مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (4) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (4) 2016

عزل الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuil. وتقييم فاعليته على يرقات و عذارى دودة ورق القطن *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae)

الدكتور محمد أحمد*
الدكتوره ابتسام غزال**
لبنى رجب***

(تاريخ الإيداع 20 / 4 / 2016. قبل للنشر في 31 / 8 / 2016)

□ ملخّص □

تم عزل 6 عزلات من الفطر *Beauveria bassiana* من الترب المحلية في الساحل السوري من أنظمة بيئية طبيعية وزراعية مختلفة، باستخدام يرقات العمر الأخير من دودة الشمع الكبرى كطعم (Galleria bait method). بلغت القدرة الإمراضية للعزلات الست على يرقات دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* بالعمر الأخير 100% كنسبة مئوية للموت بعد 3–5 أيام من المعاملة. اختبرت فاعلية العزلات على يرقات العمر الثالث لدودة ورق القطن *Spodoptera littoralis* لاختيار العزلة الأكثر شراسة على هذه الآفة. تراوحت النسب المئوية للموت بين 75–100% لجميع العزلات في اليوم الخامس من المعاملة، استخدم المعلق البوغي للفطر *B. bassiana* بالتركيز 10^6 بوغ/مل للعزلة التي تم اختيارها رشاً على عذارى دودة ورق القطن وبلغت النسبة المئوية لخروج البالغات 42% مقارنة مع الشاهد.

الكلمات المفتاحية: *Beauveria bassiana*، Galleria bait method، *Spodoptera littoralis*.

* أستاذ – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
** أستاذ مساعد – قسم وقاية النبات – كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
*** طالبة دراسات عليا (ماجستير) – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة – جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (4) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (4) 2016

Isolation and efficacy evaluation of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. Against larvae and pupae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae)

Dr. Mohammad Ahmad[*]
Dr. Ibtisam Ghazal[**]
Lobna Rajab[***]

(Received 20 / 4 / 2016. Accepted 31 / 8 /2016)

□ ABSTRACT □

Six different isolates of the fungus *Beauveria bassiana* were isolated from local soils, which collected from two different ecosystems (Natural and Cultivated), at the Syrian Coastal region, using the "Galleria Bait Method". The mortality caused by these fungal isolates against *Galleria mellonella* larvae was 100% after 3- 5 days post treatment. The pathogenicity of these isolates was studied against 3rd instar larvae of *Spodoptera littoralis* to detect the most virulent isolate. The mortality ranged from 75% to 100% for the all isolates at the 5th day post treatment. Spore suspension of the most virulent isolate was used at concentration 10^6spore/ml by spraying it on the pupae of *S. littoralis*. The percentage of adult emergence was 42% in the fungal treatment compared to the control treatment.

Key words: Beauveria bassiana, Spodoptera littoralis, Galleria bait method.

[*] **Professor , Department of Plant Protection, Agriculture Faculty, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
[**]**Assistant professor , Department of Plant Protection, Agriculture Faculty, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
[***]**Master Student, Department of Plant Protection, Agriculture Faculty, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

يتطفل عدد كبير من الفطور الزقية Ascomycotina بشكل إجباري على الحشرات و العوائل الأخرى من مفصليات الأرجل، معظم هذه الفطور ينتمي لرتبة Hypocreales، من أهم الأنواع المستخدمة كعناصر مكافحة حيوية للآفات عالمياً هو النوع *Beauveria bassiana* (Lacey, 2012). ويذكر أنه صنف سابقاً ضمن الفطور الناقصة Deuteromycota (Barron, 1972). يتمتع الفطر بمجال عوائلي واسع جداً من مفصليات الأرجل (Butt *et al*.,2001)، بالإضافة إلى انتشاره ضمن مجال جغرافي واسع (Roberts, 1989). يتميز الفطر *B. bassiana* بتنوع حيوي كبير (Meyling and Eilenberg, 2007)، ما يجعل من الضروري البحث باستمرار عن عزلات محلية ذات قدرة امراضية عالية، و متلائمة مع البيئة التي ستطبق فيها (Butt *et al*., 2001). تعد التربة مكان العزل التقليدي والمعروف لفطور رتبة Hypocreales الممرضة للحشرات، في المواقع الزراعية والطبيعية (Meyling and Eilenberg, 2007).

