

حصر الفطور الممرضة للحشرات في ترب نظم بيئية وزراعية مختلفة في محافظة اللاذقية

محمد أحمد²، صباح المغربي¹ وأمل حاج حسن²

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛

(2) مركز إكثار الأعداء الحيوية، مديرية زراعة اللاذقية، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: amal.haj@gmail.com

المخلص

أحمد، محمد، صباح المغربي وأمل حاج حسن. 2011. حصر الفطور الممرضة للحشرات في ترب نظم بيئية وزراعية مختلفة في محافظة اللاذقية. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 171-178.

تم الكشف عن وجود الفطور الممرضة للحشرات في عينات تربة مأخوذة من نظامين بيئيين مختلفين (طبيعي وزراعي) في محافظة اللاذقية بإتباع طريقة طعم الجاليريا (Galleria bait method)، وقد وجدت الفطور الممرضة للحشرات بنسبة 75% من عينات التربة المدروسة، تم الحصول على 63 عزلة تنتمي إلى حوالي 18 نوعاً تتبع لـ 9 أجناس مختلفة. كانت عزلات أنواع الجنس *Beauveria* الأكثر تردداً حيث بلغت نسبة تردها 45% من المجموع الكلي للعزلات. بينت النتائج وجود فرق معنوي كبير بين وجود الفطور الممرضة للحشرات في كلا النظامين البيئيين المدروسين. تراوحت إمراضية العزلات المختبرة ليرقات دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* بين 0-100% كنسبة مئوية للنفوق وكانت العزلات الأكثر إمراضية بينها من أنواع الأجناس *Metarhizium*، *Beauveria*، *Conidiobolus*. كلمات مفتاحية: الفطور الممرضة للحشرات، طريقة طعم الجاليريا (Galleria bait method)، *Metarhizium*، *Beauveria*، مكافحة حيوية.

المقدمة

من دورة حياتها وذلك عندما تكون خارج عائلها الحشري. ومن الأنواع الممرضة للحشرات الشائعة الانتشار في التربة *Beauveria* spp.، *Paecilomyces* spp. و *Metarhizium anisopiliae* (11). كما وقد توجد فطور أخرى كالتالي تندرج تحت مجموعة الفطور الانتهازية مثل (*Mortierella*، *Clonostachys*، *Fusarium*، *Aspergillus*) التي من الممكن أن تؤثر بشكل كبير في ديناميكية مجتمعات الحشرات وقد أظهرت بعض الدراسات أن بعض أنواعها ذات إمراضية عالية للحشرات (1، 27).

إن عزل الفطور الممرضة للحشرات يعتبر الخطوة الأولى في سبيل الكشف عنها وتعريفها وتحديد وجودها الطبيعي وتنوعها الحيوي وصيانتها، ومن ثم العمل على دراسة إمكانية استخدامها كعامل مكافحة حيوية بغية إطلاقها في النظام البيئي الزراعي بهدف مكافحة الآفات (17). ويتم الكشف عن وجود الفطور الممرضة للحشرات في التربة إما عن طريق الأوساط الانتخابية أو عن طريق إضافة طعم للتربة من الحشرات الحساسة مثل "Galleria bait method" حيث تستخدم يرقات دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) لهذا الغرض (16). هذا وكان Zimmerman (28) أول من وصف طريقة استخدام يرقات دودة الشمع بإضافتها إلى التربة كطعم على أنها طريقة حساسة وفعالة للكشف عن الفطور الممرضة للحشرات في عينات التربة. وقد درس باستخدام إحدى هذه التقنيات أو كليهما معاً وجود الفطور الممرضة للحشرات وتردها في عدد من الترب الزراعية وغير الزراعية بشكل

تشكل الفطور الممرضة للحشرات أعداء طبيعية للحشرات والأكاروسات وتسهم في تنظيم مجتمعات عائلها في البيئة الطبيعية والزراعية (6). هذا وقد وجدت الفطور الممرضة للحشرات ضمن كافة أقسام الفطور (22)، إلا أن معظمها تنتمي للفطور الناقصة *Deuteromycota* وقد سُجِّل حوالي 30 جنساً منها على أنه يحوي نوع أو أكثر يصيب الحشرات (20). وتحدث عدوى الحشرات بالفطور عن طريق أبواغ الفطر التي تلتصق بجدار الجسم وتبدأ دورة الحياة بإنبات هذه الأبواغ واختراقها للجدار وبخاصة عند الأغشية بين الحلقات ويساعد عملية الاختراق الأنزيمات التي تفرز من قبل الفطر لتؤدي في النهاية إلى موت العائل (7). وعند وجود الإصابة الفطرية فإن أكثر مظهر ملفت للانتباه هو وجود الميسيليوم داخل الحشرة المصابة أو على سطحها الخارجي ويمكن أن تبدي الحشرة في مراحل الإصابة المبكرة مظاهر مرضية عامة مثل التوقف عن تناول الطعام والضعف وعدم المقدرة على تحديد الاتجاه وغالباً ما يتغير لون العائل ويمكن أن نرى بقاءً داكنة على الكيوتاكل مشيرة إلى مناطق الاختراق الفطرية (18).

