

تأثير معلق الفطر الممرض *Beauveria bassiana* في هلاك الاطوار اليرقية لخنافس الحبوب الشعرية (*Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae)

محمد مؤيد محمود¹ و عواد شعبان داود²

¹قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

²قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

هدفت هذه الدراسة الى إمكانية إيجاد وسيلة فعالة لحماية مخازن الحبوب من الإصابة بخنفساء الحبوب الشعرية (الخابرا) *Trogoderma granarium* من خلال اختبار كفاءة الفطر الممرض للحشرات *Beauveria bassiana*. اظهرت نتائج الدراسة ان معلق الفطر *B.bassiana* له تأثير لطريقة المعاملة وأن طريقة الرش المباشر كانت أكثر تأثيراً من طريقة تنقيع البذور من حيث التأثير في نسب الهلاك اذ سبب نسبة هلاك الطور اليرقي الاول 63.3% بعد مرور 9 أيام من المعاملة مقارنة بطريقة تنقيع البذور 33.3% عند التركيز 5×10^6 بوغ / مليلتر وأعطى التركيز 5×10^2 بوغ / مليلتر أقل نسبة هلاك اذ سبب نسبة هلاك الطور اليرقي الاول 26.6% مقارنة بطريقة تنقيع البذور في هلاك الطور اليرقي الأول 16.6% وبفروق معنوية واضحة للمجموعة الضابطة . وكان الطور اليرقي الخامس أقلها تأثيراً للمعلق الفطري اذ سبب نسبة هلاك بلغت 33.3% مقارنة بطريقة تنقيع البذور 16.6% عند التركيز 5×10^6 بوغ / مليلتر وأعطى التركيز 5×10^2 أقل نسبة هلاك اذ سبب نسبة هلاك الطور اليرقي الخامس 13.3% مقارنة بطريقة تنقيع البذور في هلاك الطور اليرقي الخامس 3.33%. و أظهرت نتائج الدراسة إلى عدم وجود تأثير للمعلق الفطري في نسبة الإنبات وأظهر الاختبار مقدرة الفطر *B.bassiana* على إنتاج إنزيم Chitinase .

المقدمة

فضلا عن الدراسات التي اشارة ان هذه الاحياء الدقيقة لا تنتج مواد سامة للنبات ، ولا تحدث تأثيرات سلبية في الوسط البيئي ، وليس لها قدرة تطفلية على الانسان والحيوان [4].

المواد وطرائق العمل

1- تربية الحشرة واعداد الوسط الغذائي

استخدمت في هذه الدراسة حشرة خنفساء الحبوب الشعرية (الخابرا) *Trogoderma granarium* (Khapra Coleoptera Dermestidae) وتم الحصول على هذه الحشرة من مختبر الدراسات العليا في كلية العلوم جامعة تكريت. وشخصت الحشرة في متحف التاريخ الطبيعي في بغداد وأُعيد Harris [15] كمرجع في تأكيد تشخيصها. ربيت خنفساء الحبوب الشعرية (الخابرا) في بيئة غذائية على حبوب الحنطة صنف (ابو غريب) وتم الحصول على الحنطة الغير معفورة من (مركز تكنولوجيا الحبوب) في محافظة صلاح الدين ، وتمت التربية في قفان سعة كل منها 250 مل، وجهزت بالغذاء الى ثلث حجمها، وغطيت بقماش المللم ، وضعت في حاضنة ذي درجة حرارة 30 ± 2 °م ورطوبة نسبية $70 \pm 5\%$ ضبطت باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم المشبع بالماء المقطر مع وجود جهاز لقياس الرطوبة وتركبت لمدة 3 اشهر في الحاضنة قبل اجراء التجارب عليها لتنتج عدة اجيال [5,8] .

2- تهيئة وتنمية مستعمرة الفطر *B. bassiana*

تم الحصول على مستعمرة الفطر *B. bassiana* BJH-12.53 من قسم وقاية نبات / كلية الزراعة / جامعة بغداد ، نميت المستعمرة في أطباق بتري نظيفة ومعقمة بجهاز المؤسدة Autoclave بحرارة 121°C وضغط جوي 1 جو (باوند/أنج²) ولمدة 15 دقيقة وتحتوي هذه

تعد الحبوب المخزونة من أهم مصادر الغذاء للإنسان كونها المصدر الرئيسي للبروتينات وغيرها من المواد الغذائية الأساسية لنمو الإنسان، وتحتل الحنطة المرتبة الأولى بين هذه الحبوب من حيث القيمة الغذائية وهي الغذاء الرئيسي لأكثر من 35% من سكان العالم ، إذ تؤمن أكثر من 25% من السرعات الحرارية للإنسان مقارنة مع بقية المحاصيل فضلاً عن احتوائها على البروتينات المهمة مثل الكلووتين الذي يدخل في صناعة العديد من المنتجات الغذائية الرئيسية.