تعد دودة ورق القطن *Spodoptera littoralis* من الآفات الاقتصادية في العديد من الدول ، وتنتشر في جنوب غرب آسيا (EFSA, 2015)، وهي آفة مدمرة للزراعات المدارية وشبه المدارية، يمكنها أن تهاجم عدد كبير من المحاصيل الاقتصادية على مدار السنة (EPPO,1997)، وتأتي خطورة هذه الآفة من صعوبة مكافحتها نظراً لتعدد عوائلها النباتية والتي يمكن أن تصل إلى 125 عائلاً نباتياً مزروعاً وبرياً حسب CABI (2014)، و قدرتها العالية على تطوير مقاومة تجاه العديد من المبيدات الكيميائية (EFSA, 2015) بسبب ظهور سلالات مقاومة مع تكرار استخدام هذه المبيدات. كما أظهرت العديد من الدراسات مقدرة دودة ورق القطن على تطوير سلالات مقاومة تجاه مبيدات من المجموعة الفوسفورية العضوية ، ومركبات من البيرثروئيدات ، وبعض المركبات الأخرى (Kranthi, 2005). يضاف إلى ذلك قدرتها العالية على الانتشار حيث تطير البالغات لأكثر من 1.5 كم خلال 4 ساعات (EFSA, 2015). ومن خلال ما تقدم تبرز أهمية استخدام النوع الفطري *B. bassiana* في مكافحة هذه الحشرة من خلال استخدامه ضد الطور اليرقي، وكبديل طبيعي لاستخدام المبيدات الكيميائية (Ellis, 2005).

أهمية البحث و أهدافه:

تأتي أهمية هذا البحث من ضرورة البحث عن عزلات محلية من النوع *B. bassiana* تتناسب مع ظروف البيئة المحلية لمكافحة الحشرات. كما تتجلى أهمية البحث من خلال دور دودة ورق القطن في هلاك العديد من الأنواع النباتية ذات الأهمية الاقتصادية في الساحل السوري، لذلك هدف هذا البحث لدراسة فاعلية الفطر ضد الطور اليرقي لهذه الحشرة، و تقييم الكفاءة الامراضية للفطر على طور العذراء.

طرائق البحث ومواده:

1- عزل الفطر *B. bassiana* من التربة:

1_1_ جمع عينات التربة

جمعت 49 عينة تربة من نظم طبيعية وزراعية مختلفة في الساحل السوري الجدول (1)، وذلك خلال موسمي 2014-2015. أخذ حوالي 1 كغ تربة لكل عينة بسيطة بواسطة مجرفة معقمة على عمق 10-15 سم من سطح

التربة. وضعت كل عينة في كيس من البولي اتيلين مرفقة ببطاقة معلومات عن مكان وتاريخ الجمع و مصدر التربة. أخذ حوالي 4-5 عينات بسيطة لكل موقع حسب مساحة وشكل الموقع، ومن ثم خلطت للحصول على عينة مركبة لكل موقع، وتم نخلها وتنقيتها للتخلص من الحصى والشوائب الأخرى (Meyling, 2007).

جدول (1): مصادر جمع عينات التربة من المواقع المدروسة في الساحل السوري

عدد المواقع No. of the locations	مصدر العينة Sample source	
7	زيتون	نظم بيئية زراعية Agricultural ecosystems
4	بطاطا	
1	بقدونس	
2	باذنجان	
3	حمضيات	
4	لوزيات	
2	فليفلة (بيت بلاستيكي)	
4	بلوط	نظم بيئية طبيعية Natural Ecosystems
2	ازدرخت	
3	أوكاليبتوس	
2	سرو	
1	بندق	
3	بور	
2	ضفة نهر	
3	سنديان	
3	جانب طريق	
3	مسطح أخضر	
49	المجموع Total	

1_2_ معاملة عينات التربة في المختبر

تم الكشف مخبرياً عن وجود الفطر *B. bassiana* في عينات التربة المجموعة بإتباع طريقة الجاليريا كطعم "Galleria bait method" الموصوفة من قبل Meyling (2007). وذلك خلال 48 ساعة من جمعها. حيث وضع حوالي 250 غ تربة من كل عينة بعلب بلاستيكية صغيرة سعة 500غ، بواقع 2-3 مكررات لكل موقع، ثم نقل إلى كل علبة 7 يرقات بالعمر الأخير من دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* المرباة مخبرياً على بيئة الدقيق، غطيت العلب ووضعت في الحاضنة بشكل مقلوب على درجة الحرارة 26±1°س ورطوبة أكثر من 80 %، مع تقليب العلب بشكل يومي للتأكد من تعرض اليرقات لأبواغ الفطر في حال وجودها، وكشف عن اليرقات بشكل دوري لإزالة اليرقات الميتة والتعرف على سبب موتها. حيث أخذت اليرقات الميتة عند كل قراءة، عقمت سطحياً بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم 5% لمدة 3 دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم 3 مرات ونقلت إلى ورق نشاف حتى تجف هوائياً، ثم نقلت كل يرقة إلى طبق بتري 9 سم يحوي مستنبت PDA مع مضاد حيوي واسع الطيف، وأحكم إغلاق الأطباق

بالبارافيلم، ثم حضنت على الدرجة 26±1°س مع الكشف عنها يومياً للتأكد من وجود الفطر *B. bassiana* وعزله بشكل نقي.

