التقويم المخبري لكفاءة بعض المستنبتات في تخزين النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis bacteriophora*

خالد العسس[1]، أماني جاويش[1]، أسما حيدر[2] وأسماء حسن[2]

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: amanijawish@yahoo.com

(2) مركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.

الملخص

العسس، خالد، أماني جاويش، أسما حيدر وأسماء حسن. 2018. التقويم المخبري لكفاءة بعض الأوساط في تخزين النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis bacteriophora*. مجلة وقاية النبات العربية، 36(2): 141-146.

تم تقويم كفاءة بعض المسنبتات في تخزين عزلة محلية من النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis bacteriophora*، وذلك في مختبر أبحاث النيماتودا بمركز بحوث ودراسات المكافحة الحيوية، كلية الزراعة، جامعة دمشق خلال عامي 2016 و2017. تم عزل وتوصيف النيماتودا *H. bacteriophora* من إحدى عينات التربة التي جمعت من محافظة اللاذقية، وتم إكثار أفرادها على يرقات فراشة الشمع الكبرى *Galleria mellonella*، ثم أضيفت هذه الأفراد إلى عدة مستنبتات تشمل: مطحون الخفان، والتربة، والبيتموس، والتورب، ورمل مزار، والبرليت. كما أضيفت مادة البكتين، والآغار، والسيليكاجيل، وكاربوكسي ميثايل سليولوز (CMC)، إلى الأوساط لاختبار كفاءتها كمواد محسنة لوسط التخزين. وقد اختبر كل وسط من الأوساط المذكورة بمفرده، بالإضافة إلى اختباره مضافًا إليه المواد المحسنة. أخذت نتائج النسب المئوية لبقاء أفراد النيماتودا على قيد الحياة في نهاية كل أسبوع لمدة ثمانية أسابيع. بلغ متوسط نسبة بقاء أفراد النيماتودا في نهاية فترة التخزين 33.67% على وسطي الخفان + رمل المزار، و32.67% على وسط الخفان + الآغار، و32.33% على وسط الخفان + السيليكاجيل، وتعد هذه النسب هي أعلى النسب لبقاء الأفراد على قيد الحياة في هذه الدراسة، وبذلك فإن هذه الأوساط هي أفضل الأوساط المختبرة لتخزين النيماتودا *H. bacteriophora*.

كلمات مفتاحية: النيماتودا الممرضة للحشرات، *Heterorhabditis bacteriophora*، أوساط تخزين.

المقدمة

تعد المكافحة الأحيائية عنصراً أساسياً مهماً في برامج الإدارة المتكاملة للآفات، وتشكل النيماتودا الممرضة للحشرات جزءاً رئيساً من الأعداء الطبيعية للحشرات، حيث تمتلك قدرة كبيرة في مكافحة الآفات الحشرية وقد تفوق أحياناً بعض المبيدات الكيميائية (Kaya *et al.*, 2006؛ Shapiro-Ilan *et al*., 2006). وتعد هذه النيماتودا في الوقت الحالي ثاني أهم مبيد أحيائي مستخدم عالمياً بعد البكتيريا *Bacillus thuringiesis* Shigetane, 1901 (Lewis & Clarke, 2012)، ولذلك كان من الأهمية بمكان التقصي عن هذه الكائنات المفيدة في البيئة المحلية السورية. ويعد جمع العشائر المحلية لهذه النيماتودا من أهم الخطوات نحو تحقيق فاعلية كبيرة لها كعوامل مكافحة أحيائية ضد الآفات الحشرية (Nikdel & Niknam, 2015). وقد أوضح بعض الباحثين أن استخدام عشائر النيماتودا الممرضة للحشرات المتكيفة مع البيئة المحلية في إدارة الحشرات الاقتصادية قد حقق مستوى كفاءة أعلى بكثير في إدارة هذه الحشرات مقارنة مع استخدام العزلات المستوردة منها (Bedding, 1990).

وتواجه تقنيات استخدام النيماتودا الممرضة للحشرات في إدارة الحشرات الاقتصادية على نطاق واسع عدة مصاعب، لعل من أهمها القدرة على تخزينها في شروط مناسبة لاستخدامها كعوامل مكافحة أحيائية، فهي بحاجة لكمية مناسبة من الأوكسيجين، بالإضافة إلى حساسيتها لمجالات متعددة من درجات الحرارة، وحساسيتها لظروف أخرى تجعلها كلها مؤثرة في نوعية وسط التخزين (Grewal, 2000). هذا بالرغم من أن التطور في مجال التربية الكمية للنيماتودا الممرضة للحشرات وشكل المستحضر المخزنة به قد أحرز تقدماً كبيراً في ظل التغيرات العلمية والاقتصادية التي أحدثتها هذه الكائنات (Burnell & Stock, 2000؛ Baliadi *et al*., 2011؛ Gaugler & Kaya, 1990). ونظراً لأن الأبحاث المتخصصة في هذا المجال قد ركزت على ايجاد أوساط مناسبة تحمَل عليها أفراد النيماتودا وتخزن بها، ومن ثم الحصول على مستحضر مناسب للاستخدام، كان

http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-036.2.141146
© 2018 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

