تقويم كفاءة المستحضر التجاري للفطر *Metarhizium anisopliae* على شغالات حشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* (Silv.) في ظروف المختبر

راضي فاضل الجصاني ورسل عبد الرضا الزبيدي

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، بغداد، العراق، البريد الإلكتروني: radhialjassany@yahoo.com

الملخص

الجصاني، راضي فاضل ورسل عبد الرضا الزبيدي. 2015. تقويم كفاءة المستحضر التجاري للفطر *Metarhizium anisopliae* على شغالات حشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* (Silv.) في ظروف المختبر. مجلة وقاية النبات العربية، 33(2): 216–222.

اجريت الدراسة خلال عام 2011لتقويم كفاءة تراكيز مختلفة من المستحضر التجاري للفطر *Metarhizum anisopliae* في قتل شغالات حشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* (Silv.) في ظروف المختبر وبطريقتي الرش المباشر ومعاملة الوسط الغذائي. أوضحت النتائج ان المستحضر التجاري للفطر أثر تأثيراً فعالاً في قتل شغالات الأرضة بطريقتي المعاملة واختلفت نسب القتل للشغالات باختلاف طريقة المعاملة والتركيز ومدة التعريض. سبب استخدام الفطر الموت التدريجي لشغالات الأرضة وازدادت سرعة حدوث الموت التدريجي بزيادة التركيز، حيث وصلت نسبة القتل 100% تحت ظروف المختبر في معاملة الوسط الغذائي بعد 4، 4 و2 أسبوعاً، في حين تحققت نسبة القتل نفسها في معاملة الرش المباشر بعد 3، 2 و1 أسبوعاً من العدوى الأولى عند استخدام التراكيز 2، 4 و6 غ/لتر ماء، على التوالي. كانت طريقة معاملة الوسط الغذائي أكثر كفاءة من معاملة الرش بتقدم زمن المعاملة. كما اوضحت نتائج الدراسة أيضاً أن التركيز العالي تميز بتفوقة المعنوي في احداث القتل وتاثيره الفعال بعد 16 أسبوعاً من العدوى الأولى من خلال تحقيقه نسبة قتل 53–55% بينما كان التركيز المنخفض فعالاً لمدة 8 أسابيع. تميزت أعراض إصابة الفطر *M. anisopliae* على شغالات الأرضة بقلة حركتها وامتناعها عن التغذية بعد يومين من التعرض لأبواغ الفطر كما ظهرت على الشغالات المصابة بقع الميلانين السوداء التي تتمثل بمناطق سوداء تحيط بجسم الشغالة من جوانبها وكذلك الخيوط الفطرية بعد 4 أيام من موت الشغالة، حيث كانت الشغالات تبدو مغطاة بكتلة كثيفة من الأبواغ الخضراء.

كلمات مفتاحية: الأرضة، *Microcerotermes diversus*، مكافحة احيائية، الفطر *Metarhizum anisopliae*، نسبة قتل الشغالات.

المقدمة

الأرضة (termites) من الحشرات الاقتصادية المهمة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية والمعتدلة. تعيش حشرة الأرضة في طوائف بعض أنواعها تحت سطح التربة وعلى أعماق مختلفة قد يصعُب في بعض الأحيان الوصول إليها (4). تتغذى هذه الحشرات بجميع مصادر السيللوز المتمثلة بالأخشاب المصنعة والطبيعية والأشجار والأثاث والكتب والمواد المصنوعة من الأخشاب مسببة لها أضراراً بالغه. تم تحديد عشرة أنواع من الأرضة في العراق ويعد النوع *Microcerotermes diversus* (Silv.) أكثرها إنتشاراً وأهمية (2). يهاجم هذا النوع المباني في الجزء الجنوبي الغربي من إيران (7). اتجه العلماء إلى استخدام بدائل المبيدات الكيميائية في مكافحة الأرضة، وقد أثبتت بعض انواع المسببات الممرضة والطفيليات فاعليتها في مكافحة هذه الأنواع من الحشرات، وقد وجد أن الفطر *anisopliae Metarhizum* ينمو بشكل جيد على أجسام الأرضة (11). وتظهر مختلف أنواع الأرضة حساسية عالية للعديد من سلالات الفطر *Metarhizum anisopliae* (6، 8، 15) وتختلف فاعلية سلالاته في القضاء على الأرضة (15). كما أظهرت دراسات سابقة بأن جميع عزلات الفطر *M. anisopliae* من الباكستان كانت لها صفات متشابهه نوعاً ما في ضراوتها تجاه الأرضة *Coptotermes heimi*، وتفوقت العزلة Muree على العزلة Faisalabad في شدة تأثيرها (5). كما أن هناك اختلافاً في قوة تأثير الفطر *M. anisopliae* على مجاميع حشرة الأرضة تحت السطحية تبعاً للعديد من العوامل (أنواع الأرضة، العزلات، سلالات الفطر، التراكيز المستخدمة، طريقة التعريض، وطريقة وصول أبواغ الفطر إلى الأرضة) (16). في دراسة سابقة (11) حقق الفطر *M. anisopliae* نسبة قتل 100% في مجاميع شغالات الأرضة*Coptotermes formosanus* بعدَ ثمانية أيام من التعريض للتركيز 1×10^{7} بوغ/مل. ولأهمية الفطر *M. anisopliae* في مكافحة حشرة الأرضة فقد هدفت هذه الدراسة إلى تقويم كفاءته في قتل شغالات الآفة باستخدام تركيزات وطرائق معاملة مختلفة تحت ظروف المختبر.

