

دراسة القدرة الإمراضية للفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. في بالغات وبيض الحلم العنكبوتي ذو البقعتين *Tetranychus urticae* Koch تحت ظروف المختبر

محمد أحمد¹، ابتسام غزال¹، صفاء قرحيلي² ولبنى رجب¹

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: lobnarajabbassiana@gmail.com

(2) مختبر الوقاية، مديرية الزراعة باللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: q.safaa@ymail.com

الملخص

أحمد، محمد، ابتسام غزال، صفاء قرحيلي ولبنى رجب. 2018. دراسة القدرة الإمراضية للفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. في بالغات وبيض الحلم العنكبوتي ذو البقعتين *Tetranychus urticae* Koch تحت ظروف المختبر. مجلة وقاية النبات العربية، 36(3): 199-206.

درُست القدرة الإمراضية لثلاث عزلات محلية (B2، B3، B4) من الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. على شكل معلق بوعي بالتركيزات 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل في بالغات الحلم العنكبوتي ذو البقعتين *Tetranychus urticae* Koch مخبرياً. كما درُست القدرة الإمراضية للعزلتين B2 و B4 بالتركيزات 10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغ/مل في بيض الحلم العنكبوتي ذو البقعتين، ومدة حياة أنثى الحلم وخصوبتها. بيّنت النتائج فعالية عالية للعزلات المختبرة بكافة التركيزات المدروسة في قتل بالغات الحلم العنكبوتي، وأظهرت العزلة B2 شراسة أعلى مقارنةً مع العزلتين الأخرى المدروسة. وأدت في اليوم الثالث عشر من المعاملة إلى نسب موت بلغت 70، 80، 84% عند التركيزات 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل، على التوالي. وبلغ الزمن القاتل النصفى لها عند التركيزات نفسها 7.58، 7.65 و 8.05 يوماً، على التوالي. أدت العزلتان B4 و B3 بالتركيز 10^7 بوغ/مل إلى نسب نفوق بلغت 70 و 78%، على التوالي، بعد الفترة ذاتها. وبيّنت النتائج أن تأثير الفطر المباشر في قفس البيض لم يكن كبيراً بالرغم من أنه اختلف معنوياً عن الشاهد، فبلغت نسب الفقس بالتركيز 10^8 بوغ/مل 87 و 90% للعزلتين B2 و B4، على التوالي، مقارنةً مع 98% للشاهد في اليوم الثالث. وكانت نسبة الأفراد التي تمكنت من الوصول إلى بالغات بعد 9 أيام من قفس البيض 88.66 و 89% للعزلتين B2 و B4، على التوالي، مقارنةً مع 100% للشاهد. ظهر تأثير الفطر واضحاً في خصوبة إناث الحلم التي تطورت من بيض معامل بالفطر، فبينما كانت الخصوبة الكلية في الشاهد 76.8 بيضة/أنثى، فقد بلغت 24.2 و 41.3 بيضة/أنثى عند التركيز 10^8 بوغ/مل للعزلتين B2 و B4، على التوالي.

كلمات مفتاحية: *Beauveria bassiana*، الحلم العنكبوتي ذو البقعتين، القدرة الإمراضية، الخصوبة الكلية.

المقدمة

نحو استخدام المبيدات الأحيائية المكونة من البكتريا والفيروسات والمرمضات الفطرية لمكافحة هذه الآفة (Geroh et al., 2014).

تعد الفطور الممرضة للحشرات من أبرز الكائنات المستخدمة في مكافحة الأحيائية، ويبدو الاهتمام العالمي باستخدامها في إدارة الآفات الحشرية والأكاروسية واضحاً من خلال العدد الكبير للمستحضرات التجارية التي تحوي الأبواغ الفطرية كمادة فعالة. تطوّرت المكافحة الأحيائية باستخدام الفطور بسرعة مع بروز دورها في زيادة إنتاجية النبات وأمانها البيئي (Butt et al., 2001).

يعد النوع *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. (Ascomycota: Hypocreales) واحداً من أكثر الفطور الممرضة للحشرات المنتشرة عالمياً (Humber, 2012؛ Vega & Blackwell, 2005). وسُجّل كعدو طبيعي لأكثر من 700 نوعاً من مفصليات الأرجل (Butt et al., 2001). وتبين انتشار الفطر *B. bassiana* في الترب

يُعدّ الحلم العنكبوتي ذو البقعتين *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) آفة عالمية الانتشار (van de vire et al., 1972)، يسبّب خسائر اقتصادية مهمة على عديد من الأشجار المثمرة والمحاصيل والخضار ونباتات الزينة في الزراعات المحمية والحقلية، فقد سُجّل على أكثر من 1200 عائل نباتي (Zhang, 2003)، وقد تصل الخسائر الناجمة عن هذا النوع في بعض الأحيان إلى 50-100% (Kumar et al., 2010؛ Cloutche et al., 2011).

لا تزال المكافحة الكيماوية تسهم بدورٍ أساسي في مكافحة الحلم العنكبوتي ذو البقعتين (Tehri & Gulati, 2014)، لكن الاستخدام المتكرر للمبيدات، وتعدد أجيال هذه الآفة وقصر دورة حياتها ومعدل تكاثرها المرتفع، أدى إلى قدرة عالية على تطويرها مقاومةً للمبيدات المستخدمة (Van Leeuwen et al., 2009؛ Sato et al., 2005). لذلك تم التوجه

السورية في عديد من الدراسات (أحمد وآخرون، 2011، 2016؛ Almanoufi et al., 2012؛ Humber et al., 2011).

