

دراسة مخبرية لتقييم تقييم فاعلية الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill على خنفساء قلف اللوزيات *Scolytus rugulosus* Ratzeburg(1837)

عبير صالح العبدالله*

*دكتورة، وقاية النبات، جامعة الفرات

الملخص

هدفت الدراسة الحالية إلى عزل الفطر الممرض للحشرات *Beauveria bassiana* Bals. من حشرات خنفساء قلف اللوزيات *Scolytus rugulosus* Ratzeburg(1837)، والتي جُمعت من بساتين اللوزيات المزروعة بالمشمش *Prunus amygdali* L. في منطقة النيك في محافظة ريف دمشق خلال العام 2020-2021. وتميمته في مخبر الأمراض في مركز بحوث ودراسات مكافحة الحيوية في كلية الزراعة، من أجل استعماله كعاملًا حيويًا في مكافحة الأطوار المختلفة للخنفساء، وقد أثرت التراكيز المختلفة للمعلق البوغي في جميع الأطوار، حيث تراوحت النسبة المئوية لموت اليرقات بعد 6 أيام من العدوى ما بين 93.1 - 73.4 % لكل من التركيزين 10^{10} - 10^6 بوغ/مل على التوالي، وارتفعت النسبة المئوية لموت اليرقات بعد 10 أيام من العدوى إلى: 98- 89.5 % لكلا التركيزين 10^{10} - 10^6 بوغ/مل على التوالي. أما بخصوص العذارى فقد هلكت بنسبة: 100% عند التركيز 10^{10} بوغ/مل بعد 10 أيام من العدوى، وأخذت العلاقة بين تراكيز المعلق الفطري و نسبة موت البالغات منحى مشابهاً لما حصل مع أطوار الحشرة السابقة، فقد سببت المعاملة بالتركيز الأعلى 10^{10} بوغ/مل بعد 10 أيام من العدوى أقصى نسبة موت 97% ، بينما كانت أدنى نسبة موت 75.5% عند التركيز 10^6 بوغ/مل.

الكلمات المفتاحية: *Beauveria bassiana* - *Scolytus rugulosus* - معلق بوغي - نسبة مئوية للهالك-ريف دمشق-سورية.

Laboratory study to Evaluate of the effectiveness of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill on the Almond bark *Scolytus rugulosus* Ratzeburg(1837)

Abeer ALABDALLAH*

*Dept. of Plant Protection, University of Alfurat.

Abstract

The study aimed to Isolate the Fungus *Beauveria bassiana* Bals. from Almond bark insects *Scolytus rugulosus* Ratzeburg(1837) , which were collected from Almond orchards planted with with Apricot *Prunus amygdali* L. in the Nabek area in Damascus countryside during the year 2020-2021,and its development in the Pathology Laporatory at te Biocontrol Research and studies Center at the College of Agriculture in order to use it in the fight against different phases of the beetle. The different concentrations of the saprophyte suspension affected all stages ,where the corrected percentage of larval death after 6 days of infection ranged between: 93-73.4 % for each of the concentration 10^{10} - 10^6 spores/ml respectively , the percentage of Larval death after 10 days of infection increased to 98-89.5 % for both concertrations: 10^{10} - 10^6 spores /ml respectively. As for the pupas they were killed by 100% at the concentration of 10 days infection ,and the relationship between the concentration and the percentage of adult mortality took a similar pattern to previous life stages . Treatment with the highest concentration of 10^{10} spores/ml after 10 days of infection caused the maximum mortality rate of 97% ,while the lowest death rate was 75.5 % at the concentration of 10^6 spores /ml.

Key words: *Beauveria bassiana* - *Scolytus rugulosus* –Suspended sporophyte – Percentage of perishability- Damascus countryside -Syria .

المقدمة Introduction:

تعد مكافحة الحيوية البديل الأفضل للمبيدات الكيميائية كون الأخيرة ذات تأثير سام في الحيوانات والإنسان (Bidochka, 2001) ، وتمتاز المكافحة الحيوية بالتخصص في مواجهة آفة معينة إذ تميزت أكثر هذه الأحياء بأنها مساوية لتأثير المبيدات الكيميائية في السيطرة على الحشرة المستهدفة، وعدم قدرة الآفة في إظهار مقاومة ضد الأعداء الحيوية مقارنة بالمبيدات الكيميائية، فضلاً عن أنها آمنة من الناحية البيئية إذ لا تسبب ضرراً بالنظام البيئي ولا تُخل بالتوازن الطبيعي للبيئات، بالإضافة لانتشارها طبيعياً وبقائها لمدة طويلة بعد إطلاقها في المحيط البيئي وإنسجامها مع طرائق المكافحة الأخرى مما يحقق النجاح المنشود (الزبيدي، 1992). تُعد الفطور الممرضة للحشرات من الأعداء الحيوية المهمة التي تُسهم في الحد من انتشار الآفات بأقل تأثيرات سلبية ممكنة في البيئة. إذ تؤدي الإصابة بالفطور الممرضة إلى تدني قدرة العائل الحشري على التغذية، وإلى انخفاض خصوبته ونفوقه. حيث تخترق أبواغ الفطر سطح العائل من خلال الضغط الميكانيكي والأنزيمي، (تريسي وزملاؤه، 2018). لذا ازداد استخدام الفطور الممرضة للحشرات كعوامل مكافحة حيوية في العالم خلال العقود القليلة الماضية ، وقد اعتمدت هذه المبيدات الحيوية الفطرية (Mycoinsecticides) على عدة أنواع من الفطور أهمها *Paecilomyces fumosoroseus* و *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill (Samson) 1974 و *Verticillium lecanii* (Zimm) لمكافحة العديد من أنواع الحشرات. (زغيب، 2017).

