات في الاطوار المتقدمة التي حدث فيها الموت بعد عملية الانسلاخ حيث ان المدة الزمنية لتحقيق نسبة القتل 100% بلغت 7.75 ، 9.25 ، 18.5 و18.75 يوماً في ظروف المختبر للاطوار اليرقية الرابعة والخامسة والسادسة والسابعة على التوالي بسبب ان التأثير السمي لمثبط تكوين

جدول 3: المدة الزمنية (يوم) لتحقيق نسبة قتل 100% في اطوار يرقات دودة الشمع الكبرى عند المعاملات المختلفة تحت ظرفي المختبر والحاضنة عند درجة حرارة 30 ± 3 سيليزية ورطوبة نسبية 70 ± 5%

المعاملة	ظرف الدراسة	المدد الزمنية لموت الاطوار اليرقية لدودة الشمع الكبرى (يوم)						
		الطور الاول (يوم)	الطور الثاني (يوم)	الطور الثالث (يوم)	الطور الرابع (يوم)	الطور الخامس (يوم)	الطور السادس (يوم)	الطور السابع (يوم)
المستحضر التجاري للبكتريا B.t.	أ	6	3	7	31.5	25.0	19.0	28.0
	ب	5	4	6	21	22.75	18	24.25
العزلة المحلية للبكتريا B.t.	أ	3.5	3	3.75	9	22	18	27
	ب	2	2.75	3.25	9	17	14	25
مبيد Avaunt	أ	1	1	1.5	3	3	3	11.75
	ب	1	1	1.25	2.75	3	3.75	8.75
مبيد Avaunt + المستحضر التجاري	أ	1	1	1.75	4	7	4.75	2.75
	ب	1	1	1.50	5	5.25	4.5	3.0
مبيد Avaunt + عزلة محلية	أ	1	1	2	4.5	10.75	11.25	3.75
	ب	1	1	2	5.25	9	10.50	4.25
منظم النمو Match	أ	1	1	1	9.25	10.75	28.25	29
	ب	1	1	1	1.75	12.25	28.5	28.75
المقارنة	أ	0	0	0	0	0	0	0
	ب	0	0	0	0	0	0	0
اقل فرق معنوي 5%		0.24	0.49	0.63	2.23	1.26	1.26	1.99

أ = الحاضنة (درجة حرارة 30 ± 3 سليزية ورطوبة نسبية 70 ± 5%).

ب- ظروف المختبر الطبيعية (درجة حرارة الغرفة).

الكايتين على الاطوار الثلاثة الاولى فكان تأثيراً ابادياً اكثر من انه تأثيراً تثبيطياً، بينما انعكست الحالة في الاطوار المتقدمة حيث حدثت عملية الموت بعد عملية الانسلاخ الفاشلة او عملية الانسلاخ الجزئي وهذا يشابه ما توصل اليه Charmillot (13) ان عمل مثبط تكوين الكايتين Match بشكل رئيس يكون عن طريق تثبيط تصنيع الكايتين في الاطوار اليرقية المختلفة وتموت الحشرة عند الانسلاخ الذي يسبق تبادل منظم النمو او مع مسببه.

كما يلاحظ من جدول (3) ان معلق البكتريا المحلية كان اسرع من المستحضر التجاري في احداث القتل 100% وللاطوار اليرقية جميعها مما يعني ان المدة الزمنية للقضاء على اليرقات كلها كانت اقصر، والسبب يعود الى ان سلالة البكتريا الموجودة في معلق البكتريا المحلية معزولة من البيئة نفسها التي توجد بها الحشرات لذلك هي متكيفة اصلاً مع الظروف الجوية السائدة وتحدث الموت اذا ماتم اخذ الجرع الكافية منها وبنسب اقل من سلالة البكتريا الموجودة في المستحضر التجاري Certan لقتل تلك اليرقات. وفي المحصلة النهائية نلاحظ في كلتا المعاملتين انخفاض حساسية اليرقات اتجاه البكتريا بتقدم عمرها اليرقي وفي هذا المجال اشار الزيدي (3) الى انه كلما تقدم عمر اليرقات ازداد عدد خلايا الدم التي من خلالها تزداد عدد خلايا الدم الملتهمة المتجولة (السابحة في الدم) مثل خلايا الدم البلازمية صغيرة (دقيقة) النواة (Micro-plasmatocytes)، وخلايا الدم الحبيبية (Granular haemocytes)، والخلايا الدهنية (Adipohaemocytes)، وخلايا الدم النجمية (Podocytes) التي يعود لها جميعاً الفضل الاكبر في التهام الاجسام الغريبة التي تدخل الى داخل جسم اليرقات ومنها البكتريا، في حين ان يرقات الاطوار الاولى لم تكتمل اجهزتها