تأتي أهمية هذا البحث من أهمية تحديد دور الأعداء الطبيعيين ومنها الفطور الممرضة للحشرات في إدارة الآفات، وهناك أبحاث في سورية بهذا الاتجاه، لذلك أتى البحث الحالي استكمالاً لما سبق وإضافة معلومات أخرى عن دور عوامل مكافحة الأحيائية في مكافحة الآفة في النظم الزراعية المختلفة. وبما أن للحلم العنكبوتي ذو البقعتين انتشار واسع على عديد من الخضروات والمحاصيل المهمة في بيئة الساحل السوري ويسبب ضرراً إقتصادياً على هذه المحاصيل، أصبح من الضرورة التوصل إلى حل آمن بيئياً للتقليل من كثافة مجتمعاته.

مواد البحث وطرقه

نُفذَ البحث في مختبرات كلية الزراعة قسم وقاية النبات في جامعة تشرين، ومختبر الوقاية في مديرية زراعة اللاذقية، منذ بداية آذار/مارس وحتى نهاية أيار/مايو عام 2017.

تربية الحلم العنكبوتي ذو البقعتين *Tetranychus urticae* Koch

تم جمع أفراد الحلم العنكبوتي ذو البقعتين من نباتات الخبازة *Malva* spp. في بداية آذار/مارس، ورُبِّيَ في مختبر الوقاية بمديرية زراعة اللاذقية على أوراق التوت *Morus* spp.، حيث يتوافر التوت بجانب المختبر ما يسهل عملية الوصول إليه عند الحاجة واستخدامه للتربية. وُضعت أوراق التوت وسطحها السفلي إلى الأعلى فوق طبقة رقيقة من القطن كانت تُرطَّب باستمرار. تمت تربية حيوان الاختبار لعدة أجيال قبل إجراء الاختبارات عليها، وذلك ضمن ظروف المختبر الطبيعية.

العزلات الفطرية للفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil.

استُخدمت في هذا البحث ثلاث عزلات من الفطر *B. bassiana* تم عزلها في دراسة سابقة (أحمد وآخرون، 2016)، وهي العزلات B2، B3، B4 (جدول 1). تُمَيِّت العزلات الفطرية على مستنبت ديكستروز آغار البطاطا/البطاطس، وحُصِنَت في الحاضنة عند حرارة 26 ± 1 °س لحين التبوغ، ثم حفظت في البراد عند حرارة 4°س لحين الاستخدام.

جدول 1. العزلات الفطرية من الفطر *Beauveria bassiana* المستخدمة في هذا البحث.

اختبار القدرة الإراضية للفطر *B. bassiana* في البالغات الحلم

العنكبوتي ذو البقعتين *T.urticae*

من أجل تنفيذ الاختبارات على حيوانات اختبار بعمر موحد، نُقِلت إناث ملقحة من الحلم العنكبوتي ذو البقعتين إلى أوراق توت جديدة، وأُزِيلت بعد 24 ساعة مع ترك البيوض التي وضعتها بعمر يوم واحد. تمت متابعة البيوض حتى خروج اليرقات ثم الحوريات وصولاً إلى البالغات. نُفِذت الاختبارات على إناث بعمر يوم واحد.

استخدم لهذه التجربة العزلات B2، B3 و B4، على شكل معلق بوغي بالتركيزات 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل لكل عذلة. حضرت التركيزات باستخدام شريحة العد مالاسيه Malassez counting chamber (Lacey, 2012).

حضرت 5 مكررات لكل معاملة، حيث جهزت أقراص من أوراق التوت (قطر 2 سم) وغمست ضمن المعلق البوغي لكل تركيز ولكل عذلة على حدة. في حين حضرت مكررات الشاهد بغمس الأقراص الورقية ضمن ماء مقطر فقط بدون أبواغ فطرية. تركت الأقراص لتجف هوائياً، ثم نقل كل قرص إلى طبق بتري (9 سم) يحوي قطن مبلل بالماء مع ترك فراغ بين طبقة القطن وحواف الطبق وملء هذا الفراغ بالماء، وعلى طبقة القطن يوجد قطاع من ورق الترشيح أكبر من مساحة أقراص ورقة التوت، نقل إلى كل قرص 10 أفراد بالغة، وتركت عند درجة حرارة الغرفة. أُخِذت القراءات بشكل دوري، حيث سجلت الملاحظات وعدد الأفراد النافقة في كل مكرر، بالإضافة إلى إزالة أي بيض تم وضعه لاحقاً على ورقة التوت من قبل إناث التجربة، وحُسيب الزمن القاتل النصف LT_{50} ، والتركيز القاتل النصف LC_{50} .

اختبار القدرة الإراضية للفطر *B. bassiana* في بيوض الحلم

العنكبوتي

تم نقل 10 إناث بالغة ملقحة إلى أقراص ورقية من التوت بقطر 2 سنتيمتراً موضوعة على سطحها العلوي فوق طبقة قطن في طبق بتري بقطر 5 سنتيمترات. أُزِيلت الإناث بعد 24 ساعة بعد وضعها للبيض. تمت إزالة العدد الزائد من البيض ليبقى 20 بيضة على كل قرص ورقي.

Table 1. The fungal isolates of *Beauveria bassiana* used in this study.

