تأثير الضغط الازموزي في بعض معايير نمو الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. وكفاءته كعامل حيوي في مكافحة حشرة من اللهانة *Brevicoryne brassicae* (L.)

حسين مكطوف ديوان* ابراهيم قدوري قدو** منى حمودي خماس**

الملخص

هدفت هذه الدراسة الى اختبار تاثير ستة مستويات من الضغط الازموزي (0.098 ، 0.509 ، 0.846 ، 1.587 ، 2.733 و3.420 ميكاباسكال) الناتجة من اضافة تراكيز متصاعدة من كلوريد الصوديوم 0.0%، 0.58%، 1.16%، 2.32%، 4.6%و5.8% على التوالي الى الوسط الزراعي السائل، كازائين–مستخلص حبوب الرز (CRM) في بعض معايير نمو الفطر *Beauveria bassiana* التي شملت (انتاج الابواغ والنسبة المئوية لحيويتها) بعد 1، 2، 3، 4، 8و16 يوماً من الحضانة عند درجة حرارة 28±1 س وفي قدرة الفطر على اصابة كاملات من اللهانة *Brevicoryne brassicae* بعد ثلاثة ايام من المعاملة. بينت النتائج ان الضغطين الازموزيين 2.733 و0.509 ميكاباسكال كانا الافضل لتبوغ الفطروبانتاجية بلغت (128.03×10^6بوغ/مل) مع المحافظة على حيوية الابواغ وبنسبة بلغت 94.5 % بعد 16و 3 ايام على التوالي،كما ان الضغوط الازموزية 1.587و2.733 و3.420 ميكاباسكال حققت أعلى نسبة في تطفل الفطربلغت 100% على بالغات من اللهانة بعد ثلاثة ايام من المعاملة، فيما كان الضغط الازموزي 0.098 ميكاباسكال اقل كفاءة في تبويغ الفطر وتراوح بين10^6x0.40–10^6×13.5 بوغ/مل طيلة المدد الخمس الاولى من الحضن وفي تحقيق نسبة موت بلغت 65.1% لبالغات من اللهانة، اما الضغط الازموزي 3.420 ميكاباسكال فقد ثبط من حيوية الفطر الى نسبة بلغت 14.7% بعد16 يوماً من الحضن.

المقدمة

تعد الظروف البيئية الخارجية للوسط الزرعي من حرارة والدالة الهايدروجينية والضغط الازموزي والايض الحيوي من بين اهم العوامل المحددة لنمو الكائنات الحية الدقيقة ومنها الفطريات Burges (2)، Ibrahim وجماعته Jenkins (8) وجماعته (9)، Raimbault (16)، ففيما يخص تأثير الضغط الازموزي في بعض معايير نمو فطريات المكافحة الاحيائية التي تصيب الحشرات فقد وجد Leland (13) أثناء دراسته ان لمستويات الضغط الازموزي المختلفة الناتجة من اضافة تراكيز مختلفة من مادة الكلايكول متعدد الاثيلين(Polyethylen glycol (PEG 200 الى الوسط الزرعي السائل medium VT المكون من

(4% waste browers yeast
4% Fructose ; 5%Lecithin;
4% L-ά phosphatidylcholine)

عمل مهم في تحديد معدل تبوغ الفطر *Metarhizium anisoplia*، وكمية البلاستوسبورات التي ينتجها في هذا الوسط.

جزء من اطروحة دكتوراه للباحث الاول.

* وزارة العلوم والتكنولوجيا–بغداد،العراق.