ولوحظ ارتفاع معدل استهلاك الحنطة في العالم سنوياً بمقدار 5% ومن المتوقع أن يرتفع معدل الطلب على الحنطة الى أكثر من 40% مما هو عليه الآن مع مطلع عام 2020 [19]. وتعد خنفساء الحبوب الشعرية (الخابرا) *Trogoderma granarium* (Everts) من أهم الآفات التي تصيب الحنطة بنسبة عالية وصنفت ضمن المائة نوع الأخطر من الحشرات في العالم [13، 23 و 21]. الدور الضار للحشرة هو الدور اليرقي وهو أطول ادوار حياتها وشرهه جدا وكمعدل تستهلك البرقة الواحدة 18 ملغم من الحبوب يومياً مخلفة 14.4 ملغم من الغبار وجلود الانسلاخ والشعيرات الجلدية والبراز الذي يتلف ويقلل المحصول فضلاً عن إصابة العاملين في المخازن بالتهابات الأغشية المخاطية وتقليل نسبة إنبات البذور المعدة كتقاوي للزراعة [12، 24]. ان الحاجة الى بدائل تتميز بالفاعلية وقلة السمية ورخص الثمن وعدم الاضرار بالبيئة قد شجع العديد من المختصين في مجال مكافحة آفات المخازن في انحاء العالم الى استخدام العوامل الحيوية والتي أثبتت نجاحا جيدا في السيطرة على العديد من الآفات. وبهذا الصدد يعد الفطر *B. bassiana* من اهم عناصر مكافحة الحيوية ، لما يمتاز به من ميكانيكيات متعددة في السيطرة على الآفات الحشرية .

الرش المباشر للمعلق بواسطة مرشة يدوية سعة 20 مل معقمة بحيث يتوزع المعلق الفطري بالتساوي على كامل الطبق بعد ذلك حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30°م ورطوبة نسبية 70 ± 5% وحسبت نسبة القتل بعد (1، 3، 6، 9) يوم [10]، صححت النتائج بحسب معادلة Orell و Schneider المذكورة في [9].

$$\text{نسبة القتل} = \frac{\text{نسبة الموت في المعاملة} - \text{نسبة الموت في المقارنة}}{100 - \text{نسبة الموت في المقارنة}} \times 100$$

6- دراسة التأثير غير المباشر (تتبع البذور) للمعلق الفطري في يرقات خنفساء الحبوب الشعرية

اجريت هذه الدراسة كما ورد في الفقرة (5) باستعمال ثلاث تخافيف من الفطر. وضعت البذور في 10 مل من كل تخفيف فطري لمدة عشرة دقائق لضمان التصاق الابواغ الفطرية على سطح البذور مع استعمال الماء المقطر المعقم فقط في معاملة السيطرة. وضعت البذور في اطباق بلاستيكية بارتفاع 1.5 سم و قطر 9 سم حيث وضعت 10 بذور و 10 يرقات من الطور (الاول، الثالث، الخامس) في كل طبق و بثلاثة مكررات لكل تخفيف. حضنت الاطباق بطروف الحضان السابقة. وحسبت نسبة القتل بعد (1، 3، 6، 9) أيام من المعاملة وصحت النتائج بحسب معادلة Orell و Schneider المذكورة في [9].

7- دراسة تأثير المعلق في النسبة المئوية لإنبات حبوب الحنطة أجريت التجربة لمعرفة تأثير استخدام المعلق الفطرية في نسبة إنبات بذور الحنطة، وضعت 20 حبة حنطة في طبق بتري بقطر 9 سم بثلاث مكررات لكل معاملة (ثلاث تراكيز معلق فطري) مع معاملة المقارنة التي تركت بدون معاملة وقد تم نفع حبوب الحنطة لمدة 10 دقائق بمحاليل المعاملات المذكورة أعلاه وتركزت لتجف ثم استخدمت في التجربة وتم حساب نسبة الإنبات بعد 5 أيام وباستخدام المعادلة المذكورة في [9].

8- دراسة النشاط الانزيمي لعزلة الفطر *B. bassiana*

اجري هذا الاختبار لغرض اختيار قدرة عزلة الفطر *B. bassiana* على إنتاج انزيم الكايتيناز Chitinase وذلك على اوساط الزرع الصلب الخاص بالكشف عن فعالية العزلة في انتاج الانزيم. أخذ قرص بقطر 0.6 سم من مزارع نقية للعزلة النامية على الوسط PDA (Potato dextrose agar) ونقل لأطباق الاوساط الزرعية الخاصة بالاختبارات الانزيمية ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 ± 2 بعد 7 أيام من الحضان تم الكشف عن فعالية العزلة في انتاج الانزيمات المختلفة [2].

9- الكشف عن إنزيم الكايتيناز

حضر الوسط المستخدم في الكشف عن إنزيم الكايتيناز وذلك باستخدام الوسط الموصوف من قبل Camplell and William [14]، المتكون من 500 مل محلول الأملاح المعدنية.

الأطباق على الوسط الزرعي (Sabourauds Dextrose Agar) SDA مع مضاد حيوي Chloramphenicol بمقدار 250 ملغم/لتر لمنع النمو البكتيري [26]. وضعت الأطباق في حاضنة بدرجة حرارة 25 ± 1 ورطوبة نسبية 70-80% لمدة 10-12 يوم [16].

