

التقويم المختبري لفعالية الفطر *Beauvaria bassiana* (Bais.) Vuil في موت شغالات وجنود حشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* (Silvestri) عند درجات حرارة مختلفة

راضي فاضل الجصاني¹ ومعن عبد العزيز الصالحي²

(1) كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق؛ (2) كلية العلوم، الجامعة المستنصرية، بغداد، العراق، البريد الإلكتروني: radhi1957@yahoo.com

الملخص

الجصاني، راضي فاضل ومعن عبد العزيز الصالحي. 2011. التقويم المختبري لفعالية الفطر *Beauvaria bassiana* (Bais.) Vuil في موت شغالات وجنود حشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* (Silvestri) عند درجات حرارة مختلفة. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 206-213. تم تنفيذ عدد من التجارب المختبرية لتقويم فعالية تركيبات مختلفة من الفطر *Beauvaria bassiana* في إحداث القتل لشغالات وجنود حشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* Silv. أشارت النتائج أن درجة الحرارة 25±3 °س أكثر ملاءمة لنشاط الفطر *B. bassiana* في إحداث أعلى نسبة قتل 100% خلال أقصر فترة زمنية بلغت 14 و 14 و 7 أيام من المعاملة عند التراكيز 10⁵، 10⁶ و 10⁷ بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي. أما في ظروف المختبر الطبيعية، فقد أحدث الفطر نسب قتل منخفضة في بداية المعاملة وارتفعت تدريجياً لتصل إلى 100% بعد 35، 35 و 21 يوماً من المعاملة بالتراكيز نفسها المستعملة آنفاً. بينما عند درجات الحرارة 20، 30 و 35±3 °س، فقد تفاوتت فاعلية الفطر في إحداث القتل لأفراد الأرضة وأن درجة الحرارة 35±3 °س هي الأقل ملاءمة لنمو ونشاط الفطر. كما أوضحت نتائج الدراسة أن مدة أبواغ الفطر التي بقيت فعالة في إحداث الموت لأفراد الأرضة في ظروف المختبر بلغت 60، 90 و 120 يوماً عند المعاملة بالتراكيز 10⁵، 10⁶ و 10⁷ بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي. وبينت نتائج الدراسة أن أفراد حشرة الأرضة أظهرت تجنباً وابتعاداً عن الأوساط الغذائية المعاملة بأبواغ الفطر خلال الفترة الأولى من المعاملة البالغة 5-7 أيام إلا أنها بدأت بالتغذية على الوسط بعد هذه الفترة. كلمات مفتاحية: *Microcerotermes diversus*، شغالات، *Beauvaria bassiana*.

المقدمة

24 ساعة لشغالات وجنود الأرضة *C. camulanus* عند 25±0.5 °س وأن إنتاج الأبواغ وتكوين مستعمرة من هيفات الفطر بالسرعة الكبيرة دليل على امتلاك العزلة لمقدرة مرضية عالية ضد أفراد الأرضة (12) حيث تم الاستشهاد بأنواع أخرى من الأرضة منتشرة في العالم، وذلك لأن النوع قيد الدراسة ينتشر في العراق وإيران والمملكة العربية السعودية ومصر وتعتبر هذه أول دراسة له في العراق.

يهدف البحث الحالي إلى تقويم فعالية الفطر *B. bassiana* بالتراكيز 10⁵، 10⁶ و 10⁷ بوغ/مل ماء مقطر عند درجات حرارة مختلفة في إحداث القتل لشغالات وجنود الأرضة *Microcerotermes diversus* في المختبر.

مواد البحث وطرائقه

مصدر الفطر *B. bassiana*

استخدم في هذه الدراسة المستحضر التجاري NATURALIS Hand G إنتاج شركة Troy Biosciences وهو عبارة عن مبيد حيوي سائل في علبه تحتوي على 0.5 لتر من العزلة ATCC 74040 للفطر *B. bassiana* بتركيز 2.3×10⁷ بوغ/مل ويمكن خلطه بسهولة مع الماء لرشه واستخدامه في المعاملات. وتم الحصول على المستحضر التجاري من مركز الشركة في الولايات المتحدة الأمريكية.

توجه العديد من الباحثين إلى البحث عن بدائل للمبيدات الكيميائية في مكافحة حشرة الأرضة وذلك بسبب السلبيات المسجلة على المبيدات من حيث السمية العالية للإنسان والثدييات ومدة البقاء العالية في التربة وتكاليف التصنيع والأسعار المرتفعة، وفي مقدمة هذه البدائل استخدام الفطر (*Beauvaria bassiana* (Bais.) الذي يعدّ أحد عوامل المكافحة الأحيائية المهمة في تطفله على كثير من الحشرات، وقدرته الإيمراضية العالية ضد حشرة الأرضة في المختبر عند تغذية شغالات الأرضة *Coptototermes formosanus* على طعوم غذائية معاملة بأبواغ الفطر ونقلها إلى الشغالات البعيدة عن الطعوم الغذائية عن طريق تبادل الغذاء أو التنظيف (11). كما أن قوة وكفاءة الطعوم الغذائية المعاملة بتراكيز منخفضة من الفطر لمكافحة الأرضة تزداد نتيجة الفعالية العالية للفطر ومقدرته على الانتشار بين أفراد الطائفة وإحداث وباء مرضي قبل التعرف على وتحديد الفطر من قبل أفراد طائفة الأرضة (9). هناك اختلاف في قوة تأثير الفطر في تعداد الأرضة بسبب اختلاف أنواع الأرضة والعزلات والسلالات المستعملة من الفطر، واختلاف تراكيز اللقاح المستخدم، وطريقة المعاملة، وحساسية أفراد الأرضة للقاح الفطر (3). وقد ذكر أن إنبات أبواغ العزلة 447 للفطر *B. bassiana* كان بعد 12 ساعة واختراق الكيوتيكول حدث بعد

الراشح بعد تبريده وأضيف إليه 10 غ من السكر، ووضع في دوارق زجاجية سعة 250 مل معقمة وعقمت بوساطة جهاز الضغط البخاري عند 121 °س وضغط 15 باوند/ بوصة² ولمدة 20 دقيقة. وبعد التبريد، أضيف إليها المضاد الحيوي Penicillin بتركيز 4 غ/لتر، و Streptomycin بتركيز 1 غ/لتر، وأعقب ذلك وضع أجزاء من المستعمرات الفطرية النامية على الوسط الغذائي الصلب P.D.A بعمر 7-10 أيام، وبعد تحريك الدوارق قليلاً ويهدوء حضنت عند درجة حرارة 25±3°س لمدة 7-10 أيام (10).

