The Libyan Journal of Science (An International Journal): Volume 21A, 2018

دراسة قابلية إصابة خنافس الدقيق المتشابهة *Tribolium confusum* للمرض الفطري *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

نجاح خليفة طلحة[1] و نوال عبدالسلام محفوظ[2]

[1]قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة طرابلس
[2]قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة طرابلس

المستخلص

توضح هذه الدراسة بيانات 50 عينة لشهري أبريل ومايو و 21 عينة لأشهر سبتمبر– ونوفمبر، 2016 من تربة مزرعة جامعة طرابلس، سيدي المصري، عين زاره، سوق الجمعة وتاجوراء لإصابة 710 يرقة من دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* بفطر *Beauvaria bassiana*. كانت حصيلة إصابة 47 يرقة لشهري أبريل ومايو. وتبين النتائج وجود فروق معنوية بين متوسط الاصابة لخنافس الدقيق *Tribolium confusum* في 7 أيام ومتوسط الإصابة بفطر *B. bassiana* في 14 يوم، وعدم وجود فروق معنوية بين متوسط الإصابة بالفطر في البالغات واليرقات لخنافس الدقيق المتشابهة. لم يلاحظ وجود فروق معنوية للتركيزات السائلة $1x10^3$، $1x10^6$، $1x10^8$ كونيديا / مل، ووجود فروق معنوية عند مستوى 0.05 بينها وبين معاملة نثر كونيديات الفطر على البالغات ويرقات خنافس الدقيق المتشابهة. وجد أن نتائج أشهر سبتمبر– نوفمبر كانت متماثلة مع نتائج شهري ابريل ومايو في الإصابة بفطر *B. bassiana* على خنافس الدقيق المتشابهة لمدة 7 و 14 يوم وعدم وجود فروق معنوية للإصابة بين البالغات واليرقات. كانت عزلات نثر كونيديات الفطر على البالغات ويرقات خنافس الدقيق المتشابهة أكثر ضراوة لغزو الكونيديات جُليد الحشرة والتجرثم بكل يُسر، في وجود عامل الرطوبة النسبية ودرجات الحرارة °م المناسبة. تؤكد هذه الدراسة أن فطر *B. bassiana* يتميز بمستقبل واعد في المكافحة الحيوية ضمن استراتيجيات المكافحة المتكاملة لآفات الحبوب المخزونة.

Abstract

This study reveals the data of 50 soil samples for April and May and 21 soil samples for Septembe - November, 2016 obtained from Tripoli University farm, Sidi Almasry, Ain Zarah, Soug Algomaa and Tajoura to infect the great wax moth larvae *Galleriaa mellonella*. Results showed that 47 wax moth larvae were infected with *Beauveria bassiana*. Significant differences at 0.01 levels were obtained for means of 7 and 14 days of fungal infection and no significant differences on adults and larvae of confused flour beetle. No significant differences of fungal infection were observed between wet concentration $1x10^3$, $1x10^6$, $1x10^8$ conidia / ml on adults and larvae of confused flour

Accepted for publication: 5/6/2018

beetle. But, significant differences at 0.05 levels were clearly shown between dry and wet fungal concentrations on the insect infection. In comparison, similar results were confirmed for September- November period for the fungus infection to adults and larvae of confused flour beetle, including treatment days of 7 and 14 replications, in presence of suitable temperature and relative humidity. The study recommends the use of *B. bassiana* as biological control agent in Integrated Pest Management (IPM) for controlling stored insect pests.

Keywords: Flour Beetles; Tribolium confusum; Fungi; *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

المقدمة

الفطريات المُمرضة للحشرات من وسائل المكافحة الحيوية ضمن إستراتيجيات المكافحة المتكاملة للآفات الحشرية التي تهدد اقتصاد الدول والأمن الغذائي في العالم ومن أهمها الفطريات الناقصة لطائفة Deuteromycetes (Ferron, 1975). ويوجد عدد كبير من الفطريات المُمرضة للحشرات لنحو 35 جنس فالقليل تمت دراسته بشكل واسع وأهمها فطر *Beauveria bassiana* (Roberts, 1973).

إن العلاقة بين الفطريات والحشرات متباينة باختلاف العلاقات التكافلية والرُمية والتطفل والإمراضية. وتسبب الفطريات المرض الفطري mycosis الذي وضعه العالم Muller-Kogler (1965). ويعتبر De-Reaumur (1726) أول من عَرفَ أن الفطريات تسبب مرض الفطر الشجري cordyceps في الحشرات. وكان ل Bassi (1835) الدور الريادي في وصف المرض الفطري المومياني الأبيض white uscardine disease في دودة الحرير *Bombyx mori* الذي يسببه الفطر المُمرض للحشرات *B. bassiana* وسَمي باسمه.

القاعدة العامة لعملية إصابة الفطريات الممرضة للحشرات عبر التصاق وتبرعم الكونيديات بجُليد الهيكل الخارجي لجسم الحشرة، ثم مرحلة الدخول للجُليد يليها غزو الفطر التجويف المعوي للحشرة وتكسير الدهون والأنسجة الداخلية بفعل الإنزيمات وخروج الغزل الفطري الأبيض والكونيديات من الجسم وانتشاره (Siemaszko, 1937).