تعد التربة موطناً ممتازاً للفطور الممرضة للحشرات والكائنات الحية الدقيقة الأخرى حيث أنها تحميها من الأشعة فوق البنفسجية وتخفف التأثيرات الشديدة للعوامل الأحيائية والأحيائية عليها. كما وتسهم التربة بدور مهم في الحفاظ على الفطور الممرضة للحشرات وقد سجلت العديد من الأنواع الممرضة للحشرات بشكل متكرر في الترب الزراعية حول العالم حيث أن هذه الفطور تقطن في التربة لفترة معينة

واسع ومكثف من قبل العديد من الباحثين (1، 3، 5، 12، 21، 23، 27).

كما أجريت أبحاث أخرى حول وجود الفطور الممرضة للحشرات في تربة الأسيجة المتاخمة للحقول الزراعية والترب الطبيعية كثرة الغابات على اعتبار أنها أقل تعرضاً للأنشطة البشرية وعمليات الخدمة التي يقوم بها الإنسان (13، 15، 26). وقد بينت هذه الدراسات بأن الفطور الممرضة للحشرات توجد بنسبة أعلى في كل من تربة الأسيجة والغابات كما وجدت الفطور الممرضة للحشرات بكثافة عالية في أتربة حقول الصويا غير المحروثة مقارنة مع الحقول المحروثة والمخدومة (24، 25). ونظراً لندرة الأبحاث في سورية حول الفطور الممرضة للحشرات ولكونها تمثل ثروة طبيعية متجددة يمكن استخدامها في مجال مكافحة الحيوية لبعض الآفات الحشرية. تم إجراء هذا البحث بهدف التحري عن وجود الفطور الممرضة للحشرات وتوزعها في بعض الترب الزراعية وغير الزراعية في محافظة اللاذقية وتحديد إمراضيتها لمعرفة إمكانية الإفادة منها في تطبيقات مكافحة الحيوية لاحقاً.

مواد البحث وطرائقه

جمع عينات التربة

جمعت 160 عينة تربة شملت 40 موقعاً مثلت نظاماً بيئية مختلفة طبيعية وزراعية، الطبيعية منها عبارة عن تربة غابات وأراضي بور لأكثر من عشر سنوات والزراعية كانت عبارة عن بسنتين أشجار مثمرة (حمضيات/موالح، زيتون، تفاح) وحقول نجليات. وتم أخذ العينات بواقع 4 عينات من كل موقع كما هو موضح في الجدول 1. وقد تم أخذ حوالي 1 كغ تربة لكل عينة بواسطة مجرفة معقمة على عمق 10-15 سم من سطح التربة ووضعت في كيس نايلون شفاف ونظيف ثم أغلق الكيس مع تسجيل المعلومات (رقم العينة وتاريخ الجمع ومصدر التربة) ومن ثم تم إحضار العينات إلى المختبر للفحص. تمت معالجة العينات خلال الأسبوع الأول من جمعها (8).

التربية المخبرية ليرقات دودة الشمع الكبرى

ربيت يرقات دودة الشمع الكبرى مخبرياً على وسط صناعي يتكون من دقيق القمح (200 غ)، خميرة (50 غ)، عسل (80 مل)، جليسرول (70 مل). حيث وُضع حوالي 1 كيلو غرام من هذا الوسط في وعاء زجاجي سعة 2 كغ وأضيف إليها حوالي 1000 بيضة أو 20-30 غ من بيض دودة الشمع الكبرى ومن ثم ترك الوعاء عند 28±2 °س في الحاضنة للوصول للعمر اليرقي المطلوب لإجراء التجارب عليه (16) مع مراعاة تكرار التربية حسب مقتضيات العمل.

الكشف عن وجود الفطور الممرضة للحشرات

اتبعت طريقة طعم الجاليريا "Galleria bait method" للكشف عن وجود الفطور الممرضة للحشرات في التربة الموصوفة من قبل Zimmerman (28) حيث تم خلط عينات كل موقع مع بعضها بشكل جيد وأبعدت الحصى والحجارة منها ثم نخلت بمنخل قطر فتحاته حوالي 4 مم ووضع حوالي 250-300 غ من العينة المنخلة بعلب بلاستيكية صغيرة سعة 500 غ وذلك بواقع مكررين لكل موقع ثم نقل إليها 5 يرقات من دودة الشمع الكبرى المرباة مخبرياً على وسط غذائي صناعي بالعمر الأخير (أي بعد حوالي 30 يوماً من فقس البيوض) ثم غطيت العلب ووضعت بشكل مقلوب في الحاضنة عند 25±2 °س مع مراعاة تقليب العلب بشكل يومي من 2-3 مرات خلال الأيام الثلاثة الأولى لوضعها في التربة للتأكد من تحرك اليرقات في التربة وتعرضها لأبواغ الفطور في حال وجودها. وقد أجري الكشف على اليرقات بعد أسبوع ثم بعد 14 يوماً من وضعها في التربة وخلال الكشف كانت تتم إزالة اليرقات الميتة للتحري عن المسبب.

جدول 1. مصادر التربة وعدد العينات من كل نوع تربة التي تم أخذها أثناء تنفيذ هذه الدراسة.

Table 1. Sources, number of samples and location of collected soil samples for this study.