1_3_ تصنيف العزلات الفطرية

تم تعريف النوع بناءاً على مظهر الإصابة على يرقات *G. mellonella*، وعلى الشكل المورفولوجي للمستعمرات الفطرية على مستنبت PDA (Poinar and Thomas, 1984)، وتأكيد التصنيف بالدراسة المجهرية اعتماداً على شكل وحجم وأبعاد الأبواغ، وذلك بالاعتماد على بعض المفاتيح التصنيفية (Barron, 1972; Von Arx, 1981; Poinar and Thomas, 1984; Humber, 1997)، حفظت العزلات على مستنبت PDA وجددت باستمرار، كما حفظت في أنابيب اختبار تحوي تربة معقمة بالأوتوغلاف ووضعت في البراد.

1_4_ اختبار القدرة الإمراضية على يرقات دودة الشمع الكبرى *G. mellonella*

دحرجت يرقات دودة الشمع الكبرى بالعمر الأخير لعدة دقائق على المستعمرات الفطرية، وذلك بعد تنمية العزلات الفطرية على مستنبت PDA و وصولها إلى مرحلة التبوغ (بعمر 14يوماً)، نقلت اليرقات بعد ذلك إلى أطباق بتري تحوي أوراق ترشيح مرطبة (مضافاً إليها 1مل ماء مقطر معقم) لتوفير الرطوبة المناسبة لنمو الفطر، وذلك بواقع 3 مكررات لكل عزلة و 5 يرقات لكل مكرر، أحكم إغلاق الأطباق بالبارافيلم. حضنت الأطباق عند الدرجة 26±1°س، و فحصت بشكل يومي وسجل عدد اليرقات الميتة، حسبت النسب المئوية للموت وصححت وفق معادلة Abbott (1925):

نسبة الموت المصححة= [(متوسط عدد الأفراد الحية في الشاهد– متوسط عدد الأفراد الحية في المعاملة)/ متوسط عدد الأفراد الحية في الشاهد]*100

وتعتبر هذه الخطوة ضرورية، للتأكد من القدرة الامراضية للعزلات الفطرية التي تم الحصول عليها.

2- اختبار فعالية الفطر على يرقات و عذارى دودة ورق القطن:

2_1_ التربية المخبرية لدودة ورق القطن

جمعت الحشرة من خلال القيام بجولات حقلية و ظهرت بكثافات عالية خلال موسم 2014-2015 على العديد من المحاصيل المزروعة والنباتات البرية في ظروف الساحل السوري، ومن بين النباتات التي وجدت عليها الحشرة بمختلف أطوارها (الملفوف، الخيار، الفستق، اللوبياء، الفاصولياء، الملوخية، البقدونس، البقلة، القطيفة، والباميا)، حيث جمعت من النباتات المصابة ومن التربة الموجودة حولها وعلى عمق 2 سم تحت سطح التربة. لوحظ إصابتها لكافة أطوار النبات من البادرة وحتى مرحلة تشكل الثمار. تم إكثارها مخبرياً لعدة أجيال على أوراق الخروع *Ricinus communis* للوصول إلى أعداد كافية بالطور المناسب لإجراء التجارب عليها.

2_2_ اختبار فاعلية الفطر *B.bassiana* على يرقات العمر الثالث لدودة ورق القطن

من المعروف أن طور اليرقة أكثر حساسية عادة للفطر وتقل حساسية اليرقات للإصابة بالممرضات الفطرية مع التقدم بالعمر بسبب زيادة صلابة جدار الجسم، لذلك استخدمت يرقات العمر الثالث كعمر وسيط في هذه التجربة، زرع الفطر على مستنبت PDA، ثم دحرجت يرقات دودة ورق القطن بالعمر الثالث والحديثة الانسلاخ على المستعمرة الفطرية المتبوغة (بعمر 14 يوماً) لعدة دقائق، نقلت بعد ذلك إلى أطباق بتري تحوي أوراق خروع نظيفة مع وجود ورق ترشيح مرطب، بينما نقلت اليرقات في مكررات الشاهد بعد دحرجتها على المستنبت الغذائي بدون المستعمرات

الفطرية (Poinar and Thomas, 1984)، وذلك بواقع 3 مكررات لكل عزلة، و 10 يرقات لكل مكرر. سجلت القراءات بشكل يومي، حسبت النسب المئوية للموت وصححت وفق معادلة Abbott المذكورة سابقاً.