يوجد 14 نوعا من جنس *Beauvaria* وتَعرف MacLeod (1954) إلى نوعين هامين في مكافحة الآفات الحشرية منه فقط هما: *B. tnella* و *B. basssiena* وأعتبر الأنواع الباقية مرادفة لهما. والفطر المُمرض للحشرات الأكثر شيوعا في الطبيعة *B. basssiena*، ويعرف أيضا بالمرض الفطري لدودة الحرير *B. Mori* (1937, Siemaszko).

التطور الناجح للفطريات المُمرضة للحشرات واستخدامها كمبيد حيوي يتطلب تقديره بعناية فائقة واختبار نوع العائل المناسب والعزلات الفطرية والضراوة الفائقة لها للفتك بالآفة الحشرية الاقتصادية المطلوبة (Hajek and Leger, 1994). إن خطوات المسوحات المعملية تلعب دور كبير في فرز عزلات فطر *B. basssiena* من بيئات التربة الطبيعية المختلفة، وضراوتها وكفاءتها للتحضيرات الفطرية المعملية لمعاملتها ضد الآفة الحشرية وأطوارها المختلفة قبل اختبارها حقليا على مستوى واسع. وتم استخدام تقنية المسح بواسطة الشرائح الزجاجية نجاح

المجهرية لمقارنة أمراضية فطر *B. basssiena* بين كونيديات عزلات الفطر المختلفة، وأُستخدم مؤشر نمو الفطر لتحديد الأمراضية والضراوة ومستعمرة الكونيديات على العائل (Latifian and Rahkodaei, 2012; Landa et al., 1994).

أثبت الدراسات أن الأنواع المختلفة من آفات خنافس الحبوب المخزونة لها قابلية مختلفة للإصابة بفطر *B. basssiena* ، وذلك باستخدام تركيز واحد من كونيديات الفطر 1 x 10^8 كونيديا / مل. ومن العمليات المحددة التي تشمل ضراوة عزلات فطر *B. basssiena* ، هو الملاحظة التامة عند التصاق وتبرعم ودخول الكونيديات جُليد الهيكل الخارجي لجسم الحشرة (Cox *et al*., 2004; Jeffs et al., 1999). كما أن تطور وضراوة وتكوين المستعمرات للفطريات المُمرضة للحشرات على العديد من العوائل الحشرية ، تعتمد اعتمادا كبيرا على عملية انتشار الفطر قي البيئة وخاصة النباتية منها التي تعتبر العامل الأساسي لتحديد مسار التغيرات في العشيرة والتوسع الكبير في اتساع رقعة المرض الفطري على العائل في الطبيعة (Aruthurs and Thomas, 1999).

تم استخدام فطر *B. basssiena* لمكافحة خنافس الباسلاء *Bruchus pisorum* عند درجات حرارة مختلفة ومعدلات تركيز الفطر بين 1 x 10^{-7} – 1 x 10^{10} كونيديا / مل. بينت الدراسة أن تأثير الفطر كان فعالاً في موت خنافس الباسلاء عند درجة حرارة 30 °م بتركيز 1 x 10^{10} كونيديا / مل بعد خمسة أيام، 10 أيام. وأكدت الدراسة أن جميع خنافس الباسلاء ماتت بعد 15 يوما لكل معدلات تركيز فطر *B. basssiena* المستخدمة في هذا البحث (Shaheen et al., 2016).

تستعمل عثة الشمع *G. mellonella* كذلك كنموذج لدراسة ضراوة فطر *B. basssiena* المُمرض للحشرات. وتشير الدراسات أن تركيز معلق كونيديات فطر *B. basssiena* ضد اليرقات البالغة لعثة الشمع 1 x 10^4 إلى 1 x 10^8 كونيديا / مل أعطت علاقات موجبة بين تركيزات معلق كونيديات الفطر ونسبة موت اليرقات. وزاد موت يرقات عثة الشمع عند تركيز 1 x 10^8 كونيديا / مل بنسبة 75.9 % بعد 9 ساعات من المعاملة، وقرابة نسبة 44.8% لجميع المعاملات بعد 96 ساعة مقارنة بالشاهد بنسبة 33.3% (El-Sinary and Rizk, 2007).

أصبح ضرورياً البحث عن بدائل مكافحة آمنة لآفات حشرات الحبوب المخزونة وهي تتمثل في المكافحة الحيوية تحت مظلة المكافحة المتكاملة للآفات (IPM) في العناصر المُمرضة للحشرات من الفطريات والفيروسات والبكتيريا والأوليات والنيماتودا، وبدأت تنتج تجارياً وأهمها الفطر *B. basssiena* (Campbell and Hagstrum, 2002; Alam et al., 1999).

إن الدراسات والأبحاث قليلة في مجال أمراض الحشرات وخاصة الفطريات في ليبيا، إلا هناك بعض الدراسات التي أُجريت على الآفات الحشرية مثل الجراد وحفار الساق (عزوز وآخرون، 1999 ؛ نشنوش وآخرون، 2002). كما أجريت دراسة شاملة لدراسة وعزل فطر *B. basssiena* على الحشرات بقسم النبات/ كلية العلوم، جامعة طرابلس (لملوم، 2008).