3- طريقة تحضير التخافيف الفطرية

حضر المعلق الفطري Spore suspension باستخدام طبق بتري حاوي على مستعمرة الفطر النامية وأضيف إليه 5 مليلتر ماء مقطر معقم مضافاً له محلول Tween 80 0.05 %، حصدت بعدها الكونيديات بواسطة (Loop) ومزجت الكونيديات مع الماء المقطر جيداً رشت بعدد محتويات طبق البتري بقطعة من قماش الشاش المعقمة المثبتة على قمع زجاجي معقم موضوع على دورق مخروطي معقم سعة 50 مليلتر، ولضمان نزول جميع الكونيديات أضيف 5 مل من الماء المقطر المعقم على جوانب قطعة الشاش. اخذت بعد ذلك خمسة انابيب اختبار معقمة ومعلمة من 1-5 يحتوي كل انبوب على 9 مل من الماء المقطر المعقم، وسحب واحد مل من العالق البوغي بواسطة Micropipette واضيفت إلى الانبوبة رقم واحد ليصبح التركيز 10⁶. سحب 1 مليلتر من الانبوبة رقم 1 واضيف إلى الانبوبة رقم 2 فأصبح التركيز 10⁵ وهكذا وصولاً إلى التركيز 10² وحفظت الانابيب في الثلاجة لحين الاستخدام [17].

4- حساب عدد السبورات للمعلق الفطري لفطر *B. bassiana*

حسب عدد السبورات للمعلق الفطري على وفق ما جاء في [20, 25] و [18] باستخدام شريحة عد الخلايا (Hemocytometer) Number counting chamber وذلك بوضع قطرة على هذه الشريحة من المحلول الاساس مع وضع غطاء الشريحة وحساب عدد السبورات الموجودة في كل مربع عند قوة تكبير 40× حسب المعادلة التالية :

$$\text{نسبة الانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100 \%$$

$$\text{Number of Spores} = \frac{N}{80} \times 10^6 \times 10$$

إذ أن N: عدد السبورات الموجودة في المربعات

80: مجموع المربعات الخمسة.

10⁶: معامل تصحيح التخفيف.

10 : معامل تصحيح الحجم.

5- دراسة تأثير عوامل المقاومة الحيوية للفطر *B. bassiana* في

الاطوار البرقية لحشرة خنفساء الحبوب الشعرية

أخذت أعداد من يرقات الخابرا للأعمار البرقية (الاول، الثالث، الخامس) ووزعت على أطباق بتري قطر 9 سم تحتوي على ورق ترشيح نوع Whatman No.1 معقم بواقع 10 يرقات لكل طبق بثلاث مكررات ولكل طور يرقي. اجريت هذه التجربة بثلاثة تراكيز للمعلق الفطري (5 × 10⁶ و 5 × 10⁴ و 5 × 10²) بوع/مليلتر اضافة لمعاملة المقارنة التي رشت بالماء المقطر المعقم، استخدمت طريقة

بينت نتائج التجربة جدول (1) مدى تأثير معلق الفطر *B.bassiana* على يرقات الطور الأول للخابرا بطريقة الرش المباشر التي ظهر فيها تفوق التركيز 10×5^6 بوغ/مل في إحداث نسبة هلاك عالية بلغت 63.3 % وبفروق معنوية عن التركيزين 10×5^2 و 10×5^4 بوغ/مل اللذين بلغ معدل نسبة القتل فيهما 26.2 و 36.6 % على التوالي إما بالنسبة لطريقة تتقيع البذور التي فيها تفوق التركيز 10×5^6 بوغ/مل في إحداث نسبة هلاك عالية بلغت 33.3 % وبفروق معنوية عن التركيزين 10×5^2 و 10×5^4 بوغ/مل اللذين بلغ معدل نسبة القتل فيهما 16.6 و 23.3 % على التوالي مع وجود فروق معنوية عن المجموعة الضابطة والتركيز المستخدمة في التجربة .

أما بالنسبة لطريقة المعاملة أظهرت النتائج أن طريقة الرش المباشر كانت أكثر تأثيراً من طريقة تتقيع البذور ، أن أعلى معدل نسبة الهلاك بطريقة الرش المباشر ليرقات الطور الأول حدث بعد مرور 9 أيام من المعاملة إذ بلغ 51.16 % وبفروق معنوية واضحة عن الفترات 1 و 3 و 6 أيام كما ظهرت فروق معنوية بين الفترات أعلاه وإن اقل معدل نسبة قتل جاء بعد 1 يوم إذ بلغ 3.33 % . إما بالنسبة لطريقة تتقيع البذور فإن أعلى معدل لنسبة هلاك يرقات الطور الأول حدث بعد مرور 9 أيام من المعاملة إذ بلغ 24.4 % وبفروق معنوية واضحة عن الفترات 1 و 3 و 6 أيام كما أظهرت فروق معنوية بين الفترات أعلاه وإن اقل معدل نسبة قتل جاء بعد 1 يوم إذ بلغ 0.00 % فضلاً عن وجود فروق معنوية عن معاملة المقارنة .