مواد البحث وطرائقه

مصدر الطائفة وأقلمتها في المختبر

حُدد عدد من أشجار اليوكالبتوس والنخيل المصابة إصابة شديدة بحشرة الأرضة *M. diversus* في حقول كلية الزراعة/جامعة بغداد، لغرض استخدامها كمصادر أولية للحصول على أفراد الأرضة لإجراء الدراسات المختبرية. أخذت قطع من جريد السعف المُرطبة بالماء قليلاً ودُفنت في التربة على عمق 10–20 سم حول جذوع الأشجار المصابة لمدة 1–2 أسبوع وذلك لجذب أكبر عدد ممكن من الشغالات. رُفعت القطع الخشبية الحاوية على الشغالات وبعض أفراد الطائفة (المجنحات والجنود) مع كُتل من التربة المحيطة بها، ثم نُقلت إلى المختبر ووضعت في أحواض زجاجية جوانبها الأربعة مُغلفة برقائق الألمنيوم مُغطاة من الأعلى بصفيحة معدنية لغرض توفير الظلام التام للحشرة. تم الفحص والمراقبة اليومية للأحواض الزجاجية في المختبر لملاحظة نشاط أفراد الطائفة وبناء الأنفاق الجديدة للشغالات وإزالة الأفراد الميتة والأفراد غير الطبيعية من حيث الحركة والنشاط، كما تم رش يدوي خفيف من الماء المقطر المعقم لغرض توفير الرطوبة لأفراد الحشرة، حيث تم أقلمة أفراد الطائفة لمدة لا تَقل عن 7 أيام في ظروف المختبر قبل البدء بالتجارب.

مصدر الفطر *M. anisopliae*

استعمل المستحضر التجاري للمبيد الإحيائي ORY-X® على هيئة مسحوق قابل للبلل إنتاج شركة FELDA AGRIGULTURAL SERVICES SDNBHO يحوي العزلة (ST-01) من الفطر *M. anisopliae* var *majus* بتركيز 10x1.1^{11} بوغ/غ، تم الحصول على المستحضر التجاري من مقر الشركة في العاصمه كوالا– لمبور (ماليزيا).

دراسة تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر التجاري للفطر *M. anisopliae* في قتل شغالات الأرضة تحت ظروف المختبر

أُجريت دراسة تأثير التراكيز المختلفة من المستحضر التجاري للفطر في قتل شغالات الأرضة بطريقتين: الأولى معاملة الوسط الغذائي الخاص بالحشرة بمستحضر الفطر، والثانية الرش المباشر بمستحضر الفطر على الأرضة.

1– معاملة الوسط الغذائي للحشرة بمستحضر الفطر: حُضر 12 طبق بتري معقم قطر 20 سم مبطن بورق ترشيح ونشرت فيها مكونات الوسط الغذائي الخاص بحشرة الأرضة وذلك بخلط 50 غ من النشارة الناعمة المُجففة المُعقمة مع 4% من محلول الآجار (4 غ من الآجار لكل 100 مل ماء مقطر) لأجل تماسك جزيئات النشارة الناعمة مع بعضها البعض ولتوفير الرطوبة المفضلة لدى الحشرة (21). حُضرت التراكيز 2، 4 و 6 غ/لتر للمستحضر التجاري للفطر كُلاً على حدة، بالإضافة إلى معاملة بالماء المقطر كشاهد. أضيف 20 مل من كل تركيز من التراكيز السابقة إلى الأطباق المحضرة مُسبقاً حيث استعملت 3 أطباق تمثل ثلاثة مكررات لكل تركيز ومعاملة الشاهد ثم تُركت الأطباق لمدة ساعتين لحين تغلغل المحلول في الوسط الغذائي وتشبعه (1)، ثُم نُقلت 50 شغالة من أفراد الأرضة المؤقلمة في ظروف المختبر مع القليل من فتات التربة وأنفاق عملتها الشغالات مُسبقاً بوساطة فرشاة ناعمة لكل من المكررات الثلاثة لكل معاملة.