تهدف هذه الدراسة إلى حصر وعزل فطر *B. basssiena* من بعض تُرب المحاصيل الزراعية بمنطقة طرابلس بواسطة تقنية يرقات عثة الشمع الكبرى *G. mellonella*، واختبار ضراوة الفطر على يرقات والبالغات لخنافس الدقيق المتشابهة *T. confusum* معملياً.

المواد وطرق البحث

جُمعت خنافس الدقيق من الأغذية المخزونة المصابة وتربيتها معمليا في حاويات بلاستيكية (32 x 22 x 10سم³) بفتحة علوية مغطاة بقماش منخلي شفاف، مضافاً بها الدقيق وخميرة الخبز، عند درجة حرارة 26 ±1 °م ورطوبة نسبية 70±5% وفترة ضوئية 12 : 12 (L : D) ساعة.

تم تربية عثة الشمع بطريقة كل من: Hajek and Leger (1994) و Jones et al. (2002) في بيئة مظلمة دافئة قليلة التهوية عند درجة حرارة 30 °م ورطوبة نسبية 70 % (Warren and Huddleston, 1962). وعُملت حاويات بلاستيكية 30 x 30 x 40 سم³ لتربية وجمع اليرقات، للتزاوج ولوضع البيض (Waterhouse, 1959).

عُزل فطر *B. basssiena* من التُرب الزراعية المختلفة بواسطة أداة النزع على عمق 8 سم بواسطة تقنية يرقات عثة الشمع الكبرى *G. mellonella*. وتوضع اليرقات المصابة في أنابيب بها ماء مقطر وترج لتنظيفها من الشوائب وتجفف على حدة بورق الترشيح. استخدمت أطباق بتري بقطر 9 سم مزودة بورق ترشيح مبلل ونحو 50 جرام من العينات (3 – 5 يرقات بالغة من عثة الشمع) وتحرك لملامسة التربة كل على حدة.

تحفظ العينات في حجرة التربية ويلاحظ نموء الفطر على اليرقات يومياً لمدة 10 أيام، بمختبر الفطريات بمركز البحوث الزراعية / وزارة الزراعة – طرابلس. يتم تعريف الفطر ويوضع في أطباق بتري مزودة بالوسط الغذائي(Sabouraud Dextrose Agar Scharlau Chemie (SDA، عند درجة حرارة 27 °م ، ورطوبة نسبية 70% ويتم عزله للنمو والإكثار (نشنوش وآخرون, 2002؛ عزوز وآخرون، 1999).

تم تحضير معلق الفطر النامي والفطر الجاف بإضافة 200 مل من الماء المقطر المعقم في دورق زجاجي سعة 250 مل فيه نموات فطر *B. basssiena* التي تكشط وتخلط جيدا للترشيح وعمل التخفيفات المطلوبة (1 x 10^3، x 10^6 ، 1 x 10^8 كونيديا / مل) لتقويم الاختبارات الحيوية. أما الحصول على كونيديات الفطر الجاف تستخدم فرشاة جافة لمستعمرات غزيرة بالكونيديا للنثر على أطوار خنافس الدقيق في هذه التجارب.

اختبرت ضراوة عزلات فطر *B. bassiana* على 20– 30 من البالغات واليرقات لخنافس الدقيق كل على حده في هذه الدراسة، وذلك بالغمر في كل تخفيف من معلق الفطر للتركيزات 1 x 10^3، 1x 10^6، 1 x 10^8 كونيديا/ مل مع بضع قطرات محلول 0.01 % Tween لانتشار الكونيديات وعدم التصاقها ببعضها. ويستخدم بضع قطرات من محلول 0.01 % Tween والماء المقطر كشاهد للتجارب. توضع خنافس الدقيق المستخدمة في

الحضان عند درجة حرارة 2± 27 °م ، ورطوبة نسبية 5± 85%. وبعد 72 ساعة من الحضانة يتم تحويل البالغات واليرقات الميتة في أطباق بتري منفصلة مزودة بورق ترشيح مبلل وتنقل إلى مجفف مشبع بالرطوبة. وسجلت نسبة الموت للبالغات واليرقات لخنافس الدقيق على مدى 7 أيام و 14 يوم من تاريخ حضانة الفطر. يكرر الاختبار بمعدل 3 مكررات/معاملة والشاهد وفقا للتحليل الأحصائي Completely Rondomized Design (CRD) وتحليل البيانات الإحصائية بواسطة ANOVA وتحليل التباين ومقارنة المتوسطات المعنوية وفق اختبار Duncan (1955).

النتائج

دُرست 50 عينة من التربة الزراعية للفترة الصيفية المتمثلة في شهري أبريل ومايو، 2016 من تربة الخضراوات المتنوعة، أشجار الفواكه المثمرة والغابات والصباريات والأعشاب الطبية في مناطق مزرعة جامعة طرابلس، سيدي المصري ، عين زاره، وسوق الجمعة حيث كان متوسط درجات الحرارة 20.5 °م، الرطوبة النسبية 59% و هطول الأمطار 8 مم. مقارنة ببيانات 21 عينة من التربة الزراعية للفترة بين سبتمبر– ونوفمبر لنفس السنة لمناطق تاجوراء وسوق الجمعة حيث كان متوسط درجات الحرارة كانت 25 °م، الرطوبة النسبية 61% وهطول الأمطار 23 مم ووصلت ذروتها 35 مم في شهر نوفمبر.