العزلة	مصدر التربة	Soil source	المنطقة	The region	تاريخ العزل
Isolate	Source	Soil source	Region	Region	Isolation Date
B2	لوزيات	Almonds	ضهر صفر/بانياس- طرطوس	Dahr Safraa/ Baniyas- Tartous	2015
B3	بلوط	Oak	كرتو/سهل عكار- طرطوس	Karto/ Akkar Plain- Tartous	2015
B4	بقدونس	Parsley	فارش كعبية/بانياس- طرطوس	Farish Kaabei/Baniyas- Tartous	2015

النتائج

القدرة الإمراضية للفطر *B. bassiana* في بالغات اللحم العنكبوتي ذو

T. urticae البقعتين

أظهرت النتائج فعاليتها عالية للعزلات الفطرية المدروسة ضد بالغات اللحم العنكبوتي ذو البقعتين، فقد بدأت نسب النفوق بالظهور منذ اليوم الرابع من بدء التجربة بدون فروق معنوية واضحة عن الشاهد، لكن مع تقدم الزمن ازدادت نسب النفوق، وأدت العزلات الثلاث المدروسة بعد مضي حوالي ثلاثة عشر يوماً من بدء التجربة إلى إحداث نسب نفوق بفرق معنوي واضح عن الشاهد وبجميع التراكيز المدروسة. حيث سببت العزلة B2 في اليوم الأخير للتجربة نسب النفوق 30.82 ± 7.07 ، و 16.73 ± 8.4 (%) عند استخدام التراكيز 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل، على التوالي، في حين سببت العزلة B3 بعد المدة نفسها نسب نفوق أقل بلغت 27.01 ± 4.46 ، و 8.36 ± 5.8 و 13.03 ± 7.8 % عند استخدام التراكيز نفسها، على التوالي. أما العزلة B4 فقد أدت إلى نسب النفوق التالية: 4.47 ± 6.2 ، و 20.73 ± 6.6 و 20 ± 7.0 %، على التوالي.

وعموماً كانت نسب النفوق المسجلة عند استخدام العزلات الثلاث أعلى معنوياً من نسب النفوق المسجلة في الشاهد. وعند مقارنة العزلات فيما بينها، لوحظ أن العزلة B2 قد سببت نسب النفوق الأعلى مقارنة مع العزلتين الأخرين، مع ملاحظة عدم وجود فروق معنوية في نسب النفوق بين التراكيز الأعلى للعزلات الثلاث من الفطر *B. bassiana* (جدول 2).

استُخدمت العزلتان B4 و B2 بالتركيزات 10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغ/مل. تم رش كل مكرر بـ 3 مل من معلق الفطر، في حين تم رش الشاهد بالماء المقطر. نفذت 5 مكررات لكل تركيز (المكرر = قرص ورقي يحمل 20 بيضة).

تمت متابعة البيوض يومياً حتى خروج اليرقات. وبعد انسلاخ اليرقات إلى الحوريات بالمر الأول أُخذت القراءات كل ثلاثة أيام حتى وصولها للطور البالغ.

تأثير الفطر *B. bassiana* في مدة حياة أنثى اللحم ذو البقعتين وخصوبتها

نُقلت 10 إناث من اللحم ذو البقعتين التي استطاعت إكمال تطورها من البيوض المعاملة بالمعلق الفطري والماء المقطر في الاختبار السابق إلى قرص ورقي جديد، وتمت متابعتها يومياً لتسجيل عدد البيض الموضوع، وأزيل البيض يومياً بعد عده. سُجّلت المؤشرات التالية: فترة ما قبل وضع البيض، وفترة وضع البيض، وفترة ما بعد وضع البيض، ومدة حياة الأنثى، والخصوبة الكلية، والخصوبة اليومية. علماً أن الخصوبة Fecundity التي تم تقديرها تعبر عن عدد البيض الموضوع.

التحليل الإحصائي

حُلّت النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي CoStat لحساب الفروق المعنوية بين العوامل المدروسة المختلفة باستخدام اختبار التباين One Way ANOVA عند أقل فرق معنوي LSD عند الاحتمال 5%. بينما استخدم البرنامج SPSS V.15 لحساب كل من LC_{50} و LT_{50} وفق تحليل بروبيت Probit analysis.

جدول 2. القدرة الإمراضية لثلاث عزلات محلية من الفطر *B. bassiana* في بالغات اللحم العنكبوتي ذو البقعتين *T. urticae*.

Table 2. Pathogenicity of three local isolates of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* on adults of *T. urticae*.

التركيز القتال النصفي (بوغ/مل) LC_{50} (day)	الزمن القتال النصفي(يوم) LT_{50} (day)	نسبة الموت (%) \pm الانحراف المعياري Mortality rate (%)			تركيز المعلق البوغي (بوغ/مل) Spore suspension concentration (spore/ml)	العزلة
		اليوم الثالث عشر بعد المعاملة 13 th day post treatment	اليوم السابع بعد المعاملة 7 th day post treatment	اليوم الرابع بعد المعاملة 4 th day post treatment		
$2^{10} \times 5$	7.65 a	70 ab	52 a	20 a	5^{10}	العزلة B2
	7.53 a	80 ab	48 a	14 ab	6^{10}	Isolate B2
	8.05 a	84 a	40 ab	6 ab	7^{10}	
$5^{10} \times 2$	13.26 a	46 c	18 bc	0 b	5^{10}	العزلة B3
	10.91 a	58 bc	30 abc	4 ab	6^{10}	Isolate B3
	7.55 a	78 ab	48 a	16 ab	7^{10}	
2^{10}	10.35 a	62 abc	30 abc	10 ab	5^{10}	العزلة B4
	10.01 a	66 abc	30 abc	4 ab	6^{10}	Isolate B4
	9.57 a	70 ab	30 abc	6 ab	7^{10}	
		8 d	8c	0 b		الشاهد Control

المتوسطات المتبوعة بالأحرف نفسها في العمود نفسه لا تختلف عن بعضها معنوياً عند مستوى احتمال 5%.