2– طريقة الرش المباشر لمستحضر الفطر على أطوار الحشرة: حضر 12 طبق بتري ونشر فيها الوسط الغذائي الذي تم اعداده في المختبر، كما سبق ذكره ونقل إلى كل طبق بتري 50 شغالة مؤقلمة مع أنفاقها (ثلاثة أطباق لكل معاملة تمثل ثلاثة مكررات) واستخدم مقدار 5 مل من محلول كل تركيز من هذه التراكيز الثلاثة برشها على الأطباق الخاصة بكل تركيز من هذه التراكيز بشكل مباشر وعلى مسافة 7–10 سم فوق كل طبق لتغطية الوسط الغذائي المضاف اليها. أُغلقت الأطباق وغلفت برقائق الألمنيوم لتوفير الظلام المناسب للحشرة، ثُم تُركت في ظروف المختبر. تم فحص كل معاملة من هذه المعاملات كل 2–3 أيام، وسجلت أعداد الحشرات الميتة وحسبت نسب القتل عند كل فحص. تم ترطيب الأسطح الداخلية للأطباق بالماء المقطر المعقم لتوفير الرطوبة اللازمة (12). وللتأكد من إصابة الشغالات الميتة بالفطر، رُفعت مجموعه من الشغالات الميتة ووضعت في أطباق بتري قطر الواحد منها 10 سم معقمة ومبطنة بورق ترشيح مشبع بالماء المقطر المعقم. حُضنت الأطباق في حاضنة عند حرارة 25±2°س لمدة أسبوعين لمراقبة نمو الفطر *M. anisopliae*، كما زُرعت مجموعة من الشغالات الميتة على الوسط الزرعي (SDA) مضافاً لهُ المضاد الحيوي Chloramphenicol لمنع ظهور البكتريا. ولغرض تقويم مدة بقاء الفطر في المعاملات المختلفة وفعاليته في إحداث القتل في ظروف المختبر. أجريت عدوى اصطناعية للأطباق بنقل 50 شغالة من الشغالات المتأقلمة مع ظروف المختبر إلى كل طبق (بعد تحقيق نسبة قتل 100% في العدوى الأولى).

تم إحداث العدوى الأولى بتاريخ 2010/7/15 والعدوى الثانية بعد 30 يوماً بتاريخ 2010/8/15 أما العدوى الثالثة فقد اجريت بعد 90 يوماً بتاريخ 2010/10/15 والعدوى الرابعة بعد 120 يوماً بتاريخ

2010/11/15 والعدوى الخامسة بعد 150 يوماً بتاريخ 2010/12/15. صُححت نسبه القتل استناداً إلى معادله Abbott (3) اضافة إلى معاملة الشاهد التي رشت بمقدار 20 مل من الماء المقطر لكل طبق.

التحليل الإحصائي

طبقت التجارب بتصميم عشوائي كامل (CRD) لدراسة تأثير التركيز والطريقة المُتبعة في المعاملة والمدد الزمنية وتأثيرها في نسب القتل، كما قورنت الفروقات المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى احتمالية 0.05. لمقارنة النتائج، استعمل البرنامج الإحصائي SAS (19) في التحليل الإحصائي.

النتائج والمناقشة

أوضحت نتائج الدراسة (جدول 1) أنه كان للمستحضر التجاري تأثيراً فعّالاً في قتل شغالات الأرضة بطريقتي المعاملة التي تم استخدامهما. وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في النسب المئوية للشغالات التي تم قتلها في كل معاملة من هذه المعاملات المختلفة اعتماداً على طريقة المعاملة والتركيز ومدة التعريض. كما اتضح حدوث الموت التدريجي لأفراد الأرضة المعرّضة للفطر وازدادت سرعة القتل بزيادة التركيز. حققت معاملة الوسط الغذائي بالفطر نسبة قتل 100% بعد 4، 4 و2 أسبوعاً وطريقة الرش المباشر بالفطر على الشغالات بعد 3، 2 و1 أسبوعاً بعد العدوى الأولى للتراكيز 2، 4 و6 غ/لتر، على التوالي. أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود اختلافات إحصائية معنوية بين طريقتي المعاملة (الرش والوسط الغذائي) في إحداث القتل، وأن طريقة الرش المباشر في بداية المعاملة هي الأكثر كفاءة من طريقة معاملة الوسط الغذائي، حيث بلغ معدل نسبة القتل في طريقة الرش 94.12%، وفي معاملة الوسط الغذائي 80.46%. إن سرعة قتل الشغالات المعاملة بالفطر بطريقة الرش المباشر بعد العدوى الأولى قد يعزى إلى سهوله وصول مصدر الإصابة (الأبواغ) وانتشارها على أجسام الشغالات على عكس الشغالات الموجودة على الوسط المشبع بالفطر حيث تتطلب إصابة الشغالات بالفطر وصول أبواغ الفطر إلى كيوتكل الحشرة عن طريق الاحتكاك أو التلامس أو الحركة المستمرة داخل الوسط الغذائي، وهذا مشابه لما وجدهُ Milner (13).