عدد عينات التربة No. of soil samples	عدد المواقع No. of the locations	مصدر العينة Sample source
36	9	Citrus حمضيات
28	7	Olive زيتون
24	6	Apple تفاح
16	4	Cereals نجليات
24	6	Fallow بور
32	8	Forest غابة
160	40	Total المجموع

اليرقات الميتة التي تم استخراجها من التربة تم تطهيرها سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم 5% لمدة 3 دقائق ثم غسلها بالماء المقطر والمعقم 3 مرات ومن ثم نقلت كل يرقة إلى طبق بتري 9 سم معقم يحوي وسط بطاطا، دكستروز، آجار (PDA) مع مضاد حيوي واسع الطيف (Ceftriaxone sodium) الإسم التجاري (Ross) بنسبة 10 مغ/500 مل وبعد وضع اليرقات في الأطباق، تم إحكام إغلاقها بالبارافيلم ومن ثم حضنت عند 25±2 °س وبعد ذلك تم الكشف عليها بشكل يومي للتأكد من وجود الفطور الممرضة.

اختبارات الأمراض الأولية (فرضيات كوخ)

نمت العزلات الفطرية على وسط PDA لمدة 12-14 يوماً حتى وصول الفطر إلى مرحلة التبوغ. بعد ذلك حملت يرقات دودة الشمع بالعمر الرابع بوساطة ملقط معقم ودحرجت على المزرعة المتبوعة لتنتقل بعدها إلى أطباق بتري تحوي أوراق ترشيح مرطبة لتشجيع نمو الأبواغ على سطح الحشرة وذلك بواقع 3 مكررات وكل مكرر يحوي 4 يرقات دودة الشمع معدة بالفطر بالعمر الرابع. وفيما بعد، أحكم إغلاق الأطباق بأشرطة بارافيلم للحفاظ على الرطوبة ومن ثم حضنت عند 25 ± 2 °س وتم فحص اليرقات بشكل يومي وتسجيل عدد اليرقات الميتة حتى اليوم السابع من عداها بالفطور (14).

التصنيف

تم تعريف الفطور بناءً على مظهر الإصابة على اليرقات ثم على الشكل المورفولوجي للمستعمرات الفطرية وعلى شكل وحجم وأبعاد الأبواغ خلال الفحص المجهرى وباستخدام المفاتيح التصنيفية (9، 10، 18، 20). وتم حفظ العزلات على وسط PDA في أنابيب اختبار تحوي الوسط الغذائي على شكل مائل ووضعت في البراد عند 4 °س وأعيدت زراعتها شهرياً.

تحليل البيانات

تم استخدام البرنامج الإحصائي SPSS النسخة 15.00 للتحليل الإحصائية حيث حللت نتائج تردد وجود الأنواع الفطرية للفطور الممرضة للحشرات في مختلف أنواع الترب بإجراء اختبار X^2 عند مستوى معنوية 0.05. وتم حساب النسبة المئوية لليرقات الميتة في اختبارات الأمراض الأولية لتحديد الأنواع الأكثر فتكاً بالحشرات.

النتائج والمناقشة

الفطور الممرضة للحشرات في عينات التربة المدروسة

بلغت النسبة المئوية لعينات التربة التي احتوت فطوراً ممرضة للحشرات 75% من مجموع العينات المختبرة، كان المجموع الكلي لعدد العزلات التي تم الحصول عليها 63 عزلة تنتمي إلى 18 نوعاً تتبع 9 أجناس مختلفة من قسمين مختلفين، سبعة منها يتبع للفطور الناقصة Deuteromycota هي *Beauveria*، *Metarhizium*، *Paecilomyces*، *Verticillium*، *Fusarium*، *Aspergillus*، *Penicillium*، واثنان من الفطور الزيجية Zygomycota هما *Mucor* و *Conidiobolus* (جدول 2)، تعد هذه الدراسة الأولى التي تقوم بالكشف عن وجود الفطور الممرضة للحشرات في ترب نظم زراعية وبيئية مختلفة في محافظة اللاذقية وقد أتت النتائج متوافقة مع بعض الدراسات المماثلة في مناطق أخرى من العالم مثل إسبانيا التي بلغت

نسبة وجود الفطور الممرضة للحشرات في بعض تربها الطبيعية والزراعية 71.7% (19)، وكانت 76.2% في بساتين جوز البيكان في أمريكا (23). كما أن النسبة التي سجلت في هذه الدراسة كانت أعلى من النسبة التي وجدت في الترب الطبيعية في الصين التي شملت عينات التربة المفحوصة ترب غابات طبيعية من كافة أقاليم الصين الشمالية منها والشمالية الغربية والغربية وجنوب وسط الصين بالإضافة إلى جزيرة هاينان والهيماالايا وكانت النسبة 55.5% (26)، وهي أعلى أيضاً مما وجد في الأراضي الزراعية في مناطق السلطة الفلسطينية (33.6%) (1). أما في المملكة المتحدة كانت نسبة وجود الفطور الممرضة للحشرات بالغة الانخفاض مقارنة مع نتائج دراستنا حيث بلغت 27.6% (5). وقد يعود السبب في تفاوت هذه النسب في المناطق المختلفة من العالم إلى تباين واختلاف مناطق البحث بيئياً وجغرافياً وكذلك إلى الاختلاف في نوع وطبيعة التربة و النظام البيئي إن كان طبيعياً أو زراعياً وحتى إلى اختلاف النظام الزراعي نفسه فيما إذا كان حقلاً لمحاصيل موسمية أو بستاناً لأشجار معمرة.