وبعد النمو، وضعت مكونات الدوارق الحاوية على الوسط الغذائي ومستعمرات الفطر في خلاط كهربائي لمدة 5 دقائق، ورشح بعدها الخليط بوساطة قطعة شاش نظيفة ومعقمة، ووضع الراشح في دورق سعة 250 مل، وأخذ منه 1 مل ووضع على شريحة خاصة بحساب وعدّ أبواغ الفطر تسمى شريحة عد كريات الدم الحمراء/الهيموسايتوميتر Haemocytometer وتم حساب عدد أبواغ الفطر الموجودة في خلية (C) من الشريحة، وعلى أساسها تم تحضير التراكيز 10⁵، 10⁶ و 10⁷ بوغ/مل ماء مقطر مهينة للمعاملات المختلفة (10). وحضرت أطباق بتري بقطر 10 سم معقمة ومبطنه بورقة ترشيع رطبة، ووضع في كل طبق 10 يرقات من الطور الخامس لدودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* (حيث أن هذه الحشرة تعتبر من الحشرات الحساسة للفطر، وتُعتمد كمؤشر لقياس كفاءة الفطر)، ثم معاملة اليرقات في كل طبق بكمية 10 مل من المعلق بالتراكيز 10⁵، 10⁶ و 10⁷ بوغ/مل ماء مقطر، وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز. وبالطريقة المذكورة سابقاً نفسها، تم معاملة 20 شغالة وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز من التراكيز المختبرة وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±3°س. وبعد أسبوع من التحضين، ظهرت الإصابة على يرقات دودة الشمع الكبرى والشغالات في جميع المكررات والتراكيز، وبعدها جمعت جثث اليرقات والشغالات وطهرت بمحلول هيبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 5% لمدة دقيقة واحدة وزرعت على الوسط الغذائي للفطر *Beauveria* وحضنت عند درجة حرارة 25±3°س لمدة ثلاثة أيام وفحصت جميع المستعمرات الفطرية النامية على الوسط للتأكد من تشخيص الفطر *B. bassiana*.

تأثير الاختلاف في درجات الحرارة في كفاءة الفطر *B. bassiana* في قتل أفراد حشرة الأرضة

استخدمت تراكيز الفطر 10⁵، 10⁶ و 10⁷ بوغ/مل ماء مقطر ومبيد الدورسبان 48% تي سي بتركيز 2% والماء المقطر كعامل المقارنة. حضر الوسط الغذائي الخاص بحشرة الأرضة المتكون من خلط 5 غ من رقائق ونشارة خشب "اليوكالبتوس" المجفف، و 10 مل من محلول

تقدير الكفاءة النسبية للفطر *B. bassiana* في المستحضر التجاري
لغرض تنمية الفطر على الوسط الغذائي بطاطا/بطاطس دكستروز آجار (P.D.A.) الصلب، حضر لتر من راشح البطاطا/البطاطس المأخوذ من 500 غ بطاطا بعد تبريده وأضيف إليه 20 غ من الآجار و 20 غ من سكر الدكستروز Dextrose وتم وضعه في دوارق زجاجية سعة 250 مل، وجرى تعقيمه بجهاز الضغط البخاري عند 121°س وضغط 15 باوند/بوصة² ولمدة 20 دقيقة. وبعد التبريد، أضيف المضاد الحيوي Penicillin بتركيز 4 غ/لتر و Streptomycin بتركيز 1 غ/لتر، ونقل الخليط إلى أطباق بتري معقمة قطرها 10 سم وأضيف 1 مل من المستحضر التجاري لكل طبق وحضنت الأطباق عند 25±3°س لمدة 4 أيام، بعد ذلك بدأت مستعمرات الفطر *B. bassiana* بالظهور على سطح الوسط الغذائي، واستعمل هذا الوسط لغرض تنمية الفطر في المختبر، والحصول على مستعمرات الفطر لأغراض تلقيح أوساط أخرى (10).

أما الوسط الخاص بالفطر *B. Bassiana*، فتم تحضيره بإضافة 20 غ من طحين الشوفان في لتر من الماء المقطر و 20 غ من الآجار في دوارق زجاجية سعة 250 مل، ووضع الدوارق الحاوية على الخليط في حمام مائي عند 80°س إلى حين الذوبان. بعدها تم التعقيم باستخدام جهاز الضغط البخاري عند 121°س وضغط 15 باوند/بوصة² ولمدة 20 دقيقة. وبعد التبريد، أضيف المضاد الحيوي Chlortetracycline بتركيز 500 مغ/لتر وصبغة الجنسيان البنفسجي Crystal violet بتركيز 1 غ/لتر والمبيد الفطري Dodine بتركيز 5 غ/لتر وتم صبه في أطباق بتري معقمة قطرها 10 سم. ووضع في كل طبق 1 مل من المستحضر التجاري للفطر *B. bassiana* وبمعدل ثلاثة مكررات، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 24±3°س لمدة 3 أيام. وبعد النمو وتكوين المستعمرات الفطرية، تم تسجيل الصفات المظهرية لمستعمرات الفطر المعزول وطبيعة الغزل الفطري وطريقة انتظام الأبواغ على الحامل الكونيدي (10). وقد أكد تشخيص الفطر الدكتور كامل سلمان جبر في قسم وقاية النبات- كلية الزراعة.

