

الشراسة الإمراضية لعزلتين محليتين من الفطر *Beauveria bassiana* (Balsmo)
على طوري يرقات ما قبل التعذر وبالغات ذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae* (Rossi)

أماني فيصل الحبيب¹، دمر هاشم نمور¹ وعلي ياسين علي²

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة البعث، حمص، سورية، البريد الإلكتروني: amaniyahabeeb@gmail.com؛ doummar59@hotmail.com
(2) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز البحوث العلمية الزراعية في طرطوس، طرطوس، سورية، البريد الإلكتروني: alialigermany80@gmail.com

الملخص

الحبيب، أماني فيصل، دمر هاشم نمور وعلي ياسين علي. 2018. الشراسة الإمراضية لعزلتين محليتين من الفطر *Beauveria bassiana* (Balsmo) على طوري يرقات ما قبل التعذر وبالغات ذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae* (Rossi). مجلة وقاية النبات العربية، 36(1): 7-1.

أجريت الاختبارات الحيوية لدراسة الشراسة الإمراضية لعزلتين محليتين (I و H) من الفطر الممرض للحشرات *Beauveria bassiana* (Balsmo) على طوري يرقات ما قبل التعذر وبالغات حديثة الانبثاق لذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) تحت الظروف المخبرية عند حرارة 25 ± 2 °س ورطوبة نسبية 60±5% وذلك بطريقة العدوى غير المباشرة بأبواغ الفطر بثلاثة تركيزات 10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغة/مل. لم يظهر تأثير العزلات المختبرة في اليرقات المعاملة وإنما ظهرت على العذارى الناتجة عنها، حيث بلغت نسب الموت المصححة للعدوى باليوم 20 من المعاملة ما بين 47.01 و 52.94% لدى العزلتين H و I، على التوالي، وذلك عند التركيز 10^8 بوغة/مل. كما أظهرت البالغات الحديثة الانبثاق لذبابة ثمار الزيتون حساسية تجاه العزلات المختبرة، فقد سجلت نسبة الموت المصححة 66.66 و 69.44% عند التركيز 10^8 بوغة/مل، وبلغت 47.22 و 52.77% عند التركيز 10^7 بوغة/مل و 30.5-33.33% عند التركيز 10^6 بوغة/مل للعزلتين I و H، على التوالي باليوم الثاني عشر وبفروق معنوية مع الشاهد. سجل الزمن القاتل النصفى LT_{50} للعزلة H عند التركيز 10^8 بوغة/مل حيث بلغ 17.71 يوماً لطور يرقات ما قبل التعذر و 10.8 يوم عند الحشرات المنبثقة حديثاً. أما بالنسبة للعزلة I فقد بلغت هذه القيمة 18.10 يوماً في طور يرقات ما قبل التعذر و 11.1 يوم عند البالغات المنبثقة حديثاً. أما التركيز القاتل النصفى LC_{50} فقد بلغ في اليوم الثاني عشر من المعاملة عند العزلة H 10×1.91 بوغة/مل في طور يرقات ما قبل التعذر، و 10×2.1 بوغة/مل عند الحشرات المنبثقة حديثاً. بينما كانت هذه القيمة عند العزلة I 10×2.31 بوغة/مل لطور يرقات ما قبل التعذر و 10×1.7 بوغة/مل لطور الحشرات المنبثقة حديثاً.

الكلمات المفتاحية: *Beauveria bassiana*، *Bactrocera oleae*، الشراسة الإمراضية، عزلات محلية، LC_{50} ، LT_{50} .

المقدمة

الكيميائية في مكافحة ذبابة ثمار الزيتون بشكل عشوائي وعلى مدى طويل من الزمن مما أدى لتشكيل سلالات مقاومة للمبيدات وأضرار كبيرة للبيئة والصحة (21). لذلك تم الاتجاه لاستخدام المصائد الفرمونية والغذائية والطعوم الغذائية وتطبيق مكافحة الحيوية والتي من أهم عناصرها الفطور الممرضة والتي تشكل بديلاً آمناً صديقاً للبيئة، ويمكن استخدامها على الآفات التي كونت سلالات مقاومة للمبيدات الكيميائية التقليدية، كما أن مجالها العوائل واسع ولسلاستها القدرة على اختراق كيوبيكل الحشرة بألية انزيمية تتوافق مع العائل (10). فقد أثبتت العديد من الدراسات كفاءة الفطر الممرض *Beauveria bassiana* (Balsmo) (Hypocreales: Clavicipitaceae) على الأنواع الحشرية التابعة لرتب حشرية مختلفة ولاسيما التابعة لرتبة ثنائية الأجنحة Diptera مثل ذبابة فاكهة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* (7) وذبابة ثمار الزيتون (2، 17) كما أوصت الدراسات الحديثة بإدخال

تعتبر ذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) من أهم وأخطر الحشرات الاقتصادية على شجرة الزيتون في سورية ومعظم مناطق زراعة الزيتون في العالم (11). لوحظ في سورية أن أغلب المواسم تصاب بذبابة ثمار الزيتون وتعتبر الآفة الأولى من حيث الأضرار على محصول الزيتون في معظم مناطق زراعته وتصل نسبة الإصابة إلى 100% وبخاصة عند إهمال مكافحتها (1). ينتج الضرر عن تغذية اليرقات على ثمار الزيتون مما يسبب سقوط الثمار المصابة قبل النضج وانخفاض نسبة الزيت فيها وعدم صلاحية الثمار المتبقية للتخليل (14). استخدمت المبيدات

جدول 1. مصدر العزلات المختبرة من الفطر الممرض للحشرات *B. bassiana*

Table 1. Source of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* tested isolates.