إن حدوث الموت التدريجي لشغالات الأرضة المعرضة للفطر *M. anisopliae* قد يعود إلى الحاجة إلى الوقت الكافي لوصول أبواغ الفطر إلى أجسام الشغالات والتصاقها على الكيوتكل واختراقها لجدار الجسم عن طريق الفتحات الطبيعية والمناطق الضعيفة مابين الحلقات وحدوث الإنبات وإنتاج السموم التي تؤدي إلى قتل الحشرة. وفي هذا المجال أشارَ Sajap و Kaur (18) إلى أن مسار إصابة الأرضة *Coptotermus curvignathus* بالفطر *M. anisopliae* يبدأ باختراق أنبوب الإنبات لأنسجة الحشرة الداخلية بدايةً من الأجسام الدهنية والعضلات ثم الخلايا العصبية وخلايا الأغشية للقناة الهضمية والقانصة بالتتابع، وأن الشغالات المصابة قد ماتت بعد 36–48 ساعة من العدوى، وبعد 72 ساعة لوحظ أن جميع أعضاء المناطق الخارجية لجسم الحشرة قد أُصيبت بالكامل، وبعد 100 ساعة بدأت الخيوط الفطرية بالظهور على كيوتكل الحشرة، ثم بدأت سلاسل الكتل من الأبواغ (الكونيديات) الخضراء بالتكوّن بعد 120 ساعة من العدوى.

أوضحت نتائج الدراسة أن هناك علاقة طردية بين سرعة القتل وزيادة التركيز، إذ كلما زادَ التركيز كانت المدة الزمنية لإحداث القتل أقصر، ويُعزى هذا إلى سرعة تعرض الشغالات ووصول الأبواغ إلى جسم الحشرة واختراق الخيوط الفطرية بعد إنبات البوغ وإحداث القتل، حيث وجدَ Rosengaus وآخرون (17) أن التركيز العالي $10x2.2^{8}$ بوغ/مل هو الأكفأ في إحداثهِ للقتل مقارنةً بالتراكيز الأقل من ذلك.

تميزت أعراض إصابة الفطر *M. anisopliae* على شغالات الأرضة بقلة حركتها وخمولها وامتناعها عن التغذّي، كما ازداد عند الشغالات المعاملة سلوك التحذير والمتمثل باهتزاز أجسام الشغالات والحركة السريعة لقرون الاستشعار، إذ شوهدت هذه الحالة بعد يومين من التعرض لأبواغ الفطر بطريقة الرش المباشر عند التركيز العالي، كما ظهرت على الشغالات المصابة بقع الميلانين السوداء والتي تتمثل بمناطق سوداء تحيط بجسم الشغالة من (الجانب البطني والظهري) مع عدم وجود أي نمو خارجي للفطر. لكن الخيوط الفطرية بدأت بالظهور بعد 4 أيام من موت الحشرة حيث كانت الشغالات تبدو مغطاة بكتلة كثيفة من الأبواغ الخضراء. تتوافق هذه النتائج مع ما وجده Hoe وآخرون (10)، حيث كانت الشغالة المصابة تتميز بحركتها البطيئة وصعوبة انتقالها من مكان لأخر كما تميزت أعراض إصابتها بالفطر بقلة حركتها وخمولها وامتناعها عن التغذّي، كما لاحظ Dong وآخرون (6) اختراق الخيوط الفطرية لحلقات الصدر.

وتتشابه هذه النتائج مع ما وجدهُ Nasr و Moein (16) حيث وصلت نسبة القتل 100% بعد أربعة أسابيع من معاملة الأرضة *Cryptotermes brevis* المُغذاة على الخشب المعامل بأعلى تركيز $10x43.5^{5}$ بوغ/مل للفطر *M. anisopliae* في ظروف المختبر.

جدول 1. النسب المئوية لقتل شغالات الأرضة عند استخدام التراكيز المختلفة وطريقة المعاملة لمستحضر الفطر (العدوى الأولى).
Table 1. Mortality rate of termite workers when different concentrations and treatment methods of the fungal formulation of *M. anisopliae* (1st inoculation) were used.