كانت نسبة إصابة يرقات عثة الشمع الكبرى *G. mellonella* البالغة بفطر *B. bassiana* من 50 عينة من التربة الزراعية المختبرة للفترة الصيفية أن أصيبت 11 يرقة من عدد 500 يرقة من عثة الشمع الكبرى البالغة بنسبة إصابة أقل من 1%. وتتمثل الإصابة في عينات تربة الأشجار المثمرة من النخيل، العنب، الزيتون، التين، الخوخ، والخضروات من الطماطم والفلفل. إصابة يرقات عثة الشمع الكبرى البالغة بفطر *B. bassiana* من 21 عينة من التربة الزراعية المختبرة للفترة الشتوية من نفس السنة، كانت موجبة لإصابة 46 يرقة من 105 لعثة الشمع البالغة بنسبة إصابة 44%. وتتمثل الإصابة في عينات تربة الأشجار المثمرة من النخيل، العنب، الزيتون، التين، الجوافة، التوت، وأشجار الصنوبر والكافور، والخضروات من الطماطم والخيار.

أولا: شهري مايو ويونيو، 2016

توضح نتائج البيانات الإصابة بفطر *B. bassiana* لخنافس الدقيق المتشابهة في 7 أيام 2.50 بانحراف معياري 3.661، ومتوسط الإصابة بالفطر لخنافس الدقيق المتشابهة في 14 يوم 4.63 بانحراف معياري 4.190. تشير النتائج أن قيمة إحصاءة الاختبار 2.646 – بدلالة إحصائية 0.010. مما يشير لوجود فروق معنوية بين متوسط الإصابة لخنافس الدقيق المتشابهة في 7 أيام ومتوسط الإصابة بفطر *B. bassiana* في 14 يوم .

متوسط الإصابة بالفطر في الطور الكامل للحشرة 4.10 بانحراف معياري 4.209، ومتوسط الإصابة بالفطر في اليرقة يساوي 3.02 بانحراف معياري 3.867. تشير النتائج أن قيمة إحصاءة الاختبار 1.313 بدلالة

إحصائية 0.192، وعدم وجود فروق معنوية بين متوسط الإصابة بفطر *B. bassiana* في البالغات ومتوسط الإصابات في اليرقات لخنافس الدقيق المتشابهة.

متوسط الإصابة بفطر *B. bassiana* لخنافس الدقيق *T. confusum* والانحراف المعياري لكل مكرر، أوضحت النتائج أن قيمة المتوسط للإصابة بالفطر لخنافس الدقيق المتشابهة في مكررات النثر 8.79 بانحراف معياري 3.270. ومتوسط الإصابة بالفطر لخنافس الدقيق المتشابهة في مكررات 1×10^{3} كانت 2.21 بانحراف معياري 2.934. المتوسط للإصابة بالفطر بمكررات 1×10^{6} 2.17 بانحراف معياري 2.531. المتوسط للإصابة بمكررات 1×10^{8} 1.08 بانحراف معياري 1.840. واختبار F سجل قيمة إحصاءة الاختبار 41.000 بدلالة إحصائية 0.00. مما يشير لوجود فروق معنوية عالية عند مستوى 0.00 % في الإصابة بالفطر باختلاف معاملات المكررات.

توضح البيانات الواردة في اختبار دنكن Duncan حيث تم تقسيم معاملات مكررات فطر *B. bassiana* إلى مجموعتين: الأولى (مكررات 1×10^{3}، 1×10^{6}، 1×10^{8}) متجانسة ومتتالية بنفس الحرف (1.08, 2.21 ,2,17 =a) وعدم وجود فروق معنوية بينهم. أما المجموعة الثانية (مكررات نثر الفطر) تحمل الحرف (b =8. 79) وتختلف بفروق معنوية عند مستوى 5 % وتتميز بالإصابات العالية للبالغات واليرقات.

ثانياً: أشهر سبتمبر – نوفمبر، 2016

تشير البيانات أن متوسط الإصابة بفطر *B. bassiana* لخنافس الدقيق المتشابهة *T. confsusum* في 7 أيام 2.83 بانحراف معياري 3.688. ومتوسط اللإصابة في 14 يوم 3.11 بانحراف معياري 3.648. وأن قيمة إحصاءة الاختبار 0.434– بدلالة إحصائية 0.665، يدل على عدم وجود فروق معنوية بين متوسط الإصابة بالفطر لخنافس الدقيق المتشابهة في 7 أيام ومتوسط الإصابة لخنافس الدقيق المتشابهة في 14 يوما .

تبين النتائج أن متوسط الإصابة بالفطر لخنافس الدقيق المتشابهة للطور الكامل للحشرة 2.55 بانحراف معياري 3.834، ومتوسط الإصابة في اليرقة 2.39 بانحراف معياري 3.449 . وأن قيمة الاختبار 1.309– بدلالة إحصاءة 0.193، يدل على عدم وجود فروق معنوية بين متوسط الإصابة بفطر *B. bassiana* لخنافس الدقيق المتشابهة في الطور الكامل ومتوسط الإصابة في اليرقة.