كبريتات الامونيوم	$(NH_4)_2SO_4$	2غم/لتر
ثنائي هيدروجين فوسفات البوتاسيوم	HH_2PO_4	4غم/لتر
أحادي هيدروجين فوسفات الصوديوم	Na_2HPO_4	6غم/لتر
كبريتات الحديد المائية	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2غم/لتر
كلوريد الكالسيوم	$CaCl_2$	1ملغم/لتر
حامض البوريك	H_2BO_3	15 مايكروغرام/لتر
كبريتات المنغنيز	$MnSO_4$	10 مايكروغرام/لتر
كبريتات الزنك	$ZnSO_4$	70 مايكروغرام/لتر
كبريتات النحاس	$CuSO_4$	10 مايكروغرام/لتر
اوكسيد المولبديوم	MOO_3	10 مايكروغرام/لتر

ثم يضاف إليه (500) مل من المحلول المكون من

أكار	Agar	15 غم/لتر
مستخلص الخميرة	Yeast extract	0.2 %
كاينين نقي	Portified chitin	2.4 %

يضاف المحلول الأول الى المحلول الثاني ويخلطان جيداً باستعمال قضيب زجاجي، عقم المحلول النهائي بجهاز الموصدة وصب الوسط في أطباق بتري قطر 9 سم ولقح كل طبق بقرص 0.5 سم من مزرعة فطرية بعمر 7 أيام وحضنت الإطباق في درجة حرارة 25[°] لمدة 7 أيام فعند تكون منطقة معتمدة حول المستعمرة الفطرية دلت على إنتاج إنزيم الكابتينيز .

النتائج والمناقشة

المعاملة	التركيز	% نسبة القتل / يوم				معدل تأثير المعاملة
		1	3	6	9	
الرش المباشر	10×5^6	6.66	23.3	43.3	63.3	34.14 A
	10×5^4	3.33	13.3	26.6	36.6	19.95 B
	10×5^2	0.00	6.66	16.6	26.6	12.46 C
تتقيع البذور	10×5^6	0.00	10.0	26.6	33.3	17.47 B
	10×5^4	0.00	3.33	16.6	23.3	10.80 C
	10×5^2	0.00	0.00	10.0	16.6	6.65 D
المجموعة الضابطة						
		0.00 e	0.00 e	0.00 e	0.00 e	0.00 C
معدل تأثير الزمن	الرش المباشر	3.33 e	14.42 d	28.83 b	51.16 a	
	تتقيع البذور	0.00 e	1.11 e	17.73 d	24.4 c	

جدول (1) دراسة تأثير المعلق الفطري *Beauveria bassiana* في هلاك الطور اليرقي الأول لخنافس الحبوب الشعيرية

بينت النتائج جدول (2) مدى تأثير معلق الفطر *B.bassiana* على يرقات الطور الثالث للخابرا بطريقة الرش المباشر التي ظهر فيها تفوق التركيز 10×5^6 بوغ/مل في إحداث نسبة هلاك عالية بلغت 43.3 % وبفروق معنوية عن التركيزين 10×5^2 و 10×5^4 بوغ/مل اللذين بلغ معدل نسبة القتل فيهما 26.6 و 33.3 % على التوالي إما بالنسبة لطريقة تتقيع البذور التي فيها تفوق التركيز 10×5^6 بوغ/مل

بينت النتائج جدول (2) مدى تأثير معلق الفطر *B.bassiana* على يرقات الطور الثالث للخابرا بطريقة الرش المباشر التي ظهر فيها تفوق التركيز 10×5^6 بوغ/مل في إحداث نسبة هلاك عالية بلغت 43.3 % وبفروق معنوية عن التركيزين 10×5^2 و 10×5^4 بوغ/مل اللذين بلغ معدل نسبة القتل فيهما 26.6 و 33.3 % على التوالي إما بالنسبة لطريقة تتقيع البذور التي فيها تفوق التركيز 10×5^6 بوغ/مل

1 و 3 و 6 أيام كما ظهرت فروق معنوية بين الفترات أعلاه وان اقل معدل نسبة قتل جاء بعد 1 يوم إذ بلغ 1.11%. إما بالنسبة لطريقة تتقيع البذور فإن أعلى معدل لنسبة هلاك يرقات الطور الأول حدث بعد مرور 9 أيام من المعاملة إذ بلغ 19.96% وبفروق معنوية واضحة عن الفترات 1 و 3 و 6 أيام كما أظهرت فروق معنوية بين الفترات أعلاه وان اقل معدل نسبة قتل جاء بعد 1 يوم إذ بلغ 0.00% فضلاً عن وجود فروق معنوية عن معاملة المقارنة

في إحداث نسبة هلاك عالية بلغت 26.6% وبفروق معنوية عن التركيزين 5×10^2 و 5×10^4 بوغ/مل اللذين بلغ معدل نسبة القتل فيهما 13.3 و 20.0% على التوالي مع وجود فروق معنوية عن المجموعة الضابطة والتراكيز المستخدمة في التجربة . أما بالنسبة لطريقة المعاملة أظهرت النتائج أن طريقة الرش المباشر كانت أكثر تأثيراً من طريقة تتقيع البذور ، أن أعلى معدل نسبة الهلاك بطريقة الرش المباشر ليرقات الطور الأول حدث بعد مرور 9 أيام من المعاملة إذ بلغ 34.4% وبفروق معنوية واضحة عن الفترات