لابد من أن تكون طريقة الحفظ المتبعة ذات جودة عالية في الحفاظ على طاقة أفراد النيماتودا بحيث تبقى هذه الأفراد ذات فعالية عالية في إحداث الإصابة، وتتميز بسهولة في النقل والتطبيق. لذلك كان الهدف من هذا البحث هو اختبار كفاءة بعض الأوساط في تخزين عزلة محلية من النيماتودا *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976.

مواد البحث وطرائقه

عزل النيماتودا الممرضة للحشرات وتعريفها

تم الاستقصاء عن وجود النيماتودا الممرضة للحشرات في 40 عينة تربة تم جمعها من محافظة اللاذقية خلال الفترة 2016–2017، وذلك باتباع طريقة طعوم يرقات فراشة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* Linnaeus, 1758 (Bedding & Akhurst, 1975). وبعد 5–7 أيام تم الكشف عن اليرقات حيث وضعت اليرقات المصابة بالنيماتودا في مصائد وايت (White Traps) لاستخلاص الطور المعدي منها (White, 1927).

تم تعريف عشائر النيماتودا الممرضة للحشرات التي تم استخلاصها إلى مستوى الجنس باستخدام مفتاح التصنيف الموصوف من قبل Nguyen و Smart (1996)، كما تم تعريف عزلة واحدة منها إلى مستوى النوع وذلك باتباع طريقة Seinhorst (1959) في تحضير أفراد النيماتودا، ثم أخذت القياسات المورفومترية اللازمة للتصنيف لعشرين فردًا من أفراد الطور المعدي وعشرين فرداً من الذكور، وتم تمييز النوع بحسب Stock وآخرون (2002).

تجهيز أوساط التخزين المختبرة

تم أخذ 7 غ من كل من المواد الآتية: تورب، بيتموس، منخول رمل مزار، منخول تربة، مطحون خفان وبرليت ناعم، كما تم أخذ 0.5 غ من المواد الكيميائية الآتية: كاربوكسي ميثايل سليولوز (CMC) وهي مادة عالية اللزوجة، بكتين وهو عبارة عن ألياف مكونة من سكريات معقدة تتحلل في الماء وتجعله لزجاً، آغار وهو مادة بروتينية هلامية تستخلص من أعشاب بحرية، وسيليكاجيل (ثاني أوكسيد السيليكون) وهو مادة حبيبية شديدة الامتصاص للرطوبة.تم تحضير المعاملات بحيث وُضع كل وسط لوحده منفرداً، ثم وضع كل وسط مع واحدة من المواد الكيميائية المذكورة آنفًا، بحيث كان عدد المعاملات 30 معاملة بالإضافة لمعاملة الشاهد المائي. وزعت المعاملات عشوائياً بمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة في أطباق بتري بقطر 3 سم.

إضافة معلق النيماتودا

تم إضافة 5 مل من المعلق المائي للنيماتودا بتركيز 200 فرد/مل لكل مكرر من مكررات المعاملات المختلفة، ثم تم خلط العينة في كل مكرر لمجانسته، ثم أضيف 0.5 ميكروليتر (93%) Penicilline + 0.5 ميكروليتر (98%) Tetracycline + 0.5 ميكروليتر (97%) Streptomycine للمعاملات المختلفة. بعد ذلك تمت تغطية الأطباق وحفظت في البراد عند حرارة 9 °س.

أخذ القراءات

تم أخذ القراءات أسبوعيًا على مدار فترة التجربة التي استمرت ثمانية أسابيع (أي بإجمالي ثماني قراءات)، وفي كل مرة، تم أخذ حجم ½ مل من كل مكرر في كل قراءة وأضيف إليه3مل ماء لتخفيفه، وتم عدَ الأفراد الحية والأفراد الميتة في كل عينة، ثم حسبت النسبة المئوية للبقاء في كل مكرر في نهاية كل أسبوع، وذلك وفق المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للبقاء} = \frac{\text{عدد الأفراد الحية}}{\text{عدد الأفراد الكلية}} \times 100$$

التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج باستخدام برنامج تحليل البيانات (SPSS 16)، ثم تمت مقارنة المتوسطات باستخدام طريقة أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 0.01، وحددت الفروق المعنوية بين المعاملات المختلفة.