ففي دراسة مخبرية أجريت في بلغاريا لتقييم كفاءة استخدام مبيد حيوي من الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina :Hyphomycetes) على خنفساء القلف *S.rugulosus* Barta و *Ips typographus* L. (Coleoptera: Scolytidae) فقد أظهرت النتائج كفاءة عالية للفطر على الخنفساء مما يسمح لأن يكون بديلاً أفضل من أساليب المكافحة التقليدية لهذه الخنافس (Barta وآخرون ، 2020). كذلك أجريت دراسة مخبرية وحقلية لتقييم كفاءة الفطر *B. bassiana* على خنفساء قلف اللوزيات *S. amygdali* حيث أظهرت النتائج كفاءة عالية للفطر في المخبر إذ بلغت نسبة الموت 100% لتركيز $10^7 \times 15.5$ بوغ/مل بعد 10 أيام من المعاملة بينما أعطى الشاهد نسبة موت 6.7- 49% لنفس المدة. (Batta، 2007).

تم دراسة تأثير ثلاث عزلات من فطر *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill ضد خنفساء القلف *Ips sexdentatus* Boer. (Coleoptera:Scolytidae) وقد أعطت جميع العزلات نسب عالية من موت الخنافس البالغة بعد 10 أيام من العدوى فكانت 96.67، 90.67، و 89.33% لنفس التركيز 1×10^8 بوغ / مل .وقد تباينت قيم متوسط الوقت المميت (LT4.5) ضمن فترات متداخلة لكل من العزلات الثلاثة. (Draganova etal وآخرون، 2006).

وفي كشمير تم اجراء دراسة مخبرية لمقارنة فعالية استخدام كل من فطر *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill. و الفطر *Metarhizium anisopliae* Sensutato (Metsch) كمعلق بتركيز 1×10^9 بوغ/مل ضد خنفساء القلف *Ips stebbing* Strohmeyer ، وقد أعطت النتائج نسب الموت بعد 10 أيام : 94.16%، 100% على التوالي (Khanday وآخرون، 2019).

تم اختبار فطر *B.bassiana* على أفراد مجنحة غير بالغة للجراد الصحراوي *Schistocerca gregaria* حيث أظهرت النتائج موت جميع الحشرات المعاملة ما بين اليوم السادس واليوم التاسع (بساعد وميتش ، 2003).

أجريت أيضاً دراسة لتقييم استخدام الفطر *B. bassiana* على حفار ساق اللوزيات ذو القرون الطويلة *Cerambyx dux* F، وقد بلغت نسبة موت الأطوار اليرقية 100% بعد 12 يوماً من المعاملة بمعلق بوعي للفطر تركيز 1 X 10⁶ بوغ/مل (زغيب، 2017).

أهمية البحث :

تعد هذه الدراسة الأولى في سورية على خنفساء قلف اللوزيات *S.rugulosus*، ونظراً لأهمية العائل كان لابد من إجراء دراسة لتقييم فاعلية استخدام الفطر الممرض *B.bassiana* لصعوبة تطبيق طرائق مكافحة التقليدية والتي تكون عادة غير مجدية في مكافحة هذه الحشرة .

1 - مواد وطرائق البحث Materials and methodes :

1-1 - مواقع البحث : نُفذ البحث خلال الفترة من منتصف شهر أيار 2020 إلى أواخر شهر أيلول . حيث تم جمع العينات من بعض بساتين اللوزيات، المشمش *P. amygdalii* في منطقة النبك (خط طول 44°، 36° وعرض 29°، 34'، 12'، 28° وارتفاع عن سطح البحر 1400 م) بريف دمشق . نُقلت العينات الخشبية (جذوع وأفرع من الأشجار المصابة) إلى المخبر ووضعت في أقفاص شبكية محكمة الإغلاق مع وضع بطاقة تعريف لكل منها (مكان وتاريخ الجمع ، العائل النباتي) ، وتم فحصها وصُنفت الحشرات حسب سلالم التصنيف (Saha & Maiti, 2000؛ Mifsud & Knizek, 2009؛ Tuncer وآخرون، 2017) . وتم تأكيد تصنيفها من متحف العلوم الطبيعية في باريس (Prof.Pieere Zakate) .