المعاملة	% نسبة القتل / يوم						معدل تأثير المعاملة
	التركيز	1	3	6	9	معدل تأثير التركيز	
الرش المباشر	5×10^6	3.33	16.6	36.6	43.3	24.95 A	17.74 A
	5×10^4	0.00	6.66	26.6	33.3	16.64 B	
	5×10^2	0.00	3.33	16.6	26.6	11.63 C	
تتقيع البذور	5×10^6	0.00	6.66	16.6	26.6	12.46 C	8.59 B
	5×10^4	0.00	0.00	13.3	20.0	8.32 D	
	5×10^2	0.00	0.00	6.66	13.3	4.99 E	
المجموعة الضابطة							0.00 C
معدل تأثير الزمن	الرش المباشر	1.11 f	8.86 e	26.6 b	34.4 a		
	تتقيع البذور	0.00 f	2.22 f	12.18 d	19.96 c		

جدول (2) دراسة تأثير المعلق الفطري *Beauveria bassiana* في هلاك الطور اليرقي الثالث لخنفساء الحبوب الشعرية

أما بالنسبة لطريقة المعاملة أظهرت النتائج أن طريقة الرش المباشر كانت أكثر تأثيراً من طريقة تتقيع البذور ، أن أعلى معدل لنسبة هلاك بطريقة الرش المباشر ليرقات الطور الأول حدث بعد مرور 9 أيام من المعاملة إذ بلغ 23.3% وبفروق معنوية واضحة عن الفترات 1 و 3 و 6 أيام كما ظهرت فروق معنوية بين الفترات أعلاه وان اقل معدل نسبة قتل جاء بعد 1 يوم إذ بلغ 0.00%. إما بالنسبة لطريقة تتقيع البذور فإن أعلى معدل لنسبة هلاك يرقات الطور الأول حدث بعد مرور 9 أيام من المعاملة إذ بلغ 13.33% وبفروق معنوية واضحة عن الفترات 1 و 3 و 6 أيام كما أظهرت فروق معنوية بين الفترات أعلاه وان اقل معدل نسبة قتل جاء بعد 1 يوم إذ بلغ 0.00% فضلاً عن وجود فروق معنوية عن معاملة المقارنة .

بينت النتائج جدول (3) مدى تأثير معلق الفطر *B.bassiana* على يرقات الطور الثالث للخابرا بطريقة الرش المباشر التي ظهر فيها تفوق التركيز 5×10^6 بوغ/مل في إحداث نسبة هلاك عالية بلغت 33.3% وبفروق معنوية عن التركيزين 5×10^2 و 5×10^4 بوغ/مل اللذين بلغ معدل نسبة القتل فيهما 13.3 و 23.3% على التوالي إما بالنسبة لطريقة تتقيع البذور التي فيها تفوق التركيز 5×10^6 بوغ/مل في إحداث نسبة هلاك عالية بلغت 16.6% وبفروق معنوية عن التركيزين 5×10^2 و 5×10^4 بوغ/مل اللذين بلغ معدل نسبة القتل فيهما 3.33 و 10.0% على التوالي مع وجود فروق معنوية عن المجموعة الضابطة والتراكيز المستخدمة في التجربة .

جدول (3) دراسة تأثير المعلق الفطري *Beauveria bassiana* في هلاك الطور اليرقي الخامس لخنفساء الحبوب الشعيرية

المعاملة	التركيز	% نسبة القتل / يوم				معدل تأثير الزمن
		9	6	3	1	
الرش المباشر	10.81 A	33.3	23.3	10.0	0.00	10×5^6
	10.80 B	23.3	16.6	3.33	0.00	10×5^4
	4.99 C	13.3	6.66	0.00	0.00	10×5^2
تنقيع البذور	5.81 C	16.6	6.66	0.00	0.00	10×5^6
	3.33 C	10.0	3.33	0.00	0.00	10×5^4
	0.83 D	3.33	0.00	0.00	0.00	10×5^2
0.00 C	0.00 D	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	المجموعة الضابطة
		23.3 a	15.52 b	4.44 c	0.00 d	الرش المباشر
		13.33 b	1.11 d	0.00 d	0.00 d	تنقيع البذور

وهذا يتفق مع معظم الباحثين الذين استخدموا الفطر *B.bassiana* في مكافحة الحشرات فقد ذكر [1] أن لزيادة تركيز المعلق الفطري دوراً هاماً في زيادة معدلات القتل كذلك إطالة مدة تعرض الحشرة الى جراثيم الفطر يؤدي الى زيادة في معدلات قتل الحشرات وقد يعزى السبب في ذلك الى قابلية الفطر على إنتاج كميات كافية من الإنزيمات التي لها القدرة على تحليل جدار جسم الحشرة إذ عد هذه المرحلة أساسية في إحداث الإصابة ومن ثم استنزاف محتويات جسم الحشرة وقتلها، وان لزيادة عدد السبورات الفطرية يزيد من فرص الإصابة وإحداث الإصابة وبالتالي عدم مقدرة الحشرة على صد هجوم الفطر عليها فتزداد فرص أمراضيتها وقتلها، كما أن طول المدة الزمنية تعمل على إتاحة الوقت الكافي لسبورات الفطر من الإنبات وإحداث الأمراض كما تمكنها من التغلغل وإحداث المرض [27].