النتائج

تم تعريف ثلاث عزلات نيماتودية تنتمي للجنس *Heterorhabditis*، بناءً على مكان وجود فتحة الإطراح (Excretory pore) بعد الحلقة العصبية للطور الثالث المعدي، ووجود سن واضح في مقدمة رأس الطور اليرقي الثالث المعدي، ووجود كيس السفاد عند الذكر. وتميز لون يرقة دودة الشمع المصابة بالنيماتودا باللون الأحمر الآجري. أوضحت نتائج تعريف إحدى عزلات النيماتودا إلى مستوى النوع بأنها تنتمي للنوع *H. bacteriophora*.

أظهرت النتائج أن أعلى نسبة لأفراد النيماتودا الحية في الأوساط المختبرة في الأسبوع الأول من الاختبار قد ظهرت في وسط الخفان (97%) دون وجود أي فروق معنوية مع الشاهد المائي (97.33%)، في حين أن هذه النسبة انخفضت معنوياً في بقية أوساط التخزين المختبرة. وفي نهاية الأسبوع الثاني وصلت أعلى نسبة لأفراد النيماتودا الحية في أوساط كل من الخفان + الآغار، والخفان + السيليكاجيل، والخفان (94–96.33%).

أما في نهاية الأسبوع الثالث فقد سجلت أعلى نسبة للأفراد الحية في أوساط الخفان + السيليكا جيل، والخفان + الآغار، والخفان (89.67–92%). وفي نهاية الأسبوع الرابع أيضاً بقيت الأوساط الثلاثة (الخفان، والخفان + الآغار، والخفان + السيليكا جيل) في المراتب الثلاثة الأُولى من حيث مقدرتها في الحفاظ على حيوية أفراد النيماتودا المخزنة (جدول 1).

وفي الأسبوع الخامس حافظت أوساط الخفان والخفان + الآغار والخفان+ السيليكاجيل على أعلى نسبة لبقاء النيماتودا حية (68.67-70.67%). وفي الأسبوع السادس، سُجلت أعلى نسبة لبقاء أفراد النيماتودا المخزنة حية في أوساط الخفان، والخفان + الآغار، والخفان + السيليكاجيل (56–59.67%).وفي نهاية الأسبوع السابع، انخفضت نسب بقاء أفراد النيماتودا في جميع الأوساط المختبرة بوجه عام لتصل وسطياً إلى 50% في أفضل الأوساط كفاءة بالتخزين (الخفان، والخفان + الآغار، والخفان + السيليكا جيل). أمافي نهاية الأسبوع الثامن، فقد استمرت نسب بقاء أفراد النيماتودا حية في الانخفاض، وكانت أعلى نسبة بقاء 33.67% في بعض الأوساط (جدول 1).

المناقشة

يعد النوع *H. bacteriophora* شائع في سورية حيث سجل وجوده في أبحاث سابقة بعدد من المناطق المختلفة (جاويش، 2016)، توضح هذه الدراسة إمكانية تخزين أفراد هذا النوع في أوساط تخزين أكثر كفاءة مقارنة بتخزينها في الماء فقط، لأنها عندما تخزن على شكل معلق مائي فإنها تعمد إلى التقليل من استهلاك احتياطي الطاقة لديها بتغيير سلوك حركتها، حيث تبقى ثابتة بدون حركة في الماء، وهذا يؤدي إلى ترسبها في قاع وعاء التخزين، وتكتلها مع بعضها البعض، مما يسبب لها الإجهاد بسبب قلة محتوى الأوكسيجين، وهذا بدوره يؤدي إلى تسارع فقد احتياطي الطاقة لديها ومن ثم موتها (Gaugler *et al*., 2002).

جدول 1. متوسط النسب المئوية (%) لبقاء أفراد النيماتودا حية في أوساط التخزين المختلفة خلال الأسابيع الثمانية.

Table 1. Survival rate (%) means of nematodes in different storage media during eight weeks.