تقدير كفاءة التراكيز المختلفة من الفطر *B. bassiana* في إحداث القتل

تم إكثار الفطر *B. bassiana* على وسط مرق البطاطا/البطاطس السكروز (Potato Sucrose Broth) P.S.B. والمتكون من 200 غ من البطاطا بعد غسلها وتقطيعها إلى قطع صغيرة ووضعها في إناء معدني أضيف إليها لتر ماء مقطر وسخنت لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة 100°س، وصفيت بوساطة قطعة شاش نظيفة ومعقمة وأخذ

10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر ومبيد الدورسبان 48% إسي بتركيز 2% والماء المقطر كعامل مقارنة وأضيف إلى الأطباق. وتركت المكررات جميعها والأطباق إلى حين تغلغل المحلول في الوسط الغذائي لمدة ساعتين، أما الأطباق الثانية المربوطة فتحتوي على الوسط الغذائي مع محلول الآجار دون إضافة. نقل 50 شغالة و 50 جندياً من أفراد الأرضة إلى الأطباق التي تحتوي على الوسط الغذائي بدون معاملة وأغلقت الأطباق وغلفت برقائق الألومنيوم لتوفير ظروف الظلام الكامل للمعاملة، ووضعت الأطباق في الحاضنة عند 30 ± 3 °س. وكان الفحص يتم يومياً وكذلك ملاحظة حركة الأفراد وسلوكها بين الأطباق، وسجل عدد الأفراد الميتة إلى حين قتل جميع الأفراد، وتم حساب نسب القتل التي صححت استناداً إلى طريقة Abbott (1).

التحليل الإحصائي

استعمل التصميم العشوائي الكامل (C.R.D.) لدراسة تأثير التراكيز والأفراد (النوع) ودرجة الحرارة والوقت في نسب القتل، كما استعمل التصميم ذاته وباتجاه واحد لدراسة تأثير درجات الحرارة في معدل القتل. واستعمل اختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى احتمال 0.05 لمقارنة النتائج. وأجري التحليل الإحصائي باستعمال البرنامج SAS (13).

النتائج والمناقشة

تأثير التراكيز المختلفة للفطر *B. bassiana* في نسب قتل شغالات و جنود حشرة الأرضة عند درجات حرارة مختلفة
كان للفطر *B. bassiana* تأثيراً معنوياً في إحداث القتل لشغالات و جنود الأرضة عند درجات الحرارة المختلفة في المختبر واعتمد إحداث القتل للشغالات والجنود على الاختلاف في التركيز ودرجة الحرارة ومدّة التعريض، حيث يتضح من الجدول 1 أن نسب القتل عند 20 ± 3 °س للشغالات والجنود كانت منخفضة في بداية المعاملة وازدادت تدريجياً بزيادة مدة التعريض، وأن التركيز العالي يكون أسرع في إحداث الموت من التركيز المنخفض، إذ حقق التركيزان 10^7 و 10^6 بوغ/مل ماء مقطر نسبة قتل 100% للشغالات والجنود بعد 28 يوماً من المعاملة، في حين حقق التركيز 10^5 بوغ/مل ماء مقطر هذه النسبة بعد 35 يوماً من المعاملة. كما يتضح من الجدول نفسه وجود انخفاض تدريجي في نسب قتل الشغالات والجنود بتقدم الزمن، إذ بلغت نسبة القتل للشغالات بعد 90 يوماً من المعاملة 18.25، 37.95 و 59.85% وللجنود 18.70، 38.12 و 59.99% عند التراكيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي.

الآجار 4% في طبق بتري قطره 10 مل مبطن بورقة ترشيح رطبة وترك لحين التصليب. وقد استخدمت ثلاثة مكررات لكل تركيز من المعاملات وأضيف 20 مل لكل مكرر من المعاملات المختلفة، وترك إلى حين تغلغل المحلول في الوسط الغذائي لمدة ساعتين. بعد ذلك تم نقل 50 شغالة و 50 جندياً إلى كل مكرر من أفراد الأرضة وقليلاً من التربة وفتات الخشب المصاب، وأغلق الطبق وغلف برقائق الألومنيوم لتوفير الظلام الكامل والمناسب لمعيشة حشرة الأرضة. ونقلت الأطباق إلى الحاضنات عند 20، 25، 30 و 35 ± 3 °س ورطوبة نسبية 85 ± 5 % كل على حدة. فحصت الأطباق يومياً لتسجيل عدد الأفراد الميتة في كل مكرر وفي كل معاملة إلى حين نفوق جميع الأفراد في المعاملات المختلفة. وتم بعد ذلك إحداث عدوى في بداية كل شهر ولمدة ثلاثة أشهر من خلال وضع 50 شغالة و 50 جندياً. فحصت يومياً وسجل عدد الأفراد النافقة وأزيلت وتم ملاحظة أعراض الإصابة عليها وأزيلت الأفراد الحية في نهاية الشهر وحسبت نسب النفوق لجميع المعاملات التي صححت استناداً إلى طريقة Abbott (1).

دراسة كفاءة التراكيز المختلفة من الفطر *B. bassiana* في قتل شغالات و جنود حشرة الأرضة في ظروف المختبر ولمدة سنة كاملة

اعد الوسط الخاص بحشرة الأرضة، واستخدمت ثلاثة مكررات لكل معاملة من المعاملات التي تضمنت تراكيز الفطر 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر ومبيد الدورسبان 48% بشكل مستحلب إي سي بتركيز 2% ومعاملة الماء المقطر كعامل مقارنة.