** كلية العلوم– جامعة بغداد– بغداد،العراق.

تكون معظم الفطريات غير قادرة على النمو في الاوساط الزرعية ذات الضغوط الازموزية العالية ومع ذلك توجد انواع اخرى من الفطريات تبدي تفاوتاً في نموها وتكون متحملة لتلك الضغوط الازموزية وتسمى بالفطريات الآلفة للضغوط الازموزية العالية **Osmophilic fungi** او قد تدعى الفطريات القادرة على النمو في تراكيز ملحية عالية بالفطريات آلفة الملوحة **Halophilic Fungi** او الفة الضغط الازموزي ساجدي وجماعته (1) **Fields** (3)، **Jenkins** وجماعته (9) **Lanotecker** (12)، ازموزيا. من الواضح ان اضافة الاملاح بتراكيز معينة الى الاوساط الزرعية سيحدد مدى وفرة او ندرة الماء الحر الذي بعمله يحدد الفعالية المائية (**water activity**) داخل هذه الاوساط وبالتالي يؤثر في سير النمو الفطري **Scott** (19)، اذ نوه **Lacey** (11) الى عمل الفعالية المائية والجهد المائي نتيجة اضافة بعض الاملاح والمواد الفعالة ازموزيا الى الاوساط الزرعية في نمو الفطريات الخيطية الممرضة للحشرات وتبوغها وانباتها، ووجد **Ibrahim** وجماعته (8) ان اضافة كلوريد البوتاسيوم بتراكيز عالية الى الوسط الزرعي **Sabouraud dextrose agar** قلل من نسبة انبات كونيدات ثلاث عزلات من الفطر ***M. anisopliae***. اجرى **Leland** (13) اختبار تاثير الضغوط الازموزية المختلفة في ضراوة الفطر ***M . anisopliae*** ضد الجراد الصحراوي ***Schistocerca gregaria*** من خلال معاملته بابواغ تم حصدها من مزارع فطرية ذات ضغوط ازموزية مختلفة منمى عليها الفطر المذكور سابقاً، وقد سبب ذلك اختلافات في نسبة موت تلك الافة وفقا لتلك الضغوط الازموزية، ومن ناحية اخرى قام **Kredies** وجماعته (10) بدراسة تاثير نوعين من الاملاح (كلوريد الصوديوم وكلوريد البوتاسيوم) ضمن اوساط زرعية مختلفة في نمو احدى سلالات الفطر ***Trichoderma harzianum*** (T66) وقابليتها في افراز عدد من الانزيمات ومنها انزيم **Exochitinase** وتوصلوا الى ان كمية الانزيمات **exochitinase** و**cellobiohydrolase** المفرزة من الفطر تزداد بازدياد الجهد المائي المتسبب عن اضافة تلك الاملاح الى الوسط الزرعي **yeast extract agar** وكانت مثالية عند الجهد المائي **0.296 MPa**-.

هدفت هذه الدراسة الى معرفة افضل مستوى من الضغط الازموزي قادر على جعل الفطر ***Beauveria bassiana*** باعلى معدل من التبوغ آخذين بنظر الاعتبار النسبة المئوية لحيوية الابواغ اثناء مدد الحضن المختلفة ومعرفة افضل مستوى من الضغط الازمزي يزيد من قابلية الفطر التطفلية.

المواد وطرائق البحث

تأثير مستوى الضغط الازموزي في معايير نمو الفطر *B .bassiana*

استخدمت في هذه الدراسة عزلة من الفطر ***Beauveria bassiana*** ماخوذة من كلية الزراعة– جامعة بغداد– قسم وقاية النبات.

لتقويم تأثير مستوى الضغط الازموزي في معايير نمو الفطر ***B. bassiana*** (إنتاج الأبواغ ونسبة الإنبات والوزن الجاف وحيوية الفطر) اتبعت طريقة **Leland** (13)، إذ تم تحضير ستة أوساط زرعية سائلة مختلفة الضغوط الازموزية وذلك بإضافة كميات متصاعدة من كلوريد الصوديوم إلى لتر من الوسط المزرعي السائل **CRM** الذي يتألف من 36.4غم مستخلص حبوب الرز + 2.2غم الكازائين + المحلول الملحي [(1غم) K_2HPO_4 و(0.5غم) $MgSO_4$ و(0.5 غم) KCl و(0.01 غم) $FeSO_4$ ولتر من الماء المقطر و(100 ppm) كلورومفنيكول]. ولاستخراج قيم الضغوط الازموزية المتكونة في الأوساط اعتمدت المعادلة الموصوفة في المصدر (Page، 1982) وكما يأتي:

يوضح جدول 1 الضغط الازموزي عند C° 25 (ds / m) ≅ 0.39 × σ اذ تمثل σ التوصيل الالكتروليتي (EC) .