متوسط النسبة المئوية للبقاء% ± الانحراف المعياري Means of nematode survival rate (%) ± standard deviation								
الأسبوع الثامن 8th week	الأسبوع السابع 7th week	الأسبوع السادس 6th week	الأسبوع الخامس 5th week	الأسبوع الرابع 4th week	الأسبوع الثالث 3rd week	الأسبوع الثاني 2nd week	الأسبوع الأول 1st week	Treatment	المعاملة
16.7±1.5ij	30.3±1.5e	33.7±1.5fghi	43.3±1.5def	53.3±fg1.5	63.0±2.0klm	71.3±0.6h	73.3±1.5ij	Peat	تورب
13.7±1.5ijklm	24.0±1.7fg	28.3±1.2jkl	40.3±1.5f	50.3±1.5gh	60.3±1.5mn	67.7±0.6ij	70.3±1.5klm	Peatmoss	بيتموس
13.3±1.5jklm	19.3±2.1hi	23.7±1.5mn	32.7±2.1ghi	46.0±1.7i	52.3±1.5qrs	65.3±0.6j	69.0±1.0mn	Soil	تربة
33.7±1.5a	36.3±2.3cd	44.7±2.5bc	51.3±3.2c	62.3±0.6e	70.3±0.6gh	83.3±1.5fg	86.7±0.6gh	Fine sand	رمل مزار
22.3±2.5efg	32.3±2.5de	40.0±1.7de	54.3±2.1c	75.0±1.0b	82.0±1.0c	90.0±1.0c	92.3±0.6cd	Perlite	برليت
33.7±1.5a	50.0±1.0a	59.7±1.2a	70.7±1.5a	82.7±2.1a	89.7±1.2a	94.0±1.0ab	97.0±1.0a	Pumice powder	مطحون خفان
8.3±1.5op	16.7±0.6ij	23.0±2.0mn	32.3±2.5ghi	41.0±1.0j	56.0±2.0op	65.3±0.6j	63.3±1.5o	Peatmoss + CMC	بيتموس + CMC
9.0±2.0nop	19.3±1.5hi	22.3±1.5n	33.7±1.5gh	42.7±0.6j	58.3±1.5no	66.3±1.2j	65.3±2.1o	Peatmoss + Pectin	بيتموس+ بكتين
12.3±0.6lmn	24.3±0.6fg	30.3±1.2hijk	41.0±2.0ef	48.3±1.2hi	63.0±1.0klm	68.0±1.0ij	72.7±1.5ijk	Peatmoss + Agar	بيتموس+ آغار
13.3±2.1jklm	25.0±1.0fg	30.0±1.0ijk	42.0±1.0def	48.7±0.6hi	63.3±1.5jklm	70.0±1.0hi	68.7±0.6mn	Peatmoss+Silica gel	بيتموس+ سيليكاجيل
10.3±1.5mno	22.3±0.6fgh	27.3±2.1klm	4.7±2.5g	48,7±0.6hi	59.7±0.6n	70.0±1.0hi	72.7±0.6ijk	Peat + CMC	تورب + CMC
11.7±1.2lmno	34.3±1.2fg	27.3±1.5klm	35.3±1.5g	48.7±1.5hi	61.0±1.0lmn	70.3±0.6hi	73.0±1.0ij	Peat + Pectin	تورب+ بكتين
14.7±0.6ijkl	32.3±2.5de	33.3±1.5fghi	43.7±1.5def	55.7±1.5f	66.3±0.6ij	72.0±1.0h	75.0±1.0i	Peat + Agar	تورب+ آغار
13.7±1.5ijklm	33.7±1.5de	32.3±2.1ghij	43.3±1.5def	54.0±1.0f	68.0±1.0hi	71.7±0.6h	74.0±1.0ij	Peat + Silica gel	تورب + سيليكاجيل
5.7±1.2p	13.3±1.5j	21.3±2.1n	29.0±2.0i	41.3±1.5j	49.3±0.6s	61.7±1.2k	67.7±0.6n	Soil + CMC	تربة + CMC
8.3±1.2op	16.7±1.5ij	21.3±1.5n	29.3±1.5hi	40.7±1.5j	51.0±1.0rs	62.0±1.0k	69.0±1.0mn	Peat + Pectin	تورب + بكتين
12.7±1.2klmn	20.7±1.2ghi	25.3±1.5lmn	32.0±2.0ghi	49.0±1.0hi	53.7±1.5pqr	66.7±0.6j	71.7±1.2jk	Peat + Agar	تورب+ آغار
13.3±1.2jklm	24.0±1.0fg	27.0±1.0klm	31.0±2.0ghi	49.7±1.5hi	55.3±2.9opq	66.3±1.2j	70.0±1.0mn	Peat + Silica gel	تورب+ سيليكاجيل
20.7±1.5gh	23.0±1.7fgh	34.3±2.5fgh	45.7±1.2d	55.3±1.5f	64.3±1.2jk	81.3±1.5g	84.7±0.6h	Finesand + CMC	رمل مزار +CMC
22.0±1.0fg	24.7±0.6fg	33.7±1.5fghi	45.3±2.5de	56.0±2.0f	63.7±1.5jkl	82.0±1.0fg	85.3±1.2h	Finesand + Pectin	رمل مزار+ بكتين
29.3±2.5bc	34.3±2.1de	40.7±1.5cd	53.7±1.5c	61.3±2.1e	73.3±1.5efg	84.3±0.6ef	88.3±0.6fg	Finesand + Agar	رمل مزار+ آغار
32.3±1.5ab	35.0±1.0d	45.3±1.5b	53.0±2.0c	60.7±1.5e	74.0±1.0def	83.3±1.2fg	86.3±0.6gh	Finesand+Silica gel	رمل مزار+ سيليكاجيل
15.3±1.5ijkl	23.7±1.5fg	23.7±1.5mn	42.7±2.1def	63.3±1.5e	75.7±1.2de	86.3±1.2de	90.0±1.0def	Perlite + CMC	برليت + CMC
17.3±1.5hi	24.3±1.2fg	25.7±1.2lmn	44.0±1.0def	62.3±1.5e	76.7±1.5d	84.7±2.5def	91.0±1.0cde	Perlite + Pectin	برليت + بكتين
25.0±1.7def	30.7±1.5e	36.3±1.2efg	52.0±1.0c	70.7±1.5cd	84.3±1.2bc	91.3±0.6c	94.7±0.6b	Perlite + Agar	برليت+آغار
26.0±1.0cde	32.7±2.3de	37.0±1.0def	54.3±2.1c	69.7±2.1d	85.3±1.5b	92.0±2.7bc	93.0±1.0bc	Perlite + Silica gel	برليت+سيليكاجيل
25.7±1.2cdef	39.3±2.5bc	44.3±3.2bc	60.7±2.5b	73.7±1.5bc	82.3±0.6bc	89.7±0.6c	85.3±0.6h	Pumice + CMC	خفان + CMC
27.0±1.0cd	42.0±1.0b	45.3±1.5b	62.3±0.6b	74.3±2.1b	84.0±1.0bc	91.0±1.0c	86.7±0.6gh	Pumice + Pectin	خفان+ بكتين
32.7±3.2ab	51.7±2.5a	56.0±3.6a	69.3±1.5a	84.3±2.1a	91.7±1.2a	96.3±0.6a	90.3±0.6def	Pumice + Agar	خفان+آغار
32.3±1.5ab	52.7±1.5a	56.0±1.0a	68.7±1.5a	83.3±1.5a	92.0±1.0a	95.0±1.0a	89.0±1.0efg	Pumice + Silica gel	خفان + سيليكاجيل
16.0±1.2ijk	25.3±3.5f	41.0±2.0cd	51.7±1.5c	60.7±1.3e	72.3±2.3fg	87.0±1.0d	97.3±1.1a	Water Control	شاهد مائي
3.43	3.74	3.83	4.01	3.27	2.99	2.44	2.23	LSD at P= 0.01	أقل فرق معنوي عند مستوى 1%