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

بين معاملة الشاهد ومعاملات العزلات الفطرية الثلاث في اليوم الأول بعد المعاملة. في حين أنه في اليوم الثالث بعد المعاملة، بلغت نسبة الفقس في الشاهد 98%، وكانت نسبة الفقس في المعاملات الأخرى أقل معنوياً من نسبة الفقس في الشاهد، حيث بلغت 94، 94 و87% للعزلة B2، وذلك عند استخدام التركيزات 10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغ/مل، على التوالي، 95، 93 و 90% للعزلة B4، على التوالي (جدول 3). ورغم أن نسبة الفقس عند استخدام التركيز الأعلى من العزلة B2 كانت أقل من نسبة الفقس عند استخدام التركيز الأعلى من العزلة B4، لكن الفرق بينهما لم يكن معنوياً. وتجدر الإشارة إلى أنه تم استبعاد العزلة B3 في هذه التجربة تبعاً لقيمة LC_{50} الأعلى لها مقارنةً مع العزلتين B2 و B4، وتبعاً إلى أنها كانت الأقل قدرة وبشكل معنوي في إحداث النفوق مقارنةً مع العزلتين الأخرين (جدول 2).

أما نسبة وصول الأفراد التي فقسست من بيوض معاملة بالفطر *B. bassiana* إلى الطور البالغ، ف لوحظ بعد 9 أيام من فقس البيض أن جميع الأفراد في معاملة الشاهد أكملت تطورها وصولاً إلى الطور البالغ (100%)، بينما كان هذا المؤشر أقل معنوياً في معاملات العزلتين الفطريتين. حيث بلغت 90 و88 و89% للعزلة B2 عند استخدام التركيزات 10^6 و 10^7 و 10^8 بوغ/مل، على التوالي، و 92 و 89 و89%، على التوالي، للعزلة B4. ولم تلاحظ فروق معنوية في نسبة الوصول للطور البالغ بين المعاملات بالعزلتين الفطريتين (جدول 3).

حُسب الزمن القاتل النصفى LT_{50} (الزمن اللازم لقتل 50% من حيوانات الاختبار). وقد بلغ هذا المؤشر 7.65، 7.53 و 8.05 يوماً للعزلة B2 عند استخدام التركيزات 10^5 ، 10^6 و 10^7 بوغ/مل، على التوالي. في حين بلغ 13.26، 10.91 و 7.55 يوماً للعزلة B3 عند استخدام التركيزات نفسها، على التوالي. أما للعزلة B4 فقد وصل الزمن القاتل النصفى إلى 10.35، 10.01 و 9.57 يوماً، على التوالي. وكانت القيمة الأدنى التي سُجّلت في هذه الدراسة لـ LT_{50} عند العزلة B3 بالتركيز 10^7 بوغ/مل بدون فروق معنوية بين العزلات (جدول 2).

كما حُسب التركيز القاتل النصفى LC_{50} لكل عذلة من العزلات الثلاث المختبرة، وقد سُجّلت القيمة الأدنى لهذا المؤشر عند العزلة B4 (10^2 بوغ/مل)، تلتها العزلة B2 ($10^2 \times 5$ بوغ/مل)، وأخيراً جاءت العزلة B3 ($10^5 \times 2$ بوغ/مل) (جدول 2).

لوحظ على معظم البالغات النافقة بفعل الفطر الممرض بدء ظهور الخيوط الفطرية بعد حوالي 2-3 يوماً من النفوق، ثم تشكل الأبواغ الفطرية وتغليف البالغات الميتة ليظهر مرض الموسكاردين الأبيض، وتغزى سرعة وكثافة تشكل الأبواغ الفطرية على الأفراد النافقة إلى توافر الرطوبة بشكل مستمر طيلة التجربة. ولوحظ تغير لون الأفراد بعد النفوق ليصبح غامقاً أو مسوداً، كما بقي الفرد محافظاً على شكله.

القدرة الإمراضية للفطر *B. bassiana* على بيوض الحلم العنكبوتي بينت النتائج أن البيض بدأ بالفقس بعد يومين من وضعه (تمت المعاملة على بيض بعمر يوم واحد)، ولم تلاحظ فروق معنوية في نسبة الفقس

جدول 3. القدرة الإمراضية للفطر *B. bassiana* في بيوض الحلم العنكبوتي ذو البقعتين.

Table 3. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* on *T. urticae* eggs.

نسبة إصابة البالغات بعد 9 أيام من فقس البيض (%) Adults infection rate 9 days after egg hatching (%)	نسبة الفقس (%) Percentage of hatching (%)			المعلق البوغي (بوغ/مل) Conidial suspension concentration (Spore/ml)
	اليوم الثالث بعد المعاملة 3 rd day post treatment	اليوم الثاني بعد المعاملة 2 nd day post treatment	اليوم الأول بعد المعاملة 1 st day post treatment	
90 b	94 abc	90 b	1 a	⁶ 10 العزلة B2
88 b	94 abc	90 b	1 a	⁷ 10 Isolate B2
89 b	87 d	83 c	3 a	⁸ 10
92 b	95 ab	91 ab	1 a	⁶ 10 العزلة B4
89 b	93 bc	87 bc	1 a	⁷ 10 Isolate B4
89 b	90 cd	88 bc	3 a	⁸ 10
100 a	98 a	96 a	4 a	الشاهد control
6.241	4.169	5.529	4.311	LSD (p<0.05)

الأرقام المتبوعة بالأحرف نفسها في العمود نفسه لا تختلف عن بعضها معنوياً عند مستوى احتمال 5%.