العائل Host	مصدر العزلة Isolate source	رمز العزلة Isolate code
ذبابة ثمار الزيتون <i>Bactrocera oleae</i>	كلية الزراعة، حمص Faculty of Agriculture, Homs	H
السونة <i>Eurygaster integriceps</i>	إيكاردا ICARDA	I

تحضير المعلق البوغي واختبار حيوية الأبواغ

زرعت عزلات الفطور الممرضة في أطباق بتري على وسط Malt Extract Agar وبعد 15-20 يوماً من التحضين عند حرارة 25°س تم حصاد الأبواغ وقدر تركيز المعلق البوغي باستخدام شريحة عد الأبواغ Neubauer improved وتم الحصول على التركيزات المطلوبة باستخدام عملية الطرد المركزي بهدف تجميع الأبواغ في أسفل أنبوب الاختبار لزيادة التركيز.

تم اختبار حيوية الأبواغ لتحديد نسبة الأبواغ الحية بطريقة معتمدة سابقاً (8). حيث وضعت ورقة ترشيح ضمن طبق بتري وتم ترطيب الورقة بالماء المعقم ووضعت فوقها شريحتين زجاجيتين بشكل متصالب، ووضع على الشريحة العليا لسان من البيئة الغذائية آغار- آغار. أضيف فوق لسان الآغار 4 نقاط من المعلق البوغي بتركيز 10⁵ بوغة/مل ووضع الطبق عند حرارة 25°س وفي الظلام. تم عد الأبواغ المنتشة بعد 24 ساعة من الزراعة.

اختبارات الشراسة الإمراضية على طور يرقات ما قبل التعذر

استخدمت أوعية بلاستيكية (بقطر 5 سم وارتفاع 15 سم)، وضعت فيها 20 غ تربة معقمة، وتم رش سطح التربة بـ 1 مل من المعلق البوغي وعومل الشاهد بالماء المقطر، ثم أضيفت يرقات بعمر ما قبل التعذر (8 يرقات في كل وعاء) إلى التربة المعاملة. وضعت الأوعية في الحاضنة عند درجة حرارة 25±2°س ورطوبة 60±5% وإضاءة 12:12 ساعة (ظلام: ضوء). تم تسجيل عدد اليرقات الميتة والمتعدرة، ونسبة انبثاق الحشرات من العذارى بعد 20 يوماً من المعاملة، وطول فترة حياة الحشرات المنبثقة. تم اختبار ثلاث تركيزات 10⁶، 10⁷ و 10⁸ بوغة/مل لكل عزلة وخمسة مكررات لكل تركيز.

اختبارات الشراسة الإمراضية على البالغات المنبثقة حديثاً

وضعت عذارى ذبابة ثمار الزيتون في تربة معقمة (20 غ/وعاء) على عمق 0.5-1 سم من سطح التربة في أوعية بلاستيكية (بقطر 5 سم وارتفاع 15 سم) قبل عملية انبثاق الحشرة الكاملة بـ 2-3 أيام، ثم رش

الفطور الممرضة في برامج المكافحة المتكاملة لذبابة ثمار الزيتون حيث أثبتت فعالية في زيادة نسب الموت للأطوار المختلفة (25). كما أثبتت الأبحاث المنفذة كفاءة بعض العزلات المحلية مثل العزلة SPT273 و H على يرقات وبالغات ذبابة ثمار الزيتون، حيث خفضت من نسبة انبثاق البالغات وأعطت نسب موت عالية (2، 3)، وبالتالي معرفة مدى كفاءة هذه العزلات بعد معاملة التربة بهذا الفطر من عدمها، في ظروف العدوى غير المباشرة للطورين المدروسين.

هدفت الدراسة الحالية إلى اختبار شراسة العزلات المحلية من الفطر *B. bassiana* على طوري يرقات ما قبل التعذر والحشرات المنبثقة حديثاً لذبابة ثمار الزيتون بطريقة الإعداء غير المباشر بأبواغ الفطر في ظروف المختبر. ويأتي هذا البحث مكملاً لدراسات سابقة بعد أن أثبتت هذه العزلات المحلية شراستها الإمراضية العالية على أطوار الحشرة في ظروف الإعداء المباشر في المختبر والتي يمكن أن يكون لها دور فعال في نظام الإدارة المتكاملة للحشرة المستهدفة.