جدول 1: الضغوط الازموزية المتصاعدة للوسط الزرعي مستخلص حبوب الرز وكازائين

الوسط الزرعي	الضغط الازموزي Mpa
CRM	0.098
CRM +% 0.58NaCl	0.509
CRM +% 1.16 NaCl	0.846
CRM +% 2.32 NaCl	1.587
CRM +% 4.6 NaCl	2.733
CRM +% 5.8 NaCl	3.420

إذ وزعت تلك الأوساط في قناني زجاجية مزودة بسدادات قطنية بمعدل 50 مل / قنينة وتم تعقيمها بجهاز الموصدة وبعد تبريدها لقحت في ظروف معقمة بمعلق الأبواغ (1.8×10^6 بوغ / مل) المحضر من مزرعة فطرية عمرها 14 يوماً بمعدل مل واحد / قنينة ومن ثم تم حضنها عند درجة حرارة 28 ± 1 س ولمدد حضن 1، 2، 3، 4 ،8 و16 يوماً. وبعد كل مدة حسبت معايير نمو الفطر وفقاً لطريقة Goettle وIngis الموصوفة في Lacey (11) وطريقة Leland (13).

تأثير مستوى الضغط الازموزي في ضراوة الفطر *B. bassiana*

ولاختبار أثر مستوى الضغط الازموزي في ضراوة الفطر *B. bassiana* على حشرة من اللهانة *B. brassicae*، تم تحضير عدد من معلقات الابواغ المائية (ذات تركيز 5.2×10^3 بوغ / مل ماء مقطر) من مزارع فطرية عمرها أربعة أيام وهذه المعلقات هي:

-W+sp. : الابواغ مستخلصة من مزرعة فطرية وسطها الزرعي CRM

- W+sp+NaCl %0.58: الابواغ مستخلصة من مزرعة فطرية وسطها الزرعي CRM + NaCl %0.58

- W+sp+NaCl %1.16: الابواغ مستخلصة من مزرعة فطرية وسطها الزرعي CRM + NaCl %1.16

- W+sp+NaCl %2.32: الابواغ مستخلصة من مزرعة فطرية وسطها الزرعي CRM + NaCl %2.32

- W+sp+NaCl %4.6: الابواغ مستخلصة من مزرعة فطرية وسطها الزرعي CRM + NaCl %4.6

- W+sp+Nacl %5.8: الابواغ مستخلصة من مزرعة فطرية وسطها الزرعي CRM + Nacl %5.8

-ماء مقطر فقط (كمعاملة سيطرة)

تمت تهيئة اطباق بتري مزودة بأوراق ترشيح مبللة وقطع من أوراق اللهانة ووضعت فيها بالغات من اللهانة *Brevicoryne brassicae* غير المجنحة بمعدل 20 بالغة / طبق وبواقع ثلاثة مكررات (اطباق)/معاملة. وباستعمال مجهر تشريح الحشرات، تمت معاملة كل طبق بطريقة غمر البالغات بقطرات من معلق الابواغ المحدد باستعمال محقنة معقمة Hall (5). كما تمت إضافة عدد من قطرات الماء المقطر المعقم على سطح كل ورقة نباتية لتوفير الرطوبة الملائمة لإحداث الإصابة الفطرية وبعد غلق الأطباق بأغطيتها المثقبة تركت في ظروف المختبر (27 –30 س) ولمدة ثلاثة أيام ثم تم تسجيل عدد الحشرات الحية والتحقق من الإصابة الفطرية بعزل الفطر من الحشرات الميتة واستخرجت فاعلية كل معلق وفقاً لمعادلة Henderson و Tilton (6) وكما يأتي :-

$$\text{فاعلية المستحضر\%} = 100 - \left(\frac{\text{عدد افراد الأفة بعد المعاملة} \times \text{عدد افراد الأفة في المقارنة قبل المعاملة}}{\text{عدد افراد الأفة قبل المعاملة} \times \text{عدد افراد الأفة في المقارنة بعد المعاملة}} \right) 1$$

النتائج والمناقشة

تأثير مستويات الضغط الأزموزي في معايير نمو الفطر *B . bassiana*

تأثير مستويات الضغط الازموزي في إنتاج الأبواغ للفطر *B. bassiana* في مدد تحضين مختلفة