2_3_ اختبار فاعلية الفطر *B.bassiana* على عذارى دودة ورق القطن

استخدم لهذه التجربة العزلة الفطرية الأكثر كفاءةً على طور اليرقة، حضر المعلق البوغي بالتركيز 10^6بوغ/مل بإضافة 10 مل ماء توين (وهو ماء مقطر معقم مضاف إليه 0.05% محلول توين 80 لمنع تكتل الأبواغ) إلى المستعمرة الفطرية بعمر 14 يوماً، كشطت المستعمرة بإبرة معقمة، تم الترشيح باستخدام ورق ترشيح، وضع المعلق الناتج على الرجاج الكهربائي لمدة 10 دقائق لتأمين توزع متجانس للأبواغ، ثم حسب تركيز الأبواغ باستخدام شريحة مالاسبيه وعدل التركيز إلى التركيز المطلوب بإضافة ماء توين (Lacey, 2012).

نفذت التجربة باستخدام 10 عذارى لكل مكرر، و 5 مكررات لكل معاملة، رشت العذارى ب 5مل من المعلق البوغي للعزلة المختارة بالتركيز 10^6بوغ/مل، وضعت 10 عذارى في كل علبة بلاستيكية مع ورق ترشيح مرطب، بينما رشت مكررات الشاهد بماء توين فقط، وحضنت العلب على الدرجة 26±1°س، أخذت القراءات بعد 7 – 14 يوماً من التحضين. كما تم تحضين قطرة من المعلق البوغي المستخدم لمدة 24 ساعة لمعرفة نسبة إنبات الأبواغ الفطرية، من خلال عد 100 بوغة كونيدية على الأقل، واعتبرت البوغة منبتة في حال كان طول أنبوبة الإنبات أكثر من نصف طول البوغة، وهذه الخطوة مهمة للتأكد من حيوية الأبواغ في المعلق، وقدرتها على إحداث العدوى على العائل الحشري (Lacey, 2012).

3- التحليل الإحصائي:

حللت النتائج باستخدام جدول تحليل التباين Two- way Anova، وقورنت الفروق بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي LSD عند مستوى احتمال 1%، استخدم البرنامج الإحصائي GenStat 12.1.

النتائج والمناقشة:

1-1-عزل الفطر *B. bassiana* من التربة وتصنيفه:

تم الحصول على ست عزلات مختلفة من النوع *B. bassiana* من ترب متنوعة بعد معاملة عينات التربة التي جمعت في هذا البحث، وكانت نسبة الظهور 12.24% (أي عزل 6 عزلات من أصل 46 عينة)، الجدول (2).

جدول (2): عزلات الفطر *B. bassiana* حسب مصدرها البيئي في المواقع المدروسة

رقم العزلة	رمز العزلة	مصدر التربة	المنطقة
1	B1	بور	تلسنون
2	B2	لوزيات	ضهر صفرا
3	B3	بلوط	كرتو
4	B4	بقدونس	فارش كعبية
5	B5	سنديان	أوبين
6	B6	أوكاليبتوس	حديقة البطرني

لوحظ وجود الفطر *B.bassiana* في كلا النظامين البيئيين (الطبيعي والزراعي)، مع تردد أكبر في النظام الطبيعي، أربع عزلات مقابل عزلتان من الأنظمة الزراعية، يعود ذلك إلى تدخل الإنسان في الأنظمة الزراعية سواء من خلال استخدام المبيدات الكيميائية الفطرية والتي تؤثر في معظم الحالات بشكل مثبط وقاتل لمكونات الفطر. وذكر Klingen و Haukeland (2006) التأثير السلبي للمبيدات الفطرية على الفطور الممرضة للحشرات الموجودة في التربة، أو من خلال عمليات الحراثة وتقليب التربة والتي تعرض الأبواغ الفطرية للأشعة فوق البنفسجية وتؤدي بالنتيجة لقتلها. تتفق هذه النتيجة مع ما ذكره Chandler وآخرون (1997) بأن النوع *B. bassiana* ينتشر في الأراضي غير المزروعة وخاصة الغابات بشكل أكبر من انتشاره في الأراضي المزروعة، وقد سبق تسجيل هذا النوع في الترب السورية من قبل Ahmad وآخرون (2011) في محافظة اللاذقية من عينات ترب مأخوذة من نظامين بيئيين مختلفين (طبيعي وزراعي)، وكانت عزلات أنواع الجنس *Beauveria* الأكثر تردداً بين الفطور المعزولة الممرضة للحشرات، و بلغت نسبة ترددها من المجموع الكلي للعزلات 45%، كما سجل الفطر في المنطقة الجنوبية من سورية من قبل Almanoufi وآخرون (2012) في ترب حقول وبساتين فاكهة مختلفة، حيث بلغت نسبة ظهور الفطور الممرضة للحشرات 16.56%، وكانت نسبة ظهور الجنس *Beauveria* 13.33%.