والجدير بالذكر أن هذا التجمع والتكتل يحدث عند أفراد جنس *Heterorhabditis* بشكل أكبر من جنس *Stienernema* (Wright & Perry, 2002 ؛Patel *et al*., 1997)، وهذا يجعل زمن بقائها على قيد الحياة في التخزين أقل، وهو الأمر الذي يفسر النتائج التي خلصت إليها هذه الدراسة حيث كانت نسبة البقاء منخفضة عند أفراد النوع *H. bacteriophora* في نهاية الأسبوع الثامن للتخزين. وبناءً عليه، فإن استخدام أوساط تخزين تحمَل عليها أفراد النيماتودا يقلل من إجهادها عن طريق خلق ظروف مشابهة للظروف الطبيعية حيث توفر لها محتوى من الأوكسيجين وظروف حركة أفضل من تخزينها في الماء، كما هو الحال عند استخدام وسط الخفان وهو حجر مسامي يحوي ثقوباً كثيرة تمتلئ بالهواء، ومن ثم تؤمن كمية كافية من الأوكسيجين لأفراد النيماتودا. إضافة إلى ذلك فإن الوزن الخفيف جداً لهذا الحجر يجعله يطفو على سطح الماء حاملاً معه أفراد النيماتودا في منعها بذلك من الترسب واستهلاك طاقتها بوقت قصير، وهذا يبرر النسبة الأعلى للبقاء عند استخدام هذا الوسط بالتخزين خلال الأسابيع الثمانية. ويتفق ذلك مع دراسة سابقة (Grewal & Georgis, 1999) من أن المبدأ الأساس للتخزين هو الحفاظ على طاقة أفراد النيماتودا إما بتقييد حركتها أو بتقليل استهلاكها للأوكسجين. وعند إضافة الآغار والسليكا جيل إلى الخفان زادت نسبة بقاء النيماتودا بعد 49 يوماً من التخزين، وهو الأمر الذي يتوافق مع دراسة سابقة (Hussein & Abdel-Aty, 2012) تم فيها تخزين نوعي النيماتودا*H. bacteriophora* و *S. Carpocapsae* في وسط هلامي (Calcium alginate)، وكانت النتيجة نسبة بقاء عالية أكثر من 50% بعد 40 يوماً من التخزين. ويعود ذلك إلى أن الآغار والسليكا جيل عبارة عن حبيبات مسامية هلامية تعمل على تعزيز صفات حجر الخفان وذلك بجعل الوسط هلامياً تتعلق فيه أفراد النيماتودا، ومن ثم تستهلك طاقتها الاحتياطية بزمن أكبر. وبخاصة أن أفراد النوع *H. bacteriophora* تتبع أسلوب البحث والتجوال الذي يجعلها نشطة وذات حركة سريعة وهذا يؤدي إلى فقدان طاقتها في وقت قصير، حيث أن المصدر الأهم لهذه الطاقة هو الدهون وهذه تفقد بسرعة كلما كانت الأفراد حرة في الحركة (Hass *et al*., 2002؛ Lewis *et al*., 1995؛ Menti *et al*., 2003).