- تم جمع اليرقات والعذارى والحشرات الكاملة من *S. rugulosus* التي سيطبق عليها الاختبارات المخبرية. ومن خلال فحص الأفرع المصابة التي تم نقلها إلى المخبر وتشريح الخشب تم جمع الحشرات التي ظهرت عليها علائم الإصابة الفطرية ووضعها في أطباق بتري. تم استخدام عزلة من الفطر الممرض *Beauveria bassiana* (Bals.) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) والتي أُخذت من إحدى الحشرات المصابة بعد أن تم عزل الفطر وتوصيفه بحسب سلم التصنيف (Humber, 1997؛ Abdulhai وآخرون، 2010) ، ودراسة فعاليتها في مكافحة أطوار الحشرة، في مخبر الأمراض في مركز بحوث ودراسات مكافحة الحيوية في كلية الزراعة بجامعة دمشق ، وتحضير المعلق الفطري وفق التالي:

- تم زراعة هذه العزلة في طبق بتري على مستنبت آغار الشوفان (OMA) meal agar، ثم تعريض المستعمرة الفطرية للضوء وذلك لتشجيع التبروغ، تم كشط المستعمرة من سطح المستنبت ووضعها في الخلاط مع ماء مقطر معقم، وبضع نقاط من محلول Tween80 %0.05 ، وأُخذ محضر لعد الأبواغ باستخدام شريحة كريات الدم المحورة لعد الأبواغ Improved Neubauer Haemocytometer، لتقدير عدد الأبواغ لكل وحدة حجم. بالإضافة إلى الشاهد ماء مقطر مضافاً إليه بضعة قطرات من محلول Tween 80 بتركيز %0.01.

1-2- تقييم القدرة الإراضية للعزلة على الحشرات المخبرية Bioassay :

1-2-1- دراسة القدرة الإراضية للعزلة على يرقات فراشة الطحين :

تم تقدير شراسة العزلة من خلال سرعة النمو الفطري ونسبة الموت للحشرات حيث تم الاختبار على يرقات فراشة الطحين وذلك بالطريقة التالية :

تم اجراء تعقيم سطحي لليرقات عن طريق غسلها في محلول NaCl 0.05 %، ثم غمس اليرقات في الماء المقطر المعقم ، بعد ذلك تم وضع اليرقات على ورق فلتر معقم لتجف ، تم تحضير المعلق البوغي كما سبق (بتراكيز مختلفة) وتوضع كمية منه في كأس بيشر معقم ، ثم غُمست فيه اليرقات وجُففت على ورقة فلتر معقمة . نُقلت كل 10 يرقات على حدة إلى طبق بتري رطب (طبق 6 سم مع ورقة فلتر معقمة وُضع عليها 0.3 مل ماء مقطر معقم) ، مع شاهد غير معدي ، تم غمس اليرقات في محلول Tween80 %0.05 ووضعت في طبق رطب ، مع مراقبة اليرقات يومياً كُررت هذه التجربة ثلاث مرات حيث فُحصت كل يرقة على حدة تحت المكبرة شكل (1 -A) وسُجلت درجات النمو الفطري حسب الجدول (1) الذي ذكره وستخدمه (Simkova , 2009) على دودة الشمع *Galleria mellonella* .

جدول 1 - يبين علائم الإصابة على اليرقات المعدة مخبرياً :

يرقات حية لا إشارة على أي إصابة على الجسم	0
بعض البقع الصغيرة على جسم اليرقة (melani spot)	0.5
بقع مسودة كبيرة ويمكن أن تكون متصلة معاً	1
بداية نمو الميسيليوم على الأجزاء الطرية من جسم الحشرة	1.5
غزل فطري كثيف على الأجزاء الطرية من جسم الحشرة	2
بداية التبوغ	2.5
تبوغ كامل والميسيليوم يغطي اليرقة الميتة كلياً	3

وقد سجلت نسبة الموت بعد ثمانية أيام بحسب معادلة Abbot(1925).