وصف العزلات الفطرية

تشابهت الصفات المورفولوجية بالنسبة للعزلات الست من حيث طبيعة نمو المستعمرة وبنيتها، وأهم المعايير التي اعتمدت في التصنيف:

أ. طبيعة النمو على مستنبت PDA:

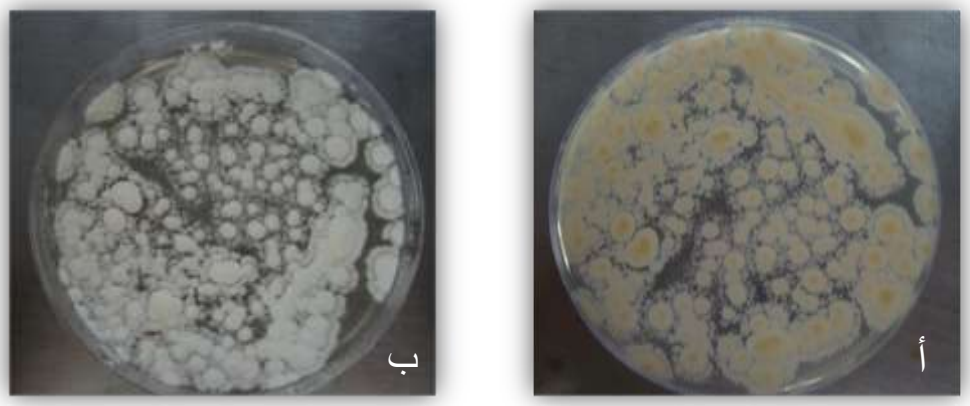
لون المستعمرة: لوحظ اللون الأبيض للوجه العلوي، و الأبيض المائل للصفرة بالنسبة للوجه السفلي للمستعمرة.

شكل المستعمرة: دائري تقريباً.

سرعة نمو المستعمرة: استغرقت حوالي 14 يوماً ضمن الظروف المناسبة ووصل قطر المستعمرة إلى 50 ملم.

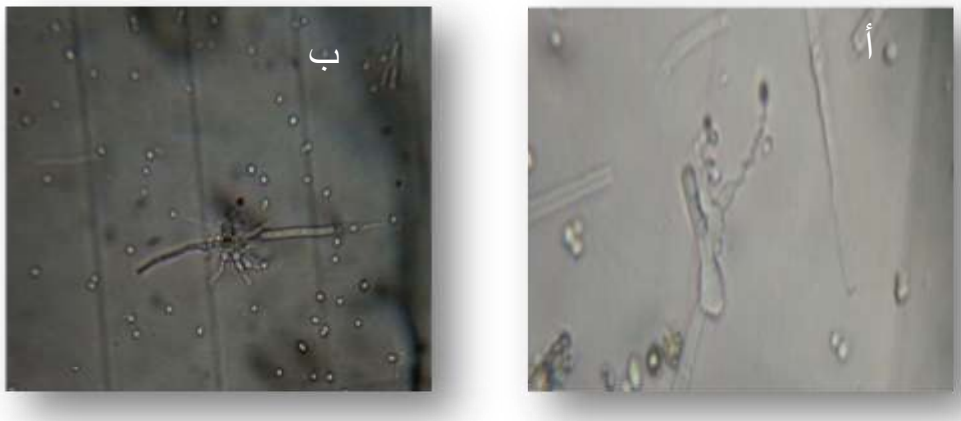
بنية المستعمرة: قطنية، أو مسحوقية، أو صوفية في بعض العزلات، والمستعمرة إما مرتفعة قليلاً عن سطح المستنبت، أو مسطحة تماماً، أو تشكل أعمدة دقيقية بيضاء مرتفعة بشكل واضح عن سطح المستعمرة، ولوحظ بالنسبة للعزلة B1 وجود سرة مركزية (انخفاض) في مركز كل مستعمرة الشكل (1).

