

تأثير الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin في الأطوار اليرقية للدودة البيضاء *Geotrogus deserticola* Blanch. (Coleoptera: Scarabaeidae)

لخضر بلعبيد¹، محمد حفصي¹ والزهران فرطاس²

(1) مخبر تحليل الأنظمة البيولوجية والجيوماتيك، جامعة معسكر، ص.ب. 763، معسكر (29000)، الجزائر؛
(2) كلية العلوم، جامعة وهران الساننية، وهران (31000)، الجزائر.

الملخص

بلعبيد، لخضر، محمد حفصي والزهران فرطاس. 2000. تأثير الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin في الأطوار اليرقية للدودة البيضاء *Geotrogus deserticola* Blanch. (Coleoptera: Scarabaeidae). مجلة وقاية النبات العربية. 18: 68-72.

تعتبر الأطوار اليرقية للدودة البيضاء (*Geotrogus deserticola* Blanch.) (Coleoptera: Scarabaeidae) من الآفات الحشرية الخطيرة على المجموع الجذري لكثير من المحاصيل الحقلية في الجزائر. للتقليل من أضرار اليرقات، هدفت هذه الدراسة المخبرية إلى اختبار مفاعلتها حيويًا باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycetes: Hyphomycetes). أظهرت الدراسة أن رش أطوار مختلفة من اليرقات بأبواغ الفطر بتركيز مختلفة (5، 10، 20، 30، 40 بوغ/مل) أعطى نتائج إيجابية، حيث وجد أن التراكيز 30 x 10⁴ و 40 x 10⁴ بوغ/مل كانت كافية لقتل 82% و 93.3% من اليرقات على التوالي. أثبتت هذه النتائج أن التراكيز البوغية أبدت ارتباطاً معنوياً مع نسبة القتل في جميع الأطوار، وبينت الدراسة أيضاً أن نسبة القتل أبدت علاقة عكسية مع تقدم عمر اليرقة ($r = -0.97$).

كلمات مفتاحية: مكافحة حيوية، *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin، *Geotrogus deserticola* Blanch.، الجزائر.

المقدمة

أن له قدرة على إفراز توكسينات ذات تأثير سمي تكبح بعض العمليات الحيوية للحشرات المستهدفة (8، 14، 20، 21). بينت التجارب المتعددة على هذا الفطر في العديد من بلدان العالم أنه لا ينتج مواداً ضارة بالنبات والحيوان، ولا يحدث تأثيراً سلبياً في الوسط البيئي وبخاصة في المياه الجوفية؛ إضافة إلى عدم تطفله على الإنسان والحيوان والنبات وله عوائل حشرية محددة، ويتمتع بسهولة تمييزه وإكثاره في الأوساط الاصطناعية (22). تستوطن حشرة الدودة البيضاء شمال إفريقيا والدراسات بشأن مكافحتها قليلة (2). ونظراً لاتجاه برامج مكافحة الحشرة نحو المكافحة الحيوية الطبيعية، فقد هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير الفطر *M. anisopliae* في يرقات الدودة البيضاء، من أجل تحديد أفضل التراكيز البوغية القاتلة لأعلى النسب منها، وكذا الأطوار اليرقية الأكثر حساسية لهذا الفطر.

مواد البحث وطرائقه

أستخدم مستنبت مكون من بطاطا دكستروز آجار (PDA) لعزل الفطر *M. anisopliae* من جثة حشرة كاملة تتبع فصيلة غمديات الأجنحة وجدت في المزرعة التجريبية التابعة لمعهد العلوم الزراعية في جامعة معسكر، الجزائر عام 1996. وتم تعريف الفطر بناء على دراسات سابقة (1، 4، 22). جمعت يرقات الدودة البيضاء خلال شهري نيسان/أبريل و أيار/مايو 1997 من أراضي مخصصة لزراعة الحبوب (قمح وشعير) قدرت مساحتها بـ 50 هكتار موزعة في الغرب (معسكر وتيارت) والوسط الجزائري (الشلف).

توجد الدودة البيضاء (*Geotrogus deserticola* Blanch.) (Coleoptera: Scarabaeidae) أساساً في آسيا وشمال إفريقيا، وتعد الجزائر موطنها الأصلي وبخاصة في مناطق التلال والهضاب العليا، كما وجد بعض أنواعها في تونس والمغرب (3). ووجد أن أعدادها في الجزائر تتزايد عاماً بعد عام، حيث أظهر مسح حقل في مناطق جزائرية مختلفة نفذه المعهد الوطني لحماية النباتات، أن كثافة يرقات هذه الحشرة تتراوح ما بين 100-1000 يرقة/هكتار في منطقة معسكر، 250-500 يرقة/هكتار في حقول منطقة تيارت بالغرب الجزائري و 500-1000 يرقة/هكتار في مناطق المدية والشلف في وسط البلاد (2).