شكل (1) تأثير الفطر *B.bassiana* في يرقات الطور الثالث الخابرا ، من اليمين يرقة الخابرا سليمة ومن اليسار يرقة مصابة بالفطر *B.bassiana* (قوة التكبير 2 x)

وذكر ان هنالك اختلاف في المدة التي يحتاجها الفطر الى قتل أفراد الآفة كافة وهذا يعتمد على مجمل عوامل أهمها هو طبيعة التركيب الفيزيائي للجدار الخارجي للآفة إذ نلاحظ أن الحشرات التي تمتاز بطبيعة جدار صلبة كالحشرات التي تعود الى غمدية الأجنحة (Coleoptera) يحتاج الفطر فيها الى وقت طويل للوصول الى نسبة موت 100% أما الحشرات التي لها جدار اقل صلابة كالتي تعود الى

يتضح من النتائج السابقة أن هناك تأثيراً إيجابياً لاستعمال معلق الفطر *B.bassiana* في خفض أعداد يرقات الخابرا ولجميع الأطوار اليرقية قيد الدراسة كما بينت الدراسة أن اليرقات حديثة الفقس كانت أكثر حساسية من اليرقات المتقدمة بالعمر وان حساسية اليرقات تنخفض بتقدم العمر وقد يعود السبب الى صلابة جدار جسم اليرقات المتقدمة في العمر إذ أن اليرقات الحديثة يكون جدار جسمها اقل صلابة من اليرقات المتقدمة في العمر وان زيادة صلابة جدار جسم الحشرة يؤدي الى ضعف اختراق الفطر لها [11]. وجد من أن هناك علاقة عكسية بين نسبة الهلاك وتقدم عمر حشرة حفار ساق الذرة الأوربي *Ostrinia nubilalis* عند معاملته بالفطر *B.bassiana* وقد اشار الى انه بتقدم عمر الحشرة تزداد صلابة جدار جسمها مما يؤدي الى ضعف اختراق الفطر له [28].

كما بينت النتائج أن كفاءة المعلق الفطري تزداد بإحداث القتل كلما زاد التركيز ففي بحث الجبوري [6] بين أن للتركيز دوراً مهماً في زيادة النسب المئوية للهلاك حيث وجد أن هناك علاقة طردية ما بين تركيز الابواغ ونسب الهلاك إذ كلما ازداد تركيز المعلق الفطري ارتفع معدل هلاك اليرقات وفسر الباحث هذه الحالة بأنها تعود الى زيادة الوحدات الفعالة من الفطر (الابواغ) بزيادة تركيز المبيد (المعلق) الحيوي المستعمل.

كما أكدت النتائج التي حصلت عليها من هذه الدراسة أن فعالية الإصابة بالفطر *B.bassiana* ترتفع كلما طالت الفترة ما بعد المعاملة وقد يعود السبب في ذلك الى أن إنبات كونيديات الفطر يحتاج الى وقت كذلك اختراق الخيوط الفطرية لجدار الحشرة يتعاضد بمرور الوقت لذلك فان نسب القتل وهلاك الحشرات تزداد بعد مرور عدة أيام على معاملة الحشرة، أي أن الفترة الزمنية ما بعد المعاملة لها دور مهم جداً في مكافحة الإحيائية حيث تتناسب طردياً مع نسب هلاك اليرقات عند توفر الظروف الملائمة [22].

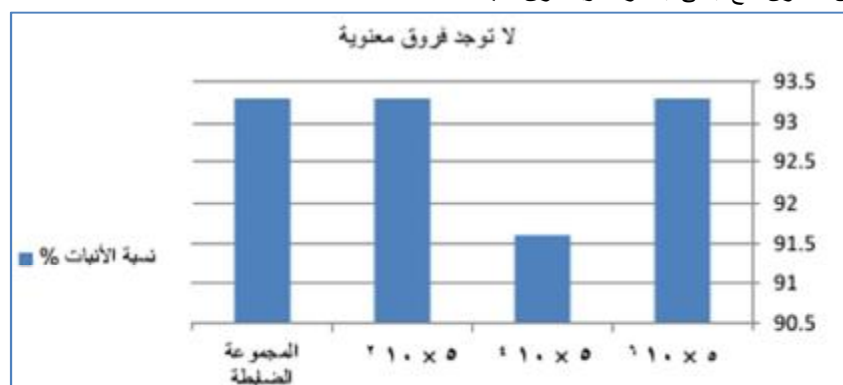
وعليه فإن لزيادة التركيز وطول فترة التعرض للفطر دوراً هاماً وأساسياً في الحصول على نتائج إيجابية ونسب هلاك عالية ليرقات الخابرا

الفطر جدار جسم العائل تظهر بقع داكنة سوداء نتيجة ترسيب مادة الميلانين عند مواقع اختراق الهيفات وتدخل اليرقة إثناء المراحل المتأخرة للإصابة في إغفاء يعقبها الموت ويظهر جسم العائل موميائياً هشاً وممتلئاً بالنمو الجرثومي للفطر [3].

تأثير المعلق الفطري *B.bassiana* في نسبة إنبات بذور

الحنطة

تشير نتائج في شكل (2) الى عدم وجود تأثير للمعلق الفطري *B.bassiana* على نسبة إنبات بذور الحنطة وكانت النتائج مقارنة لنسبة الإنبات في معاملة المقارنة مع عدم ظهور فروق معنوية بين المعاملات ومعاملة المقارنة. وهذا يؤكد إمكانية استخدام هذه المعلق الفطري في مكافحة حشرة الخابرا التي تستهدف بذور الحنطة بشكل رئيسي دون التأثير في نسبة إنبات البذور خصوصاً إذ ما استخدمت هذه البذور كنتقاوي للزراعة.