أظهرت النتائج في جدول 2 حصول زيادة في معدل إنتاج الأبواغ بتقدم مدد الحضانة، كما أظهرت النتائج أن الزيادة الحاصلة في الضغوط الازموزية في الأوساط الزرعية السائلة نتيجة إضافة ملح كلوريد الصوديوم إلى الوسط CRM قد زاد من معدل هذا الإنتاج. سجل الفطر أعلى معدل من الإنتاج في الأوساط كافة في مدة الحضن الأخيرة (بعد 16 يوماً) وبفروق معنوية ($P< 0.05$) مقارنة بالمدد الأخرى وتمييز الوسط CRM + NaCl 4.6% لانه أفضل ($P> 0.05$) وسط لتحفيز الفطر *B. bassiana* في إنتاج أعلى كمية من الأبواغ التي بلغت 128.03×10^6 بوغ / مل يليه الوسط CRM+NaCl%5.8 بالدرجة الثانية الذي سجل معدل إنتاج 76.8×10^6 بوغ / مل، كما موضح في جدول 2. وقد وجد من خلال النتائج أن الوسط CRM + NaCl% 4.6 كان متفوقاً في تحفيز الفطر لإنتاج الأبواغ طيلة مدد الحضن الأربعة ابتداء من المدة الثالثة (بعد 3 أيام) وانتهاء بالمدة السادسة (بعد 16 يوماً) مقارنة بإنتاجيته في الأوساط الأقل تركيزاً التي بلغت 15.4 و32.7 41.7 و128.03×10^6 بوغ/مل.

من ناحية أخرى تفوقت المدة الأولى من التحضين في معدل إنتاج الفطر للأبواغ (بعد يوم واحد) في الوسط CRM + NaCl% 0.58 وCRM + Nacl %1.16 إذ بلغ معدل الإنتاج فيهما 0.8 و0.7×10^6 بوغ/مل، على التوالي. كما ازداد معدل إنتاج الفطر للأبواغ في الوسط الزرعي CRM + NaCl% 5.8 ابتداءً من المدة الرابعة من التحضين (بعد 4 أيام) حتى المدة الأخيرة التي بلغت 30.8 ،36.2 و76.8×10^6 بوغ/مل.

أوضحت بعض الدراسات السابقة وجود علاقة طردية ضمن الحدود الفسلجية بين الضغوط الازموزية والزيادة الحاصلة في تبوغ بعض الفطريات. إذ حقق الفطر *M. anisopliae* أعلى مستوى من إنتاج الأبواغ (12.3×10^8بوغ / مل) في الوسط ذو التركيز العالي 15% من الكلايكول متعدد الاثيلين (PEG 200) عند ضغط ازموزي mosm 2154 مقارنة بالأوساط الأقل تركيزاً وضغطاً ازموزياً Leland (13).

كما أكد Humphreys وجماعته (7) زيادة إنتاج البلاستوسبورات للفطريات *B.bassiana* و*M. anisopliae* و*P. farinosus* بعد رفع الضغط الازموزي بإضافة كميات متصاعدة من الكلايكول متعدد الاثيلين (PEG 200) إلى الوسط الزرعي السائل الذي يتألف من كلوكوز 10غم/لتر ومستخلص الخميرة 20 غم/لتر. في حين ذكر Safavi وجماعته (18) قلة عدد الأبواغ المنتجة من عزلات الفطر *B. bassiana* وعزلة للفطر *M. anisopliae.* بعد تنميتها في أوساط زرعية ذات ضغوط ازموزية عالية. كما اشار Muller وLoeffler (14) ان ايونات الصوديوم تؤدي عملاً رئيساً في التوازن (ballast substances) مع بقية الايونات اثناء عملية التبادل الايوني عبر جدار الخلية الفطرية ولكن وجودها بتراكيز عالية عند PH معين يمكن ان تجعل الفطريات تدخل مسارات حيوية ثانوية يتمخض عنها تكون نسب عالية من التراكيب التكاثرية الساكنة وفي حالات اخرى يتوقف النمو الفطري نهائياً.

تأثير مستويات الضغط الازموزي في حيوية الفطر *B. bassiana* في مدد حضانة مختلفة عند درجة حرارة 28 ± 1س

بينت النتائج في جدول 2 تدهور نسب حيوية الفطر *B. bassiana* في اليومين الأول والثاني بازدياد الضغوط الازموزية الناتجة من إضافة كميات متزايدة من ملح كلوريد الصوديوم في حين لوحظ أن هناك تبايناً في هذه