إن أنواع كلاً من الأجناس *Beauveria*، *Metarhizium*، *Conidiobolus* والنوعان *Verticillium lecanii*، *Paecilomyces coronatus* فطور متخصصة بأمراض الحشرات وقد وجد بعضها بنسب مرتفعة ضمن الأنظمة البيئية التي درسناها، وكان الجنس *Beauveria* هو الأكثر تردداً بينها ولقد عزل من كافة أنواع الترب المختبرة وبلغت نسبة تردده 45%، وأعلى تردد للنوع *Beauveria bassiana* كان في تربة الغابة فقد بلغت نسبة تردده 87.5% في عينات أتربتها، وكان هناك فرق معنوي في وجود هذا النوع بين أنواع الترب المختلفة ($X^2 = 35.78$ ، $df = 5$ و $p > 0.05$). وتلاه الجنس *Paecilomyces* حيث بلغت نسبة تردده 9.6% في الترب المدروسة ولقد عزل من كل من تربة الغابة والحمضيات/الموالح والأرض البور. ووجد النوع *Paecilomyces fumosoroseus* بنسبة 11.1% في تربة الحمضيات/الموالح و12.5% في تربة الغابة ولم يكن هناك فرق معنوي لوجوده في كلا نوعي التربة ($X^2 = 0.156$ ، $df = 1$ و $p = 0.68$). أما النوع *Paecilomyces lilacinus* فقد وجد في تربة بساتين الحمضيات/الموالح فقط، والنوع *Paecilomyces* sp. في تربة الأرض البور فقط. الجنس *Metarhizium* كانت نسبة تردده أقل وبلغت 4.8% وعُزل فقط من تربة الحمضيات/الموالح والزيتون والنجيليات حيث أن النوع *Metarhizium anisopliae* وجد في تربة بساتين كل من الحمضيات والزيتون ولم يكن هناك فرق معنوي لوجوده فيهما. أما النوع *Metarhizium flavoviride* فقد وجد في تربة حقول النجيليات فقط. كان النوعان *Conidiobolus coronatus* و *Verticillium lecanii* الأقل تردداً حيث بلغت نسبة تردد كل منهما

هذه الدراسة فقد عزل النوع *Beauveria bassiana* بتردد مرتفع من الترب الطبيعية في حين لم نحصل منها على أية عزلات للنوع *Metarhizium anisopliae* الذي عزل من الترب الزراعية فقط. أما في الدراسة التي أجراها Sun و Liu (26) فكانت أنواع الجنس *Paecilomyces* هي الأكثر تردداً في الترب الطبيعية في الصين حيث بلغ تردد النوعين *P. fumosoroseus* و *P. farinosus* 19.6% و 6.1%، على التوالي، في حين كان النوع *Conidiobolus coronatus* هو الأكثر انتشاراً في ترب كل من بساتين الحمضيات وحقول الخضروات في الأراضي الفلسطينية في الدراسة التي أجراها Ali-Shtayeh وآخرون (1) وبلغت نسبة تردده 31.4%، في حين أن النوع *C. coronatus* كان من الأنواع الأقل تردداً في دراستنا هذه (1.6%) مماثلاً للنوع *Verticillium lecanii* الذي كانت نسبة تردده منخفضة في الأراضي الطبيعية في الصين (15، 26) وربما يعود السبب في انخفاض نسبة تردده إلى أنه فطر أكثر تخصصاً في إمرضية الحشرات التي تصيب المجموع الخصري من رتبة Homoptera مثل المنّ والذباب الأبيض وغيرها، الأمر الذي يقلل فرص انتشاره في التربة عن باقي الفطور الأخرى.

1.6% فقط ولم يعزلاً إلا من تربة الحمضيات للأول والزيتون للثاني. وبشكل عام فإن الأنواع الفطرية الممرضة للحشرات الأكثر تردداً خلال الدراسات المجراة في مناطق مختلفة حول العالم احتوت على بعض أو كل من الأجناس *Beauveria*، *Metarhizium*، *Paecilomyces*، *Conidiobolus* إضافة إلى النوع *Verticillium lecanii*. ففي الدراسة التي أجراها Quesada-Moraga وآخرون (19) في إسبانيا كان تردد النوع *B. bassiana* 42.6% وتردد النوع *M. anisopliae* 7.3% وكذلك في الدراسة التي بحثت وجود الفطور الممرضة للحشرات في ترب بساتين البيكان كان تردد النوع الأول 56.1% والنوع الثاني 23.8% (23). هذا وتشير الدراسات إلى أن النوع *Beauveria bassiana* هو الأكثر تردداً وشيوعاً في بلدان حوض البحر المتوسط حيث أنه أكثر تلاؤماً مع المناخات الأكثر دفئاً (19)، بينما النوع *Metarhizium anisopliae* كان أكثر شيوعاً في ترب البلدان الشمالية ذات المناخ الأكثر رطوبة وبرودة مثل النرويج (13) وسويسرا (12) وكندا (3) وكذلك في شمال غرب الباسيفيك في الولايات المتحدة الأمريكية (4). كما أن نسبة وجوده في الترب الزراعية أكثر منها في الترب الطبيعية بعكس النوع *Beauveria bassiana* الذي يكثر انتشاره في الترب الطبيعية أكثر منها في الزراعية وهذا ما حصلنا عليه خلال

جدول 2. حدوث* وتوزع** الفطور الممرضة للحشرات في عينات التربة المدروسة في محافظة اللاذقية.