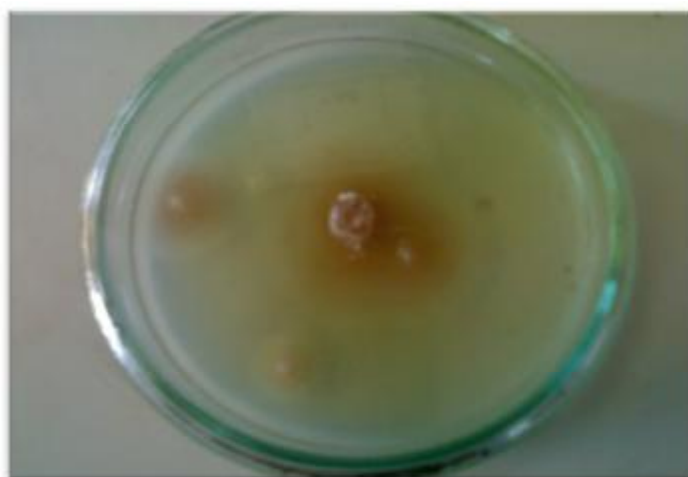


شكل (2) نسبة إنبات بذور الحنطة المعاملة بمعلق الفطر *B.bassiana*

جدار جسم الحشرة شكل (3) وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحثين [1].

النشاط الإنزيمي لفطر *B.bassiana*

أظهرت نتائج الاختبار مقدرة الفطر *B.bassiana* على إنتاج إنزيم Chitinase وهو الإنزيم المهم في تحليل الكايتين الذي يتكون منه



شكل (3) النشاط الإنزيمي للفطر *B.bassiana* في وسط حاوي على الكايتين (قوة التكبير 2X)

المصادر

- to methyl bromide against *Trogoderma granarium* (Everts) Larvae. Pak. J. Bot. 39(3):871-880.
- 11-Akbar, W. Lord, J. C. Nechols, J. R. N. and Loughin, T.M. (2005). Efficacy of *Beauveria bassiana* for Red Flour Beetle When Applied with Plant Essential Oils or in Mineral Oil and Organosilicone Carriers. J. Econ. Entomol. 98(3): 683-688.
- 12-Aldryhim, Y.N. and Adam E.E. (1992). The biology of *Trogoderma granarium* (Everts) (Coleoptera : Dermestidae) in central province of saudia arabia. J. Kind. Sand. Univ. Agric. SCI. 4(1)79-85.
- 13-Burges, H.D.(2008).Development of the khapra beetle, *Trogoderma granarium*, in the lower part of its temperature range. J. Stored Prod Res., 44: 32-35.
- 14-Cambrell, L.L. and Wiliams, O.B. (1951). A study of the chitin decomposing microorganism of pectolytic bacteria, Appl. Microbail . 22: 205-209.
- 15-Harris, D.L. (2006). Insect khapra beetls *Trogoderma granarium* (Everts) (Coleoptera : Dermestidae). University of Florida. USA.
- 16-Khashaveh, A. Ghosta,Y. Safaralizadeh ,M.H; Ziaee,M.(2011). The Use of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in Assays with Storage Grain Beetles. J. Agr. Sci. Tech. Vol. 13: 35-43
- 17-Kirkland, B.H.; Westwood, G.S. Keyhani. N.O. (2004) Pathogenicity of Entomo pathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to Ixodidae Tick species. *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Ixodus scapularis*. J. Med. Entomol. 41(4) : 705-711.
- 18-Lacey, L.A.(1997). Manul of techniques in Insect pathology (Biological techniques). Academic press. Sadiago. London. Boston. P:408.
- 19-Ling, H.Q. Zhu , Y. Keller , B. (2003) Highresolution mapping of the leaf rust disease resistance gene Lr1 in weat and characterization of BAC clones from the Lr1 locus. Thero. Appl. Genet.106:875-882.
- 20-Liop, G. Pypol, I. Aguila, G. Sala, J. Riba, D.; Guarro, J. (2000). Compreson of three methods of determining MIGS filamentous fungi using different end point criteria and incubation periods. J. Antimicrob. Agents. Chemother. 442: 239-242.
- 21-Lowe, S., Browne M., Boudjelas S. and DePoorter M. (2000). 100 of the World's Worst Invasive Alien Species: A Selection from the Global Invasive Species Database. Invasive Species Specialist Group, World Conservation Union (IUCN).
- 22-Lyz ,C.; Tigano, m. s. ; Silva, I. G.; Corderio, C. M. T. and Aljanabi, S. M. (1998). Selective of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*
- 1- أمين، مهند خلف محمد (2007). عزل وتشخيص الفطريات من ترب مناطق مختلفة في محافظة البصرة واختبار أمراضية بعضها على حشري الذبابة البيضاء (*Bemisia tabaci* (Genn) ومن الباقلاء الأسود *Aphis fabae scopoli* . أطروحة دكتوراه. كلية العلوم .جامعة البصرة . 66 صفحة .
- 2- البهالي، علي زاجي عبد القادر (2004). دراسة مكافحة الإحيائية والكيميائية لحشرة حفار ساق النخيل ذي القرون الطويلة (Coleoptera: *Jebusaea hammerschmidt* Reiche (Cerambycidae). رسالة ماجستير، كلية الزراعة - جامعة البصرة ، ص 33-34.
- 3- توفيق، محمد فؤاد (1997). المكافحة البايولوجية للآفات الزراعية . المكتبة الأكاديمية. الدقي. القاهرة. 757 صفحة .
- 4- تويج، نبيل سليم سعيد و محمد محسن الرفيعي و مقداد عبد الاله . 2008 . دراسة إمكانية تكامل المستحضر الحيوي المصنع من لقاح الفطر *Beauveria bassiana* مع بعض المبيدات الكيميائية للسيطرة على حشرتين الخوخ الأخضر *Myzus persicae* . مجلة جامعة الكوفة . وقائع المؤتمر العلمي الأول للعلوم الصرفة والتطبيقية . 143-153 صفحة .
- 5- الجابري، ابراهيم عبد الرسول وعبد الكريم هاشم محمد (1987). تأثير درجات الحرارة المتراكمة على تطور خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callosobruchus maculatus* F واستخدام التراكم الحراري كمؤشر للتنبؤ الحقلية بظهورها في محافظة نينوى ، مجلة زراعة الرافدين، العراق، 19(1) ص235-246.
- 6- الجبوري ، إبراهيم جدوع (2007). حصر وتشخيص العوامل الحيوية في بيئة نخلة التمر واعتمادها لوضع برنامج إدارة متكاملة لآفات النخيل في العراق . مجلة جامعة عدن للعلوم الطبيعية والتطبيقية . المجلد(11) العدد3 .
- 7- الجبوري ، إبراهيم جدوع و إسماعيل احمد الزويجي و سنداب سامي الدهوي (2006). تقويم فعالية عزلتين من الفطر *Beauveria bassiana* في مكافحة بعض الآفات الحشرية والحلم واختبار كفاءة بعض أوساط الإكثار. مجلة جامعة عدن للعلوم الطبيعية والتطبيقية . المجلد (10) العدد 1 .
- 8- الجوراني ، رضا صكب . 1991 . تأثير مستخلصات نبات الأس *Myrtus communis* L. في حشري الخابرة ودودة الشمع الكبرى . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد . 111 صفحة .
- 9- شعبان ، عواد و نزار مصطفى الملاح (1993). المبيدات . جامعة الموصل وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. ص 520 .
- 10-Ahmedani, M.S. Abdula, K. and Haque M.I. (2007). Scope of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) As an alternative