النسب في بقية الأيام. وبصورة عامة أظهرت النتائج تزايد حيوية الفطر بصورة مضطردة تقريباً في كل الأوساط ابتداءً من مدة الحضن الأولى ولغاية مدة الحضن الرابعة، كما لوحظ أن أفضل مدة استعاد بها الفطر حيويته بصورة شبه كاملة هي في المدة الرابعة من الحضن التي بلغت 84.0% في الوسط CRM و88.3% في الوسط CRM + Nacl% 0.58 و85.7% في الوسط CRM + Nacl %1.16 و81.9% في الوسط CRM + Nacl% 2.32 و73.0% في الوسط CRM + Nacl %4.6، جدول 2. وعلى الرغم من انخفاض نسبة حيوية الفطر (43.1%) في الوسط CRM + NaCl% 5.8 أدنى نسبة مقارنة بأقرانها في المدة نفسها غير أنها تعد متفوقة ($P< 0.05$) في بقية مدد الحضن، وبمعنى آخر أن مدة الحضن الرابعة كانت الخط الفاصل بين المدد التي شهد فيها الفطر انخفاضاً في حيويته سواءً ما بعد هذه المدة أم ما قبلها. مع ذلك في مدة الحضن الأخيرة فان الوسط CRM + NaCl%2.32 كان الفطر *B. bassiana* متفوقا في حيويته ($P< 0.05$) التي بلغت 67.6% في الوسط CRM + NaCl %0.58 و70.6% في الوسط CRM + Nacl %1.16 و74.3% في الوسط CRM + Nacl %2.32 مقارنة بحيويته 48.0% في الوسط CRM و42.2% في الوسط CRM + NaCl %4.6 و14.7% في الوسط CRM + NaCl %5.8.

تشير النتائج إلى ان هذا الفطر *B. bassiana* هو من الفطريات الآلفة للضغوط الازموزية العالية Osmophilic أو الآلفة للملوحة المركزة halophilic إلى حد التركيز 4.6% من كلوريد الصوديوم، إذ أبدى الفطر في أول مراحل نموه في فترتي التحضين الأولى والثانية قابلية تحمل الصدمة للضغوط الازموزية العالية والتراكيز العالية من ملح كلوريد الصوديوم حتى دخول مرحلة التطبع التي بدت واضحة في فترتي الحضن الثالثة والرابعة وهي المدد ذاتها التي بدأ فيها تزايد إنتاج الأبواغ الثانوية ذات التحمل العالي للضغوط الازموزية. ذكر Fields (3) أن كلوريد الصوديوم يظهر في المحاليل الملحية درجة معينة من الضغط الازموزي مما يؤثر في مستوى نمو الأحياء المجهرية، كما ذكر أن الأحياء المجهرية آلفة الضغوط الازموزية العالية تستطيع أن تنمو بصورة جيدة في بيئات عالية الضغط الازموزي أو واطئة النشاط المائي (a_w) وان سلالات من الفطر *Aspergillus niger* و*A. glaucus* وأنواع من الفطر *Penicillium* والخميرة *Saccharomyces rouxii* تستطيع أن تنمو في اوساط تملك 40، 50 و60% من المواد الصلبة القابلة للذوبان.

أما في التراكيز العالية من كلوريد الصوديوم في الأوساط CRM + NaCl %4.6 و CRM + NaCl %5.8 فأن نسب حيوية الفطر المنخفضة واستمرارها بذلك فأنها تدل على حدود ضيقة من قدرة الفطر في التطبع بسبب تراوح عدد الأبواغ الثانوية التي تبقى حية عند حدود معينة طيلة مدد التحضين، أي أن قسماً منها يقتل بسبب وطأة الظروف البيئية والتسمم وقسماً يبقى في حالة تطبع وإنتاج ثانوي. اذ ذكر Fields (3) وجود طرائق عديدة يستطيع كلوريد الصوديوم من خلالها التأثير في الأحياء المجهرية ويستطيع أيون الصوديوم الارتباط مع الأيونات السالبة البروتوبلازمية للخلية، وهكذا يصبح ذا تأثير سمي، وقد يرتبط أيون الكلوريد مع بروتوبلازم الخلية مسبباً موتها وقد يتعارض الملح مع أنظمة أنزيمية معينة، إذ يرسب التركيز العالي من الأملاح البروتينات Fields (3)، Fox وFoster (4). فيما ذكر Muller وLoeffler (14) ان تراكم ايونات الصوديوم ربما لا يسبب تعارضاً او اشكالاً في سير العمليات الايضية ما لم يكن هناك تغييرا في مستوى الدالة الهيدروجينية في الوسط الزرعي.