	
B. أفرع تم وضع يرقات الخنفساء المعدة	A. يرقات فراشة الطحين المعدة
	
D. الحشرات البالغة المعدة	C. العذارى المعدة
شكل 1. يبين الأطوار التي تم إجراء العدوى عليها بمعلق الفطر <i>Beauveria bassiana</i>	

1-2-2- دراسة القدرة الإراضية للعزلة على يرقات خنفساء قلف اللوزيات مخبرياً

أخذت يرقات بأعمار فتية، حيث تم شق فرع نباتي مصاب بالحشرة بقطر 1 سم وطول 10 سم تقريباً، وُرُفَع القلف وحُفِر حفرة صغيرة تتسع لوضع اليرقة (بعد أن تم تعقيمها سطحياً عن طريق الغسل في محلول NaCl 0.05% ثم غمسها لثلاث مرات في ماء مقطر ومعقم ، ووضعها على ورق فلتر معقم لتجف) ، ثم ترطيبها بالمعلق الفطري (الذي تم تحضيره كما ذُكر سابقاً بالتراكيز: 10^{10} ، 10^8 ، 10^6 بوغ / مل) بوساطة فرشاة معقمة، ثم وُضعت اليرقة ، وتم إعادة القلف مع لفه بشريط بارافيلم لحفظ الرطوبة شكل (B -1) ، ووُضعت الأفرع في حاضنة 25 س°، وتم فحص اليرقات بشكل يومي لتسجيل عدد اليرقات النافقة. عدد المعاملات للعزلة ثلاث معاملات فضلاً عن الشاهد الرطب و أربعة مكررات لكل معاملة.

1-2-3- دراسة القدرة الإراضية للعزلة على عذارى خنفساء قلف اللوزيات مخبرياً

كذلك تم أخذ عذارى الحشرة عدد المعاملات للعزلة ثلاث معاملات (ثلاث تراكيز: 10^{10} ، 10^8 ، 10^6 بوغ / مل فضلاً عن الشاهد الرطب)، وأربعة مكررات لكل معاملة وعشرة عذارى لكل مكرر، حيث تم استخدام أطباق بتري معقمة يوجد في قاعدتها أوراق ترشيح (قطرها 9سم)، وتم إجراء العدوى باستخدام محاقن لرش العذارى بالمعلق الفطري. وُضعت الأطباق في حاضنة عند درجة حرارة 25 س°، وتم مراقبتها وتسجيل عدد العذارى النافقة شكل (C-1).

1-2-4- دراسة القدرة الإمبراضية للعزلة الفطرية على الحشرات الكاملة لخنفساء قلف اللوزيات مخبرياً:

تم إختبار القدرة الإمبراضية للعزلة بتراكيز مختلفة والشاهد على الحشرة الكاملة عدد المعاملات للعزلة ثلاث معاملات (ثلاث تراكيز: 10^6 ، 10^8 ، 10^{10} بوغ / مل فضلاً عن الشاهد الرطب)، وأربعة مكررات لكل معاملة و عشر حشرات في كل مكرر، تم استخدام أطباق بتري معقمة يوجد في قاعدتها أوراق ترشيح (قطرها 9سم)، وقد أُجريت العدوى باستخدام محاقن، تم فيها رش الحشرات بالمعلق الفطري. وُضعت الأطباق في حاضنة عند درجة حرارة 25 س°، وتم مراقبتها وتسجيل الملاحظات حول نمو الفطر و عدد الحشرات الكاملة النافقة، تم إعادة التجربة مرة ثانية .شكل (D-1).

2-النتائج والمناقشة:

1-2-2- عزل وتوصيف الفطور التي تم الحصول عليها :

تم خلال الجولات الحقلية الحصول على عدد من الحشرات الميتة والتي لوحظ على احداها نموات فطرية ، حيث أُخذت إلى المختبر وتم تصنيف الحشرات على أنها *S. rugulosus* حسب (Saha & Maiti) 2000، 2009؛ Mifsud & Knizek, 2009؛ Tuncer وآخرون، 2017). حيث تم تعقيمها سطحياً وتركها في غرفة رطبة ، وقد لوحظ نمو فطري أبيض على إحداها ، تم وضع الحشرة في طبق بتري وتمت مراقبة استمرار النمو الفطري حيث تمت عملية التنقية بأخذ جزء من المستعمرة وزرعه على مستنبت PDA في أطباق بتري وكُررت العملية عدة مرات حتى تمام التنقية الشكل (A- 2).

2-1-1- تصنيف العزلة الفطرية :

تم فحص العزلة تحت المجهر على شريحة باستخدام صبغة Lacto phenol blue وتم تصنيفها باستخدام مفتاح Humber (1997) ،حيث كانت العزلة لفطر *Beauveria bassiana* الشكل (B-2) حسب (Humber,1997؛ Abdulhai وآخرون، 2010) إذ تميزت بالصفات المزرعية والمجهرية التالية :

- 1- شكل النمو الفطري قطني مزغب دون تشكيل أي وسادة هيفية ، ويكون كلاً من الأبواغ والميسيليوم ظاهرين على سطح العائل حيث يمكن للنمو الفطري أن يغطي كامل جسم العائل.
- 2- لون الهيفا أبيض خفيف وتشكل طبقة قطنية .
- 3- تتشكل الأبواغ على السطح الخارجي للفطر دون تشكيل أي تركيبات جنسية .
- 4- تتشكل الأبواغ على خلية متطاولة ذات قمة مستدقة .وتتشكل الأبواغ على القمة بشكل متتابع لتكون البوغ الجديدة تحت القديمة .