تصيب الدودة البيضاء النبات حيث تتغذى على جذور المحاصيل الحقلية أساساً، وتؤدي الإصابة إلى ضعف النبات أو موته مما يسبب تدهوراً في إنتاجيته.

من أجل الحد من أضرار الأطوار اليرقية لهذه الحشرة، تم استخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycetes: Hyphomycetes) الذي ثبتت فعاليته في مكافحة أكثر من 200 نوع من الحشرات (22). حيث أجريت أبحاث عديدة لدراسة تأثير هذا الفطر في القضاء على الأطوار الضارة للكثير من الحشرات التي تصيب النباتات، وتتبع رتباً عديدة كغمديات الأجنحة (Coleoptera) (6، 8، 10، 12، 13، 14، 15، 16) وثنائيات الأجنحة (Diptera) (17، 19) ونصفيات الأجنحة (Hemiptera) (18). كما درست الآلية المرضية لهذا الفطر ووجد

جدول 1. النسبة المئوية لموت يرقات *Geotrogus deserticola* Blanch. باستعمال الفطر *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin

Table 1. Mortality percentage of *Geotrogus deserticola* Blanch. larval instars by using the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin.

النسبة المئوية للموت		النسبة المئوية للقتل		
Mortality %	معدل	الطور الثالث	الطور الثاني	الطور الأول
Mean larval instars	L3 instar	L2 instar	L1 instar	المعاملات البوغية (10 ⁴ بوغة/مل) Treatment (x 10 ⁴ conidia/ml)
04.7	04	02	08	5
17.3	14	16	22	10
36.0	30	36	42	20
82.0	54	92	100	30
93.3	80	100	100	40
01.3	0	0	4	الشاهد Control
	36.4	49.2	54.4	نسبة الموت الإجمالية
23.04	27.39	21.32	19.54	LD ₅₀ (x 10 ⁴)

يتضح من الجدول 1 أن نسبة القتل تكون ضعيفة في التراكيز القليلة لكل طور يرقي ثم تتجه للتضاعف بزيادة التراكيز البوغية. ويلاحظ أيضاً أن الطور اليرقي الأول أكثر حساسية للفطر من الطور اليرقي الثاني والثالث، فقد بلغت نسبة الموت الإجمالية للطور اليرقي الأول لكل التراكيز البوغية 54.4%، بينما كانت في الطور اليرقي الثاني والثالث 49.2% و 36.4%، على التوالي. حيث وجدت علاقة عكسية ما بين نسبة القتل الإجمالية لكل طور يرقي وتقدم عمر اليرقة في جميع التراكيز (شكل 2).

يشير الجدول 1 أن مؤشر الجرعة المميتة لـ 50% من اليرقات (LD50) يزداد بتقدم عمر اليرقة، فقد وجد أن كثافة التركيز البوغي اللازمة لقتل 50% من يرقات حشرة الدودة البيضاء في طورها اليرقي الثالث في الظروف المختبرية تكون في حدود 27.4 x 10⁴ بوغة/مل؛ بينما كان التركيز 19.5 x 10⁴ بوغة/مل كافياً لقتل 50% من اليرقات في الطور اليرقي الأول. ولكي يتم القضاء على 50% من اليرقات في جميع أطوارها يلزم معاملتها بتركيز 23 x 10⁴ بوغة/مل.

عند الفحص بالنظر والمجهر لليرقات المعاملة بدت اليرقات المصابة خاملة ضعيفة الحركة على جلدها انكماش يرافقه صلابة في الملمس وتغير لونها من الأبيض إلى البني، في حين اتسمت اليرقات الميتة باللون الأسود وبظهور نموات بيضاء سرعان ما تتحول إلى اللون الأخضر، تظهر في البداية على الجهة العلوية للحلقة الثانية لجسم اليرقة ثم تكسو جميع الجسم، وتبين أن هذه النموات تمثل ميسيليوم الفطر الذي ينتج سلاسل بوغية ذات لون أخضر غامق. أما

وزعت اليرقات حسب أطوارها المختلفة: الطور اليرقي الأول (L₁)، الطور اليرقي الثاني (L₂) والطور اليرقي الثالث (L₃)، وربيت في أصص بلاستيكية بأبعاد 15 x 15 x 40 سم مملوءة بترية معقمة ومبللة أضيفت إليها 500 غ من الجزر لكل أصيص كغذاء لليرقات، تم تجديدها كل 8-10 أيام (2). تم التأكد من تحديد أنواع اليرقات وأطوارها بالاستعانة بخبراء من المعهد الوطني لحماية النباتات، الجزائر.