الدفاعية خاصة خلايا الدم المتكونة التي اغلبها تكون من النوع البدائي (Prohaematocytes) التي لا تشترك عادة في التهام البكتريا الداخلة الى تجويف جسمها.

وقد اوضحت نتائج الدراسة ان المعاملات المختلفة للبكتريا جميعها لم تؤثر في النشاط اليومي للملكة والشغالات ويرقات النحل فضلاً عن اجراء التحضين داخل الاطارات المعاملة كلها وتخزين العسل وحبوب اللقاح وان نمو وتطور يرقات النحل كان طبيعياً في الاطارات المعاملة بالبكتريا وباقي المعاملات. اما نتائج فحص العسل المخزون داخل العيون السداسية في الاطارات المعاملة بالبكتريا فقد اشارت نتائج الاختبارات الى عدم وجود سبورات وعدم حدوث نمو للبكتريا.

وفيما يخص نتائج تقويم التراكيز المختلفة من مبيد **Avaunt** على شغالات نحل العسل فقد اشارت الى ان الاطارات الشمعية المعاملة بتركيزي المبيد **0.2** و **0.3** مل / لتر ماء لم تؤثر في شغالات نحل العسل ونشاط الطوائف في حين سببت المعاملة بالتركيز **0.4** مل / لتر ماء موت افراد طائفة النحل جميعاً بعد **24** ساعة من المعاملة.

المصادر

1- الجوراني، رضا صكب (1991). تأثير مستخلصات نبات الاس (L.) ***Myrtus communis*** في حشرتي الخابرا ودودة الشمع الكبرى. اطروحة دكتوراه- كلية الزراعة- جامعة بغداد، العراق.

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

3- الزبيدي، حمزة كاظم. (1992). المقاومة الحيوية للافات. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق. 1992. **440** صفحة.

4- الزبيدي، عايد نعمة عويد (1987). تأثير المبيد البكتيري **Bactospeine** في ثلاثة حشرات حرشفية الاجنحة وتوافقه مع بعض المبيدات الكيميائية في البيوت المحمية. رسالة ماجستير- كلية الزراعة- جامعة بغداد، العراق.

5- الياسري، مهدي خلف. (1977). دراسة حياتية دودة الشمع الكبرى (L.) ***Galleria mellonella***. رسالة ماجستير- كلية الزراعة- جامعة بغداد، العراق.

6- داوي، حقي اسماعيل (2007). تقويم كفاءة بعض طرق المكافحة في السيطرة على دودة الشمع الكبرى (L.) ***Galleria mellonella*** وتأثيراتها في نحل العسل. رسالة ماجستير- كلية الزراعة – جامعة بغداد، العراق.

7- عبدالله، حسام الدين (1997). تأثير المبيد البكتيري **Thuricid-HP** بالتوافق مع المبيد البيروثيدي فابكوسيدين على عثة درنات البطاطا ***Rhthorimaea operculelle*** . مجلة التقني، 6 (24): 125-133.

8- محمد علي، جهينة ادريس. المكافحة الحيوية لدودة البنجر السكري (Hub.) ***Spodoptera exigua*** باستخدام بكتريا (Berl.) ***Bacillus thuringiensis*** . اطروحة دكتوراه- كلية الزراعة والغابات- جامعة الموصل، العراق. 2000. 172 صفحة.

9- **Bagdanov, S.; V. Kilchenmann; K. Seiler; H. Pfefferli; T. Frey; B. Roux; P. Wenk and J. Noser (2004). Residues of paradichtorobenzene in honey and bees wax. J. Apicultural Res., 43(1):14-16.**

10- Cantwell, G. and L.J. Smith (1970). Control of the greater wax moth *Galleria mellonella*. In honeycomb and combhoney. Amer. Bee. J., 110: 141.