أضيف 20 مل من كل معاملة لكل مكرر وبعد تغلغل المحلول في الوسط الغذائي تم نقل 50 شغالة و 50 جندياً من أفراد الأرضة مع قليل من التربة وفتات الخشب المصاب وغلفت الأطباق وغلفت برقائق الألومنيوم ووضعت الأطباق في ظروف المختبر. فحصت الأطباق يومياً لحساب عدد الأفراد الميتة إلى حين حصول نسبة القتل 100%. ولغرض تقويم مدة بقاء المعاملات المختلفة وفعاليتها في إحداث القتل وتقدير الكفاءة النسبية للقتل، أجريت عدوى اصطناعية لأطباق المعاملات المختلفة بنقل 50 شغالة و 50 جندياً في بداية كل شهر وتم الفحص يومياً، لتسجيل عدد الأفراد النافقة والحية وإزالتها حتى نهاية الشهر وقد استمرت الدراسة لمدة سنة كاملة وصححت نسب القتل حسب طريقة Abbott (1).

دراسة تأثير الفطر *B. bassiana* في سلوك أفراد حشرة الأرضة

حضر 30 طبق بتري قطر 10 سم متقوية من احد جوانبها بثقب قطره 0.5 سم وتم ربط كل طبقين من جهة الثقب بأنبوب بلاستيكي بطول 10 سم، استخدمت ثلاثة أطباق تمثل ثلاثة مكررات لكل معاملة إذ تم اخذ 20 مل من محلول المعاملات التي شملت على تراكيز الفطر

جدول 1. نسب موت شغالات وجنود حشرة الأرضة *Microcrotermes diversus* عند استخدام التراكيز المختلفة للفطر *B. bassiana* عند درجات حرارة مختلفة. الرقم بين القوسين يشير إلى نسبة القتل للجنود.

Table1. Mortality rate of workers and soldiers of the termite *Microcrotermes diversus* by different concentrations of *B. bassiana* under different temperatures. Values between brackets represent soldiers mortality rate.

نسب القتل بعد المعاملة (أيام)								درجات الحرارة	المعاملة
Mortality rates at different periods (days) after treatment								± 3 °C	
91	90	60	56	35	28	14	7	Temperature	Treatment
-	18.25	53.73	-	100	87.93	52.66	34.0	20	تركيز الفطر 10 ⁵ بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10 ⁵ spores/ml
-	(18.7)	(54.4)	-	(100)	(87.50)	(50.7)	(34.7)		
-	15.83	89.91	-	-	-	100	93.33	25	تركيز الفطر 10 ⁶ بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10 ⁶ spores/ml
-	(15.3)	(89.7)	-	-	-	(100.0)	(92.7)		
-	18.51	59.70	-	-	100	72.47	46.0	30	تركيز الفطر 10 ⁷ بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10 ⁷ spores/ml
-	(16.9)	(59.0)	-	-	(100.0)	(72.5)	(47.3)		
79.24	-	-	54.78	20.46	16.06	6.93	4.08	35	مبيد الدورسبان تركيز 2% Dorsban at 2%
(79.6)	-	-	(57.3)	(22.7)	(12.3)	(7.0)	(6.0)		
-	37.95	70.81	-	-	100	62.66	44.66	20	مبيد الدورسبان تركيز 2% Dorsban at 2%
-	(38.1)	(71.2)	-	(100.0)	(99.3)	(62.7)	(45.3)		
-	49.03	97.67	-	-	-	100	97.66	25	قيمة اصغر فرق معنوي متساوي للجنود والشغالات عند التركيزات ودرجات الحرارة المختلفة نتيجة لمتائل مستويات القتل.
-	(49.0)	(99.2)	-	-	-	(100.0)	(96.3)		
-	35.55	77.69	-	-	100	84.21	59.33	30	أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 0.05 لمقارنة متوسطات نسب القتل عند التراكيز المختلفة للشغالات 6.87 وللجنود 7.06.
-	(34.6)	(77.0)	-	-	(100)	(84.6)	(60.0)		
-	92.03	-	-	32.27	23.07	15.27	12.24	35	أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 0.05 لمقارنة المدد لقتل الشغالات 9.882 وللجنود 11.085.
-	(96.2)	-	-	(34.0)	(26.3)	(14.5)	(14.8)		
-	59.85	84.33	-	-	100	80.0	58.0	20	LSD at P=0.05 was similar for soldiers and workers at different temperatures and <i>B. bassiana</i> concentration when mortality rates were similar.
-	(60.0)	(84.6)	-	-	(100.0)	(78.7)	(59.3)		
-	68.33	100	-	-	-	-	100	25	LSD at P=0.05 to compare means of mortality rates caused by different <i>B. bassiana</i> concentrations was 6.87 for workers and 7.06 for soldiers.
-	(70.2)	(100.0)	-	-	-	-	(100.0)		
-	57.03	92.80	-	-	100	93.28	74.0	30	LSD at P=0.05 to compare means of mortality rates at different temperatures was 6.87 for workers and 7.06 for soldiers.
-	(56.6)	(92.1)	-	-	(100.0)	(94.6)	(75.3)		
100	-	-	86.08	46.45	35.38	23.60	17.68	35	LSD at P=0.05 to compare periods to kill workers was 9.882 and 11.085 for soldiers.
(100.0)	-	-	(86.3)	(45.5)	(32.8)	(22.0)	(20.1)		
-	100	100	-	100	100	100	100	20	انتشار الفطر بين الأفراد وقتلهم، كما يعزى بطء قتل أفراد الأرضة عند المعاملة بالفطر مقارنة بالقتل السريع لمبيد الدورسبان (جدول 1) إلى الحاجة إلى فترة زمنية لاخترق أبواغ الفطر وإنباتها في التجويف الدموي للحشرة حيث أن شغالات وجنود الأرضة تظهر عليها أعراض المرض بعد فترة من المعاملة والمتمثلة بالكسل والضعف ونقص سلوك أفراد الأرضة المتمثلة بتبادل السوائل والتنظيف. إذ يساعد على تعزى سرعة حدوث القتل وتفوقه في التركيز العالي لأبواغ الفطر إلى كثافة الأبواغ المسؤولة عن اختراق جدار الجسم "الكينيتيكل" والقناة الهضمية للشغالات والجنود من خلال حركة وحفر وتغذية الشغالات ضمن الوسط الغذائي الحاوي على أبواغ الفطر، إضافة إلى سلوك أفراد الأرضة المتمثلة بتبادل السوائل والتنظيف. إذ يساعد على
-	(100.0)	(100.0)	-	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)		
-	100	100	-	-	-	100	100	25	أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 0.05 لمقارنة متوسطات نسب القتل عند درجات الحرارة المختلفة للشغالات 6.87 وللجنود 7.06.
-	(100.0)	(100.0)	-	-	-	(100.0)	(100.0)		
-	100	100	-	-	100	100	100	30	أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 0.05 لمقارنة المدد لقتل الشغالات 9.882 وللجنود 11.085.
-	(100.0)	(100.0)	-	-	(100.0)	(100.0)	(100.0)		
100	-	-	100	100	100	100	100	35	LSD at P=0.05 was similar for soldiers and workers at different temperatures and <i>B. bassiana</i> concentration when mortality rates were similar.
(100.0)	-	-	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)	(100.0)		