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

تأثير الفطر في مدة حياة أنثى الحلم ذو البقعتين وخصوبتها

بالنسبة لخصوبة إناث الحلم العنكبوتي ذو البقعتين الناتجة عن البيض المعامل بالفطر *B. bassiana*، لوحظ وجود فروق معنوية في الخصوبة الكلية واليومية بين المعاملات من جهة والشاهد من جهة أخرى، أي أن تأثير الفطر في معدل وضع البيض كان واضحاً. فقد بلغت الخصوبة الكلية لأنثى الشاهد 76.8 بيضة/أنثى، أما الخصوبة الكلية للإناث المعاملة بالعزلتين B2 و B4 فقد بلغت 43.7، 34.3 و 24.2 بيضة/أنثى و 44.5، 45 و 41.3 بيضة/أنثى عند التراكيز 10^6 ، 10^7 و 10^8 بوغ/مل، على التوالي (جدول 4).

بلغ متوسط عدد البيض الموضوع في اليوم لإناث الشاهد 8.34 بيضة/يوم، وكان هذا المتوسط أعلى معنوياً من المتوسط للإناث الناتجة عن البيض المعامل بالعزلتين الفطريتين B2 و B4 والتي بلغت 4.77، 4.3 و 3.15 بيضة/يوم، و 5.1، 4.71 و 4.28 بيضة/يوم، عند استخدام التركيزات المدروسة، على التوالي. هذا ولم تُلاحظ فروق معنوية بين التركيزات 10^6 و 10^7 بوغ/مل، وبين التركيزات 10^7 و 10^8 بوغ/مل، بينما كانت الفروق بين التركيزات 10^6 و 10^8 بوغ/مل معنوية. ولم تُلاحظ فروق معنوية بين التركيزات الثلاثة للعزلة B4. كما لوحظ تفوق معنوي بسيط للعزلة B4 على العزلة B2 (جدول 4).

بالنسبة لفترة وضع البيض، سُجّلت فروق معنوية بين إناث الشاهد (10.8 يوماً) وإناث التركيزات 10^7 و 10^8 بوغ/مل من العزلة B2 (8 و 7.4 يوماً)، على التوالي، والتركيز الأدنى 10^6 من العزلة B4 (9 يوماً) (جدول 5).

بينما كان تأثير الفطر في فترتي قبل وبعد وضع البيض قليلاً واختلف بحسب التركيز، فلو حظ وجود فروق في فترة قبل الوضع بين إناث الشاهد (2 يوماً) وإناث التركيزات 10^7 و 10^8 بوغ/مل من العزلة B2 (2.7 و 2.6 يوماً)، على التوالي، والتركيز الأعلى 10^8 من العزلة

B4 (2.4 يوماً). بينما لم تُلاحظ فروق معنوية بين هذه التركيزات من المعاملتين. ولم يُلاحظ وجود فروق معنوية بين تركيبات العزلة الواحدة. كما سُجّلت فروق معنوية في فترة بعد وضع البيض بين إناث الشاهد (2.5 يوماً) من جهة وبين وإناث التركيزات 10^6 و 10^7 بوغ/مل من العزلة B2 من جهة أخرى والتي بلغت 1.5 و 1.3 يوماً (جدول 5).

وبالعموم كان تأثير العزلة B2 أوضح في مدة حياة الأنثى وانخفضت من 14.4 يوماً في الشاهد إلى 11.1، 11.1 و 12.1 يوماً عند استخدام التركيزات 10^6 ، 10^7 ، و 10^8 بوغ/مل من العزلة B2، على التوالي.

والجدير ذكره، أنه لوحظ على عددٍ من البالغات التي تطورت من بيض معامل بالفطر بعد نفوقها تشكل مكونات الفطر على سطحها من الخارج، بالتالي يبدو أن الفطر كان يتطور داخل هذه الأفراد ويخفّض من عملياتها الحيوية وخصوبتها وأدى في النهاية إلى نفوقها. ويمكن القول أن كمية الفلاح الفطري الواصلة لهذه الأفراد منخفضة جداً إذ استطاعت البيضة أن تكمل تطورها الجنيني وتعطي يرقات قبل أن يتضاعف الفطر داخلها.

المناقشة

أظهرت النتائج أن العزلات الثلاث المختبرة من الفطر *B. bassiana* كانت عالية الفاعلية ضد بالغات *T. urticae*، حيث تراوحت نسب النفوق بين 70 و 84% عند استخدام التركيزات الأعلى من العزلات الثلاث، وهي أعلى معنوياً من نسبة النفوق التي سُجّلت في الشاهد (8%)، مما يشير إلى أن شروط برتوكول الاختبار صحيحة (Butt & Goettel, 2000). تتوافق هذه النتائج مع دراسة سابقة في أثيوبيا (Negash et al., 2014)، وفي دراستين بالهند (Geroh et al., 2014؛ Tehri & Gulati, 2014).

جدول 4. الخصوبة الكلية واليومية لإناث *T. urticae* الناتجة عن بيوض معاملة بالفطر *B. bassiana*.

Table 4. The total and daily fecundity of *T. urticae* females developed from eggs treated with *B. bassiana*.

الخصوبة الكلية (بيضة/أنثى) Total fecundity (Eggs/female)	الخصوبة (بيضة/يوم) Fecundity (Eggs/day)	تركيز المعلق البوغى (بوغ/مل) Spore suspension concentration (spores/ml)
43.7 b	4.77b	10^6
34.3 bc	4.3 b	10^7
24.2 c	3.15 c	10^8
44.5 b	5.1 b	10^6
45.0 b	4.71 b	10^7
41.3 b	4.28 b	10^8
76.8 a	8.34 a	الشاهد control

الأرقام المتبوعة بالأحرف نفسها في العمود نفسه لا تختلف عن بعضها معنوياً عند مستوى احتمال 5%.