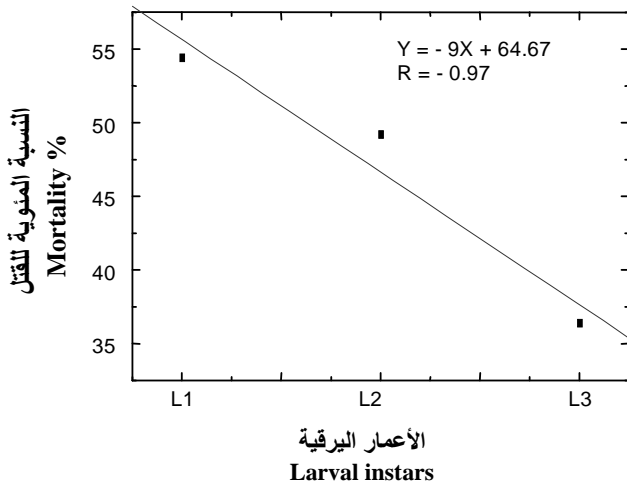
تم إكثار الفطر في دوارق سعة 500 مل وضع في كل منها 200 مل من المستنبت المغذي السائل (بطاطا دكستروز)، وحضنت على درجة حرارة 22°س لمدة 8 أيام، ثم رشحت عبر ثلاثة طبقات من الشاش للحصول على المعلق البوغي، ثم حضرت تراكيز مختلفة من المعلق البوغي (5، 10، 20، 30، 40 x 10⁴ بوغة/مل) باستخدام الماء المقطر المعقم بعد حساب الكم البوغي بواسطة شريحة Thoma.

تم إحداث العدوى بالفطر برش المعلق البوغي على يرقة لكل تركيز موزعة على الأطوار اليرقية الثلاثة بواقع 50 يرقة لكل طور، استخدمت 50 يرقة أخرى لكل طور كشاهد رشت بالماء المقطر المعقم. نقلت اليرقات المعاملة إلى أصص بلاستيكية بأبعاد 20 x 20 x 20 سم تحتوي على تربة معقمة بواقع 10 يرقات/أصيص وغطيت بورق ألومنيوم ثم حضنت على درجة حرارة 20 . 22°س في حاضنة مظلمة لمدة 45 يوماً، تم خلالها تعديل رطوبة التربة أسبوعياً على 60-80%. وتمت تغذية اليرقات بتوفير قطع من الجزر (100غ/أصيص) كل أسبوع. أخذت الملاحظات بحساب عدد اليرقات الميتة والحية لكل طور كما سجلت الأعراض الظاهرية لليرقات في المعاملات المختلفة.

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج أن يرقات حشرة الدودة البيضاء قد تأثرت بالتراكيز البوغية للفطر *M. anisopliae* (جدول 1)، إذ وجد أن النسبة التراكمية لعدد اليرقات الميتة لمجملة الأيرقية في كل تركيز على حده قد ارتفع بصورة تدريجية من 4.7% إلى 93.3% عند زيادة التراكيز البوغية من 5 x 10⁴ بوغة/مل إلى 40 x 10⁴ بوغة/مل، بينما كانت نسبة الموت عند الشاهد ضئيلة أو منعدمة.

يتضح من الشكل 1 العلاقة الطردية ما بين كثافة التركيز البوغي ونسبة القتل لكل طور يرقي، حيث يلاحظ أن نسبة القتل تزداد بزيادة التركيز البوغي للفطر، وبلغت أعلى نسبة موت لليرقات عند التركيز 40 x 10⁴ بوغة/مل في كل الأطوار اليرقية. وكان هناك ارتباط إيجابي جداً ما بين التركيز البوغي ونسبة الموت في الطور اليرقي الأول (r = 0.96) وفي الطور اليرقي الثاني (r = 0.97) والطور اليرقي الثالث (r = 0.99).