Table 2. Occurrence* and distribution** of entomopathogenic fungi in soils collected from different locations of Latakia governorate.

مستوى الاحتمالية (P)	X ²	نسبة التردد %F	غابة Forest n=8	بور Fallow n=6	نجليات Cereals n=4	تفاح Apple n=6	زيتون Olive n=7	حمضيات Citrus n=9	الفطر المرض Entomopathogenics fungus
0.257	1.29	3.2	0.0	16.7	0	0.0	0.0	11.1	<i>Aspergillus flavus</i>
0.000	64.13	11.1	0.0	66.7	25	16.7	0.0	11.1	<i>Aspergillus spp.</i>
0.000	35.78	36.5	87.5	33.3	75	50.0	57.1	44.4	<i>Beauveria bassiana</i>
-	-	1.6	0.0	0.0	25	0.0	0.0	0.0	<i>Beauveria brongniartii</i>
0.001	14.87	7.9	37.5	0.0	0	16.7	14.3	0.0	<i>Beauveria sp.</i>
-	-	1.6	0.0	0.0	0	0.0	0.0	11.1	<i>Conidiobolus coronatus</i>
0.052	3.79	3.2	12.5	0.0	25	0.0	0.0	0.0	<i>Fusarium oxysporium</i>
-	-	3.2	0.0	0.0	0	33.3	0.0	0.0	<i>Fusarium solani</i>
-	-	1.6	0.0	0.0	0	0.0	0.0	11.1	<i>Fusarium semitectum</i>
0.423	0.64	4.8	0.0	16.7	0	0.0	0.0	22.2	<i>Fusarium sp.</i>
0.549	0.36	3.2	0.0	0.0	0	0.0	14.3	11.1	<i>Metarhizium anisopliae</i>
-	-	1.6	0.0	0.0	25	0.0	0.0	0.0	<i>Metarhizium flavoviride</i>
0.014	6.09	4.8	12.5	0.0	0	0.0	28.6	0.0	<i>Mucor spp.</i>
0.683	0.17	3.2	12.5	0.0	0	0.0	0.0	11.1	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
-	-	3.2	0.0	0.0	0	0.0	0.0	11.1	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
-	-	3.2	0.0	33.3	0	0.0	0.0	0.0	<i>Paecilomyces sp.</i>
0.078	3.10	4.8	25.0	0.0	0	0.0	14.3	0.0	<i>Penicillium spp.</i>
-	-	1.6	0.0	0.0	0	0.0	14.3	0.0	<i>Verticillium lecanii</i>

* الحدوث = عدد العينات التي تحوي نوع معين/ العدد الكلي للعينات المجموعة من نوع التربة نفسها

** نسبة التردد % = (عدد عزلات نوع ما/ العدد الكلي لكافة العزلات) × 100

* Occurrence: number of soil samples which contain a specific entomopathogenic species/total number of collected soil samples of the same soil type.

** Frequency of occurrence (F) % = number of isolates of a specific species/total number of all isolates which is 63×100

مبيدات متكررة خلال الموسم الزراعي كذلك الأمر بالنسبة لحقول النجيليات التي تعتبر زراعة موسمية وهي معرضة للعديد من عمليات الخدمة وغيرها مما يجعلها أكثر اضطراباً وأقل استقراراً من الأنظمة الأخرى الأمر الذي قد يفسر سبب انخفاض نسبة حدوث الفطور المرصدة للحشرات فيها، وبالفعل في الدراسة التي أجراها Sun وآخرون (27) على الفطور المرتبطة بالحشرات في كل من حقول المحاصيل وبساتين الأشجار المثمرة المعمرة كان حدوث الفطور المرصدة للحشرات أعلى بشكل ملحوظ في تربة بساتين الأشجار المثمرة منه في تربة المحاصيل الحقلية.

جدول 3. النسبة المئوية لحدوث الفطور المرصدة للحشرات ضمن التربة من أنظمة بيئية وزراعية مختلفة في محافظة اللاذقية

Table 3. Occurrence (%) of entomopathogenic fungi in soil of natural or agricultural ecologies.

النسبة المئوية لتواجد الفطور المرصدة		
Occurrence (%) of entomopathogenic fungi		
زراعي Agricultural		
77.8	Citrus	حمضيات/موالح
71.4	Olive	زيتون
66.7	Apple	تفاح
50	Cereals	نجيليات
طبيعي Natural		
83.3	Fallow	بور
87.5	Forest	غابة
20.65		χ^2
0.00		مستوى الاحتمال P

وقد دلّت نتيجة مقارنة نسبة حدوث الفطور المرصدة للحشرات في النظام البيئي الطبيعي (تربة الغابة والأرض البور) والنظام البيئي الزراعي (تربة بساتين الحمضيات والزيتون والتفاح وحقول النجيليات) على وجود فرق معنوي كبير في حدوث هذه الفطور في كلا النظامين $(\chi^2 = 20.65, df = 1, p > 0.005)$ (جدول 3)، وهذه النتيجة تؤكد نتائج سابقة تم الحصول عليها من دراسة أجريت في نيوزيلندا من قبل كل من Barker و Barker (2) فقد كانت نسبة إصابة يرقات دودة الشمع الكبرى بالفطور المرصدة للحشرات أعلى في تربة المراعي والغابات منها في التربة الزراعية، كما أكدت دراسة قام بها Sosa-Gomes وآخرون (25) بأن حدوث الفطور المرصدة للحشرات في التربة غير المحروثة لحقول فول الصويا أعلى منه في التربة المحروثة حيث أن الأنظمة الأكثر استقراراً تصبح ملائمة بشكل أكبر لحدوث هذه الفطور.