جدول 2: تأثير الضغط الأزموزي في معايير نمو الفطر *Beauveria bassiana*

الأوساط الزرعية	معيار النمو	مدة الحضن (يوم) المعدل± الانحراف المعياري					
		يوم واحد	يومين	ثلاثة ايام	اربعة ايام	ثمانية ايام	ستة عشر يوماً
CRM	إنتاج الأبواغ	0.088 ^{b} ± 0.40 C	0.433 ^{a} ± 3.60 C	0.461 ^{d} ± 4.50 C	8.50 ^{c} ± 1.558 C	13.50 ^{d} ± 1.309 B	23.80 ^{e} ± 2.107 A
	الحيوية%	88.2 ^{a} ± 2.11 A	87.4 ^{a} ± 3.86 A	76.4 ^{b}± 7.68 B	84.0 ^{a} ± 6.18 A	68.6 ^{b} ±4.79 B	48.0 ^{b}± 5.63 C
CRM+ NaCl% 0.58	إنتاج الأبواغ	0.80 ^{a} ± 0.01 C	0.906 ^{b}± 2.23 C	5.13 ^{c} ± 0.133 C	18.50 ^{b}± 1.386 B	21.90 ^{c} ± 2.271 B	3.467 d± 32.30 A
	الحيوية%	63.3 ^{b}± 3.45 B	53.0 ^{b}± 6.11 C	94.5 ^{a}±1.62 A	88.3 ^{a}± 1.65 A	69.3 ^{ab} ± 1.90 B	67.6 ^{a} ± 1.53 B
CRM + NaCl %1.16	إنتاج الأبواغ	0.70 ^{a} ± 0.057 E	0.90 ^{c} ± 0.088 E	5.90 ^{c} ± 0.519 D	21.63 ^{b}± 1.013 C	28.80b ^{c} ± 0.611 B	36.40 ^{cd}± 2.122 A
	الحيوية %	36.1 ^{c} ± 1.88 D	44.9 ^{b} ± 1.73 C	80.7 ^{b} ± 1.21 A	85.7 ^{a} ± 1.89 A	70.8 ^{ab} ± 3.54 B	70.6 ^{a} ± 3.66 B
CRM + NaCl% 2.32	إنتاج الأبواغ	0.43 ^{b} ± 0.033 D	0.60 ^{c} ± 0.100 D	5.90 ^{c} ± 0.519 D	24.80 ^{ab}±3.326 C	33.60 ^{b} ± 3.066 B	44.70 ^{c} ± 2.843 A
	الحيوية %	30.3 c_{d} ± 1.54 D	39.8 ^{b} ± 3.2 C	62.0 ^{c} ± 2.6 B	81.9 ^{a} ± 3.54 A	80.6 ^{a}± 2.26 A	74.3 ^{a} ± 0.78 A
CRM +NaCl %4.6	إنتاج الأبواغ	0.40 ^{b}± 0.088 E	0.40 ^{c}± 0.066 E	15.4 ^{b} ± 3.075 D	32.70 ^{a} ± 3.415 C	41.7 ^{a} ± 1.136 B	128.03 ^{a}± 5.130 A
	الحيوية %	28.0 ^{cd} ± 4.08 C	33.4 ^{bc} ± 2.91 BC	39.3 ^{d} ± 2.76 B	73.5 ^{b}± 3.3 A	37.1 ^{c} ±4.23 B	42.2 ^{b} ± 1.8 B
CRM +NaCl% 5.8	إنتاج الأبواغ	0.33 ^{b} ± 0.033 D	0.43 ^{c} ± 0.088 D	28.50 ^{a} ± 2.04 B	30.80 ^{a}± 4.62 B	36.20 ^{ab} ± 4.16 B	76.80 ^{b} 1.523 A
	الحيوية%	21.6 ^{d} ± 3.35 B	24.6 ^{c} ± 3.41 B	38.1 ^{d}± 1.40 A	43.1 ^{c}± 3.54 A	27.7 ^{c} ± 4.76 B	14.7 ^{c} ± 2.54 C

*القيم المتبوعة بالحروف المتشابهة لاتوجد بينها فروق معنوية (LSD , P≥0.05).

الحروف الصغيرة للمقارنة بين المعاملات ضمن العمود الواحد.

الحروف الكبيرة للمقارنة بين المعاملات ضمن الصف الواحد.