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

Table 5. The longevity of *T. urticae* females originated from eggs treated with *B. bassiana*

مدة حياة الأنثى (يوم) Female life span (Days)	فترة بعد وضع البيض (يوم) Post egg laying period (Days)	فترة وضع البيض (يوم) During egg laying period (Days)	فترة قبل وضع البيض (يوم) Before egg laying period (Days)	تركيز العزلة الفطرية (بوغ/مل) Fungal isolate concentration (Spores/ml)	
12.1 bc	1.5 b	9.3abc	2.3 ab	⁶ 10	العزلة B2
11.1 c	1.3 b	8.0 cd	2.7 a	⁷ 10	
11.1 c	2.1 ab	7.4 d	2.6 a	⁸ 10	
12.8 b	2.6 a	9.0 bcd	2.1 b	⁶ 10	العزلة B4
13.5 ab	2.4 a	10.0 ab	2.1 b	⁷ 10	
13.4 ab	1.9 ab	10.1 ab	2.4 ab	⁸ 10	
14.4 a	2.5 a	10.8 a	2.0 b		الشاهد Control

الأرقام المتبوعة بالأحرف نفسها في العمود نفسه لا تختلف عن بعضها معنوياً عند مستوى احتمال 5%.

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

التفاوت بين الدراسات السابقة المذكورة والدراسة الحالية إلى عدة نقاط تؤخذ بالحسبان منها أن التركيز المستخدم في هذه الدراسات هو 10^8 بوغ/مل وهو تركيز أعلى من التركيزات المستخدمة بالنسبة لتجربة البالغات، والعزلات التي استخدمها (Bugeme, 2008) وجدت أساساً في الطبيعة داخل أفراد حلم نافقة، بالإضافة إلى تأثير العائل النباتي كما ذكر أعلاه.

كانت قيم التركيز القاتل النصفي في هذه الدراسة منخفضة مقارنة مع الدراسات الأخرى، ففي حين وصلت إلى 10^2 بوغ/مل للعزلة B4، بلغت $10^7 \times 0.3$ بوغ/مل (للبالغات) (Bugeme, 2008)، و $10^3 \times 1$ بوغ/مل للبالغات و $10^3 \times 3$ بوغ/مل (للأطوار غير الكاملة) (Saenz-de-Cabezón Irigaray et al., 2003).

كما لوحظ وجود فروق معنوية في نسبة فقس البيض بين الشاهد والمعاملات الفطرية، فقد بلغت نسبة الفقس عند التركيز الأعلى 87 و90% للعزلتين B2 وB4، على التوالي. وبالرغم من أن الفروق كانت معنوية إلا أنها لم تكن مشجعة جداً من ناحية التأثير المباشر في نسب الفقس، واختلفت مع العديد من الأبحاث، ففي دراسة حقلية في إثيوبيا التي لم تتجاوز نسبة الفقس فيها عند التراكيز الأعلى المستخدمة من *B. bassiana* 61.19% (Negash et al., 2014)، وتجدر الإشارة هنا إلى الاختلاف في ظروف التجريبتين، ففي البحث الحالي فقس 98% من بيوض الشاهد والمعاملات خلال 3 أيام، في حين كانت هذه المدة في الدراسة المرجعية 7 أيام، أي أن الظروف البيئية في هذا البحث كانت مناسبة أكثر للحلم العنكبوتي ذو البقعين، ولم تكن الأيام الثلاثة فقط كافية لنمو الفطر بشكل سريع وبالتالي تأثيره بشكل أكبر في نسبة الفقس. وفي دراسة سابقة (Gatarayihya, 2009) أدت المعاملة بالفطر

وتراوحت نسب موت البالغات بعد استخدام الفطر *B. bassiana* عليها بين 92.2 و 99% في البحث الذي أجري من قبل Bugeme (2008). بينما وصلت نسبة النفوق إلى 100% في اليوم الرابع من المعاملة في البحث الذي أجراه Draganova & Simova (2010)، وقد يعود سبب ارتفاع نسب النفوق في بعض الدراسات عن الدراسة الحالية إلى نوع العزلة الفطرية من جهة وإلى تأثير العائل النباتي من جهة

أخرى، ففي دراسة سابقة (Draganova & Simova, 2010) تم إجراء الاختبارات على اللحم العنكبوتي ذو البقعين على نبات الفاصولياء (*Phaseolus vulgaris* L.)، بينما في هذه الدراسة، ربيت حيوانات الاختبار على أوراق التوت *Morus* spp. وقد أثبت Gatarayihya (2009) ارتباط نسب موت *T. urticae* بالفطر *B. bassiana* بشكل واضح بالعائل النباتي، وسجلت أعلى نسب نفوق على الفاصولياء، الخيار والبانجان. وفي دراسة أخرى تفاوتت نسب نفوق بالغات اللحم العنكبوتي بين 64.2 و 100% في اليوم الخامس من المعاملة (Örtücü & Albayrak Iskender, 2017).

كما أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى قيم LT_{50} المنخفضة، حيث تراوحت قيمها بين 7.55 و 9.57 يوماً عند استخدام التراكيز الأعلى من العزلات الثلاث، مما يدل على حدوث العدوى بسرعة، وهو مؤشر مهم في اختيار العزلات الفطرية كعامل مكافحة حيوية (Tanada & Kaya, 1993). كانت قيم LT_{50} في هذه الدراسة أكبر من القيم التي لوحظت في دراسات أخرى حيث بلغت 3.6 يوماً (Alves et al., 2002). كما تراوحت قيم LT_{50} في دراسة سابقة بين 3-3.8 يوماً (Bugeme, 2008)، وبين 0.122 و 1.084 يوماً (Draganova & Simova, 2010)، و 3.16-3.72 يوماً (Örtücü & Albayrak Iskender, 2017). قد يعود هذا