ب. المواصفات المجهرية: تتجمع الخلايا المولدة للأبواغ بشكل سواري في عناقيد كثيفة، شفافة، ذات شكل قاروري، وعنق صغير، الأبواغ الكونيدية شفافة كروية أبعادها بين 1– 2.5 ميكرون، غير مقسمة، تتشكل على محور كاذب وتشكل مايشبه الزكزاك بدءاً من قمة الاتصال الكونيدي إلى الخلية المولدة للأبواغ ويوضح ذلك في الشكل (2). توافقت هذه المواصفات المورفولوجية المجهرية ومواصفات المستعمرة على المستنبت الصنعي مع ما ذكره Kulu وآخرون (2015) و Rehner وآخرون (2011).



الشكل (1): طبيعة نمو مستعمرات الفطر *Beauveria bassiana* الكثيف على مستنبت PDA

أ. الوجه السفلي للمستعمرة، ب. الوجه العلوي للمستعمرة.



الشكل (2): الخلايا المولدة للأبواغ الكونيدية عند النوع *B. bassiana*

أ.التجمع السواري للخلايا المولدة للأبواغ، ب. الزكزاك (التسنين المنشاري) بدءاً من قمة الاتصال البوغي إلى الخلية المولدة للأبواغ

1-2- اختبار القدرة الإمراضية على يرقات دودة الشمع الكبرى *G. mellonella*

لوحظ بدء الموت في بعض العزلات في اليوم الثاني للتجربة، وأظهرت العزلات الست شراسة عالية وسرعة في إحداث الموت، ويبين الجدول (3) متوسط نسب الموت المصححة للعزلات المختلفة.

جدول (3): متوسط نسب الموت المصححة التي أحدثتها العزلات الست للنوع *B. bassiana* في يرقات دودة الشمع الكبرى (x=15)

المعاملة	متوسط نسب الموت المصححة%	الزمن من بدء العدوى (يوم)
الشاهد	0	5
B1	100	5
B2	100	5
B3	100	3
B4	100	3

B5	100	5
B6	100	5

وتعود نسب الموت العالية لحساسية دودة الشمع من جهة، ولشراسة العزلات الفطرية المستخدمة من جهة أخرى.

2- اختبار فعالية الفطر على يرقات و عذارى دودة ورق القطن:

-اختبار فاعلية عزلات الفطر *B.bassiana* على يرقات العمر الثالث لدودة ورق القطن

لوحظ بدء الموت في اليوم الثاني للتجربة في كل العزلات تقريباً باستثناء مكررات الشاهد، وصلت نسبة الموت في اليوم الخامس للتجربة إلى 100% في معظم العزلات الجدول (4).

جدول 4(): تأثير عزلات الفطر *B. bassiana* في يرقات العمر الثالث لدودة ورق القطن (x=30)

العزلة	متوسط نسب الموت المصححة (%)				المتوسط ± SD
	اليوم الثاني للتجربة	اليوم الثالث	الرابع	الخامس	
B1	6.6	21.4	64.2	78.5	42.67±34.16c
B2	26.6	39.2	85.6	100	62.85±35.45ab
B3	3.3	35.7	82.2	92.9	53.52±41.68bc
B4	16.6	89.3	100	100	76.47±40.23a
B5	3.3	67.8	89.3	100	65.1±43.32ab
B6	6.6	60.7	71.4	82.2	55.22±33.58bc
الشاهد	0	6.6	6.6	6.6	4.95±3.3d
LSD1%	16.65				

بين اختبار الفروق المعنوية LSD عند مستوى الاحتمال 1% وجود فروق معنوية بين كل العزلات من جهة وبين معاملة الشاهد، كما لوحظ تفوق العزلة B4 على العزلات B1، B3 و B6، وعدم وجود فروق معنوية بين العزلات B2 و B3 و B5 و B6، ونتيجة لهذه المعطيات اختيرت العزلة B4 لتقييم فاعليتها على طور العذراء كونها كانت الأسرع في إحداث أعلى نسبة موت. وتتفق نتائج هذا البحث مع نتائج Alobaidi و Samir (2011) بالنسبة لتأثير الفطر على طور اليرقة والذي بلغ 100% لكل من الأعمار اليرقية الأول والثالث والخامس بعد 14 يوماً من المعاملة، بينما اختلفت هذه النتائج مع Amer وآخرون (2008) حيث لم يظهر الفطر عند استخدامه بتراكيز عالية تأثيراً ملحوظاً على يرقات دودة ورق القطن بالعمر الثاني، ويعود هذا الاختلاف لاختلاف شراسة العزلات الفطرية فيما بينها، وتأثير البيئة التي عزل منها الفطر على شراسته، وظهر هذا واضحاً في دراسة Ahmed و El-Katatny(2007) حيث سببت إحدى عزلات البوفاريا نسبة موت 90% ليرقات العمر الخامس بعد 5 أيام من المعاملة، بينما عزلة أخرى من نفس النوع أدت إلى نسبة موت 10% ليرقات العمر الخامس بعد المدة نفسها. وهذا يقودنا لضرورة البحث المستمر عن عزلات جديدة من الفطر تكون أكثر شراسة وأكثر تحملاً للظروف غير المناسبة.