طريقة المعاملة Treatment method	التركيز غ/لتر Concentration g/L	النسبة المئوية للقتل خلال مدة التعريض (أسبوع) Mortality rate during exposure periods (week)				المعدل Average
		1	2	3	4	
وسط غذائي Nutrient medium	2	34.18	60.65	72.20	100.00	66.76
	4	63.20	72.25	81.32	100.00	79.19
	6	81.72	100.00	-	-	95.43
	المعدل Average	59.70	77.63	84.51	100.00	80.46
رش Spraying	2	66.57	78.40	100.00	-	86.24
	4	84.53	100.00	-	-	96.13
	6	100.00	-	-	-	100.00
	المعدل Average	83.70	92.80	100.00	100.00	94.12

أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% للتركيز = 1.42، مدة التعريض = 1.64، طريقة المعاملة = 1.16.
LSD at P=0.05 for concentration =1.42, exposure period=1.64, treatment method=1.16.

جدول 2. النسب المئوية لقتل شغالات الأرضة عند استخدام التراكيز المختلفة وطريقة المعاملة لمستحضر الفطر (العدوى الثانية بعد 30 يوماً).
Table 2. Mortality rate (%) of termite workers when different concentrations and treatment methods of the fungal formulation of *M. anisopliae* (2nd inoculation after 30 days) were used.

طريقة المعاملة Treatment method	التركيز غ/لتر Concentration g/L	النسبة المئوية للقتل خلال مدة التعريض (أسبوع) Mortality rate during exposure periods (week)				المعدل Average
		1	2	3	4	
وسط غذائي Nutrient media	2	24.16	46.38	80.97	100.00	62.88
	4	33.05	54.64	87.09	100.00	68.70
	6	48.82	91.28	100.00	-	85.03
	المعدل Average	35.34	64.10	89.35	100.00	72.20
رش Spraying	2	11.86	39.23	64.51	100.00	53.90
	4	30.47	62.85	88.52	100.00	70.46
	6	48.99	99.29	100.00	-	87.07
	المعدل Average	30.44	67.12	84.34	100.00	70.48

أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% التركيز = 1.79، مدة التعريض = 2.06، طريقة المعاملة = 1.46.
LSD at P=0.05 for concentration= 1.79, exposure time= 2.06, treatment method= 1.46.

إتضح من نتائج الدراسة بعد 120 يوماً من المعاملة (العدوى الثالثة) انخفاض واضح وكبير وباختلافات إحصائية معنوية في النسب المئوية لقتل الشغالات منذ بداية المعاملة وحتى نهايتها خلال التراكيز المختلفة وطرائق التعريض المختلفة. حيث بلغت النسبة المئوية للقتل عند الأسبوع الرابع من العدوى الثالثة في معاملة الوسط الغذائي 28.72، 49.98 و 53.46% وفي معاملة الرش 23.01، 34.13 و 45.11% عند التركيز 2، 4 و6 غ/لتر، على التوالي (جدول 3). كما اتضح من هذه النتائج أن التركيز العالي للمستحضر بطريقتي المعاملة تميز باحداث نسب قتل عالية مقارنة بالتراكيز الأخرى بعد هذه المدة الزمنية.

وفي دراسة مماثلة أجراها الصالحي (1) في العراق على جنود وشغالات نوع الأرضة *Microcerotermes diversus* (Silv.) باستخدام الفطر *Beauvaria bassiana* حيث أعطى التركيز العالي 10^7 بوغ/مل نسب قتل بحدود 50% لأطول مدة زمنية والتي بلغت 120 يوماً ثم تلاهُ التركيز 10^6 بوغ/مل بعد 90 يوماً من المعاملة وكان التركيز 10^5 بوغ/مل الأقل فعالية بعد 60 يوماً من المعاملة، كما أشار Hedgecoc وآخرون (9) إلى حصول خسارة سريعة في قابلية إنبات أبواغ الفطر بنسبة 15% عند تعرض المستحضر الزيتي للفطر *M. flavoviride* عند حرارة 38°س لمدة 4 أشهر.

أما بعد 150 يوماً من المعاملة (العدوى الرابعة) فقد تبين من نتائج الدراسة أن هناك انخفاضاً تدريجياً كبيراً في نسب القتل المئوية لشغالات الأرضة منذ بداية المعاملة وحتى نهايتها عند الأسبوع الرابع،