البيانات الواردة توضح المتوسط للإصابة بالفطر والانحراف المعياري لكل مكرر، حيث سجلت قيمة المتوسط للإصابة لنثر الفطر 9.00 بانحراف معياري 0.000. المتوسط للإصابة بالفطر في مكررات 1×10^{3} 1.09 بانحراف معياري 1.329. المتوسط في مكررات 1×10^{6} 1.06 بانحراف معياري 1.268. والمتوسط للإصابة في مكررات 1×10^{8} 0.72 بانحراف معياري 1.114. وتبين نتائج أن قيمة الاختبار 449.213 بدلالة إحصاءة 0.00. ويدل ذلك على وجود فروق معنوية عالية عند مستوى 0.00 %. اتضح من خلال البيانات الواردة لنتائج اختبار دنكن Duncan تقسيم معاملات مكررات الفطر إلى مجموعتين: الأولى (مكررات 1×10^{3}، 1×10^{6}، 1×10^{8}) متجانسة ولها نفس الحرف (a = 0.72, 1,06, 1,09) وعدم وجود

فروق بينها. أما المجموعة الثانية (مكررات النثر) تحمل الحرف (b = 9.00) وتختلف بفروق معنوية عند مستوى 5 % عن معاملات مكررات المجموعة الأولى وتتميز بالإصابات بفطر *B. bassiana* العالية للبالغات واليرقات لخنفساء الدقيق المتشابهة.

المناقشة

تتمتع خنفساء الدقيق المتشابهة *T. confusum* بشراهة عالية للعديد من أصناف الحبوب المخزونة ومنتجاتها خاصة الدقيق بأنواعه. وعند وفرتها بالدقيق تفرز خليطاً من الكيماويات المسرطنة أهمها مركبات Quinonens النفاذة المسرطنة، وتفقد الدقيق قيمته الغذائية والتجارية (Mahfouod, 2004).

الفطريات المُمرضة للحشرات أعداء طبيعية للآفات الحشرية في مختلف الأنظمة البيئية خاصة الزراعية منها. ويوجد قرابة 90 جنساً، 700 نوع من الفطريات المُمرضة للحشرات أهمها المستخدمة تجارياً فطر *B. bassiana* ، *M. anisoplia* لمكافحة الآفات الحشرية (Michalaki et al, 2006; Vassilakos et al., 2006).

كفاءة المكافحة الحيوية للآفات الحشرية بواسطة الفطريات المُمرضة للحشرات يعود أساسا للقدرة لحدوث المرض بشكل وبائي من الحشرات المُعيلة للمرض، حيث تصبح الأجسام الميتة للحشرات المصابة بالفطر مصدر للإصابة وانتشار المرض الفطري في البيئة وخاصة التربة. وعندما تغزوا الجراثيم (كونيديات) المُمرضة للحشرات السائل الليمفاوي عن طريق الهضم الإنزيمي للجليد، تحت ظروف درجات الرطوبة والحرارة المناسبة. يتوغل الفطر داخل الجسم ويفتك بأجهزة الحشرة وتخرج الهيفات وتتكون الكونيديات الهوائية المميزة بلون نوع الفطر على سطح الجُليد وتموت الحشرة وينتشر الفطر من جديد (Lacey et al., 1994).

هذه الدراسة توضح بيانات 50 عينة من التربة الزراعية لشهري أبريل ومايو، 2016 من تربة المحاصيل، والخضراوات، والفواكه المتنوعة، في مناطق مزرعة جامعة طرابلس، سيدي المصري، عين زاره، وسوق الجمعة، لإصابة 500 يرقة العمر الرابع لدودة الشمع الكبرى بفطر *B. bassiana* وبمتوسط درجات الحرارة 20.5 °م، ورطوبة النسبية 54 %، وهطول الأمطار 2 مم مقارنة ببيانات 21 عينة من التربة الزراعية للفترة بين أشهر نوفمبر– سبتمبر لنفس السنة بمناطق تاجوراء وسوق الجمعة، لإصابة 210 يرقة من دودة الشمع الكبرى بالفطر، وبمتوسط درجات الحرارة 21 °م، ورطوبة النسبية 65 %، وهطول الأمطار 13 مم .

إن إصابة يرقات عثة الشمع الكبرى البالغة بفطر *B. bassiana* للفترة الصيفية، 2016، بينت إصابة 11 يرقة من عدد 500 يرقة بنسبة 2%. وتتمثل الإصابة في عينات تربة أشجار النخيل، العنب، الزيتون، التين، الخوخ، والخضروات من الطماطم والفلفل. مقارنة للفترة الشتوية من نفس السنة، حيث أصيب 46 يرقة من عثة الشمع الكبرى من عدد ،105 بنسبة 44 % لتربة الأشجار المثمرة والطماطم والخيار.

مقارنة بإصابة يرقات عثة الشمع الكبرى البالغة بفطر *B. bassiana* من 21 عينة من التربة الزراعية المختبرة

للفترة الشتوية من نفس السنة، كانت 46 يرقة من عثة الشمع الكبرى من عدد 105 بنسبة إصابة 44%. وتتمثل الإصابة في عينات تربة أشجار النخيل المثمرة من النخيل، العنب، الزيتون، التين،الجوافة، التوت، وأشجار الصنوبر والكافور، والخضروات من الطماطم والخيار.