11- Chandler, L.D.; S.D. Pair and W.E. Harison (1992). RH-5992, a new insect growth regulator active against corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entom. 85:1099-1103.

12- Charmillot, P.J.; R. Fever; D. Pasquier; M. Phyn and A. Scalco (1994). Effect of the wine moth *Lobesie botrane* and the grape moth *Eupoecilia ambiguella*. Bulletin DE LA societe Entomolgique Suisse. 67:393-402.

13- Doerr, M.D.; J.F. Brunner and L.E. Sehrader (2004). Integrated pest management approach for a new pest, *Lacanobia subjuncta* (Lepidoptera:Noctuidae), in Washington apple orchards. Pest Management Sci., 60 (10):1025-1034.

14- Galven, T.L.; R.L. Koch and W.D. Hutchison (2005). Effects of spinosad and Indoxacarb on survival, development and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera:Coccinellidae). Biological control 34 (1):108-114.

15- Govindarajan, R.; S. Tayaraj and K. Narayaha (1979). Mortality of tobacco caterpillar *Spodoptera littoralis* when treated with *Bacillus thuringiensis* combination with boric acid and insecticide. Phytoparasitica, 4(3):193-196.

16- Lacey, L.A. (1997). Biological techniques "Manual of techniques in insect pathology". academic Press. U.S.A. pp. 409.

17- McCann, S.F.; G.D. Annis; R. Shapiro; D.W. Piotrowski and K.D. Wing (2001). The discovery of Indoxacarb:Oxadiazines as a new class of pyrazoline – type insecticides. Pest Manag. Sci., 57 (2):153-164.

18- Philip, C. (1982). Certan a bacterial insecticide for control wax moth. Amer. Bee J., 122:200-201.

19- Quinn, P.H.; M.E. Carter; B.K. Markey and G.R. Carter (1997). Clinical veterinary microbiology. Mosby. Year Book. Europe Limited. England. Pp. 648.

20- SAS. (2004). SAS / STAT users Guide for personal computers. Release 7.0. SAS Institute Inc. Cary, NC., USA.

21- Szabo, I.T. and D. Heikel (1987). Fumigation with SO_2 to control wax moth in honey bee. Comb. Bee World, 68:37-38.

22- Warhurst, P. and R. Goebel (1995). The bee book, beekeeping in the warmer areas of Australia. State of Queensland, Department of primary industries. pp. 244.

23- Wing, K.D.; M.E. Schnee; M. Sacher and M. Connair (1998). Anovel oxadiazine insecticide is bioactivated in lepidopteran larvae. Arch. Insect Biochem Physiol. 37 : 91-103.

Iraqi J. Agric. (Special Issue) Vol.16 No.3 /2011

INTEGRATED CONTROL OF GREATER WAX MOTH LARVAE, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae)

R. F. Al-Jassany* H. I. Dawy**

ABSTRACT

The study was conducted to evaluate efficiency of bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner with commercial formulation Certan and local bacteria isolated from that infected larvae of the same insect above, Avaunt$_{150sc}$ insecticide and insect growth regulator Match50sc on larvae mortality of greater wax moth in laboratory condition during 2007.

The results of biochemistry tests was showed that the bacteria isolated from the larvae of the ailing nature of the greater wax moth is one of varieties bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner.

Also the results was showed that Avaunt alone and mixed with the bacteria causing 100% mortality in all larval instar but the last instar (4th to 7th instar) showed less sensitive compared with the first 3rd instar and a variety of local bacteria had been affected by Avaunt toxicity when mixed together while the bacteria in commercial formulation was not affect.

The treatment of Match was caused high mortality (100%) in all larval instar while the effect of this treatment that eradicant effect on 1st, 2nd and 3rd instar compare with inhibition effect on late instar (4th to 7th) which appeared less sensitive because of the death of larval instar accure after molting. The bacteria treatments in both (trade and local) was caused 100% mortality on all larval instar but the mortality was gradually and the larvae sensitive decrease as there age increase.

Part of M.Sc Thesis for the sconed auther.

* College of Agric.- Baghdad Univ. - Baghdad,Iraq.

** Directorate of Wast Agric.- Ministry of Agric.- Wast, Iraq.