كما أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود اختلافات معنوية في النسب المئوية للقتل استناداً إلى التراكيز المختلفة وطرائق التعريض إذ بلغت النسب المئوية للقتل عند الأسبوع الرابع من العدوى الرابعة 10.61، 22.98 و 26.50% في معاملة الوسط الغذائي و 8.17، 14.74 و19.46% في معاملة الرش للتراكيز 2، 4 و 6 غ/لتر من المستحضر التجاري للفطر، على التوالي (جدول 4). يتضح من هذه النتائج أن النسب المئوية للقتل أخذت بالتراجع التدريجي الواضح مقارنة بالعدوات السابقة، أما بعد 180 يوماً من المعاملة وعلى الرغم من وجود اختلافات احصائية معنوية في التراكيز المختلفة وطرائق التعريض فقد كانت نسب القتل منخفضة جداً، حيث بلغت عند الاسبوع الرابع من العدوى الخامسة 3.92، 4.60 و 6.89% في معاملة الوسط الغذائي و 3.92، 56.00 و 3.02% في معاملة الرش للتراكيز 2، 4 و 6 غ/لتر من المستحضر التجاري للفطر، على التوالي (جدول 5).

قد يعزى هذا الانخفاض الكبير في فعالية الفطر في إحداث القتل لشغالات الأرضة بتقدم زمن المعاملة إلى قلة عدد الأبواغ (مصدر الإصابة الأولية) اللازمة لإحداث الإصابة، فضلاً عن فقدان الكثير من الأبواغ لحيويتها نتيجة للظروف البيئية التي قد تعرضت إليها خلال هذه المدة الزمنية (150–180 يوماً). ففي دراسةٍ أجراها Milner (14) وجد أن الفطر *M. anisopliae* شديد التأثر بالظروف البيئية المحيطة بهِ، وإن لم تتوفر للفطر الظروف الملائمة للإنبات فانه يبقى بطور ساكن لمدة ثلاث سنوات أو أكثر. وتشابهت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل إليه الصالحي (1)، إذ أن الانخفاض التدريجي في فعاليه الفطر *B. bassiana* بتراكيزه كافة وانعدامها بعد سنة قد يُعزى إلى فقدان ابواغ الفطر لحيويتها في إحداث الإصابة، أو انعدامها في الوسط الغذائي أو لعدم ملائمة ظروف البيئة العراقية خلال المراحل المتلاحقة لبقاء الفطر ضمن ظروف الدراسة.

جدول 3. النسب المئوية لقتل شغالات **الأرضة عند استخدام** التراكيز المختلفة وطريقة المعاملة **لمستحضر الفطر (العدوى الثالثة بعد** 120 يوماً).
Table 3. Mortality rate (%) of termite workers when different concentrations and treatment methods of fungal formulation of *M. anisopliae* (3rd inoculation after 90 days) were used.

طريقة المعاملة Treatment method	التركيز غ/لتر Concentration g/L	النسبة المئوية للقتل خلال مدة التعريض (أسبوع) Mortality rate during exposure periods (week)				المعدل Average
		1	2	3	4	
وسط غذائي Nutrient media	2	2.22	9.22	17.39	28.72	14.39
	4	18.23	24.49	36.99	49.98	32.42
	6	22.15	29.52	43.30	53.46	37.11
	المعدل Average	14.20	21.08	32.56	44.05	27.97
رش Spraging	2	2.24	15.89	19.59	23.01	15.18
	4	11.96	17.44	26.10	34.13	22.40
	6	25.72	29.08	37.51	45.11	34.35
	المعدل Average	13.31	20.80	27.73	34.08	23.98

أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% التركيز= 1.79، مدة التعريض= 2.06، طريقة المعاملة = 1.46
LSD at P=0.05 for concentration= 1.79, exposure time= 2.06, treatment method=1.46

جدول 4. النسب المئوية لقتل شغالات **الأرضة عند استخدام** التراكيز المختلفة وطريقة **المعاملة لمستحضر الفطر (العدوى الرابعة بعد** 150 يوماً).
Table 4. Mortality rate (%) of termite workers when different concentrations and treatment methods of the fungal formulation of *M. anisopliae* (4th inoculation after 120 days) were used.

طريقة المعاملة Treatment method	التركيز غ/لتر Concentration g/L	النسبة المئوية للقتل خلال مدة التعريض (أسبوع) Mortality rate during exposure periods (week)				المعدل Average
		1	2	3	4	
وسط غذائي Nutrient media	2	3.81	5.92	7.99	10.61	7.08
	4	16.46	18.70	21.34	22.98	19.87
	6	8.59	20.90	23.18	26.50	19.79
	المعدل Average	9.62	15.17	17.50	20.03	15.58
رش Spraying	2	3.85	4.89	6.19	8.17	5.78
	4	10.26	11.69	13.58	14.74	12.57
	6	14.05	17.28	18.55	19.46	17.34
	المعدل Average	9.39	11.29	12.77	14.13	11.89

أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% التركيز= 0.79، مدة التعريض = 0.91، طريقة المعاملة = 0.64
LSD at P=0.05 for concentration= 0.79, exposure time= 0.91, treatment method= 0.64.