مواد البحث وطرائقه

تم جمع يرقات وعذارى ذبابة ثمار الزيتون من تشريح ثمار مصابة جمعت من أشجار الزيتون عامي 2015 و 2016. تم تربية يرقات ذبابة ثمار الزيتون على بيئتين غذائيتين هما الزيتون الطازج الأخضر كعائل طبيعي، واستخدمت البيئة الغذائية البديلة (Tistsipis & kontonos) عند عدم توفر ثمار الزيتون (13)، وذلك بوضع 15 غ من البيئة الغذائية بطبق بتري قطر 6 سم، وبجانبه رمل كوسط للتعذر وجمع العذارى. وضعت العذارى التي جمعت في الحاضنة عند حرارة 25±2°س ورطوبة 60±5% وإضاءة 12:12 ساعة (ظلمة: ضوء) ضمن غرفة تربية لحين خروج الحشرات الكاملة، وكانت غرفة التربية متصلة بحجرة تغذية بواسطة قناة على شكل اسطوانة من قماش الموسلين، وحجرة التغذية مزودة ببيئة غذائية من هيدروليزات البروتين ومحلول سكري (1 سكر: 3 ماء) وحببات من الزيتون الأخضر الطازج تبدل كل 48 ساعة بهدف مراقبة وضع البيض.

عزلات الفطر الممرض

تم استخدام عزلات محلية من الفطر *B. bassiana* (جدول 1)، واستعملت ثلاث تركيزات 10⁶، 10⁷ و 10⁸ بوغة/مل لكل عزلة وبمعدل خمس مكررات لكل تركيز.

سطح التربة بالمعلق البوغي بمعدل 1 مل وعومل الشاهد بالماء المقطر. وضعت الأوعية في الحاضنة عند 25 ± 2 °س ورطوبة $60 \pm 5\%$ وإضاءة 12:12 ساعة (ظلام:ضوء). تم اختبار العزلات الفطرية بواقع ثلاثة تركيزات أيضاً (10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغوة/مل) وخمسة مكررات لكل تركيز وبواقع 8 عذارى لكل مكرر. تم مراقبة وتسجيل عدد الحشرات المنبثقة، وطول فترة حياتها وتم أخذ القراءات بعد 3، 6، 9 و 12 يوماً من المعاملة.

تم التطهير السطحي للحشرات الميتة بترطيب الحشرات بالكحول 70% (3-5 ثواني)، ثم غسلت بالماء المقطر لعدة ثواني أيضاً، ووضعت لمدة دقيقة بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيز 5% وغسلت الحشرات بعدها ثلاث مرات بماء مقطر ومعقم (16)، نقلت الحشرات المطهرة بعدها لأطباق بتري تحوي ورق ترشيع معقم، وأغلقت الأطباق وحضنت عند 25°س لمدة 15 يوماً حتى ظهرت النموات الفطرية.

تحليل البيانات

تم استخدام برنامج SPSS (Version 17) (23) لحساب الزمن القاتل النسفي للتركيزات المختلفة، ولحساب الفروق المعنوية واختبارها بين نسب الموت للعزلات المدروسة عند مستوى احتمال 0.05 باستخدام اختبار أقل فرق معنوي في التجربة المخبرية.

وحسبت نسبة الموت ونسبة الموت المصححة والكفاءة النسبية

بتطبيق المعادلات التالية (4، 5):

$$\text{النسبة المئوية للموت} = \frac{\text{عدد الحشرات الميتة}}{\text{عدد الحشرات الكلية}} \times 100$$

$$\text{نسبة الموت المصححة} = \frac{\text{النسبة المئوية للموت بالمعاملة - النسبة المئوية للموت بالشاهد}}{100 - \text{النسبة المئوية للموت في الشاهد}} \times 100$$

$$\text{الكفاءة النسبية للعزلات} = 100 \times \frac{LC_{50} \text{ للعزلة الأقل كفاءة}}{LC_{50} \text{ للعزلة الأخرى}}$$

النتائج

دراسة حيوية العزلات المختبرة

أظهرت عزلات الفطر *B. bassiana* المستخدمة في التجربة نسب إنبات مرتفعة بعد 24 ساعة من تحضير المعلق البوغي. كما بينت نتائج التحليل الإحصائي لنسب الإنبات عدم وجود فروق معنوية بين العزلة H والعزلة I حيث سجلت العزلة H نسبة إنبات $2.52 \pm 88.66\%$ ، بينما حققت العزلة I نسبة إنبات $2.08 \pm 91.66\%$ ، وبلغت قيمة أقل فرق معنوي 4.041.

اختبارات الشراسة الإمراضية على طور يرقات ما قبل التعذر

تماثلت العزلات H و I في طريقة تأثيرها في اليرقات (قبل التعذر) فلم يظهر تأثير الفطر الممرض *B. bassiana* في هذا الطور بشكل مباشر حيث اتجهت كل اليرقات للتعذر ولم تسجل أي فروق معنوية مع الشاهد. وقد سجل تأثير لاحق للفطر على العذارى الناتجة عن اليرقات المعاملة وذلك بموت العذارى وعدم انبثاق البالغات بعد 20 يوماً من المعاملة بنسب مختلفة حسب العزلة والتركيز.

توقفت العزلة H في تأثيرها على طور اليرقة ما قبل التعذر لذبابة ثمار الزيتون بالمقارنة مع العزلة I في كافة التركيزات المختبرة (10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغوة/مل) في اليوم 20 من المعاملة. فقد أعطت نسبة موت مصححة على العذارى وصلت إلى 11.76% عند التركيز 10^6 بوغوة/مل وارتفعت لتصل إلى 38.24% عند التركيز 10^7 بوغوة/مل وبلغت 52.94% عند التركيز 10^8 بوغوة/مل (جدول 2).

بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بنسب الموت للعذارى باليوم 20 من المعاملة بين العزلات المختبرة عند التراكيز 10^7 - 10^8 بوغوة/مل بينما سجلت فروق معنوية مع الشاهد. سجل وجود فرق معنوي بين العزلتين المختبرتين عند التركيز 10^6 بوغوة/مل. امتد تأثير الفطر إلى البالغات المنبثقة عن العذارى التي لم تمت فتراوحت نسب التبوغ للحشرات البالغة الميتة في حدود 46-81% عند كافة العزلات وبكافة التركيزات ولم يحدث تبوغ للحشرات الميتة في الشاهد (جدول 2).

اختبارات الشراسة الإمراضية على البالغات المنبثقة حديثاً

توقفت العزلة H على العزلة I في إحداث الموت لبالغات ذبابة ثمار الزيتون عند التركيزين 10^7 و 10^8 بوغوة/مل اعتباراً من اليوم الثالث للمعاملة حيث أعطت نسبة موت مصححة عند التركيز 10^8 بوغوة/مل وصلت إلى 18.9% بينما كانت 13.5% عند العزلة I، في حين كانت نسبة الموت عند التركيز 10^7 بوغوة/مل أقل بالمقارنة مع التركيز 10^8 بوغوة/مل مع تفوق العزلة H أيضاً والتي حققت نسبة موت 10.8% أما العزلة I فقد أدت لموت 2.7% من الذباب. بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين العزلتين والشاهد عند استخدام التركيز 10^6 بوغوة/مل (جدول 3). في اليوم السادس من المعاملة توقفت العزلة H على العزلة I في إحداث الموت عند استخدام التركيزين 10^7 و 10^8 بوغوة/مل، فقد بلغت عند التركيز 10^8 بوغوة/مل 29.73% للعزلة I في حين كانت عند العزلة H 32.43% وانخفضت لتصل إلى 27.3 و 18.9% عند العزلتين I و H، على التوالي، عند استخدام التركيز 10^7 بوغوة/مل. أما عند استخدام التركيز 10^6 بوغوة/مل بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين العزلتين والشاهد.

جدول 2. متوسط نسب الموت التراكمي ونسب الموت المصححة لطور يرقات ما قبل التعذر لذبابة ثمار الزيتون بعد المعاملة بالعزلات المحلية من الفطر الممرض *B. bassiana* عند التركيزات 10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغوة/مل.

Table 2. Average of acumulative and corrected mortality of pre pupae of *B. oleae* after treatment with *B. bassiana* at the concentrations 10^6 , 10^7 and 10^8 conida/ml.

نسبة الحشرات المتبوعة % Infected insects rate (%)	متوسط فترة حياة البالغات (يوم) ± الخطأ القياسي Average adults longevity (days)	نسب الموت المصححة للعذارى باليوم 20 من المعاملة Corrected mortality rate 20 days post treatment ±SE (%)	نسب انبثاق الحشرات Insects emergence rate (%)	نسب الموت التراكمي للعذارى بعد 20 يوم من المعاملة ± الخطأ القياسي Acumulative mortality rate at day 20 post treatment ±SE	العزلة Isolate	التركيز (بوغوة/مل) Concentration (Conidia/ml)
0	6.2±18	-	85.0	3.8±15.0 a	الشاهد Control	
11.8±81	4.3±15	52.94	39.0	11.1±60.0 b	H	10^8
13.6±78	6.2±11	47.01	45.0	9.9±55.0 b	I	
15.0±69	7.1±12	38.24	52.5	9.1±47.5 c	H	10^7
12.3±71	2.3±11	29.41	60.0	7.8±40.0 c	I	
9.1±52	5.7±17	11.76	75.0	4.3±25.0 d	H	10^6
7.6±46	5.8±18	5.90	80.0	6.1±20.0 a	I	
9.655					LSD	

أقل فرق معنوي LSD الأحرف المتبوعة بأحرف متشابهة في العمود الواحد لا تختلف معنوياً عند احتمال 5%.

Means followed by the same letter in the same column are not significantly different at P=0.05.

جدول 3. متوسط نسب الموت التراكمي ونسب الموت المصححة للبالغات الحديثة الانبثاق لذبابة ثمار الزيتون بعد المعاملة بالعزلات المحلية من الفطر الممرض *B. bassiana* عند التركيزات 10^6 و 10^7 و 10^8 بوغوة/مل.

Table 3. Average acumulative and corrected mortality rates of *B. oleae* adults after treatment with *B. bassiana* at concentrations of 10^6 , 10^7 and 10^8 conida/ml.