من جهة أخرى، أدى استخدام الخفان مضافاً إليه البكتين أو مادة CMC إلى انخفاض نسب بقاء النيماتودا، وهذا يمكن تبريره بأن هاتين المادتين تتحللان في الماء فيصبح الوسط لزجاً قليل الأوكسيجين نوعاً ما، وتتقيد فيه حركة أفراد النيماتودا، بالرغم من أنه كوسط تخزين أفضل من الماء. وبالمثل، كانت أوساط البيرليت والتورب ورمل المزار سواء استخدمت منفردة أو بالإضافة إلى الآغار والسليكا جيل ذات كفاءة أيضاً في التخزين بصورة أفضل من الماء. وهذا يرجع إلى كون هذه الأوساط تمتاز بتهوية مرتفعة، وبذلك تعد وسطًا ملائماً للنيماتودا التي تحتاج للأوكسيجين لتبقى على قيد الحياة (Glazer, 2002).

أثبتت بعض الدراسات جدوى تخزين أفراد النيماتودا في الرمل، حيث وجد أن تخزين النوع *S. carpocapsae* في هذا الوسط سجل نسبة بقاء عالية (91%) في الستة أسابيع الأولى (Lewis & Shapiro-Ilan, 2002)، إضافة إلى ذلك يمكن تعليل نسبة البقاء العالية في وسط البيرليت أن حبيبات البيرليت تحتفظ بالماء بصورة جيدة، فهي تؤمن لأفراد النيماتودا الرطوبة المناسبة، كما أن تميزها بالخاصية الشعرية يجعل منها وسطاً قريباً من البيئة الطبيعية التي تعيش فيها النيماتودا، وهذا مهم جداً للحركة الطبيعية للنيماتودا حيث من الضروري أن تكون ظروف التخزين لأفراد النيماتودا أقرب ما يمكن إلى ظروف البيئة الطبيعية (Andaló *et al*., 2010).

أما عن انخفاض نسبة أفراد النيماتودا الحية في وسطي التربة والبيتموس مقارنة مع الشاهد المائي، سواء تم استخدام هذين الوسطين بمفردهما أو مضافًا إليهما مواد أخرى فقد سبق وأن سُجلت أيضاً نسبة بقاء منخفضة لأفراد النيماتودا *H. bacteriophora* المخزنة في التربة (Andaló *et al*., 2010)، وأيضاً نوعي النيماتودا *Steinernema feltia* Filipjev, 1934 و*S. bibionis* Bovien, 1937 (Bedding, 1988).

ويعود ذلك إلى افتقار التربة وبشكل خاص التي تحتوي نسبة جيدة من الطين (كما هو الحال في التربة المستخدمة في هذا البحث) للتهوية الجيدة حيث أن الأوكسيجين هو عامل محدد لوجود النيماتودا في الطين بسبب صغر المسامات مما يؤدي إلى انخفاض كفاءة النيماتودا في تمثيل احتياطي الطاقة (Kung *et al*., 1990)، وهذا أيضاً بالإضافة إلى صعوبة حركة أفراد النيماتودا وبخاصة عند وجود معدلات عالية من المادة العضوية (Sierra & Renault, 1998).

كما أن البيتموس يحتوي على نسبة عالية من المواد العضوية (94–99%) وبذلك يمتلك نسب عالية من الكربون الناتج عن التحلل الجزئي للنباتات في المياه الحامضية وهذا غير ملائم لوجود النيماتودا حيث أشارت الدراسات المرجعية إلى أن نسبة المادة العضوية الملائمة لوجود النيماتودا هي 1–2% (Barbercheck & Kaya, 1991؛ Selcuk *et al*., 2003). وقد وجد أن نسبة المادة العضوية المناسبة لوجود النوع *H. bacteriophora* تتراوح بين 0.56–2.2 (Canhilal *et al*., 2006). ومن جهة أخرى، فإن قيمة الأس الهيدروجيني pH المنخفضة للبيتموس والتي تتراوح بين 3.4 و 4.8 تعد غير مناسبة لبقاء أفراد النوع *H. bacteriophora* (مسلم، 2009؛ Canhilal *et al*., 2006).