الشكل 2. العلاقة بين النسبة المئوية للموت و الأطوار اليرقية للودودة البيضاء (*Geotrogus deserticola* Blanch).
Figure 2. Correlation between mortality percentage and larval instars of *Geotrogus deserticola* Blanch.

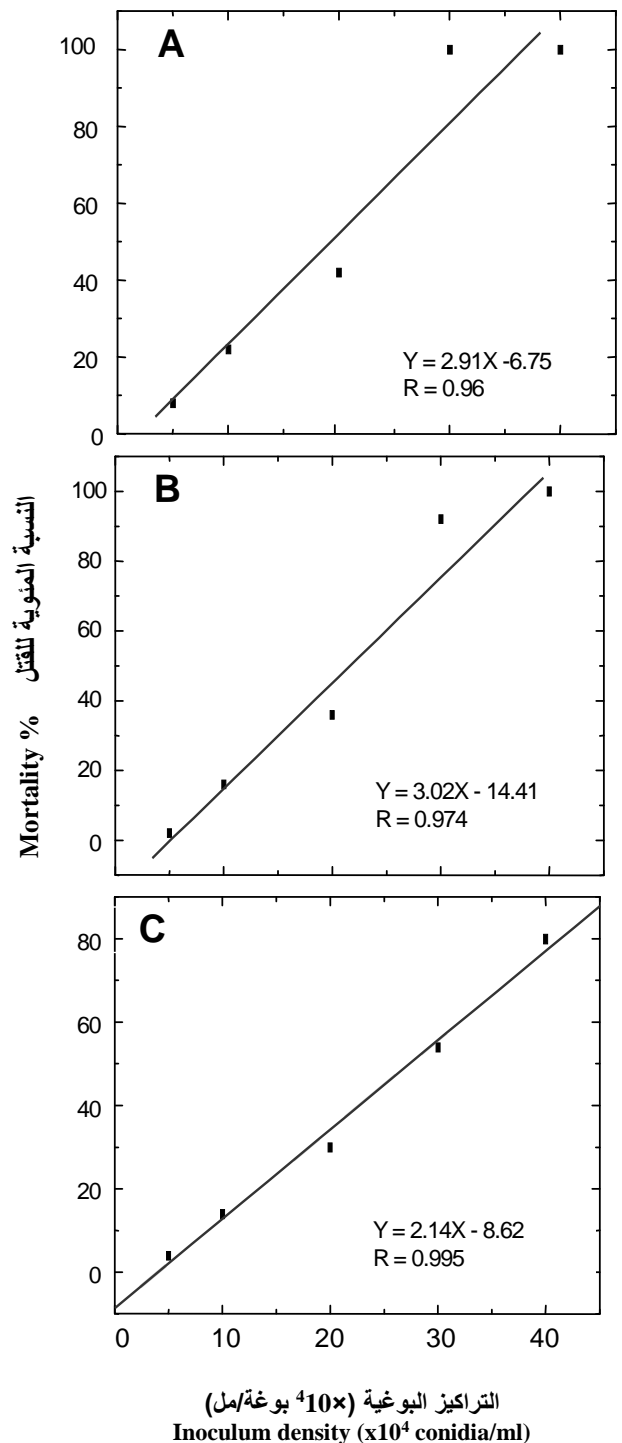
تتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة، حيث وجد أن نسبة موت اليرقات المعاملة بالفطر *M. anisopliae* مرتبطة بالتركيز البوغي (10، 19)، فقد وجد أن نسبة الموت بلغت 97% في يرقات حشرة (*Hippodamia convergens*) (Coleoptera: Coccinellidae) عند معاملتها بالتركيز البوغي من 10^4 إلى 10^8 بوغية/مل (10)، بينما وصلت نسبة الموت إلى 100% في يرقات الذباب المنزلي (*Musca domestica* L.) عند زيادة التركيز البوغي إلى 10^5 بوغية/مل (5).

أظهرت المعاملات المختلفة بالتركيز البوغي للفطر اختلافاً في نسبة القتل، حيث لوحظ أن الطور اليرقي الأول كان الأكثر حساسية للإصابة بالفطر من الطور الثاني والثالث، وكانت نسبة القتل مرتفعة في الأطوار اليرقية الأولى، فقد بينت الأبحاث أن نسبة الموت تتناقص مع تزايد عمر اليرقة في حشرة *Pyllophaga anxia* (Le Conte) (Coleoptera: Scarabeidae) (14).