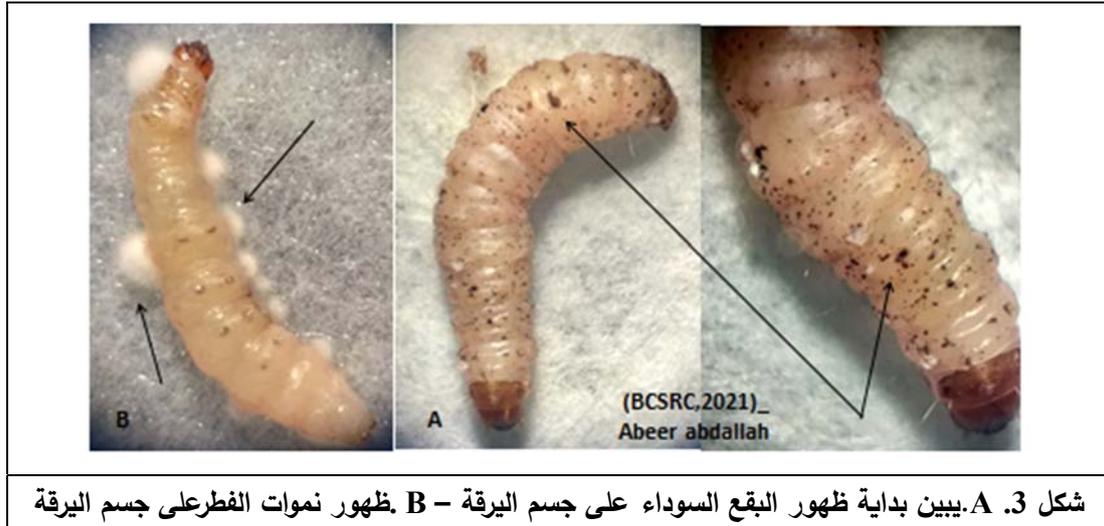
2-2- تقييم القدرة الإراضية :

تم اختبار القدرة الإراضية لعزلة الفطر على يرقات فراشة الطحين ، حيث تم اجراء العدوى ومراقبة اليرقات المعدة وتسجيل درجات الإصابة يومياً، وقد لوحظ ظهور بقع صغيرة سوداء اللون على جسم اليرقات وذلك بعد ثلاثة أيام من إجراء العدوى الشكل (3) عند درجة حرارة 25 ± 1 س° وفي نهاية الأسبوع الأول من اجراء العدوى لوحظ ظهور النموات الفطرية على أغلب اليرقات وتغطية مختلفة لكل من التراكيز الثلاثة وتم تسجيل النتائج جدول (2) ، لقد أظهر التحليل الإحصائي نتائج جيدة لجميع التراكيز إذ تفوقت جميعها على معاملة الشاهد، وقد تفوقت معاملة التركيز 10^{10} تفوقاً معنوياً على معاملة التركيز 10^6 حيث أعطت المعاملة المتفوقة أعلى نسبة موت لليرقات بعد ثمانية أيام بلغت 91.66 % ، بينما لم تكون الفروق معنوية بين كل من التركيزين: 10^{10} و 10^8 بوغ /مل ، وكانت الفروق ظاهرية بين معاملة التركيز 10^8 ومعاملة التركيز 10^6 حيث بلغت نسبة موت اليرقات: 73.33 ، 71.66% على التوالي. وهذا يتفق مع العديد من الباحثين الذين استخدموا الفطر *B.bassiana* في مكافحة الحشرات فقد وصف كل من الجبوري (2007) والإمارة (2009) العلاقة ما بين تركيز الأبواغ ونسب الموت بأنها طردية حيث كلما ازداد تركيز المعلق البوغي للفطر ارتفع معدل موت الحشرة ، وقد يعود السبب في ذلك الى زيادة عدد الأبواغ (الوحدات الأساسية للإصابة الفطرية) فضلاً عن أن الجهاز المناعي لليرقات يستطيع الدفاع عن الجسم فقط عند التراكيز المنخفضة وعند زيادة التركيز يفقد الجهاز المناعي كفاءته (Scholte وآخرون، 2003).