إن الأنواع التابعة لكل من الأجناس *Aspergillus*، *Fusarium*، *Mucor*، *Penicillium* ليست ممرضات شائعة للحشرات ولذلك قاد عزلها من بعض أنواع الحشرات إلى اعتبارها فطور انتهازية (27)، وعزل كل من هذه الفطور في دراستنا بنسب تردد متفاوتة ومن مختلف أنواع التربة. فالجنس *Aspergillus* بلغت نسبة ترده 14.3% وعزل من كافة الأنظمة البيئية المدروسة ماعدا تربة الغابة وبساتين الزيتون. ووجد النوع *Aspergillus* spp. بنسبة مرتفعة في تربة الأرض البور 66.7% وكان هناك فرق معنوي لنسبة وجوده في كل من الأرض البور وتربة كل من بساتين الحمضيات والتفاح وحقول النجيليات $(\chi^2 = 64.13, df = 3, p > 0.005)$. وتردد الفطر *Fusarium* بنسبة 12.8% ووجد في كافة التربة ماعدا تربة بساتين الزيتون وقد تردد كلا النوعين *F. solani* و *F. Oxysporium* بالنسبة نفسها وكانت 3.2% إلا أن النوع الأول عزل من تربة حقول النجيليات والغابة والثاني عزل من تربة بساتين التفاح فقط، والنوع *Fusarium* sp. وجد في تربة الأراضي البور وتربة بساتين الحمضيات بتردد بلغ 4.8%. ولم يُسجل فرق معنوي في نسبة وجوده في كلا نوعي التربة. في حين تردد النوعان *Mucor* spp. و *Penicillium* spp. بالنسبة نفسها وكانت 4.8% وعزل كلاهما من تربة الغابة وتربة بساتين الزيتون فقط.

مقارنة نسبة حدوث الفطور المرصدة للحشرات ضمن الأنظمة البيئية المختلفة (الطبيعية والمزروعة)

وجدت الفطور المرصدة للحشرات في كافة النظم البيئية المدروسة وبلغ أعلى حدوث لها في كل من تربة الغابة والأرض البور (87.5% و 83.3%، على التوالي) ثم في تربة بساتين الحمضيات (77.8%) فالزيتون (71.4%) تلتها تربة بساتين التفاح 66.7% لتكون أقل نسبة لها في تربة حقول النجيليات 50%. وقد أشارت دراسات سابقة على أن الفطور المرصدة للحشرات توجد في التربة الطبيعية والأكثر استقراراً أكثر منها في التربة الزراعية التي تتعرض للإضطراب بشكل مستمر بسبب عمليات الخدمة المتكررة (19) وهذا ما يفسر ارتفاع نسبة حدوثها في تربة الغابة والأرض البور عن باقي أنواع التربة. إلا أن نسبة حدوث الفطور المرصدة للحشرات كانت مرتفعة أيضاً في كل من تربة بساتين الحمضيات والزيتون وقد يكون السبب في ذلك هو ميل هذه الأنظمة للاستقرار أكثر من الأخرى حيث أنها تحوي أشجاراً معمرة وهي أقل عرضة لعمليات الرش بالمبيدات في محافظة اللاذقية إذ أنها أقرب للزراعة العضوية من التقليدية وهذا يفسح المجال لاستيطان هذه التربة بالعديد من الكائنات الحية الدقيقة التي من الممكن أن تكون إحدى عوامل المكافحة الحيوية. وعلى النقيض منها تربة بساتين التفاح في المحافظة حيث أنها مخدومة بشكل كبير وعرضة لعمليات رش

نتائج اختبارات الأمراض الأولية

كل من الأجناس *Beauveria*، *Metarhizium*، *Paecilomyces*، *Conidiobolus* والنوع *Verticillium lecanii* إضافة إلى الأنواع التي تتبع لكل من الأجناس *Aspergillus*، *Fusarium*، *Mucor*، *Penicillium* والمسجلة على الحشرات في عدة دراسات أخرى سابقة. كما أظهرت نتائج اختبارات الأمراض الأولية أن الأنواع الممرضة للحشرات سببت نسبة قتل مرتفعة لحشرة الاختبار (دودة الشمع الكبرى) وتعتبر هذه النتائج إيجابية وتشكل قاعدة جيدة لدراسات لاحقة حول اختبار فعالية الأنواع والعزلات الأكثر ضراوة ضد آفات زراعية خطيرة تبدي الآن مقاومة عالية للمبيدات في سبيل إمكانية تطويرها واستخدامها كعنصر فعال في مكافحة الحويبة للآفات.

جدول 4. نتائج اختبارات الأمراض الأولية للفطور المعزولة على العمر اليرقي الرابع لحشرة دودة الشمع الكبرى (عدد يرقات المكررات 12).

Table 4. Effect of entomopathogenic fungi isolates on the fourth larval stage *Gallariamellonella* (No. of larvae for each replicate was 12).