-اختبار فاعلية الفطر *B.bassiana* على عذارى دودة ورق القطن

بلغت نسبة إنبات الأبواغ الكونيدية في القطرة المعلقة 72.1%، وهذا يدل على حيوية عالية للأبواغ في المعلق البوغي وقدرة على إحداث العدوى على العائل الحشري، يوضح الجدول (5) نتائج معاملة العذارى بالتركيز 10^6 بوغ/مل من العزلة B4.

جدول (5): متوسط النسب المئوية لخروج البالغات عند معاملة عذارى *S.littoralis* بالمعلق البوغي للفطر *B.bassiana* بالتركيز 10^6 بوغ/مل (x=50)

المعاملة	متوسط النسبة المئوية المصححة لخروج البالغات (%)		المتوسط
	بعد 9 يوم من المعاملة	بعد 15 يوم من المعاملة	
العزلة B4	10	42	26a
الشاهد	30	100	65b
LSD 1%	10.09		

بين اختبار الفروق المعنوية LSD عند مستوى الاحتمال 1% وجود فروق معنوية بين معاملة العذارى بالفطر ومعاملة الشاهد، ما يدل على كفاءة العزلة المستخدمة في مكافحة طور العذراء، ولوحظ أن البالغات المنبثقة في معاملة الفطر كانت مشوهة الشكل أو غير مكتملة النمو ولم تستطع إكمال دورة حياتها، حيث لم يحدث تزاوج و وضع بيض، و يعود ذلك لتأثير الفطر وغزوه لأعضائها الداخلية، بعكس البالغات المنبثقة من معاملة الشاهد التي كانت طبيعية وحدث تزاوج ووضع بيض الشكل (3).

الشكل (3): مقارنة بين فراشة سليمة من معاملة الشاهد وفراشة مشوهة من معاملة العذارى بالمعلق البوغي للفطر *B. bassiana*

وتتفق نتائج هذا البحث مع نتائج Alobaidi و Samir (2011) حيث بلغت نسبة خروج البالغات 50% بعد 15 يوماً من المعاملة بالفطر *B. bassiana* مقارنة مع الشاهد الذي بلغت نسبة المئوية لخروج البالغات 100%، كما

وجد Anand وآخرون (2009) بأنه عند استخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* ضد عذارى *Spodoptera litura* بلغت نسبة الموت 85.5% عند التركيز 10^8 بوغ /مل بينما مع النوع *Cordyceps cardinalis* بلغت نسبة الموت 57.3%.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات

-بين البحث وجود الفطر *Beauveria bassiana* في الترب المحلية من الساحل السوري في النظام البيئي الطبيعي والزراعي، مع تردد أكبر في النظام الطبيعي.

-الشراسة العالية لعزلات الفطر *B. bassiana* المختبرة في موت يرقات دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella*.

-الشراسة العالية لعزلات الفطر *B. bassiana* المختبرة في موت يرقات دودة ورق القطن *Spodoptera littoralis* بالعمر الثالث.

-كفاءة متوسطة للفطر *B. bassiana* في مكافحة طور العذراء لدودة ورق القطن *S.littoralis*.

التوصيات

-متابعة البحث عن عزلات محلية من النوع *B. bassiana* والفطور الأخرى الممرضة للحشرات من الترب السورية المختلفة.

-اختبار النوع *B. bassiana* على كافة أطوار دودة ورق القطن *S.littoralis*.