جدول 2- يبين النسبة المئوية لموت يرقات فراشة الطحين :

النسبة المئوية لموت اليرقات بعد 8 أيام من العدوى	التركيز بوغ/مل
12.5 c	Control
71.66 b	10^6
73.33 ab	10^8
94.66 a	10^{10}
22.57	LSD

• متوسط 4 مكررات وفي كل مكرر 10 يرقات



شكل 3. A. يبين بداية ظهور البقع السوداء على جسم اليرقة - B. ظهور نموات الفطر على جسم اليرقة

2-2-1- تأثير معلق الأبواغ في الأطوار المختلفة لخنفساء قلف اللوزيات *S. rugulosus* :

2-2-1-1- على اليرقات : تم إجراء العدوى بمعلق الأبواغ لكل من التراكيز: 10^6 ، 10^8 ، 10^{10} بوغ / مل على يرقات فتية لخنفساء قلف اللوزيات *S. rugulosus* ، ومن ثم وضعها ضمن حفرة تحت القلف ، وقد تبين تأثر اليرقات وبطئ حركتها خلال الأسبوع الأول ونفوق عدداً منها لجميع التراكيز خاصة تركيز 10^{10} بوغ/مل، جدول (3) ، وقد توافقت ذلك مع نتائج كل من Lourriero و Moino (2006) حيث سبب النوع *B. bassiana* موتاً بنسبة 100% بعد 7 أيام عند تطبيقه بتركيز 1×10^8 بوغ/مل وكان الزمن القاتل المسجل لديهما 3.05 يوم.

ومن خلال فحص اليرقات تحت المكبره لوحظت النموات الفطرية على الجسم حيث تأكد إصابتها بالفطر *B. bassiana* وقد يعزى ذلك إلى صغر عمر اليرقة كونها في أطوارها الفتية وبالتالي تكون أكثر حساسية للإصابة إذ يفقد الجهاز المناعي كفاءته أمام التراكيز العالية من الأبواغ (Scholte وآخرون، 2003). وقد تراوحت نسبة القتل بعد 6 أيام ما بين: 73.4 - 93.1 % لكل من التراكيزين: 10^6 - 10^{10} على التوالي، بينما أعطت معاملة 10^8 بوغ /مل نسبة قتل 79.1 % ، بينما بلغت نسبة قتل اليرقات بعد 10 أيام من إجراء العدوى لكل من التراكيزين: 10^{10} و 10^8 بوغ / مل 98 - 99% على التوالي، و 89.5 % للتركيز 10^6 بوغ / مل ، وبحسب التحليل الإحصائي لم توجد فروق معنوية بين المعاملات الثلاث والتي تفوقت جميعها على معاملة الشاهد . جدول (3) ، وبمتابعة الفحص وُجد بعد 12 يوم موت اليرقات جميعها وهذا يتوافق مع ما ذكره (Batta، 2004) عن التأثير المتبقي للفطر مما يعطي فكرة عن أهميته واستمراريته في المكافحة ، وعن ماذكره (أمين ، 2007) عن أن إطالة مدة تعرض الحشرة لأبواغ الفطر يؤدي إلى زيادة معدلات قتل الحشرات وقد يعزى السبب في ذلك إلى قابلية الفطر على إنتاج كميات كافية من الأنزيمات التي لها القدرة على تحليل جدار الجسم لأنها أهم مرحلة في إحداث الإصابة ومن ثم استنزاف محتويات الجسم وقتلها شكل (4) .

جدول (3) يبين النسبة المئوية لموت يرقات *S. rugulosus* :

النسبة المئوية لموت اليرقات بعد 10 أيام من العدوى	النسبة المئوية لموت اليرقات بعد 6 أيام من العدوى	التركيز بوغ/مل
17.20 b	1 c	Control
89.5 a	73.4 b	10 ⁶
97 a	79.1 ab	10 ⁸
98 a	93.1 a	10 ¹⁰
16.23	16.11	LSD

- متوسط 4 مكررات وفي كل مكرر 5 يرقات



2-2-1-2- على العذارى : تم فحص عذارى *S. rugulosus* بعد اجراء العدوى بالمعلق الفطري بتراكيزه الثلاث، حيث أظهرت النتائج فعالية عالية للفطر من خلال نمو الميسيليوم على جسم العذارى ، وقد تفوقت جميع المعاملات على معاملة الشاهد، إذ تراوحت نسب الموت ما بين 76.3 - 100 % بعد 10 أيام من المعاملة بالفطر، وقد أظهرت معاملة التركيز 10¹⁰ بوغ/مل تفوقاً معنوياً على كل من التركيزين 10⁸ و 10⁶ حيث كانت نسبة الموت 100 ، 78.1 ، 76.3 % على التوالي، بينما كانت في الشاهد 6.31 %، و بحسب التحليل الإحصائي لم يكن يوجد فروقات معنوية بين التركيزين 10⁸ و 10⁶ بوغ / مل جدول (4) ، وقد لوحظ نفوق العذارى وعدم اكتمال تطورها، بينما لوحظ في احدى المعاملات خروج حشرة كاملة من طور التعذر وقد كانت مصابة بالفطر من خلال النموات التي ظهرت على جسمها وهذا يتوافق مع ما ذكره كل من (Batta ، 2004) و (الزبيدي ، 1992) عن التأثير المتبقي للفطر مما يعطي فكرة عن أهميته واستمراريته في مكافحة شكل (5) .