بينت دراسة Komakik وآخرون (2017) لضراوة عزلات فطر *B. bassiana* على بالغات خنافس الدقيق المتشابهة بتركيز $1x10^5$، $1x10^7$ كونيديا / مل. تم تحديد نسبة الموت للفترة الزمنية 2 – 10 أيام فكانت بين 69 – 89 % للتركيز $1x10^5$، وبين 96 – 100 % للتركيز $1x10^7$ كونيديا / مل. يتبين من ذلك ضراوة عزلات نثر الفطر على البالغات ويرقات خنافس الدقيق المتشابهة وغزو الكونيديات جُليد الحشرة والتجرثم بكل يُسر بفروق معنوية 0.05 مقارنة بالتركيزات السائلة التي لا فروق معنوية بينهما. هذه النتائج توافقت مع الدراسات السابقة خاصة ما قام به Storm (2016) حيث أكد ضراوة تركيزات كونيديات مقارنة بهذه الدراسة أعطت تركيزات فطر *B. bassiana* على بالغات خنافس الدقيق المتشابهة لأشهر أبريل ومايو فكانت لمعاملة نثر الفطر للطور الكامل في 7 أيام 43 % والتركيزات السائلة $1x10^3$، $1x\ 10^6$، $1x10^8$ كونيديا / مل 1 %، 1 %، 1 % على التوالي. أما تأثير الفطر على اليرقات كان لمعاملة النثر 55 % والتركيزات السائلة $1x10^3$، $1x\ 10^6$، $1x10^8$ كونيديا / مل 1 %، 2 %، 1 % على التوالي. أما في مدة 14 يوم كان النثر الجاف للفطر للطور الكامل 68 % والتركيزات السائلة $1x10^3$، $1x\ 10^6$، $1x10^8$ كونيديا / مل 27 %، 27 %، 2 % على التوالي . وتأثير الفطر على اليرقات كان لمعاملة النثر 65 %، والتركيزات السائلة $1x10^3$، $1x\ 10^6$، $1x10^8$ كونيديا / مل 27 %، 23 %، 1 % على التوالي.

قام Zeyed (2003) بدراسة حدة الاصابة لعزلتين لفطر *B. bassiana* على يرقات دودة الشمع الكبرى معملياً بمصر بتركيز 10^6 x 2.5 كونيديا/ مل لمدة 4 و 10 أيام. وأوضحت النتائج اختلاف الامراضية وحدة الإصابة بالفطر ليرقات دودة الشمع الكبرى. ويعزى هذا الاختلاف للطرق المختلفة لالتصاق الكونيديات لعزلات الفطر على جليد الحشرة وكيفية التجرثم وإضعاف مناعة العائل. كما أن اختلافات حدة الإصابة للفطر قد تكون لها علاقة بإنتاج أنزيم protese وأنزيم peroxidise (Chandler et al, 1993; Zayed and Zebitz, 1997; Bidochka and Khachatourians, 1990).

وقد لوحظت بوضوح في النتائج المتحصل عليها في هذا البحث بكفاءة حدة الإصابة لعزلات فطر *B. bassiana* على يرقات دودة الشمع الكبرى لتحضيرات النثر الجاف للفطرعلى الحشرة.

كما يعلل أيضاً اختلاف نتائج الإصابة بفطر *B. bassiana* لخنفساء الدقيق المتشابهة قدرة الغدد الصدرية والبطنية لإفراز كيماويات الدفاع من المفترسات والمتطفلات والممرضات، على رأسها الفطريات الممرضة للحشرات مثل فطر *B. bassiana*. وتشكل مركبات Benzoquinones السامة خط الدفاع الأول. بالإضافة لذلك تحدد المناطق الجغرافية وضراوة سلالات الفطر وجنس الحشرة والتربية المعملية في تحديد حدة الإصابة بكونيديات الفطريات (Yezerskiy et al., 2000; Eisner *et al*., 1998).

اختبر Ortiz وآخرون (2016) بالمكسيك ثمانية عزلات من فطر *B. bassiana* وأشار إلى انخفاض معدل المعيشة لسوسة الفاصوليا *Rhyssomatus nigerrimus* مقارنة بالشاهد. وأكد على الضراوة المتفاوتة لثلاثة

عزلات من فطر *B. bassiana* على سوسة بتركيزات 1.07×10^7, 1.55×10^7, 1.31×10^{10} كونيديا / مل بين 7 و 14 يوما. يوضح ذلك مدى اختلاف قابلية إصابة الخنافس بالفطر المُمرض للحشرات *B. bassiana* حسب نوع الحشرة والنظام البيئي التي تتوافر فيه، حسب ما ورد من بيانات مختلفة على ضراوة الفطر في هذه الدراسة من مناطق وتربة وعوائل نباتية من أشجار مثمرة وخضروات وأعشاب طبية.