تأثير مستويات الضغط الازموزي في نسبة فاعلية الفطر *B. bassiana*

كشفت النتائج في جدول (3) عن وجود علاقة واضحة بين كفاءة الفطر ***B.bassiana*** في التطفل على حشرة من اللهانة ***B. brassicae*** وبين الضغوط الازموزية الناشئة في الوسط الزرعي CRM إذ حقق الفطر ***B. bassiana*** أعلى مستوى من التطفل (بدلالة نسبة موت الحشرات) على بالغات من اللهانة باستعمال المعلقات المائية التي ضمت ابواغاً للفطر المستخلصة من المزارع الفطرية ذات الضغوط الازموزية العالية، إذ بلغت فاعلية الفطر 100% في معلقات الابواغ W +sp . NaCl %2.32 و W +sp . NaCl %4.6 وW +sp و 5.8% W+ sp .Nacl، على التوالي. فيما انخفضت معنوياً فاعلية الفطر إلى مستوى أقل التي بلغت 89.2% و 65.1% وبفروق معنوية ($p< 0.05$) باستعمال معلقات الابواغ W + sp . NaCl %0.58 و W + sp ،على التوالي.

أن تزايد نسبة فاعلية الفطر باستعمال ابواغ مستخلصة من مزارع فطرية ذات ضغوط ازموزية متصاعدة يبعث على الاستنتاج بحصول تزايد في نسبة إنتاج البلاستوسبورات في ظل ظروف هذا الارتفاع المتوازي مع تزايد كمية كلوريد الصوديوم المضافة في الوسط الزرعي CRM وهذا يعني زيادة في عدد الوحدات اللقاحية الفعالة ذات الضراوة العالية ومن ثم فان وجودها بنسبة عالية في المعلقات المائية المحضرة سيزيد من احتمالية إصابة الحشرات بها. وتطابقت هذه النتيجة مع ما توصل إليه Leland (13)، إذ وجد أن بلاستوسبورات الفطر ***M.anisopliae*** تنتج بكمية أكبر في الوسط VTmedium + 10 % PEG مقارنة بالوسط VT medium، وعلى العكس من ذلك ذكر Ibrahim وجماعته (8) أن كونيدات الفطر ***M. anisopliae*** المستخلصة من المستعمرات الفطرية الناشئة على الوسط الزرعي SDAM المزود بكلوريد البوتاسيوم قد تسبب في ضعف تكون ونشوء عضو الاختراق للكونيدات الثابتة على جليد حشرتي الـ ***M. persicae*** و***Meligethes aeneus***. أما Rangel وجماعته (17) فقد ذكروا، إن كونيدات الفطر ***M. anisopliae*** المستخلصة من الوسط الزرعي آجار- دكستروز مستخلص البطاطا المزود بمستخلص الخميرة (PDAY) المضاف له 0.8 مولاريتي من كلوريد الصوديوم أو كلوريد البوتاسيوم كانت أشد ضراوة على يرقات حشرة ***Tenebrio molitor*** مقارنة بالكونيدات المستخلصة من الوسط نفسه ولكنه بتركيز ملحي أقل (0.6 مولاريتي).

جدول3: تأثير الضغط الازموزي في فاعلية الفطر ***B. bassiana*** بعد ثلاثة ايام من المعاملة على بالغات من اللهانة ***B. brassicae*** غير المجنحة في الظروف المختبرية

المستحضر الفطري	فاعلية المستحضر الفطري (%)
معاملة السيطرة (ماء فقط)	0.0 ± 0.0 *d
W + SP.**	65.1 ± 6.15 c
W+ SP.NaCl% 0.58	89.2 ± 2.82 b
W+SP. NaCl% 1.16	95.4 ± 1.03 ab
W+SP. NaCl% 2.32	100.0 ± 0.33 a
W+SP. NaCl% 4.6	100.0 ± 0.33 a
W+SP. NaCl% 5.8	100.0 ± 0.33 a

* القيم المتبوعة باحرف متشابهة لاتوجد بينها فروق معنوية ($P\geq0.05$).

**W= ماء و Sp= بوغ

المصادر

1- ساجدي، عادل جورج وعلاء يحيى محمد علي (1987). المايكروبايولوجي الصناعي. الجزء الأول، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة البصرة – كلية الزراعة – 552 صفحة.

2- Burges, H.D. (1998). Formulation of Microbial Biopsticides. Kluwer Academic publishers. London, U.K. 412pp.

3- Fields, M.L. (1982). Fundamentals of food Microbiology. Translated by Al. Rajab, W.J. and Al. Qazzaz, H.M. al. Mosul University. High Education and Scientific Research Ministry. 470 pp.

4- Fox, S. and J. S. Foster (1957). Introduction to protein chemistry. p.242.