في نهاية هذا البحث نوصي باستخدام الخفان والبرليت ورمل المزار كأوساط تخزين بديلة عن الماء حيث أثبتت كفاءتها بالتخزين إضافة لسهولة نقلها وتطبيقها حقلياً، واستخدامها مجدٍ اقتصادياً، فهي مواد رخيصة الثمن ومتوافرة بشكل كبير في البيئة المحلية، ولابد من الإشارة إلى أن هذه الأوساط لم يسبق استخدامها لتخزين النيماتودا واستخدمت للمرة الأولى في هذا البحث.

شكر

نتوجه بالشكر إلى المشرفين على صندوق دعم البحث العلمي والتطوير التقاني في وزارة التعليم العالي في سورية للتمويل الكلي للبحث.

Abstract

El-Asas, K., A. Jawish, A. Haydar and A. Hasan. 2018. Laboratory evaluating of the efficiency of some substrates for storing entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora.* Arab Journal of Plant Protection, 36(2): 141-146.

The efficacy of some substrates for the storage of local isolates of *Heterorhabditis bacteriophora*was were evaluated in the Nematology Research Laboratory, Biological Control Research and Studies Center, Faculty of Agriculture, Damascus University during 2016-2017. Nematodes were isolated from a soil sample collected from Lattakia Governorate and were identified as *H. bacteriophora*. Nematodes were propagated on larvaes of *Galleria mellonella*. These individuals were then added to the following substrates: pumice, soil, peat-moss and tourbe. In addition, pectin, agar, silica gel, and carboxymethyl cellulose (CMC) were added to improve the efficiency of storage substrates. Each substrate was tested individually, with and without additives. Survival rates of nematodes were taken at the end of each week for eight weeks. The average survival rate of nematodes at the end of the storage period was 33.67% for the substrate of the pumice + sand, 32.67% for the pumice + agar and 32.33% for pumice + silica gel, and these were the highest survival rates of living nematodes in this study. Consequently, these substrates are the most appropriate for laboratory storage of *H. bacteriophora* nematodes.

Keywords: Entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bateriophora*, storage substrates.

Corresponding author: Khaled Al-Assas, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria, Email: khaledalass@hotmail.com

المراجع

جاويش، أماني. 2016. التوصيف الحيوي والمورفولوجي لعزلات النيماتودا الممرضة للحشرات والبكتريا المتعايشة معها وتقييم كفاءتها في مكافحة حشرات التربة. رسالة دكتوراه. جامعة دمشق، سورية. 210 صفحة.

مسلم، زكريا. 2009. فاعلية النيماتودا الممرضة للحشرات فيمكافحة حشرة الكابنودس *Capnodis* spp. في حقول اللوزيات. رسالة دكتوراه. جامعة تشرين، سورية. 117صفحة.

Andaló, V., R.S. Cavalcanti, J.P. Molina and J.A. Moino. 2010. Substrates for storing entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). Scientia Agricola, 67: 342-347. https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000300013

Baliadi, Y., I.R. Sastrahidayat, S. Djauhari and B.T. Rahardjo. 2011. Pathogenicity, development and reproduction of the entomopathogenic nematode *Steinernema* sp., in Mealworm *Tenebrio molitor*. Agrivita, 33: 233-244.

Barbercheck, M.E. and H.K. Kaya. 1991. Effect of host condition and soil texture on host finding by the entomogenous nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). Environmental Entomology, 20: 582-589. https://doi.org/10.1093/ee/20.2.582

Bedding, R.A. 1988. Storage of entomopathogenic nematodes WIPO Patent No. WO 88/08668.

Bedding, R.A. 1990. Logistics and strategies for introducing entomopathogenic nematode technology in developing countries. Pages 233-248. In: Entomopathogenic

References

Nematodes for Biological Control. R. Gaugler and H.K. Kaya (eds.), CRC Press, Boca Raton, FL.

Bedding, R.A. and R.J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect paristic rhabditid nematodes in soil. Nematologica, 21: 109-110. https://doi.org/10.1163/187529275X00419

Burnell, A.M. and S.P. Stock. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts–lethal pathogens of insects. Nematology, 2: 31-42. https://doi.org/10.1163/156854100508872

Canhilal, R., W. Reid, H. Kutuk and M. El-Bouhssini. 2006. Natural occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Syria soils. Research Journal for Agricultural and Biological Sciences, 2: 493-497.

Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, Florida, 365 pp.

Gaugler, R., I. Brown, D. Shapiro-Ilan and A. Atwa. 2002. Automated technology for in vivo mass production of entomopathogenic nematodes. Biological Control, 24: 199-206. https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00015-4

Glazer, I. 2002. Survival biology. Pages 169-187. In: Entomopathogenic Nematology. R. Gaugler (ed.). CAB International, Wallingford, UK.

Grewal P.S. and R. Georgis. 1999.Entomopathogenic nematodes. Pages 271-299. In: Biopesticides: Use and Delivery. F.R. Hall and J.J. Menn (eds.). New Jersey, Human Press.

Nikdel, M. and G. Niknam. 2015. Morphological and molecular characterization of a new isolate of entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) from the Arasbaran forests, Iran. Journal of Asia-Pacific Biodiversity, 8: 144-151. https://doi.org/10.1016/j.japb.2015.04.008

Patel, M.N., M. Stolinski and D.J. Wright. 1997. Neutral lipids and the assessment of infectivity in entomopathogenic nematodes: observations on four *Steinernema* species. Parasitology, 114: 489-496.

Seinhorst, J.W. 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. Nematologica 4, 67-69.

Selcuk, H., H.K. Kaya, S.P. Stock and N. Keskin. 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. Turkish Journal of Biology, 27: 181-202.

Shapiro-Ilan, D.I., D.H. Gouge, S.J. Piggott and J. Patterson Fife. 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. Biological Control, 38: 124-133. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.09.005

Sierra, J. and P. Renault. 1998. Temporal pattern of oxygen concentration in a hydromorphic soil. Soil Science Society of America Journal, 62:1398-1405. https://doi.org/10.2136/sssaj1998.03615995006200050036x

Stock, S.P., C.T. Griffin and A.M. Burnell.2002. Morphological characterization of three isolates of *Heterorhabditis* Poinar, 1976 from the 'Irish group' (Nematoda: Rhabditida: Heterorhabditidae) and additional evidence supporting their recognition as a distinct species, *H. downesi* n. sp. Systematic Parasitology, 51: 95-106. https://doi.org/10.1023/A:1014062429652

White, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. Science, 66: 302-303. https://doi.org/10.1126/science.66.1709.302-a

Wright, D.J. and R.N. Perry. 2002. Physiology and biochemistry. Pages 145-168. In: Entomopathogenic nematology. R. Gaugler (ed.). Wallingford, UK: CAB International.

Grewal, P.S. 2000. Anhydrobiotic potential and long-term storage stability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). International Journal for Parasitology, 30: 995-1000. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00080-1

Hass, B., M.J. Downes and C.T. Griffin. 2002. Persistence of four *Heterorhabditis* spp. isolates in soil: role of lipid reserves. Journal of Nematology, 34: 151-158

Hussein, M.A. and M.A. Abdel-Aty. 2012. Formulation of two native entomopathogenic nematodes at room temperature. Journal of Biopesticides, 5: 23-27.

Kaya, H.K., A. Aguillera, A. Alumai, H.Y. Choo, M. Torre and A. Fodor. 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. Biological Control, 38: 134-155. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.11.004

Kung, S., R. Gaugler and H. Kaya. 1990. Soil type and entomopathogenic nematodes persistence. Journal of Invertebrate Pathology, 55: 401-406. https://doi.org/10.1016/0022-2011(90)90084-J

Lewis, E.E. and D.J. Clarke. 2012. Nematode parasites and entomopathogens. Pages 395-443. In: Insect Pathology, second edition. F.E. Vega and H. K. Kaya (eds.). San Diego, Academic Press.

Lewis, E.E., S. Selvan, J.F. Campbell and R. Gaugler. 1995. Changes in foraging behaviour during the infective stage of entomopathogenic nematodes. Parasitology, 110: 583–590. https://doi.org/10.1017/S0031182000065306

Lewis, E.E. and D. Shapiro-Ilan. 2002. Host cadavers protect entomopathogenic nematodes during freezing. Journal of Invertebrate Pathology, 81: 25-32. https://doi.org/10.1016/S0022-2011(02)00115-5

Menti, H., M.N. Patel, D.J. Wright and R.N. Perry. 2003. Lipid utilisation during storage of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* from Greece and the UK. Nematology 5: 31-37. https://doi.org/10.1163/156854102765216669

Nguyen, K.B. and G.C. Smart. 1996. Identification of entomopathogenic nematodes in the *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae* (Nemata: Rhabditida). Journal of Nematology, 28: 286-300.

Received: October 5, 2017; Accepted: May 29, 2018

تاريخ الاستلام: 2017/10/5؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2018/5/29