النسبة المنوية للحشرات المتبوعة % Infected insects rate %	الزمن بعد المعاملة باليوم Time after treatment (day)								العزلة Isolate	التركيز (بوغوة/مل) Concentration (Conidia/ml)
	نسب الموت المصححة % % Corrected mortality rate ±SE				متوسط نسب الموت التراكمي ± الخطأ القياسي Acumulative mortality rate % ±SE					
	12	9	6	3	12	9	6	3		
-	-	-	-	-	2.2±10.0 a	1.3±7.5	1.3±7.5	1.3±7.5	الشاهد Control	
24.6±94	69.44	35.14	32.43	18.9	14.4±72.5 b	10.3±40.0	5.8±37.5	3.3±25	H	10^8
26.6±95	66.66	32.43	29.73	13.5	15.4±70.0 b	11.2±37.4	6.2±35.0	2.8±20	I	
22.0±88	52.77	40.54	27.30	10.8	12.5±57.5 c	8.9±45.0	5.9±32.5	2±17.5	H	10^7
31.4±89	47.22	37.48	18.90	2.7	11.7±52.5 c	8.4±42.5	5.5±25.0	1.3±10	I	
26.7±81	33.33	13.50	13.50	0	9.9±40.0 d	4.7±20.0	4.7±20.0	1.4±7.5	H	10^6
22.5±77	30.50	18.92	13.50	0	7.5±37.5 d	4.7±25.0	4.5±20.0	1.4±7.5	I	
5.669								LSD		

أقل فرق معنوي LSD القيم المتبوعة بأحرف متشابهة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية عند احتمال 5%.

Means followed by the same letters in the same column are not significantly different at P=0.05.

ازدادت نسبة موت البالغات في اليوم الثاني عشر من المعاملة بـ 69.44% والعزلة I 66.44% عند استخدام التركيز 10^8 بوغوة/مل، وانخفضت لتصل إلى 52.77% عند استخدام التركيز 10^7 بوغوة/مل للعزلة H و 47.22% للعزلة I. وعند استخدام التركيز 10^6 بوغوة/مل،

ازدادت نسبة موت البالغات في اليوم الثاني عشر من المعاملة بـ 69.44% والعزلة I 66.44% عند استخدام التركيز 10^8 بوغوة/مل، وانخفضت لتصل إلى 52.77% عند استخدام التركيز 10^7 بوغوة/مل، مع تفوق العزلة H على العزلة I، فكانت نسبة الموت المصححة للعزلة H

انخفضت نسبة الموت المصححة لتصل إلى 30.5-33.3% عند استخدام العزلتين I و H، على التوالي.

بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بنسب الموت التراكمية بين العزلتين المختبرية عند كل التركيزات، وسجل وجود فروق معنوية بين العزلتين المختبرية و الشاهد في اليوم الثاني عشر من المعاملة عند استخدام كل التركيزات وتراوحت نسب التبوغ للحشرات الميتة عند كلتا العزلتين في حدود 77-94% ولم يحدث تبوغ عند حشرات الشاهد (جدول 3).

الزمن القاتل النصفي والتركيز القاتل النصفي للعزلتين المختبرية من الفطر *B. bassiana* على ذبابة ثمار الزيتون

أظهرت النتائج بالإعتماد على قيم تحليل البروبيت أن الزمن القاتل النصفي (LT_{50}) للعزلة H عند التركيز 10^8 بوغة/مل بلغ 17.71 يوماً في طور يرقات ما قبل التعذر وهي فترة طويلة نسبياً، و 10.8 يوماً عند الحشرات المنبثقة حديثاً. وبلغت هذه القيمة للعزلة I 18.10 يوماً في طور يرقات ما قبل التعذر و 11.1 يوماً عند الحشرات المنبثقة حديثاً. بلغ التركيز القاتل النصفي (LC_{50}) في اليوم الثاني عشر من المعاملة عند استخدام العزلة H 10×1.91 بوغة/مل في طور يرقات ما قبل التعذر، و 10×2.1 بوغة/مل للحشرات المنبثقة حديثاً. وعند استخدام العزلة I، بلغ التركيز القاتل النصفي لطور يرقات ما قبل التعذر 10×2.31 بوغة/مل و 10×1.7 بوغة/مل لطور الحشرات المنبثقة حديثاً. وعند حساب الكفاءة النسبية للعزلتين المختبرية، وجد أن العزلة H كانت الأكثر كفاءة من العزلة I، حيث تفوقت العزلة H بمقدار 1.2 مرة عن العزلة I في مكافحة كلا الطورين المختبريين.

المناقشة

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن كفاءة عزلتي الفطر *B. bassiana* كانتا عالية نسبياً في مكافحة الطورين المدروسين لذبابة ثمار الزيتون بعد معاملتها بأبواغ الفطر بطريقة الإعداء غير المباشر، وازدادت هذه القدرة مع ازدياد التركيز المستخدم للعزلتين وهذا يتطابق مع الكثير من الدراسات السابقة التي بينت أن بالغات ذباب الفاكهة من فصيلة Tephritidae حساسة للفطور الممرضة (3، 6). فكلما ازداد تركيز العزلتين المطبق على الحشرة ازدادت نسبة الموت في بالغات ذبابة ثمار الزيتون (2، 3) وذلك نتيجة لزيادة عدد الأبواغ في وحدة المساحة على جسم الحشرة (15).