جدول 4- يبين النسبة المئوية لموت العذارى:

النسبة المئوية للموت بعد 10 أيام من العدوى	التركيز بوغ/مل
6.31 c	Control
76.3 b	10 ⁶
78.1 b	10 ⁸
100 a	10 ¹⁰
18.23	LSD

• متوسط 4 مكررات وفي كل مكرر 10 عذارى



2-2-1-3- على الحشرات الكاملة : لوحظ ظهور أعراض الإصابة على الحشرات الكاملة المعدة مخبرياً بكل من التراكيز الثلاثة للمعلق البوغي الفطري والمحضن عند درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر بحسب (زغيب ، 2017) وهي 1 ± 25 س° وذلك بعد 10 أيام من العدوى ،حيث بدأ الميسيليوم بالانتشار من المناطق بين عقل قرون الاستشعار ومنطقة اتصال الصدر بالبطن ومن بين الأغشية البلورا ومناطق اتصال الرجل بالجسم شكل (6) وهذا يتوافق مع أن سبب القدرة الإراضية للفطور إزاء الحشرة قد يرجع إلى قدرتها على إنتاج الأنزيمات المحطمة للكيوتيكل Degrading Enzymes و Protease و Lipase مما يساعد في نجاح الفطور في عملية الإنبات و اختراق جدار جسم الحشرة الضعيفة وخاصة البلورا والثغور التنفسية وبالتالي دخولها تجويف الجسم ونموه وتكاثره وإفراز السموم الفطرية (St.Leger وآخرون ،1986a) و (Samson وآخرون ،1988).

وقد أظهرت النتائج فعالية عالية للفطر لجميع التراكيز متفوقة جميعها على معاملة الشاهد التي كانت نسبة الموت فيها 6.52 % ، والتي تراوحت فيها نسبة الموت للحشرات ما بين: 75.5 - 97 %، لكل من التركيز 10^{10} - 10^6 بوغ /مل على التوالي ، متفوقة بذلك معاملة التركيز 10^{10} بوغ /مل على بقية المعاملات بفروقات ظاهرية بينها وبين معاملة التركيز 10^8 بوغ /مل ، وقد أعطت معاملة التركيز 10^8 بوغ /مل نسبة موت بلغت: 92.2 % حيث لم يكن هناك فروقاً معنوية بينها وبين معاملة التركيز 10^6 بوغ/مل. جدول (5)

جدول 5 - يبين النسبة المئوية لموت الخنافس البالغة :

النسبة المئوية للموت بعد 10 أيام من العدوى	التركيز بوغ/مل
6.52 c	Control
75.5 b	10^6
92.2 ab	10^8
97 a	10^{10}
17.2	LSD

• متوسط 4 مكررات وفي كل مكرر 10 حشرات



الاستنتاجات والتوصيات:

- أظهرت جميع تراكيز المعلق الفطري فعالية عالية ضد الأطوار المختلفة لخنفساء قلف اللوزيات
- محاولة تصنيع مبيد حيوي فطري للخنفساء Bioinsecticide وعزل واستخلاص عوامل السيطرة الحيوية التي ينتجها الفطر.
- عزل أنواع أخرى من الفطور الممرضة لخنفساء القلف طبيعياً وتقييم قدرتها الإمراضية.
- إجراء اختبارات معمقة عن امكانية استخدام الفطر *B.bassiana* حقلياً في السيطرة على خنافس القلف.

المراجع العربية The arabic references:

1. الإمارة ، محمد صبري جبر، 2009 - تاثير بعض عوامل مكافحة الحيوية والكيميائية في بعض أوجة حياتية حشرة خنفساء الحبوب الشعيرية(الخابرا: *Trogoderma granarium* (Everts) (Dermestidae)رسالة ماجستير ، كلية الزراعة / جامعة البصرة، 113 صفحة.
2. أمين ، مهند خلف محمد ، 2007 _ عزل وتشخيص الفطريات من ترب مناطق مختلفة في محافظة البصرة واختبار إمراضية بعضها على حشرتي الذبابة البيضاء *Bemisia tabaci*(Genn) ومن الباقلاء الأسود *Aphis fabae scopoli* أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة البصرة .
3. الجبوري ، ابراهيم جدوع، 2007 -حصر وتشخيص العوامل الحيوية في بيئة نخلة التمر واعتمادها لوضع برنامج ادارة متكاملة لأفات النخيل في العراق ، مجلة جامعة عدن للعلوم الطبيعية والتطبيقية ، المجلد (11) العدد 3 ، 63-70 .
4. الزبيدي، حمزة كاظم، 1992 -المقاومة الحيوية للأفات ، دار الكتب للطباعة والنشر/الموصل العراق، 440 صفحة.
5. بساعد ، فاطمة الزهراء وبهية دومانجي متيش، 2003 - دراسة تأثير الفطر *Beauveria bassiana* Bals. في حياتية الجراد الصحراوي والبنية النسيجية للأنبوب الهضمي لدى الجراد الصحراوي *Schistocerca gregaria* (Forskal,1775)(Orthoptera:Acrididae) . مجلة وقاية النبات العربية ، 21 (2):158 .
6. تريسي، عبد الناصر ، بسام بياعة و مصطفى البوحسيني، 2018 - دور الفطور الممرضة للحشرات في مكافحة الآفات الزراعية ، مجلة وقاية النبات العربية ،مجلد 36 ، عدد 3 (2018) 176.
7. زغيب ، إيهاب، 2017 - دراسة فيزيولوجية (الفرمونات) والتباين الوراثي والشكل لحشرات الجنس *Cerambyx* spp التي تصيب الأشجار المثمرة وسط وجنوب سورية ، رسالة دكتوراه، جامعة دمشق.