إن حساسية الأطوار اليرقية الأولى للإصابة بالفطر وارتفاع نسبة الموت فيها قد تعزى إلى مقدرة الفطر على إفراز إنزيم N-acetylglucosaminidase الذي يعمل على تفكيك مكونات الكيوتكل، يتركز هذا الإنزيم أساساً على سطح الأبواغ. وعند ملامسته لجسم الحشرة ينشط محلاً كيوتكل الحشرة، ويحدث ذلك قبل عملية الإنبات (20، 21) وبالتالي تسهل عملية اختراق الفطر إلى داخل اليرقة بواسطة الأعضاء اللاصقة (Appressoria) (20).

يعزى التأثير المميت للفطر على اليرقات إلى التسمم الذي يحدثه الفطر بواسطة التوكسينات A، B و C (8، 9) المفترزة في الفراغ الداخلي للحشرة (Hemocoel) (17)، كما وجد أن التأثير السمي للفطر يتم أساساً داخل الأنبوب الهضمي للحشرة في المنطقة

اليرقات الميتة في الشاهد فكان موتها طبيعياً لعدم وجود نموات فطرية عليها.



الشكل 1. العلاقة بين النسبة المئوية لموت يرقات الطور الأول (A) والثاني (B) والثالث (C) للودودة البيضاء (*Geotrogus deserticola* Blanch) مع التراكيز البوغي للفطر *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin
Figure 1. Correlation between mortality percentage of L1 (A), L2 (B), L3 (C) larval instars of *Geotrogus deserticola* Blanch and inoculum density (conidia /ml) of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin.

تتجلى أهمية البحث في معرفة الطور اليرقي الأكثر حساسية للفطر وكثافة التركيز البوغي المميت، مما يسمح لنا باختيار الطور والتركيز الأفضل للتقليل من يرقات هذه الحشرة، من هنا نوصي باستكمال البحث لتطبيق هذه النتائج في الظروف الحقلية.

الوسطى منه، حيث سببت التراكيز البوغية المرتفعة فقداً سريعاً لقدرة الهضم (17).

كما أن هناك عوامل أخرى تزيد من نسبة الموت، حيث وجد ارتباط وثيق ما بين رطوبة التربة ونسبة الموت (7)، كما تعتبر درجة الحرارة عاملاً مؤثراً في نسبة الإصابة (11)، في حين لم تتأثر القدرة الإراضية للفطر بدرجة حموضة التربة (7).

Abstract

Belabid, L., M. Hafsi and Z. Fortas. 2000. Effectiveness of the Fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on the Larval Instars of *Geotrogus deserticola* Blanch. (Coleoptera: Scarabaeidae). Arab J. Pl. Prot. 18: 68-72.

Geotrogus deserticola Blanch. (Coleoptera: Scarabaeidae) is one of the most important insect pests in Algeria. Larvae cause severe damages to the roots of various cultural crops. Laboratory studies were conducted to determine the potential of the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycetes: Hyphomycetes) for the control of the pest larvae. Positive results were obtained when larval instars were sprayed with different concentrations of fungus conidia (5, 10, 20, 30, 40 x 10⁴ conidia/ml). Concentrations at 30 and 40 x 10⁴ conidia/ml showed 82 and 93.3% larval mortality, respectively. These results revealed that the rates of infection and mortality were significantly related to the concentration of conidia in the corresponding samples. The larval mortality percentage decreased with larval instars development (r = - 0.97). *M. anisopliae* can be considered as a promising biocontrol agent of *G. deserticola*, but field experimentation is necessary to substantiate these finding.

Key words: Biological control, *Geotrogus deserticola*, *Metarhizium anisopliae*, Algeria.