لذا أن لفطر *B. bassiana* مزايا عدة ومستقبل واعد لإدماجه ويوصى به في المكافحة الحيوية تحت ظل برامج المكافحة المتكاملة لمكافحة الحبوب المخزونة وعلى رأسها آفة خنافس الدقيق المتشابهة. كما يجب تفعيل عزلات فطر *B. bassiana* الأكثر ضراوة على خنفساء الدقيق المتشابهة الكاملة وأطوار اليرقات المتحصل عليها في هذه الدراسة ميدانيا مثل صوامع ومخازن ومصانع الحبوب المخزون ومنتجاتها وخاصة الدقيق بأنواعه. والتأكيد على استخدام التركيزات المطلوبة حقليا، وعلى وجه الخصوص المعاملات الحيوية بطريقة ملامسة كونيديات فطر *B. bassiana* للتجرثم الأمثل وغزو جُليد الحشرة والإنبات وظهور الكونيديات الهوائية وموت الحشرة، دون تلوث والخلل بالتوازن البيئي. بالإضافة لتحديد الضرر الاقتصادي، وتوقيت المعاملات الحقلية للفطر تحت الظروف البيئية المطلوبة لدرجات الحرارة والرطوبة النسبية لنمو الفطر وتطوره وضراوته على *T. consusum*.

شكر

نتقدم بوافر الشكر إلى أ. د. حسن أحمد المغربي، قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة طرابلس لإشرافه على هذه الدراسة. والشكر موصول لمركز البحوث الزراعية، وزارة الزراعة والثروة الحيوانية والبحرية، طرابلس على تقديم المساعدة في إنجاز هذه الدراسة بمختبرات المركز

المراجع

أولاً: المراجع العربية

لملوم، ح. ع. (2008). عزل وتأثير فطر بيوفيريا با سيينا المتلازم للآفات الحشرية المختارة في بعض المناطق بغرب ليبيا. رسالة الإجازة العالية (الماجستير)، قسم علم النبات، جامعة طرابلس.69 ص.

نشنوش، إ. م.، البكوش ف. س. ، معيوف م. و الشبلي س. (2002). تقويم لعزلة طبيعية من فطر *Beauveria bassiana* ومستحضرين من البكتيريا *Bacillus thringiensis* والمبيد الكيمياوي (فينتريون) في يرقات حفار الساق *Zeuzera pyrina*. وقائع المؤتمر العربي السادس لعلوم وقاية النبات، 27 – 31 أكتوبر، 1997، بيروت – لبنان.

عزوز، ع.، نشنوش، إ. م.، بركة م. م. و البكوش ف. س. 1999. إمراضية الفطر *Beauveria bassiana* لحشرة النطاط (Orthoptera: Acrididae) وزمن موت الحشرة وارتباطه بشكل وتركيز المستحضر الفطري المستخدم. مجلة الزراعة، ليبيا, **14**, 237 – 241.

ثانيا : المراجع الأجنبية

Alam, M. S., Shaukat, S. S., Ahmed, M., Iqbal, S. and Ahmad, A. (1999). A survey of resistance to phosphine in some coleopterous pests of stored wheat and rice grain in Pakistan. Pakistan J. Biol. Sci., **2**, 623-626.

Aruthurs, S. P. and Thomas, M. B. (1999). Factors affecting horizontal transmission of entomopathogenic fungi in locusts and grasshoppers. In: Thomas, M. B. and Kewards, T. (eds.): Challenges in Appl. Popul. Biol., **53**, 89-97.

Bassi, S. (1835). Del mal del segno calicinaccio o mascardino malatia che affligge i bachi Lodi, 67 pp.

Bidochka, M. J. and Khachatourians, G. (1990). Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. Journal of Invertebrate Patholology, **56,** 362–370.

Campbell, R. R., Anderson, T..E., Semel, M. and Roberts, D. W. (1985). Management of the Colorado potato beetle using *Beauveria bassiana*. Am. J. Pot. Res., **61**, 29-37.

Chandler, D., Heale, J. K. and Gillespie, A. T. (1993). Competitive interaction between strains of *Verticillium lecanii* on two hosts. Annals of Applied Biology, **122**, 435–440.

Cox, P. D., Wakefield, M. E., Price, N., Wildey, K. B., Chambers, J., Moore, D., Aquino de Muro, M. and Bell, B. A. (2004). The potential use of insect-specific fungi to control grain storage pests in empty grain stores. HGCA Project Report No. 341, 49 pp.

De Reamur, R. A. (1726). Remarques sur la plante appeliee ala Chine Hia Tsa Tom Tchom, ou plant ver. (Paris), Acad. Roy. Sci. Mem. p302-305.

Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F-test. Biometrics **11**, 1-42. EPA (Environmental Protection Agency), 1993.

Eisner, T., Eisner, M., Attygalle, A. B., Deyrupd, M. and Jerroledmeinwald, J. (1998). Rendering the inedible edible: Circumvention of a millipede's chemical defense by a predaceous beetle larva (Phengodidae). Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **95**, 1108–1113.

El-Sinary, N. H. and Rizk, S. A. (2007). Entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) and gamma irradiation efficiency against the Greater Wax Moth, *Galleria melonella* (L.). Am-Eur J., **45**, 13-18.

Ferron, P. (1975). Les champignons entomopathogènes évolution des recherches au cours des dernières années, Annales de l'Institut national agronomique El Harrach, **5**(6), 168-207.

Hajek, A. E., Wraight, S. P. and Vandenberg, J. D. (2001). Control of arthropods using pathogenic fungi, Bio-exploitation of filamentous fungi, **13**, 309-347.

Hajek, A. E. and Leger, S. T. (1994). Fungal pathogenand insect hosts. Ann. Rev. Entomol., **39**, 293-322.