لم تسجل أي نسب موت ليرقات ذبابة ثمار الزيتون عند مرورها على التربة المعاملة بالمعلق البوغي، ويمكن أن يعزى ذلك كون

اليرقات في مرحلة ما قبل التعذر تكون قليلة الحركة (19)، وبالتالي يمكن أن تكون فرصة عدوى اليرقات بالفطر الممرض ضئيلة لقلة فترة احتكاك جسم اليرقات مع التربة المعاملة. كما أنه من الصعب ملاحظة إصابة هذا الطور بالعدوى وموتها بسبب قصر مدة تحول اليرقة إلى عذراء، حيث بينت دراسة سابقة بأن الفطور الممرضة للحشرات تحتاج فترة زمنية تتراوح ما بين 3 و 12 يوماً كي تتم العدوى وبالتالي الموت (18). وقد أكدت العديد من الدراسات السابقة بأن يرقات ذباب الفاكهة أقل حساسية للفطور الممرضة حيث بلغت نسبة الموت ليرقات ذبابة الفاكهة *Ceratitis capitata* 2.8% و 0% للعذارى عند معاملتها بالفطر *B. bassiana* (12)، كما بين Ali (8) بعد إجراء اختبارات الصبغات الفلورسنتية على يرقات ذبابة الفاكهة *C. capitata* المعاملة بأبواغ الفطور الممرضة للحشرات بأن نسبة التصاق الأبواغ بجدار جسم اليرقة كان ضعيفاً نسبياً بسبب تركيب جدار الجسم الغني بمادة السكليروتين التي تعيق عملية الالتصاق، بالإضافة إلى ذلك فإن التجارب المنفذة من قبل الباحث نفسه بينت أن نسبة فقد الأبواغ تكون عالية أثناء عملية التعذر حيث يتم فقد الأبواغ باحتكاكها مع التربة أثناء توجه اليرقات للتعذر داخل التربة.

كانت نسبة انبثاق الذباب من العذارى الناتجة عن اليرقات المعاملة بعزلتي الفطر *B. bassiana* منخفضة بالمقارنة مع الشاهد، ويمكن أن يعزى ذلك لإصابة اليرقات بالفطر الممرض وتطوره داخل العذراء خلال مرحلة التعذر واستنفاده للمواد المغذية الموجودة في السائل اللغواوي بالإضافة للأجسام الدهنية مما أدى لموت العائل (10).

بلغت نسبة الموت التراكمي للعذارى عند معاملة التربة كعائل ليرقات ما قبل التعذر 55-60% للعزلتين H و I، على التوالي، بينما بلغت عند ذبابة الفاكهة 82.3% عند المعاملة بفطر *brunneum* *Metahurizum* عند التركيز 10^8 بوغة/مل (25)، أما البالغات المنبثقة من اليرقات المعاملة فكانت ضعيفة الحركة وأجنحتها مجعدة وغير قادرة على الطيران كما أنها لم تتسافد ولم تضع بيضاً بالمقارنة مع الشاهد، ويمكن أن يعزى ذلك لاستهلاك الفطر لجزء من المدخرات الغذائية للحشرة في طور العذراء أو قام بغزو خلاياها في المراحل العمرية السابقة وبالتالي عدم نضج المبايض وأجهزة الجسم الأخرى الضرورية للحشرة لكي تكمل دورة حياتها (8). كما وجد أن موت يرقات ذبابة الفاكهة *C. capitata* يحدث في مرحلة التعذر وليس بطور اليرقة لقصر فترة التحول إلى العذارى (8).

تراوح الزمن الذي احتاجته العزلتين المحلية من الفطر الممرض *B. bassiana* لقتل بالغات ذبابة ثمار الزيتون *B. oleae* الناتجة عن معاملة العذارى بطريقة غير مباشرة بأبواغ الفطر 3-12 يوماً عند

التجربة الحالية، حيث أن لنسبة الإنبات دور هام في اختلاف نسب الموت بين العزلات حيث تعتبر الأبواغ المنتشرة هي الأبواغ الفعالة في المكافحة، فعند انبثاق الحشرات الكاملة من التربة تكون الحشرات بطيئة الحركة وغير قادرة على الطيران فتلتصق أبواغ الفطر على أجزاء جسمها وتعمل على اختراقه بالضغط الميكانيكي وإفراز الإنزيمات المختلفة (9، 24).

كما تؤكد الدراسات المرجعية أن العزلات الفطرية المعزولة من العائل ذاته تكون أكثر شراسة من العزلات الأخرى (24)، وبما أن الكيوتيكل يختلف من نوع حشري لآخر فان إفراز الإنزيم المناسب لكل نوع مرتبط بوجود المورث الخاص بذلك، فسلالات الفطر المعزولة من العائل ذاته لها قدرة إمراضية أعلى على ذلك العائل من العزلات المتحصل عليها من عوائل مختلفة وهذا ما يفسر ارتفاع شراسة العزلة H كونها معزولة من ذبابة ثمار الزيتون عند التركيز المنخفض 10^6 بوغة/مل بالمقارنة مع العزلة I، وهذا يتوافق مع نكوه تربي (4) عندما أجرى اختباره على حشرة السونة حيث ذكر أن سلالات الفطر المعزولة من العائل ذاته لها قدرة أمراضية أعلى على ذلك العائل من العزلات المتحصل عليها من عوائل أخرى.