المراجع:

1. ABBOTT, W.S. *A method of computing the effectiveness of an insecticide*. Journal of Economic Entomology, 18: 1, 1925, 265- 267.
2. AHMAD, M., S. Al-MOUGHRABI and A. HAJ HASSAN. *Survey of Entomopathogenic Fungi in Soils of Different Ecosystems in Lattakia*. Arab Journal of Plant Protection, 29: 2, 2011, 171-178.
3. AHMED, A. M and M. H. EL- KATATNY. *Entomopathogenic Fungi As Biopesticides Against The Egyptian Cotton Leaf Worm, Spodoptera Littoralis: Between Biocontrolpromise And Immune-Limitation.* J. Egypt. Soc. Toxicol, 37: 1, 2007, 39- 51.
4. ALMANOUFI, A., M. JAMAL, E. de LILLO, E. TARASCO and T. YASEEN. *A Survey of the Native Entomopathogenic Nematodes and Fungi in the Soil of Southern Region of Syria.* Jordan Journal of Agricultural Sciences, Volume 8, No.3, 2012, 358-366.
5. AMER, M.M., T.I. EL-SAYED, H.K. BAKHEIT, S.A. MOUSTAFA and Y. A. EL-SAYED. *Pathogenicity and Genetic Variability of Five Entomopathogenic Fungi Against Spodoptera littoralis.* Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4 (5): 2008, 354-367.
6. ALOBAIDI, SH.H. and S.H. SAMIR. *Efficacy of Beauveria bassiana (Bals.) Vuil. for Biocontrol of the Cotton Leaf Worm, Spodoptera littoralis (Boisd.)*. Arab Journal of Plant Protection, 29: 2011, 77-82.
7. ANAND, R., B. PRASAD and B.N. TIWARY. *Relative susceptibility of Spodoptera litura pupae to selected entomopathogenic fungi.* BioControl , 54: 2009, 85–92.

8. BARRON, G. L. *The Genera of Hyphomycetes from Soil*. Robert E. Krieger Publishing Company, USA, 1972, 364.

9. BUTT, T.M., C. JACKSON, N. MAGAN. *Fungi as biocontrol agents progress, problems and potential.* Biddles Ltd, UK, 2001, 390.

10. CABI (CAB International). *Datasheet on Spodoptera littoralis.* Crop protection compendium. Date of report: 1 December 2014, 230.

11. CHANDLER, D., D. HAY and A. P. REID. *Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils.* Applied Soil Ecology, 5: 1997, 133-141.

12. EFSA. *Scientific Opinion on the pest categorisation of Spodoptera littoralis*. EFSA Journal, 13(1): 2015, 39- 87.

13. ELLIS, S. E. *New Pest Response Guidelines:Noctuidae: Spodoptera.* USDA APHIS PPQ PDMP, 2005, 76.

14. EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), *Spodoptera littoralis and Spodoptera litura, In: Quarantine pests for Europe*, 2nd edn. Eds Smith IM, McNamara DG, Scott PR and Holderness M. CABI/EPPO, Wallingford, UK, 1997, 1425.

15. HUMBER, R.A. *Fungi: identification.* Pages 153–185. In: Manual of Techniques in Insect Pathology. L.A. Lacey (ed.). Academic Press. New York, 1997, 409.

16. KRANTHI, K.R. *Insecticide Resistance -Monitoring, Mechanisms and Management Manual.* Published by CICR, Nagpur, India and ICAC, Washington, 2005, 153.

17. KLINGEN, I. and S. HAUKELAND. *The soil as a reservoir for natural enemies of pest insects and mites with emphasis on fungi and nematodes.* In: Eilenberg, J., H.M.T. Hokkanen,. (Eds.), An Ecological and Societal Approach to Biological Control. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2006, 145–211.

18. KULU, I. P., A. L. ABADI, A. AFANDHI and NOORAIDAWATI. *Morphological and Molecular Identification of Beauveria bassiana as Entomopathogen Agent from Central Kalimantan Peatland, Indonesia*. International Journal of ChemTech Research. Vol.8, No.4, 2015, 2079- 2084.

19. LACEY, L.A. *Manual of Techniques in invertebrate pathology*. Second edition, Elsevier Ltd, USA, 2012, 513.

20. MEYLING, N.V. *Methods for isolation of Entomopathogenic fungi from the soil environment. Manual for isolation of soil borne entomopathogenic fungi* , 2007, 18.

21. MEYLING, N.V. and J. EILENBERG. *Ecology of the entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control*. Biological Control, 43,2007, 145–155.

22. POINAR, G.O. Jr and G.O. THOMAS. *Laboratory guide to insect pathogens and parasites*. Plenum Press, New York. 1984,392.

23. REHNER, S.A., A.M. MINNIS, Gi-Ho. SUNG, J.J. LUANGSA-ARD, L. DEVOTTO and R.A. HUMBER,. *Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus Beauveria.* Mycologia, The Mycological Society of America, Lawrence, 103(5), 2011, 1055–1073.

24. ROBERTS, D.W. *World Picture Of Biological Control Of Insects By Fungi*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,Vol. 84, Supl. III, 1989, 89-100.

25. VON ARX, J.A, *The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture*. 3rd. ed., Germany, 1981,424.