الزمن بعد العدوى (يوم)	نسبة الموت %	عدد العزلات	الفطر	الشاهد
Days after infection	Death rate (%)	No. of isolates	Entomopathogenic fungus	
7	0		Control	
7	66.7-0	7	<i>Aspergillus</i> spp.	
7-5	16.7-8.3	2	<i>A.flavus</i>	
3-2	100	5	<i>Beauveria</i> sp.	
3-2	100	23	<i>B.bassiana</i>	
3	100	1	<i>B.brongniartii</i>	
6	100	1	<i>Conidiobolus coronatus</i>	
7-5	72.2-55.6	2	<i>Fusarium solani</i>	
7-4	83.3-69.4	2	<i>F. oxysporum</i>	
7	30.6	1	<i>F. semitectum</i>	
7-5	33.3-16.7	3	<i>Fusarium</i> sp.	
3	100	2	<i>Metarhizium anisopliae</i>	
3	100	1	<i>M.flavoviride</i>	
7	22.2-5.6	3	<i>Mucor</i> spp.	
7	61.1-41.6	2	<i>Paecilomyces</i> sp.	
7-5	63.9-55.6	2	<i>P.lilacinus</i>	
6	83.3-75	2	<i>P.fumosoroseus</i>	
7	22.2-0	3	<i>Penicillium</i> spp.	
7	88.9	1	<i>Verticillium lecanii</i>	

سببت العزلات المختبرة نسباً متفاوتة من النفوق ليرقات دودة الشمع الكبرى حيث تراوحت الأمراض الأولية (النسبة المئوية للنفوق) بين 0-100% وقد أثبتت عزلات أنواع كل من الجنسين *Beauveria*، *Metarhizium* بأنها الأكثر فتكاً حيث وصلت نسبة النفوق بعد يومين إلى ثلاثة أيام من العدوى بالفطرين و لكافة العزلات 100%، كما أن نسبة النفوق المتسببة عن عزلة الفطر *Conidiobolus coronatus* بلغت 100% في اليوم السادس للعدوى، تلتها عزلة الفطر *Verticillium lecanii* 88.9%، فعزلات *Paecilomyces* تراوحت بين 55.6% و 83.3% في حين تراوحت نسبة النفوق التي سببتها عزلات الجنس *Fusarium* بين 16.7-83.3% وعزلات *Aspergillus* بين 0-66.7% وقد أحدثت عزلات كل من الجنسين *Penicillium*، *Mucor* أقل نسبة نفوق حيث تراوحت هذه النسبة بين 0 و 22.22% (جدول 4).

إن الأنواع التابعة لكل من الأجناس *Beauveria*،

Metarhizium، *Paecilomyces* والنوع *Verticillium lecanii* هي فطور متخصصة بأمراض الحشرات لذلك من الطبيعي أن تؤدي إلى نسبة قتل عالية خلال مدة زمنية قصيرة، أما الأنواع التابعة للأجناس الأخرى فقد سببت نسب قتل متفاوتة عند اختبار إمراضيتها على يرقات دودة الشمع الكبرى بعد عزلها كطور مرتبطة مع الحشرات فنتائج الأمراض الأولية التي حصل عليها Sun وآخرون (27) كانت 0-26.7% لعزلات *Aspergillus* و *Penicillium* وفي حدود 0-93.3% لعزلات *Fusarium* في حين كانت 6.7% للفطر *Mucor* spp. وقد عزا الباحث ارتفاع نسبة النفوق لبعض العزلات التابعة لهذه الأنواع إلى سرعة نمو مثل هذه الفطور وتبوغها وإلى حساسية يرقات دودة الشمع وكذلك سرعة إصابة اليرقات الضعيفة والمتأذية.

إن النتائج التي تم الحصول عليها من خلال هذه الدراسة تؤكد حدوث الفطور الممرضة للحشرات في الترب الطبيعية والزراعية في محافظة اللاذقية بنسبة مرتفعة كما تؤكد تنوع هذه الفطور فقد تم عزل عشرة أنواع فطرية معروفة بأنها فطور ممرضة للحشرات تتبع

Abstract

Ahmad, M., S. Al-Moughrabi and A. Haj Hassan. 2011. Survey of Entomopathogenic Fungi in Soils of Different Ecosystems in Lattakia. Arab Journal of Plant Protection, 29: 171-178.

The occurrence of entomopathogenic fungi was investigated in 160 soil samples collected from two different ecosystems (Natural and Cultivated) in Lattakia, Syria, using the Galleria bait method. Entomopathogenic fungi were found to occur in 75% of the studied soil samples, with positive samples yielding 63 fungal isolates, belonging to 18 species from 9 genera. Isolates from the genus *Beauveria* were the most frequent and abundant entomopathogenic species recovered, comprising 45% of the total number of isolates. There was a significant difference in the occurrence of entomopathogenic fungi between the two ecosystems (Natural and Cultivated ones) ($p < 0.05$). Using Koch's postulates, the mortality rate caused by the fungal isolates to Galleria larvae was found to range from 0 to 100%. Isolates of *Beauveria*, *Metarhizium* and *Conidiobolus* were the most virulent isolates recovered.

Keywords: Entomopathogenic fungi, Galleria bait method, *Beauveria*, *Metarhizium*, Biological control.