كان للعزلات المحلية المختبرة من الفطر *B. bassiana* قدرة إمراضية جيدة وأسهمت في خفض الكثافة العددية للحشرات المنبثقة وذلك بعد معاملة يرقة العائل في طور يرقات ما قبل التعذر والبالغات المنبثقة حديثاً من ذبابة ثمار الزيتون، لذلك يجب التأكيد على تنمية هذه العزلات وإكثارها وإقامة بحوث مستقبلية تهدف لدراسة مدى كفاءة هذه العزلات حقلياً.

استخدام التركيزات المختلفة من العزلات وهو ما ذكره Mahmoud (17) بأن الزمن اللازم للفطور الممرضة لقتل الحشرة يختلف حسب عدة عوامل منها طور الحشرة والرطوبة والفطر الممرض ذاته حيث تحتاج أغلب الفطور الممرضة فترة 3-12 يوماً من العدوى كي تتمكن من قتل الحشرة.

كما يمكن أن يعزى موت بالغات ذبابة ثمار الزيتون المنبثقة حديثاً إلى السموم الفطرية التي تفرزها الفطور الممرضة حيث أثبتت الأبحاث أن أنواع الفطر *B. bassiana* تنتج الكثير من المركبات السامة للحشرات والتي تتميز بأنها ذات وزن جزيئي منخفض ونواتج ثانوية للاستقلاب ومن هذه السموم Beauvericin، Bassianin، Beauverolides، Bassianolide و Tenellin (20)، وهذا يفسر عدم تبوغ كل الحشرات الميتة، حيث من الممكن أن تكون الحشرات قد ماتت بسبب السموم الفطرية وليس بسبب نمو الفطر وانتشاره ضمن العائل.

والسبب الآخر لموت البالغات المنبثقة حديثاً الناتجة عن معاملة العذارى هو دخول الفطر الممرض لداخل الحشرة المضيفة عبر القشيرة/الكيوتيكل حيث تستطيع الممرضات إنتاج إنزيمات محللة للكيوتيكل تتوافق مع البوليمرات المتعددة في الكيوتيكل وبالتحديد مع البروتينات والسكريات والليبيدات والدهون وهو الأمر الذي قد يفسر القدرة العالية للعزلة H على إحداثها للعدوى كونها مأخوذة بالأساس من ذبابة ثمار الزيتون ولديها القدرة على التأقلم معها (22).

كان هناك تقارب بنسب الموت المصححة بين العزلات المختبرة بكلتا التجريبتين عند استخدام التركيزات العالية ويمكن أن تعزى هذه النتائج إلى التقارب في نسب الإنبات بين كلتا العزلتين كما بينت نتائج

Abstract

El-Habib, A.F., D.H. Nammour and A.Y. Ali. 2018. Virulence of two Local Isolates of the Fungus *Beauveria bassiana* (Balsmo) to the Pre-Pupae and Adults of the Olive Fruit Fly *Bactrocera oleae* (Rossi). Arab Journal of Plant Protection, 36(1): 1-7.

Biological tests were carried out to study the virulence of two local isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on pre-pupae and newly-emerged adults of the olive fruitfly *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae), under laboratory conditions ($25\pm 2^\circ\text{C}$ and relative humidity $60\pm 5\%$) by indirect application of the fungal conidia, at three concentration levels 10^6 , 10^7 and 10^8 conidia/ml. The effect of the tested isolates did not appear on the treated larvae, but was observed on the pupae. The corrected mortality rate of the pupae, 20 days post treatment, ranged between 52.94 and 47.01% for the isolates H and I (at the concentration 10^8 conidia/ml), respectively. Adults of *B. oleae* were sensitive to the tested isolates of *B. bassiana* and the corrected mortality rates reached 66.66 and 69.44% for the isolates H and I, at 10^8 conidia/ml, respectively, whereas these values 12 days after treatment were 52.77 and 47.22% at the concentration 10^7 conidia/ml and 33.33 and 30.5% at the concentration 10^6 conidia/ml of the isolates H and I, respectively, with significant differences when compared with the control. The LT_{50} value of the isolate H was 17.71 days at the concentration 10^8 conidia/ml on the pre pupae and 10.8 days on the newly emerged adults. As for the isolate I, the LT_{50} value was 18.10 days for the pre pupae and 11.1 days for the newly emerged adults. The LC_{50} value on the 12th day after treatment for the isolate H was 1.91×10^7 conidia/ml for the pre pupae and 2.1×10^6 conidia/ml for the newly emerged adults. These values were 2.31×10^7 and 1.7×10^7 conidia/ml for the isolate I on the pre pupae and the newly emerged adults, respectively.

Keywords: *Beauveria bassiana*, *Bactrocera oleae*, local isolates, Virulence, LT_{50} , LC_{50} .