جدول 5. النسب المئوية لقتل شغالات الأرضة عند التراكيز المختلفة وطريقة المعاملة لمستحضر الفطر (العدوى الخامسة بعد 180 يوماً).

Table 5. Mortality rate (%) of termite workers when different concentrations and treatment methods of the fungal formulation of *M. anisopliae* (5^{th} inoculation after 150 days) were used.

طريقة المعاملة Treatment method	التركيز غ/لتر Concentration g/L	النسبة المئوية للقتل خلال مدة التعريض (أسبوع) Mortality rate during exposure periods (week)				المعدل Average
		1	2	3	4	
وسط غذائي Nutrient media	2	2.59	2.98	3.61	3.92	3.27
	4	2.75	3.77	4.33	4.60	3.86
	6	4.31	5.76	6.40	6.89	5.84
	المعدل Average	3.22	4.17	4.78	5.14	4.32
رش Spraying	2	0.89	2.94	3.61	3.92	2.81
	4	2.51	3.07	3.39	3.56	3.13
	6	2.44	2.92	2.98	3.02	2.84
	المعدل Average	1.95	2.97	3.35	3.44	2.93

أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5% للتركيز= 0.27، مدة التعريض= 0.31، طريقة المعاملة= 0.22.

LSD at P=0.05 for concentration= 0.27, exposure time= 0.31, treatment method= 0.22.

يمكن الإستنتاج أن الفطر *Metarhizum anisopliae* تميز بكفاءة عالية في إحداث القتل لشغالات الأرضة في معاملة رش الوسط الغذائي والشغالات كانت الأكفأ والأسرع في احداث القتل حيث حققت نسبة قتل 100% بعد 1، 2 و3 أسابيع عند التركيز 2، 4 و 6 غ/لتر على التوالي، مقارنة بمعاملة الوسط الغذائي الذي حقق نسبة قتل 100% بعد 4 أسابيع في جميع التراكيز ولكن بتقدم زمن المعاملة تنخفض كفاءة الفطر تدريجياً في كلتا طريقتي التعريض. كما اعتمدت مدة بقاء الفطر فعالاً في ظروف المختبر على الاختلاف في التراكيز حيث استمر التركيز العالي (6 غ/لتر) بالتأثير الفعال بعد 16 أسبوعاً بينما التركيز المنخفض (2 غ/لتر) كان فعالاً لمدة 8 أسابيع فقط.

لذلك يمكن اعتبار الفطر أحد عناصر المكافحة الأحيائية الفعالة في مكافحة حشرة الأرضة عند معاملة الأوساط الغذائية والاخشاب المستعملة في محطات الطعوم.

Abstract

Al-Jassany, R.F. and R.A.R. Al-Zobaidi. 2015. Efficiency of a commercial formulation of the fungus *Metarhizium anisopliae* on mortality of termite *Microcerotermes diversus* (Silv.) workers under laboratory conditions. Arab Journal of Plant Protection, 33(2): 216-222.

The study was conducted to evaluate the efficiency of different concentrations (2, 4, and 6 g/liter of water) of the commercial formulation of the fungus *Metarhizum anisopliae* on mortality of the termite species *Microcerotermes diversus* (Silv.) under laboratory conditions using direct spray and treatment of nutrient termite media in 2011. The results showed that the commercial formulation was effective causing high mortality rate of termite workers by both treatment methods. Mortality rate depended upon the method of treatment, concentration, and exposure time in which the entomopathogenic fungus achieved gradual mortality, which increased by increasing concentration. The fungus achieved 100% mortality under laboratory conditions in the treated termite media after 4, 4, and 2 weeks, however, the same high mortality was achieved by the direct spraying treatment after 3, 2, and 1 weeks by using concentrations 2, 4, and 6 g/l water, respectively. In the first exposure treatment, the treatment of nutrient media was more effective than the direct spraying with increased time of treatment. High concentration caused the highest mortality rate (53-55%) 16 weeks after the first exposure, whereas the lowest concentration was only effective for 8 weeks. The Symptoms of the fungal infection with *M. anisopliae* on termite workers were observed through termite workers slow movement and poor feeding 2 days after exposure to fungal spores. In addition, black melanin spots (black areas surrounded the body from the side) and fungal hyphae appeared 4 days after workers death, as the workers bodies were covered by thick mass of green spores. It can be concluded that long term protection from termites require re-treatment every 6 months with commercial fungal concentration.

Keywords: Termite, *Microcerotermes diversus* (Silv.), biological control, entomopathogenic fungus, *Metarhizum anisopliae*, mortality rate.