قيمة اصغر فرق معنوي متساوي للجنود والشغالات عند التركيزات ودرجات الحرارة المختلفة نتيجة لمتائل مستويات القتل. أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 0.05 لمقارنة متوسطات نسب القتل عند التراكيز المختلفة للشغالات 6.87 وللجنود 7.06. أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 0.05 لمقارنة متوسطات نسب القتل عند درجات الحرارة المختلفة للشغالات 6.87 وللجنود 7.06. أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى 0.05 لمقارنة المدد لقتل الشغالات 9.882 وللجنود 11.085.

LSD at P=0.05 was similar for soldiers and workers at different temperatures and *B. bassiana* concentration when mortality rates were similar.

LSD at P=0.05 to compare means of mortality rates caused by different *B. bassiana* concentrations was 6.87 for workers and 7.06 for soldiers.

LSD at P=0.05 to compare means of mortality rates at different temperatures was 6.87 for workers and 7.06 for soldiers.

LSD at P=0.05 to compare periods to kill workers was 9.882 and 11.085 for soldiers.

انتشار الفطر بين الأفراد وقتلهم، كما يعزى بطء قتل أفراد الأرضة عند المعاملة بالفطر مقارنة بالقتل السريع لمبيد الدورسبان (جدول 1) إلى الحاجة إلى فترة زمنية لاخترق أبواغ الفطر وإنباتها في التجويف الدموي للحشرة حيث أن شغالات وجنود الأرضة تظهر عليها أعراض المرض بعد فترة من المعاملة والمتمثلة بالكسل والضعف ونقص

تعزى سرعة حدوث القتل وتفوقه في التركيز العالي لأبواغ الفطر إلى كثافة الأبواغ المسؤولة عن اختراق جدار الجسم "الكينيتيكل" والقناة الهضمية للشغالات والجنود من خلال حركة وحفر وتغذية الشغالات ضمن الوسط الغذائي الحاوي على أبواغ الفطر، إضافة إلى سلوك أفراد الأرضة المتمثلة بتبادل السوائل والتنظيف. إذ يساعد على

الاستجابة للظروف الخارجية وتكون مستلقية على ظهورها وتفقد القدرة على العودة إلى وضعها الطبيعي نتيجة لشلل جزئي أو كلي، إضافة إلى تلونها بلون بني غامق، ثم تموت، ويظهر على الجدار الخارجي لأفراد الأرضة نموات الفطر على شكل غطاء أبيض كثيف وهذا مقارب لما وجده Lacey (10) بأن حشرة الأرضة المصابة بالفطر *B. bassiana* تخرج خارج الوسط الغذائي ويظهر عليها أعراض الكسل والخمول وعدم القدرة على الحركة وتتلون بلون بني غامق. كما أشار بحث سابق (7) أن تأثير الفطر *B. bassiana* يكون بطيئاً وذلك لإنبات الأبواغ واختراقها كيونتكل العائل ووصول هيفات الفطر إلى التجويف الدموي للحشرة وإفراز مادة Beauvericin القاتلة للأرضة. تفوقت درجة الحرارة 3 ± 25 °س في تأثيرها في الفطر من خلال سرعة إحداث القتل في أفراد الأرضة وأن التركيز العالي لأبواغ الفطر كان متوقفاً في إحداث القتل بسرعة قياسية مقارنة بدرجات الحرارة الأخرى قيد الدراسة، إذ تم تحقيق نسبة القتل 100% للشغالات والجنود بعد 14 يوماً من المعاملة بالتركيزين 10^5 و 10^6 بوغ/مل ماء مقطر وبعد 7 أيام من المعاملة عند تركيز 10^7 بوغ/مل ماء مقطر (جدول 1). إضافة إلى قلة كثافة الفطر في إحداث العدوى بأفراد الأرضة بتقدم الزمن عند هذه الدرجة حيث انخفضت نسب القتل بعد 90 يوماً من المعاملة وبلغت للشغالات 15.83، 49.03 و 68.33% وللجنود 15.29، 49.01 و 70.18% عند التراكيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي (جدول 1).