Corresponding author: Amani F. El-Habib, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, El-Bath University, Homs, Syria, Email: amanielhabeeb@gmail.com

13. **Hanife, G.** 2008. Modified Agar Based diet for small scale laboratory rearing of olive fruit fly, *Bactrocera oleae*. Florida Entomologist, 9: 651-656.
14. **Hoelmer, K., A. Kirk, R. Wharton and C.H. Pickett.** 2004. Foreign exploration for parasitoids of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*. Pages 12-14. In: Biological Control Program Annual Summary, 2003. D. Woods (ed.). CDFA Health and pest Prevention Services, Sacramento, California, USA.
15. **Kraaijeveld, A.R. and H.C.J. Godfray.** 2008. Selection for resistance to a fungal pathogen in *Drosophila melanogaster*. Heredity, 100: 400-406.
16. **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.
17. **Mahmoud, M.F.** 2009. Pathogenicity of three commercial products of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Lecanicillium lecanii* against adults of olive fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in the laboratory. Plant Protection Sci., 45: 98-102.
18. **Macleod, D.M.** 1963. Entomophthorales infection. Pages 189-231. In: Insect Pathology. Academic Press. New York.
19. **Rice, R.** 2000. Bionomics of the olive fruit fly, *Bactrocera (Dacus) oleae*. University of California Plant Protection Quarterly, 10: 1-5.
20. **Roberts, D.W.** 1981. Toxins of entomopathogenic fungi. Pages 441-464. In: Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. H.D. Burges (ed.). Academic Press. London.
21. **Roessler, Y.** 1989. Insecticidal bait and cover sprays. Pages 329-336. In: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control. A.S. Robinson and G. Hoopfer (eds.). World Crop Pests. Elsevier, Amsterdam.
22. **St. Leger, R.J., L.L. Allee, B. May, R.C. Staples and D.W. Roberts.** 1992. World wide distribution of genetic variation in *Beauveria* spp. Mycological Research, 96: 1007-1015.
23. **SPSS.** 1999. SPSS for windows users guide, release 10. 1st Edn, SPSS inc., Chicago.
24. **Tanada, Y. and H.K. Kaya.** 1993. Insect pathology. Academic Press. New York, 665 pp.
25. **Yousef, M., M.D. Lozano-Tovar, I. Garrido-Jurado and E. Quesad Moraga.** 2013. Biocontrol of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) with *Metarhizium brunneum* and extracts. Journal of Economic Entomology, 106: 1118-1125.
1. **ادريس، أسامة.** 2014. تطوير برنامج الادارة المتكاملة لذبابة ثمار الزيتون في المنطقة الغربية من محافظة حمص والمنطقة الشمالية من محافظة حلب. رسالة دكتوراة، جامعة حلب، سورية. 187 صفحة.
2. **الحبيب، أماني فيصل، دمر هاشم نمور وعلي ياسين علي.** 2017. القدرة الامراضية لعزلات محلية من الفطر *Beauveria bassiana* على يرقات ذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae*. مجلة جامعة البعث، 39: (قيد النشر).
3. **الحبيب، أماني فيصل، دمر هاشم نمور وعلي ياسين علي.** 2017. القدرة الامراضية لعزلات محلية من الفطر *Beauveria bassiana* على بالغات ذبابة ثمار الزيتون *Bactrocera oleae*. المجلة الاردنية في العلوم الزراعية (قيد النشر).
4. **تريسي، عبد الناصر.** 2010. تأثير الجرعات تحت القاتلة من بعض عزلات الفطر *Beauveria bassiana* في نمو وتطور مجتمع آفة السونة وتحديد الصفات الجزيئية لعزلات الممرض. رسالة دكتوراه، جامعة حلب، سورية. 168 صفحة.
5. **زكريا الطويل، محمد و ابراهيم عزيز صقر.** 2001. السموم واختبارتها الحيوية. جامعة تشرين، اللاذقية، سورية. 387 صفحة.
6. **Abbott, W.S.** 1925. A method of computing the effectiveness of insecticides. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.
7. **Ali, A., H. Sermann and C. Büttner.** 2008. Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi. Communications in Agricultural and applied Biological Science 73: 589-596.
8. **Ali, A., H. Sermann and C. Büttner.** 2010. Untersuchungen zur Effektivität entomopathogener Pilze im integrierten Pflanzenschutz am Beispiel der Fruchtfliegen *Ceratitis capitata* und *Rhagoletis cerasi* (Diptera, Tephritidae). Humboldt University zu Berlin, Germany. Division, Phytomedicine, Doctoral thesis.
9. **Boucias, D.G. and J.P. Latge.** 1988. Nonspecific induction of germination of *Conidiobolus obscures* and *Nomura earleyi* with host and non host cuticle extracts. Journal of Invertebrate Pathology, 51: 168-171.
10. **Butt, T.M.** 2002. Use of entomogenous fungi for control of insect pestes. Pages 111-134. In: The Mycota: Agricultural Application. H. Kempku (ed.). Berlin. Springer Verlag, Berlin.
11. **Daane, K.M. and M.W. Johnson.** 2010. Olive fruit fly: managing an ancient pest in modern times. Annual Review of Entomology, 55: 151-169.
12. **De la Rosa, W., F.L. Lopez and P. Liedo.** 2002. *Beauveria bassiana* as a pathogen of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. Journal of Economic Entomology, 95: 36-43.

Received: August 16, 2017; Accepted: January 31, 2018

تاريخ الاستلام: 2017/8/16؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2018/1/31