5- Hall, R.A. (1980). Laboratory infection of insects by *Verticillium lecanii* strains isolated from phytopathogenic fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 74(2): 447-448 (Abstract).

6- Henderson,C.F. and E.W. Tilton (1955). Tests with acaricides against the brow wheat mite, J. Econ. Entomol. 48:157-161.

7- Humphreys, A.M.; P. Matewele and A.P.J. Trinci (1989). Effects of water activity on morphology, growth and blastospore production of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces farinosus* in batch and fed-batch culture. Mycol. Res., 92(3): 257-264.

8- Ibrahim, L.; T.M. Butt and P. Jenkinson (2002). Effect of artificial culture media on germination, growth, virulence and surface properties of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. Mycol. Res. 106.(6): 705-715. (Abstract).

9- Jenkins, N.E.; G. Heviefo; J. Langewald; A.J. Cherry and C.J. lower (1998). Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides . Biocontrol New and Information. No.1.21N-31N.

10- Kredics, L.; Z. Antal and L. Manczinger (2000). Influence of water potential on growth, enzyme secretion and vitro enzyme activities of *Trichoderma harzianum* at different temperatures. Curr. Microbiol. 40: 310-314 .

11- Lacey, A.L. (1997). Manual of techniques in insect pathology. Academic press, New yourk 410 pp.

12- Lanotecker, E. (1972). Fundmentals of the fungi (Ed.Carl. p.swanson). New yourk University prentice-hall, Inc. Englewood Cliffs, N.I.

13- Leland, J.E. (2001). Environmental-Stress Tolerant Formulations of *Metarhizium anisopliae* var. acridum for control of African Desert locust (*Schistocerca gregaria.)* Dissertation submitted to the Faculty of Virginia Polytechnic Institute and state University partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of philosophy. 173pp.

14- Müller, E. and W. Loeffler (1976). Mycology. Translated by Bryce Kendrick and Barlocher. Georg Thieme Publishers Stuttgart. 306pp.

15- Page, A.L. (1982). Methods of soil Analysis part2. Chemical and microbiological properties second Ed. Edited by (A.L. page). Amer. and Soc. of Agron. Inc.

16- Raimbault, M. (1998). General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Proc. Biotechnol. 1(3).

17- Rangel, D.E.N.; A.J. Anderson and D.W. Roberts (2008). Evaluation physical and nutritional stress during mycelia growth as inducers of tolerance to heat and UV-B radiation in *Metarhizium anisophae* conidia Mycol. Res., 112(11): 1362–1372. (Abstract).

18- Safavi, S.A.; F.A. Shah; A.K. Pakdel and G.R. Rasoulian (2007). Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. FEMS Microbiol. lett. 27(1):116-123.

19- Scott, W.J. (1957). Water relations of food spoilage microorganisms. Advances in Food Res., 7: 83-127.

EFFECT OF OSMOTIC PRESSURE ON SOME GROWTH PARAMETERS OF *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL.AND ITS BIOCONTROL EFFICIENCY AGAINST *Brevicoryne brassicae* (L.)

H.M. Diwan* I.Q. Qdu** M.H. Khemas**

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of six levels of osmotic pressure(Lops);0.098,0.509,0.846,1.587,2.733 and 3.420 MPa which resulted from addition of increasing concentrations of sodiumchloride;0.0%,0.58%,1.16 %,2.32%,4.6% and 5.8% respectively to the liquid medium;Casein-rice grains extract CRM on some growth parameters of *Beauveria bassiana* including sporulation, percent viability after 1,2,3,4,8 and 16 days of incubation at 28±1 C°and on infection ability of fungus against adults of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* after three days of treatment.The results showed that Lops;2.733 and 0.509 MPa were best for sporulation which was$128.03x10^6$ spore/ml, maintaining viability of fungus which reaveled 94.5% after 16 and 3 days of incubation, respectively. The Lops; 1.587,2.733 and 3.420 MPa were best for percent of mortality which was100% after 3days of treatment,while 0.098 MPa was less efficient for sporulation ($0.40-13.5x10^6$ spore/ml) during first five periods of incubation and mortality (65.1%) of *Brevicoryne brassicae* adults.The results also showed that 3.420 MPa inhibited viability of fungus to 14.7% after 16 day of incubation.

Part of ph.D thesis of the first author.

*Ministry of Sci. and Tech.- Baghdad, Iraq.

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