الأفراد لتطورها بعد فقسها من بيض معامل بالفطر، لوحظ تفوق العزلة B2 على العزلة B4 في معظم المؤشرات المدروسة. وبنيتيجة هذه الدراسة، تبين أن العزلات المحلية المستخدمة من الفطر *B. bassiana* أبدت فعالية مخبرية عالية لمكافحة اللحم العنكبوتي ذو البقعتين *T. urticae* ولاسيما طور البالغات، وتحتاج هذه الدراسة لأن تتبع بعمل نصف حقلي وحقلي قبل أن يتمكن من التوصية باستخدامها في التطبيق الحقلي. ومن المعروف بأن عزلات وسلالات الفطر *B. bassiana* تختلف في إمراضيتها وشراستها تبعاً لعوامل عديدة مختلفة وهذا ما يدفعنا للبحث باستمرار عن عزلة ذات شراسة عالية على العديد من الآفات المختلفة. وقد بين (Bugeme, 2008) أن كل المراحل الحياتية لأفراد اللحم ذو البقعتين حساسة للفطر *B. bassiana*. وتجدر الإشارة إلى أن الفطر *B. bassiana* اختبر ضد أنواع أخرى من الجنس *Tetranychus* ومنها *T. evansi* (Bugeme, 2008)؛ *Omukoko et al.*, 2017)، *T. kanzawai* (Sanjaya et al., 2015)، *T. spp.* (الجبوري وآخرون، 2006) وقد أثبتت فعاليته على الأنواع المختبرة.

B. bassiana إلى انخفاض في نسب فقس البيض بحدود 53.4 و 55% عند استخدام المعلق البوغي بالتركيز 10^8 بوغ/مل. وبالرغم من التأثير المباشر المنخفض في فقس البيض، إلا أن تأثير الفطر الممرض استمر في الأفراد التي نتجت عن البيض المعامل به، وظهر ذلك من خلال عدد الأفراد التي استطاعت إكمال تطورها وصولاً إلى الطور البالغ والتي كانت في معاملات الفطر أقل معنوياً من عدد الأفراد التي استطاعت إكمال تطورها في معاملة الشاهد، والتأثير الأوضح كان في خصوبة الإناث التي انخفضت من 76.8 بيضة/أنثى في معاملة الشاهد إلى 24.2 و 34.3 بيضة/أنثى في معاملة العزلة B2 بالتركيز 10^8 و 10^7 بوغ/مل، على التوالي. كما انخفضت مدة حياة الأنثى من 14.4 يوماً في معاملة الشاهد إلى 11.1، 11.1 و 12.1 يوماً في معاملة العزلة B2 بالتركيز المدروسة، على التوالي، بالإضافة إلى أن ظهور النموات الفطرية على البالغات بعد نفوقها كان دليلاً واضحاً على تطور الفطر داخلها وتأثيره في دورة حياتها، وفي تأثير الفطر على متابعة

Abstract

Ahmad, M., I. Ghazal, S. Kerhili and L. Rajab. 2018. The pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. on adults and eggs of the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch in the laboratory. Arab Journal of Plant Protection, 36(3): 199-206.

Laboratory studies were conducted to evaluate the pathogenicity of three isolates of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. (B3, B2 and B4). The isolates were used as a suspension at different concentrations (10^5 , 10^6 and 10^7 spore/ml), and applied on adults of *Tetranychus urticae* Koch in the laboratory. Also, the effect of the two isolates B2 and B4 was studied on eggs and fecundity and longevity of adults of *T. urticae*, at 10^6 , 10^7 and 10^8 spore/ml concentration. Results showed high efficacy of the three isolates at all concentrations in killing spider mite adults. The isolate B2 showed the highest virulence compared with other isolates, and caused mortality that reached 70, 80 and 84% at the concentrations of 10^5 , 10^6 and 10^7 spores/ml, respectively, thirteen days after treatment. The half lethal time (LT₅₀) attained was 7.65, 7.58 and 8.05 days, respectively. The isolates B4 and B3 caused mortality reached 70 and 78%, respectively, when the concentration of 10^7 spore/ml was used, and after the same period. Results also showed that the direct effect of the fungus on egg hatching was not important although it differed significantly compared with the control. Egg hatching rates were 87 and 90% when the isolates B2 and B4 were used at concentration 10^8 spore/ml, respectively, compared with 98% for the control treatment on the 3rd day after treatment. The proportion of mites that were able to complete development to adults, 9 days after egg hatching were 88.66 and 89%, respectively, compared with 100% for the control. The effect of the fungus on mite females fecundity was obvious. When the total fecundity attained was 76.8 egg/female in the control, it was 24.2 and 41.3 egg/female, following treatment with 10^8 spores/ml of the isolates B2 and B4, respectively.

Keywords: *Beauveria bassiana*, *Tetranychus urticae*, pathogenicity, total fecundity.

Corresponding author: Lobna Rajab, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria, email: lobnarajabbassiana@gmail.com

References

أحمد، محمد، ابتسام غزال ولبنى رجب. 2016. عزل الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. وتقييم فاعليته على يرقات وعذارى دودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae)). مجلة جامعة تشرين للدراسات، سلسلة العلوم البيولوجية، 38: 177-188.

أحمد، محمد، صباح المغربي وأمل حاج حسن. 2011. حصر الفطور الممرضة للحشرات في ترب نظم بيئية وزراعية مختلفة في محافظة اللاذقية. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 171-178.

الجبوري، إبراهيم جدوع، إسماعيل أحمد الزويبي وسنداب سامي الدهوي. 2006. تقويم فاعلية عزلتين من الفطر *Beauveria*

أحمد، محمد، ابتسام غزال ولبنى رجب. 2016. عزل الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. وتقييم فاعليته على يرقات وعذارى دودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae)). مجلة جامعة تشرين للدراسات، سلسلة العلوم البيولوجية، 38: 177-188.