Corresponding author: R. Al-Jassany, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Bagdad University, Bagdad, Iraq, email: radhialjassany@yahoo.com

References

11. **Hussain, A., M.Y. Tian, Y.R. He, J.M. Bland and W.X. Gu.** 2010. Behavioral and electrophysiological responses of *Coptotermes formosanus* Shiraki towards entomopathogenic fungal volatiles. Biological Control, 55:166 -173.
12. **Krutmuang, P. and S. Mekchay.** 2005. Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* against termite. Pages 1-4. In: Conference on International Agricultural Research for Development. Stuttgart - Hohenheim, October 11-13, 2005.
13. **Milner, R.J.** 2001. Application of biological control agents in mound building termite –Experiences with *Metarhizium* in Australia. Proceeding of 2nd Internat. Symp. on *Coptermes Formosanus*. New Orleans, 15 pp.
14. **Milner, R.J.** 2003. Application of biological control agents in mound building termites (Isoptera: Termitidae) – Experiences with *Metarhizium* in Australia. Sociobiology, 41: 419-428.
15. **Milner, R.J., J.A. Staples and G.G. Lutton.** 1998. The selection of an isolate of the hyphomycete fungus, *Metarhizium anisopliae* for control of termite in Australia. Biological Control, 3: 240-247.
16. **Nasr, F.N and S.I.M. Moein.** (1997). New trend of the use of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin and *Verticillium indicum* (Petch) Cams as entomopathogens to the termite *Cryptotermes brevis* (Walker) (Isoptera, Kalotermitidae). Biomedical and Life Science, 70: 13-16.
17. **Rosengaus, R.B., C. Jordan, M.L. Lefebvre and J.F.A. Traniello.** 1999. Pathogen alarm behavior in a termite: A new form of communication in social insect. Naturwissenschaften, 86: 544-548.
18. **Sajap, A.S. and K. Kaur.** 1990. Histopathology of *Metarhizium anisopliae*, an entomopathogenic fungus infection in the termite, *Coptotermes curvignathus*. Pertanika, 13: 331-334.
19. **SAS.** 2004. SAS/STAT User's Guide for Personal Computers. Release 6.12 SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA.
20. **Su, N.Y. and R.H. Scheffrahn.** 1998. A review of subterranean termites control practice and prospects for integrated pest management programmers. Integrated Pest Management Review, 3: 1-13.

Received: February 13, 2014; Accepted: December 30, 2014

المراجع

1. **الصالحي، معن عبد العزيز.** 2006. تقويم فعالية بعض المسببات الممرضة ومنظمات النمو الحشرية في مكافحه حشرة الأرضة *Microcerotermes diversus* (Silvester) (Isoptera :Termitide). أطروحة دكتوراه. كليه الزراعة، جامعه بغداد، العراق.
2. **العلوي، سعدي عبد المحسن.** 1987. دراسات تصنيفية وبيئية للأرضة (Insecta: Isoptera) في العراق. أطروحة دكتوراه. كليه الزراعة، جامعه بغداد، العراق، 242 صفحة.
3. **Abbott, W.S.** 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.
4. **Ab, T., D.E. Bignell and M. Higsh.** 2000. Termites: Evolution, Symbiosis, Ecology. Kluwer Academic, Dordrecht/Nowell. Pages 77-93.
5. **Ahmed, S., M.R. Ashraf and M.A. Hussain.** 2008. Pathogenicity of a local strain of *Metarhizium* against *Coptotermes heimi* (Was.) (Isoptera: Rhinotermitidae) in the laboratory. Pakistan Entomology, 30: 43-49.
6. *Dong, C., J. Zhang, H. Huang, W. Chen and Y. Hu.* 2009. Pathogenicity of a new chine variety of *Metarhizium anisopliae* (*M. anisopliae* var. *dcjhyium*) to subterranean termite *Odonotermes formosanus*. Microbiological Research, 164: 27-35.
7. **Habibpour, B.** 2010. Laboratory evaluation of Flurox, a chitin synthesis inhibitor, on termites, *Microcerotermes diversus*. Journal of Insect Science, 10: 1-8.
8. **Hänel, H. and J.A. Watson.** 1983. Preliminary field tests on the use of *Metarhizium anisopliae* for control *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termitidae). Bulletin of Entomological Research, 73: 305-313.
9. **Hedgecoc, S., D. Moore, P.M. Higgins and C. Prior.** 1995. Influence of moisture content on temperature tolerance and storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in an oil formulation. Biocontrol Science and Technology, 5: 371-377.
10. **Hoe, P., J. Bong, K. Jugah and A. Rajan.** 2009. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomcete) isolates and their effect on subterranean termite *Coptotermes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae). American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 4: 289-297.

تاريخ الاستلام: 2014/2/13؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2014/12/30