References

9. James, P. J., M. J. Kershaw, S. E. Reynolds and A. K. Charnley. 1993. Inhibition of desert locust (*Schistocerca gregaria*) malpighian tubule fluid secretion by destruxins, cyclic peptide toxins from the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J. Insect Physiol.*, 39(9): 804-797.
10. James, R. R. and B. Lighthart. 1994. Susceptibility of the convergent lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) to four entomogenous fungi. *Environmental Entomology*, 23(1):190-192.
11. Mietkiewski R., M. Zurek and L. P. E. Geest Vander. 1993. Effect of soil temperature on the mortality of *Tribolium destructor* larvae caused by the fungus *Metarhizium anisopliae*. *Polish Agricultural Annual. Series E - Plant Protection*, 22(1-2):47-52.
12. Moorhouse, E. R., A. T. Gillespie and A. K. Charnley. 1993. Application of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. conidia to control *Otiorhynchus sulcatus* F. (Coleoptera: Curculionidae) larvae on glasshouse pot plants. *Annals of Applied Biology*, 122(3): 623-636.
13. Lacey, L. A., J. J. Amaral, J. Coupland, M. G. Klein and A. M. Simoes. 1995. Flight activity of *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) after treatment with *Metarhizium anisopliae*. *Biological Control: Theory and Applications in Pest Management*, 5(2): 167-172.
14. Poprawski, T. J. and W. N. Yule. 1991. Incidence of fungi in natural population of *Phyllophaga* spp. and susceptibility of *Phyllophaga anxia* (Le Conte) (Coleoptera: Scarabaeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Applied Entomology*, 112(4): 359-365.
15. Raid, R. N. and R. H. Cherry. 1992. Effect of soil parameters on pathogenicity of the fungus *Metarhizium anisopliae* to the sugarcane grub *Ligyris subtropicus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Florida Entomologist*, 75(2): 179-184.

المراجع

1. رويشدي، خالد. 1987. المكافحة الحيوية والمتكاملة. دار المستقبل للطباعة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية. الصفحات: 298-306.
2. Abdessamed, M. 1992. Contribution à l'étude de la dynamique des populations de *Geotrogus deserticola* Blanch. (Coleoptera : Melolonthinae) dans une parcelle de céréale à Boukadir : Essai d'efficacité d'un extrait de Laurier rose (*Nerium oleander* L.). Thèse Ing. Agro., INESA Chlef, Algérie, 45 pp.
3. Balachowsky, A. S. 1962. Entomologie appliquée à l'agriculture, Tome I (Coléoptères). Masson et Cie éditeur, Paris, VI :122-147.
4. Barnett, H. and B. B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfecti Fungi. Burgess Publishing co-Minneapolis M.N., 241 pp.
5. Barson, G., N. Renn and A. F. Bywater. 1994. Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the house fly (*Musca domestica* L.), a pest of intensive animal units. *Journal of Invertebrate Pathology*, 64(2):107-113.
6. Braza, R. D. 1990. Laboratory evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin against *Leucopholis irrorata* (Chevrolat) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Philippine Entomologist*, 8(1): 671-675.
7. Burdeos, A. T. and L. T. Villacarlos. 1988. Pathogenicity of three entomogenous fungi to adult sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (F.). 19. Pest Control Council of the Philippines. Cebu City (Philippines). 3-7 May 1988. Cebu City (Philippines), 1 p.
8. Fargues, J., P. H. Robert and A. Vey. 1985. Effet des destruxines A, B et E dans la pathogénèse de *Metarhizium anisopliae* chez les larves de Coléoptères Scarabaeidae [*Cetonia aurata*, *Oryctes rhinoceros*]. *Entomophaga*, 30(4): 353-364.

19. **Samson, P. R., R. J. Milner and P. D. McLennan.** 1994. Field trials of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Inopus rubriceps* (Diptera: Stratiomyidae) in sugarcane. *Environmental Entomology*, 23(3):749-754.
20. **St-Leger, R. J., M. Goettel, D. W. Roberts, and R. C. Staples.** 1991. Prepenetration events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 58(2):168-179.
21. **St-Leger, R. J., D. C. Frank, D. W. Roberts and R. C. Staples.** 1992. Molecular cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading-proteinase structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *European Journal of Biochemistry*, 204(3): 991-1001.
22. **Zimmermann, G.** 1993. The Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* and its Potential as a Biocontrol Agent. *Pestic-Sci. Essex : Elsevier Applied Science Publishers*, 37(4): 375-379.
16. **Rana, R. L. and L. T. Villacarlos.** 1992. Effect of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin infection on the fecundity and survival of the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabr.) (Coleoptera: Curculionidae). *Philippine-Entomologist*, 8(3): 963-972.
17. **Ravallec, M., G. Riba and A. Vey.** 1989. Sensibilité d' *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) à l' Hyphomycète entomopathogène *Metarhizium anisopliae*. *Entomophaga*, 34(2):209-217.
18. **Romana, C. A. and J. Fargues.** 1987. Sensibilité des larves de l' hémiptère hématophage, *Rhodnius prolixus* (Triatominae) aux Hyphomycetes entomopathogenes [*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus*]. *Entomophaga*, 32(2): 167-179.