- 26-Olivera, R.C. and Neves, P.M. (2004). Compatibility of *Beauveria bassiana* with Acaricides, J. Necotropical. Entomol. 33(3): 353-358.
- 27-Shams, G. Mohammad, H.S, Sohrab, I. ,Mahmoud, S. and Shahram, A.(2011).A laboratory assessment of the potential of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Beauvarin®) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae).African Journal of Microbiology Research Vol. 5(10), pp. 1192-1196.
- 28-Vannien, I.; Tyni-juslin, J. and Hokkanen, H. (2000). Persistence of augmental *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in finnish agricultural soil . Biocontrol . 45 (2) : 201-222.
- isolates to control *Triatoma* in fesonns.93(6):839-846.
- 23-Mark, A. C. , D. L. Severtson, C. J. Brumley, A. Szito , R. G. Foottit, M. Grimm, K. Munyard and D. M. Groth.(2010). A rapid non-destructive DNA extraction method for insects and other arthropods. *J. Asia-Pacific Entomol.*, 13: 243-248.
- 24-Muhammad, S.A. Abdul, K. Muhammad, T. Muhammad, A. and Shagufta, Z (2007). Khapra Beetle (*Trogoderma Granarium Everts*):a serious threat to food security and safety. *Pak. J. Agri. Sci.*,Vol. 44(3).
- 25-Norris, H.A. Elewski, B.E. Channoum, M.A. (1999). Optimal growth condition for the determination of the anti fungal susceptibility of three spieces of dermatophytes with use of a microdilution method, *J. Am. Acd. Dermat.* 40(6) :509-513.

Spores Suspension Effect of Fungus *Beauveria Bassiana* Destruction of Stages the Grain Beetle Capillary *Trogoderma Granarium*

Mohammed M. Mahmood¹ and Awwad S. Daoud²

¹Department of Biology, College of Education, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

²Department of Biology , College of Science ,University of Tikrit, Tikrit ,Iraq

Abstract

This study aims to possibility of create means to protect the grains stores from infestation with Khapra beetle *Trogoderma granarium* through test for the efficiency of insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* . the study results showed that spores suspension effect of fungus *B.bassiana* for the method of treatment that the direct spray method was more effective way of macerating seed in terms of impact in the rates of destruction as the cause of destruction of the first larval stage 63.3% after 9 days of treatment compared with macerating seed in a 33.3% at the concentration 5×10^6 spore/ml. and gave concentration 5×10^2 spore/ml the lowest loss ratio as the cause of destruction of the first larval stage compared to 26.6% in a macerating seeds in the destruction of larval stage the first 16.6% at the concentration 5×10^6 spore/ml. and 5×10^2 spore/ml gave the lowest concentration loss as the cause of the fifth larval stage 3.33% and the results of the study showed a lack of spores suspension effect of fungus in the percentage of germination and the test showed amount of fungus on the production of Chitinase enzyme.