تأثير التركيزات المختلفة للفطر *B. bassiana* في نسب قتل شغالات و جنود حشرة الارضة في ظروف المختبر ولمدة سنة كاملة

أوضحت نتائج الدراسة أن الفطر سبب إحداث نسبة قتل معنوية للشغالات والجنود اعتماداً على الاختلاف في التركيز ومدة التعريض. ويتضح من الجدول 2 أن نسبة القتل للشغالات والجنود كانت منخفضة في بداية المعاملة وازدادت تدريجياً بزيادة مدة التعريض، وأن التركيز العالي تفوق في سرعة إحداث الموت على التركيز المنخفض إذ بلغت 100% بعد 35، 35 و 21 يوماً من المعاملة عند التراكيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي. أما حول مدى فعالية الفطر في إحداث الموت بتقدم الزمن من المعاملة، فيتضح من الجدول 2 وجود انخفاض تدريجي في نسب القتل للشغالات والجنود بتقدم الزمن، وانخفضت نسب القتل بعد 240 يوماً من المعاملة إذ بلغت للشغالات 0.0، 2.0 و 5.52% وللجنود 0.0 و 1.3 و 6.56% عند التراكيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي. استمرت نسبة القتل للشغالات والجنود بالانخفاض إلى أن بلغت 0.0% لجميع التراكيز عند نهاية الدراسة (360 يوماً). أوضحت نتائج الدراسة وجود اختلاف واضح في مدة بقاء الفطر فعالاً في إحداث النفوق لأفراد الأرضة اعتماداً على التركيز، إذ امتاز التركيز العالي 10^7 بوغ/مل ماء مقطر بتأثيره الفعال لمدة بلغت 180 يوماً في حين بلغت للتركيز 10^6 بوغ/مل ماء مقطر 120 يوماً، وللتركيز 10^5 بوغ/مل ماء مقطر بلغت 90 يوماً. إن الانخفاض التدريجي في فعالية الفطر بكافة تركيزاته في إحداث الموت وانعدامها بعد سنة من الدراسة قد يعزى إلى فقدان أبواغ الفطر لحيويتها، أو عدم ملاءمة الظروف البيئية خلال هذه

الاستجابة للظروف الخارجية وتكون مستلقية على ظهورها وتفقد القدرة على العودة إلى وضعها الطبيعي نتيجة لشلل جزئي أو كلي، إضافة إلى تلونها بلون بني غامق، ثم تموت، ويظهر على الجدار الخارجي لأفراد الأرضة نموات الفطر على شكل غطاء أبيض كثيف وهذا مقارب لما وجده Lacey (10) بأن حشرة الأرضة المصابة بالفطر *B. bassiana* تخرج خارج الوسط الغذائي ويظهر عليها أعراض الكسل والخمول وعدم القدرة على الحركة وتتلون بلون بني غامق. كما أشار بحث سابق (7) أن تأثير الفطر *B. bassiana* يكون بطيئاً وذلك لإنبات الأبواغ واختراقها كيونتكل العائل ووصول هيفات الفطر إلى التجويف الدموي للحشرة وإفراز مادة Beauvericin القاتلة للأرضة.

تفوقت درجة الحرارة 3 ± 25 °س في تأثيرها في الفطر من خلال سرعة إحداث القتل في أفراد الأرضة وأن التركيز العالي لأبواغ الفطر كان متوقفاً في إحداث القتل بسرعة قياسية مقارنة بدرجات الحرارة الأخرى قيد الدراسة، إذ تم تحقيق نسبة القتل 100% للشغالات والجنود بعد 14 يوماً من المعاملة بالتركيزين 10^5 و 10^6 بوغ/مل ماء مقطر وبعد 7 أيام من المعاملة عند تركيز 10^7 بوغ/مل ماء مقطر (جدول 1). إضافة إلى قلة كثافة الفطر في إحداث العدوى بأفراد الأرضة بتقدم الزمن عند هذه الدرجة حيث انخفضت نسب القتل بعد 90 يوماً من المعاملة وبلغت للشغالات 15.83، 49.03 و 68.33% وللجنود 15.29، 49.01 و 70.18% عند التراكيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي (جدول 1).

إن سرعة حدوث القتل في أفراد الأرضة نتيجة المعاملة بالفطر عند هذه الدرجة قد يكون بسبب ملاءمة هذه الدرجة الحرارية لنمو أبواغ الفطر واختراقها لجدار الحشرة ونمو الغزل الفطري، وهذه النتائج مقاربة لما نشر سابقاً (15)، إذ أن نسبة القتل كانت 100% بعد 7 أيام من معاملة الارضة *Coptotermes formosanus* بالسلالة 90519 للفطر *B. bassiana* عند 25 °س.

أثرت درجة الحرارة 3 ± 30 °س في ضعف كفاءة الفطر وتأخير فعاليته في إحداث القتل في أفراد الأرضة في بداية المعاملة ولكن على الرغم من ذلك فإن نسبة القتل بدأت بالتزايد والارتفاع التدريجي بمرور الزمن إلى أن بلغت 100% بعد 28 يوماً عند جميع التراكيز، بينما بدأت بالإنخفاض التدريجي بتقدم زمن المعاملة K حيث بلغت نسبة القتل بعد 90 يوماً من المعاملة للشغالات 18.51، 35.55 و 57.03% وللجنود 16.90، 34.55 و 56.61% عند التركيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي (جدول 1). وفي هذا المجال وجد Delate وآخرون (4) بأن نسبة القتل 100% تحدث خلال 15 يوماً من تعريض أفراد الأرضة *C. formosanus* إلى طعوم غذائية معاملة بالفطر *B. bassiana* عند تراكيز عالية تتراوح بين