Corresponding author: Mohammad Ahmad, Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria, Email:amal.haj@gmail.com

1. **Ali-Shtayeh, M.S., A.B.B.M. Mara and R.M. Jamous.** 2002. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. *Mycopathologia*, 156: 235–244.
2. **Barker, C.W. and G.M. Barker.** 1998. Generalist entomopathogens as biological indicators of deforestation and agricultural land use impacts on Waikato soils. *New Zealand Journal of Ecology*, 22:189-196.
3. **Bidochka, M.J., J.E. Kasperski and G.A.M. Wild.** 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-Northern habitats. *Canadian Journal of Botany*, 76: 1198–1204.
4. **Bruck D.J.** 2004. Natural occurrence of entomopathogens in Pacific Northwest nursery soils and their virulence to the black vine weevil, *Otiiorhynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 33: 1335–1343.
5. **Chandler D., D. Hay and A.P. Reid.** 1997. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. *Applied Soil Ecology*, 5: 133–141.
6. **Eilenberg, J., A. Hajek and C. Lomer.** 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, 46:387-400.
7. **Ferron, P.** 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23:409-442.
8. **Goettel, M.S. and D. Inglis.** 1997. Fungi: Hyphomycetes. Pages 213-249. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology* Lacey L.A (Editors). Academic Press. New York. 409 pp.
9. **Humber, R.A.** 1997. Fungi: identification. Pages 153–185. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology*. L.A. Lacey (ed.). Academic Press. New York. 409 pp.
10. **Humber, R.A.** 1998. Entomopathogenic fungal identification. APS/ESA joint annual meeting. 26 pp.
11. **Keller, S. and G. Zimmerman.** 1989. Mycopathogens of soil insects. Pages 239–270. In: *Insect–Fungus Interactions*. N. Wilding, N.M. Collins, P.M. Hammond and J.F. Webber (eds.). Academic Press, London.
12. **Keller, S., P. Kessler and C. Schweizer.** 2003. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol*, 48: 307-319.
13. **Klingen, I., J. Eilenberg and R. Meadow.** 2002. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 91: 191–198.
14. **Lacey, L.A. and W.M. Brooks.** 1997. Initial handling and diagnosis of diseased insects. Pages 1-15. In: *Manual of Techniques in Insect Pathology*. L.A. Lacey (ed.). Academic Press. New York. 409 pp.
15. **Meyling, N.V. and J. Eilenberg.** 2006. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113: 336–341.
16. **Meyling N.V.** 2007. Methods for isolation of entomopathogenic fungi from the soil environment-Laboratory manual. Department of Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Denmark. 18 pp.
17. **Parker, L.P., M. Skinner, M. Brownbridge and M. El Bouhssini.** 2000. Control of insect pests with entomopathogenic fungi. *Arab Journal of Plant Protection*, 18: 133-138.
18. **Poinar, G.O. Jr and G.O. Thomas.** 1984. *Laboratory guide to insect pathogens and parasites*. Plenum Press, New York. 392 pp.
19. **Quesada-Moraga, E., J.A. Navas-Cortes, E.A.A. Maranhao, A. Ortiz-Urquiza and C. Santiago-Alvarez.** 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research*, 111: 947–966.
20. **Samson, R.A.** 1981. Identification: entomopathogenic Deuteromycetes. Pages 93-106. In: *Microbial control of pests and plant disease 1970–1980*. H.D. Burges (ed.). Academic Press London.
21. **Sapieha-Waszkiewicz, A., B. Marjanska-Cichon and Z. Piwowarczykz.** 2005. The occurrence of entomopathogenic fungi in the soil from the plantations of black currant and aronia. *Journal of Polish Agricultural Universities, Horticulture*, Volume 8, Issue 1. Available online http://www.ejpau.media.pl/volume_8,Issue_1/art-22.html
22. **Shah, P.A. and J.K. Pell.** 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 16: 413-423.
23. **Shapiro-Ilan, D.I., W.A. Gardner, J.R. Fuxa, B.W. Wood, K.B. Nguyen, B.J. Adams, R.A. Humber and M.J. Hall.** 2003. Survey of entomopathogenic nematodes and fungi endemic to pecan orchards of the Southeastern United States and their virulence to the pecan weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*. 32: 187-195.
24. **Sosa-Gómez, D.R. and F. Moscardi.** 1994. Effect of till and no-till soybean cultivation on dynamics of entomopathogenic fungi in the soil. *Florida Entomologist*, 77: 284-287.
25. **Sosa-Gomez, D.R., K.E. Delpin, F. Moscardi and J.R.B. Farias.** 2001. Natural occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium*, *Beauveria* and *Paecilomyces* in soybean under till and no-till cultivation systems. *Neotropical Entomology*, 30: 407–410.

26. **Sun, B.D. and X.Z. Liu.** 2008. Occurrence and Diversity of Insect-associated Fungi in Natural Soils in China. *Applied Soil Ecology*,39: 100–108.
27. **Sun, B.D., H.Y. Yu, A.J. Chen and X.Z. Liu.** 2008. Insect- associated fungi in soils of field crops and orchards. *Crop Protection*, 27: 1421-1426.

28. **Zimmermann, G.** 1986. The 'Galleria bait method' for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of Applied Entomology*, 102: 213–215.

Received: May17,2010; Accepted: November14, 2010

تاريخ الاستلام: 2010/5/17؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2010/11/14