أحمد، محمد، صباح المغربي وأمل حاج حسن. 2011. حصر الفطور الممرضة للحشرات في ترب نظم بيئية وزراعية مختلفة في محافظة اللاذقية. مجلة وقاية النبات العربية، 29: 171-178.

الجبوري، إبراهيم جدوع، إسماعيل أحمد الزويبي وسنداب سامي الدهوي. 2006. تقويم فاعلية عزلتين من الفطر *Beauveria*

- Negash, R., M. Dawd and F. Azerefege.** 2014. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, to the two spotted spider mites, *Tetranychus urticae*, (Acari: Tetranychidae) at different temperatures and under greenhouse conditions. Ethiopian Journal of Agricultural Sciences, 24: 51-58.
- Omukoko, C.A., L. Turoop and V.W. Wekesa.** 2017. Laboratory assessment of red spider mites (*Tetranychus evansi*) damage on tomato plants enhanced with *Beauveria bassiana*. African Journal of Horticultural Science, 12: 8-15.
- Örtücü, S. and N. Albayrak Iskender.** 2017. Determination of control potentials and enzyme activation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. isolates against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Trakya University Journal of Nature Sciences, 18: 33-38.
<https://doi.org/10.23902/trkjinat.285656>
- Sàenz-de-Cabezòn Irigaray, F.J., V. Marco-Mancebòn and I. Pérez-Moreno.** 2003. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its compatibility with triflumuron effects on the two spotted spider mite *Tetranychus urticae*. Biological Control, 26: 168-173.
- Sanjaya, Y., V.R. Ocampo and B.L. Caoili.** 2015. Infection process of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* in the *Tetranychus kanzawai* (Kishida) (Tetranychidae: Acari). Arthropods, 4:90-97.
- Sato, M.E., M.Z. Da Silva, A. Raga and M.F. De Souza Filho.** 2005. Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. Neotropical Entomology, 34: 991-998.
- Tanada, Y. and H.K. Kaya.** 1993. Insect pathology. Academic Press, London. 666 pp.
- Tehri, K. and R. Gulati.** 2014. Field efficacy of some biorationals against the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Journal of Applied and Natural Science, 6: 62-67.
- van de vire, M., J.A. McMurtry and C.B. Huffaker.** 1972. Ecology of mites and their natural enemies. A review. III Biology, ecology, and pest status, and host plant relations of Tetranychids. Hilgardia, 41: 343-432.
<https://doi.org/10.3733/hilg.v41n13p343>
- Van Leeuwen, T., J. Vontas and A. Tsagkarakou.** 2009. Mechanisms of acaricide resistance in the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Pages 347-393. In: Biorational Control of Arthropod Pests. I. Ishaaya and A.R. Horowitz (eds.). Springer, The Netherlands.
- Vega, F.E. and M. Blackwell.** 2005. Insect- Fungal Associations: Ecology and Evolution. Oxford University Press, Inc. New York. 333 pp.
- Zhang, Z.Q.** 2003. Mites of greenhouses. Identification, biology and control. CBAI, UK, 244 pp.
- Alves, S.B., L.S. Rossi, R.B. Lopes, M.A. Tamai and R.M. Pereira.** 2002. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Journal of Invertebrate Pathology, 81: 70-77.
[https://doi.org/10.1016/S0022-2011\(02\)00147-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2011(02)00147-7)
- Bugeme, D.M.** 2008. Potential of entomopathogenic fungi in the control of economically important spider mite species *Tetranychus urticae* Koch and *T. evansi* Baker and Pritchardin. PhD. Thesis, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, 152 pp.
- Butt, T.M. and M.S. Goettel.** 2000. Bioassays of entomopathogenic fungi. Pages 141-195. In: Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. A. Navo and K.R.S. Ascher (eds.). CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.
- Butt, T.M., C. Jackson and N. Magan.** 2001. Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential. Biddles Ltd, UK, 390 pp.
- Clotuche, G., A.C. Maillieux, A.A. Fernández, J.L. Deneubourg and C. Detrain.** 2011. The formation of collective silk balls in the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. PLoS ONE, 6: 1804-1817.
- Draganova, S.A. and S.A. Simova.** 2010. Susceptibility of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to isolates of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Pestic. Phytomed (Belgrade), 25: 51-57.
- Gatarayiha, M.C.** 2009. Biological control of the two spotted spider mites *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Ph.D. Thesis, University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, 198 pp.
- Geroth, M., R. Gulati and K. Tehri.** 2014. *Beauveria bassiana* (BALSAMO) Vuillemin (Strain ITCC- 4668) as acaricide against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Indian Journal of Agricultural Research, 48: 384-388.
<https://doi.org/10.5958/0976-058X.2014.01319.5>
- Humber, R.A.** 2012. Identification of entomopathogenic fungi. Pages 151-187. In: Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. L.A. Lacey (ed.). 2nd edition, USA, 484 pp.
- Humber, R.A., K.S. Hansen and M.M. Wheeler.** 2011. *Beauveria* plus *Microhilum*, *Tritirachium*, and *Sporothrix*. ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Ithaca, New York. 113 pp.
- Kumar, S.V., C. Chinniah, C. Muthiah and A. Sadasakthi.** 2010. Management of two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch, a serious pest of brinjal, by integrating biorational methods of pest control. Journal of Biopesticides, 3: 361-368.
- Lacey, L.A.** 2012. Manual of Techniques in invertebrate pathology. Second edition, Academic Press. USA, 484 pp.

Received: October 5, 2017; Accepted: October 16, 2018

تاريخ الاستلام: 2017/10/5؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2018/10/16