Hajek, A. E., Wraight, S. P. and Vandenberg, J. D. (2001). Control of arthropods using pathogenic fungi. Bio-exploitation of filamentous fungi, **13**, 309-347.

Jeffs, L. B., Xavier, I. J., Matai, R. E. and Khachatourians, G. G. (1999). Relationships between fungal spore morphologies and surface properties for entomopathogenic members of the genera *Beauveria, Metarhizium, Paecilomyces, Tolypocladium* and *Verticillium.* Canadian Journal of Microbiology 45, 936-948.

Jones, G., Barabas, A., Elliot, W. and Parsons, S. (2002). Female greater wax moths reduce sexual displasy behaviour in relation to the potential risk of predation by echolocating bats. Behavioural Ecology, **13**(3), 375-380.

Komakik, A., Şaban K., Ayşe O., Handan, H., Memiş A., Duygu K., Simsek, M. and Alper, A. (2017). Laboratory assessment for biological control of *Tribolium confusum* du Val., 1863 (Coleoptera: Tenebrionidae) by entomopathogenic fungi. Turk. Entomol. Derg., **41**(1), 95-103.

Lacey L. A., Martins A. and Ribeiro, C. (1994). The pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for adults of the Japanese beetle, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). Eur. J. Entomol., **91**, 313-319.

Landa, Z., Osborne, L., Lopez, F., and Eyal, J. (1994). A bioassay for determining pathogenicity of entomogenous fungi on whiteflies. Biological Control, **4**, 341–350.

Latifian, M. and Rahkhodaei, E. (2012). Development of a novel bioassay for evaluating of the infectivity and between generation transmission effects of entomopathogenic fungi *Beauvaria bassiana* (Balsamo) Vuilleminon on population of Sawtoothed Beetle (*Oryzaephilus surinamensis* l.) fed on Date palm cultivars. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, Available online at www.ijagcs.com.

MacLeod, D. M. (1954). Investigation on the Genera *Beauveria* Vull. And *Tritirachium* Limber. Can. Jour. Botany, **32,** 818- 890.

Mahfouod, N. A. (2004). Food preference of flower beetle *Tribolium confusum* (Coleoptera: Teneberionidae). Unpub. MSc. Thesis, Dept. Zool., Univ. Tripoli, Libya.

Michalaki, M. P., Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Batta Y. A. and Balotis, J. N. (2006). Effectiveness of *Metarhizium anisoplia* (Metschnikoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val: influence of temperature relative humidity and type of commodity. Crop Protection, **25** (5), 418–425.

Muller-Kogler, E. (1965). Pilzkrankheiten bei Insecten. Berlin. 444 pp.

Ortiz, S. A. M., Ruiz, J. G., Guillén, G. L., López, L. C. And Mora, J. V. (2016). Evaluation of the Pathogenicity of Isolates of *Beauveria bassiana* against *Rhyssomatus nigerrimus*. Southwestern Entmologist, **41**(1), 41-50.

Roberts, D. W. (1973). Means of insect regulation. Fungi Ann., N. Y. Acad. Sci., **217**, 76-84.

Shaheen, F. A., Akram, M. W. Rashid, M. A., Nadeem, M., Saeed, M., Husain, M. and Mehmood, K. (2016). Biological control of pulse beetle *Callosobruchus chinensis* L. (Bruchidae: Coleoptera) in stored chickpea grains using entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* Balsamo. J. Ent. Zool. Studies, **4**(4), 1076-1083.

Siemaszko, W. (1937). Studia nad grzbami owadobojczymi Polski. Studies on Entomogenous Fungi in Poland. Arch. Nauk. Biol. Tow. Nauk. Warzawa, **6**,(1), 1-82.

Storm, C., Freya, S., Adam, N., Olivier, P. and Aoife, D. (2016). Improving efficacy of Beauveria bassiana against stored grain beetles with a synergistic co-formulant**.** Insects, **7**, 42.

Vassilakos, T. N., Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G. and Vayias, B. J. (2006). Influence of temperature on the insecticidal effect of *Beauveria bassiana* in combination with diatomaceous earth against *Rhyzopertha dominica* and *Sitophilus oryzae* on stored wheat. Biological Control, **38**, 270-281.

Warren, L. and Huddleston, P. (1962). Life history of the greater wax moth, *Galleria mellonella* L., in Arkansas. J. Kansas Entomological Soc., **35**, 212-216.

Waterhouse, D. F. (1959). Axenic culture of wax moths for digestion studies. Annals of the New York Academy of Sciences, **77**, 283-289.

Yezerskiy, A., Gilmor, T. P., and Stevens, L. (2000). Variation in the production and distribution of substituted benzoquinone compounds among genetic strains of the confused flour beetle, *Tribolium confusum.* Physiol. Biochem. Zool., **73**,192–199.

Zayed, A. and Zebitz, C. P. W. (1997). Enzyme banding patterns of *Verticillum lecanii* (Zimm.) isolates of different virulence against *Aphis fabae* (Scop.) and *Aphis gossypii* Glov. (Homoptera: Aphididae). Mitteilung der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie, **11**, 579–582.

Zayed, A. (2003). Pathogenecity of two Beauveria bassiana indigenous isolates towards the greater wax moth Galleria mellonella L. larvae in Egypt. Efflatounia, **3**, 10-14.