:The forgein references المراجع الأجنبية

1. **ABDUILHALM.,** ElBouhssini. M., Jamal. M., Trissi. A.N., Sayyadi. Z.,M. Skinner and Parker B. L. 2010 -*Beauveria bassiana* Characterization and Efficacy vs. Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera :Scutelleridae). Pakistan Journal of Biological Sciences. 13(21):1052-1056.
2. **ABBOT, W. S.** 1925- A method of computing the effectiveness on insecticide. J. Econ. Entomol., 18 :pp. 265-276. Alonso, Z. M.A and C.H. Lyal. (2009). A catalogue of family and genus group names in Scolytinae and Platypodinae with nomenclatural remarks (Coleoptera: Curculionidae). Zootaxa 2258: 1–134.
3. **BARTA, M.,** Takov. D., Pilarska, D ., Doychev, D and Horakova, M.K. 2020- Entomopathogenic fungi of the genus *Beauveria* and their pathogenicity to *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae) in the Vitosha National Park, Bulgaria. *Journal of Forest Science*, 66, (10): 420–435
4. **BATTA .Y.A.** 2007- Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Applied Microbiology*, 103: 1406–1414.
5. **BATTA, Y.A.** 2004- Control of the lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* (F.), Coleoptera: Bostrichidae) by treatments with residual formulations of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal of Stored Products Research* Volume 41, Issue 2, 2005, Pages 221-229.
6. **BIDOCHKA, M.J.** 2001- Monitoring the fate of biocontrol fungi, CABI, Wallingford, Oxon, United Kingdom, p.193-218.
7. **DRAGANOVA, S.,** Takov. D ., Doychev, D. 2006- Bioassays with Isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith Against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera :Scolytidae). *plant Science*, 44, 24-28.
8. **HUMBER, R.A.** 1997- Fungi: Identification. Pages 153-185. In: Manual of Techniques in Insect Pathology. L.A. Lacey (ed.). Academic Press, New York.
9. **LOUREIRO, E. D. S.** and Moino, J. R. 2006- Pathogenicity of hyphomycet fungi to aphids *Aphis gossypii* Glover and *Myzus persicae* ulzur (Hemiptera: Aphididae). *Neotropic. Entomol.*, 35 (5): 660-665.
10. **KHANDAY, A.L.,** Buhro, A.A ., Ranjith, A.P . and Kerchev, I.A. 2019- Evaluating the efficacy of Entomopathogenic Fungi against the Bark beetle, *Ips stebbingi* .Strohmeyer (Coleoptera ,Curculionidae :Scolytinae) in India. *Entomological Review* .98, 985-994.
11. **MIFSUD, D** and Knizek, M. 2009- The Bark Beetles (Coleoptera: Scolytidae) of The Maltese Islands (central Mediterranean). *Bulletin of The Entomological Society of Malta* Vol.2:20-52.
12. **SIMKOVA, J.** 2009- Influence of different storage conditions on vitality and virulence of *Beauveria bassiana* spores, *Journal of Agrobiology*, 26(2):75-81.
13. **SCHOLTE, E.J.,** Bart, K ., Robert, S.A., Willem, T. 2003- Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review. *Journal of Insect Science* , 4(19):1-24.
14. **.SAHA, N.** and Maiti, P.K. 2000- Insecta: Coleoptera: Scolytidae. Fauna of Meghalaya, State Fauna Series, 4(Part 5) : 639-651.
15. **SAMSON ,R .A.,** Evans ,C and Latge, J. 1988.- Atlas of entomopathogenic fungi. Printed in the Netherland mNY187.

16. **ST.LEGER,R.L.**, Charnely, A.K . and Cooper, R.M.1986_a .-Cutical degrading enzyme of entomopathogenic fungi:Cutical degradation *invitro* by enzymes from entomopathogenic *J.Invert.Path*.47:167-177.
17. **TUNCER,C.**; Knizek, M. and Hulcr, J. 2017. Scolytinae in hazelnut orchards of Turkey :Clarification of species and identification key (Coleoptera , Curculionidae) *.Zoo keys* 710: 65-76.