تأثير التراكيز المختلفة للفطر *B. bassiana* في سلوك شغالات وجنود

حشرة الأرضة ونسب قتلها

أوضحت نتائج الدراسة أن شغالات وجنود الأرضة ابتعدت نوعاً ما في بداية المعاملة عن الأطباق الحاوية على الأوساط الغذائية المعاملة بأبواغ الفطر من خلال نسب القتل المنخفضة. ولكن بتقدم الزمن فإن الشغالات اقتحمت الأوساط الغذائية المعاملة بالفطر، ولوحظ وجود زيادة تدريجية في نسب القتل مع مرور الزمن وقد تفوق التركيز العالي في إحداث القتل بكفاءة أعلى من التركيز المنخفض وقد أثبتت نتائج التحليل الإحصائي وجود اختلافات إحصائية معنوية في نسب نفوق الشغالات والجنود اعتماداً على الاختلاف في التركيز ومدة التعرض حيث بلغت نسب القتل بعد 56 يوماً من المعاملة 91.74، 100 و 100% وللجنود 92.98، 99.11 و 86.57% عند التراكيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، على التوالي (جدول 3). ويتضح من الجدول نفسه أن ارتفاع نسب القتل بعد 56 يوماً من المعاملة بالفطر قد يشير إلى عدم وجود تجنب أو طرد من قبل نموات الفطر الخضرية لأفراد الأرضة بتقدم زمن المعاملة، وهذه النتائج جاءت مقارنة لما وجده Creffield (2) أن الوسط الزرعي للفطر *B. bassiana* لم يكن طارداً للأرضة *C. formosanus* في المختبر وكذلك مع نتائج Grace و Zoberi (6) اللذين وجدا أن الشغالات السليمة للأرضة *Reticulitermes flavipes* تتجنب أو تبتعد عن جثث الشغالات ولكنها لا تتأثر بالنموات الفطرية والأبواغ التي نتجت من جثث الشغالات.

المراحل المتلاحقة لبقاء أبواغ الفطر ضمن ظروف الدراسة. وفي دراسة مماثلة أشار Inglis وآخرون (8) أن درجة الحرارة تمتلك تأثيراً كبيراً في إنبات الأبواغ ونمو غزل الفطر، كما وجد Federici (5) أن الفطر *B. bassiana* المستخدم في مكافحة الأرضة يكون بطيء المفعول ليسمح بالانتقال إلى أفراد الأرضة الموجودة في الطائفة، ومن أساسيات نجاحه المستويات العالية من الرطوبة والتراكيز العالية من الأبواغ الفعالة.

يمكن الاستنتاج من خلال دراسة مدة بقاء أبواغ الفطر وفعاليتها في إحداث القتل لأفراد الأرضة (جدول 2) أن تحقيق نسبة قتل 50% أو قريباً منها يدل على استمرارية تأثير أبواغ الفطر في إحداث القتل بشكل فعال في طائفة الأرضة، وهذا ما تم تحقيقه بعد 60 يوماً من المعاملة عند التركيز 10^5 بوغ/مل ماء مقطر وبعد 90 يوماً من المعاملة عند التركيز 10^6 بوغ/مل ماء مقطر وبعد 120 يوماً من المعاملة عند التركيز 10^7 بوغ/مل ماء مقطر، وبعد هذه الفترات المذكورة أنفاً يبدأ تأثير الفطر بالتراجع مما ينشأ عنه انخفاض في نسب القتل عن 50%، عليه يجب إعادة المعاملة بالفطر بعد هذه الفترات الزمنية بحسب التراكيز من أجل زيادة نسب القتل واستهداف طوائف الأرضة بكاملها.

جدول 2. نسب قتل شغالات وجنود حشرة الارضة *Microcrotermes diversus* عند التراكيز المختلفة للفطر *B. bassiana* تحت ظروف المختبر لمدة سنة كاملة. الرقم بين القوسين يشير إلى نسبة القتل للجنود.

Table 2. Mortality rates of termite workers and soldiers of *Microcrotermes diversus* when different concentrations of *B. bassiana* were used under laboratory conditions for one year. Values between brackets represent soldiers mortality rate.

نسب القتل بعد المعاملة (أيام) Mortality rate at different periods (days) after treatment										المعاملة Treatment
240	210	180	150	120	90	60	35	21	14	
0.0 (0.0)	1.33 (2.0)	4.35 (3.4)	6.71 (7.5)	18.51 (20.3)	26.58 (26.3)	97.04 (94.8)	100 (100.0)	80.66 (80.7)	65.33 (64.7)	تركيز الفطر 10^5 بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10^5 spores/ml
2.0 (1.3)	6.53 (5.2)	9.49 (7.4)	14.93 (17.2)	28.88 (31.4)	47.56 (44.4)	100 (100.0)	100 (100.0)	92.0 (92.7)	78.66 (77.3)	تركيز الفطر 10^6 بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10^6 spores/ml
5.52 (6.6)	8.32 (9.8)	26.27 (24.3)	35.07 (37.0)	51.84 (53.5)	62.53 (60.1)	100 (100.0)	- (100.0)	100 (100.0)	90.0 (88.0)	تركيز الفطر 10^7 بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10^7 spores/ml
100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	100 (100.0)	مبيد الدورسيان تركيز 2% Dorsban at 2%
1.54	1.69	1.91	1.98	1.49	1.90	1.07	1.03	1.02	1.31	أقل فرق معنوي للمعاملة LSD for treatment
0.97	1.24	1.21	1.25	0.94	1.20	0.67	0.65	0.64	0.82	أقل فرق معنوي للنوع LSD for species
2.17	2.77	2.71	2.80	2.11	2.69	1.52	1.46	1.44	1.85	أقل فرق معنوي للتداخل LSD for interaction

جدول 3. تأثير التراكيز المختلفة للفطر *B. bassiana* في سلوك ونسب قتل شغالات وجنود حشرة الأرضة *Microcrotermes diversus* عند 30±3 °C. س. الرقم بين القوسين يشير إلى نسبة القتل للجنود.

Table 3. Effect of different concentrations of *B. bassiana* on behavior and mortality rates of the termite *Microcrotermes diversus* workers and soldiers at 30±3 °C. Values between brackets represent soldiers mortality rate.

نسب القتل بعد المعاملة (أيام)					المعاملة
Mortality rate at different periods (days) after treatment					
56	42	28	14	3	Treatment
91.74 (92.98)	58.47 (60.48)	31.77 (33.32)	16.17 (17.85)	6.0 (6.0)	تركيز الفطر 10 ⁵ بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10 ⁵ spores/ml
100 (99.11)	72.03 (73.38)	43.40 (44.69)	22.79 (25.0)	12.66 (13.33)	تركيز الفطر 10 ⁶ بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10 ⁶ spores/ml
100 (86.57)	81.35 (81.44)	53.48 (53.02)	32.34 (32.85)	20.0 (18.0)	تركيز الفطر 10 ⁷ بوغ/مل <i>B. bassiana</i> at 10 ⁷ spores/ml
100 (100)	100 (100)	100 (100)	100 (100)	100 (100)	مبيد الدورسيان تركيز 2% Dorsban at 2%
21.98	2.80	2.32	3.69	1.39	اقل فرق معنوي للمعاملة LSD for treatment
13.90	1.77	1.47	2.33	0.88	اقل فرق معنوي للنوع LSD for species
31.08	3.97	3.28	5.21	1.96	اقل فرق معنوي للتداخل LSD for interaction

Abstract

Al-Jassany, R.F. and M.A.A. Al-Salehi. 2011. Efficacy of the Fungus *Beauveria bassiana* (Bais.) Vuil on Termite Workers and Soldiers of *Microcrotermes diversus* (Silvestri) at Different Temperatures. Arab Journal of Plant Protection, 29: 206-213.

The study was conducted in the laboratory to evaluate the efficacy of the fungus *Beauveria bassiana*, used at different concentration levels, on the mortality of the workers and soldiers of the termite *Microcrotermes diversus* Silv. Results showed that the fungus *B. bassiana* was very active at 25±3°C and caused 100% mortality of the termites within 14, 14 and 7 days at concentration level of 10⁵, 10⁶ and 10⁷ spores/ml distilled water, respectively. Under laboratory conditions, gradual increase in mortality rate was observed and reached 100% within 35, 35 and 21 days after treatment with the same three concentration levels mentioned above. Variation in fungus activity was observed at different temperature levels (20, 30 and 35±3°C), where the fungus was less active at 35±3°C. It was also shown that the spores were effective in causing termite individuals mortality 60, 90 and 120 days after treatment with fungal concentrations of 10⁵, 10⁶ and 10⁷ spores/ml distilled water, respectively. The termite individuals avoided the food media treated with fungus spores for 5-7 days, but later they fed normally on it.

Keywords: Termite, *Microcrotermes diversus*, Workers, *Baeauvaria bassiana*.

Corresponding author: R.F. Al-Jassany, Faculty of Agriculture, Bagdad University, Bagdad, Iraq, Email: radhi1957@yahoo.com

References

1. **Abbott, W.S.** 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.
2. **Creffield, J.W.** 1996. Wood destroying insects: Wood borers and termites. 2nd edn. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 44 pp.
3. **Culliney, T.W. and J.K. Grace.** 2000. Prospects for the biological control of subterranean termites (Isoptera : Rhinotermitidae), with special reference to *Coptotermes formosanus*. Bulletin of Entomological Research, 90: 9-21.
4. **Delate, K.M., J.K. Grace and C.H.M. Tome.** 1995. Potential use of pathogenic fungi in baits to control the Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). Journal of Applied Entomology, 119: 429-433.
5. **Federici, B.A.** 1990. Bright horizons for invertebrate pathology. Vth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control. Adelaide, Australia, 20-24 August 1990, Society for Invertebrate Pathology.
6. **Grace, J.K. and M.H. Zoberi.** 1992. Experimental evidence of transmission of *Beauveria bassiana* by *Reticulitermes flavipes* workers (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology, 20: 23-28.
7. **Gorden, E.** 1999. Using *Beauveria bassiana* for insect management. Pages 313-315. In: Proceeding New England Vegetable and Berry Growers Conference and Trade Show, Sturbridge, Malaysia.
8. **Inglis, G.D., D. L. Johnson , K.L. Cheng and M.s. Goettel.** 1997. Use of pathogen combinations to overcome the constrains of temperature on

المراجع

- entomopathogenic hyphomycetes against grasshoppers. *Biological Control*, 8: 143-152.
9. **Jones, W.E., J.K. Grace and M. Tamashor.** 1996. Virulence of seven isolates of *Beauvaria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Environmental Entomology*, 25: 481-487.
 10. **Lacey, A.L.** 1997. Manual of techniques in insect pathology. Academic Press, New York. 410 pp.
 11. **Lai, P.Y.** 1977. Biology and Ecology of formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*, and its susceptibility to the entomogenous fungi, *Beauvaria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Ph.D. thesis. University of Hawaii, Honolulu USA. 140 pp.
 12. **Lenz, M.** 2005. Biological control in termite management: the potential of nematodes and fungal pathogens. Pages 47-52. Proceedings of the 5th International Conference on Urban Pests, Singapore, July 2005.
 13. **SAS Institute Inc.** 2001. SAS/STAT guide for personal computer. Version 8. Cary, NC:SAS Institute, Inc, USA.
 14. **Sun, J., J.R. Fuxa and G. Henderson.** 2003. Effects of virulence sporulation and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauvaria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 84: 38-46.
 15. **Wright, M.S., W.L.A. Osbrink and A.R. Lax.** 2002. Transfer of entomopathogenic fungi among Formosan subterranean termites and subsequent mortality. *Journal of Applied Entomology*, 126: 289-296.

Received: January 27, 2010; Accepted: November 2, 2010

تاريخ الاستلام: 2010/1/27؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2010/11/2